

**T.C.
İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**ATMOSFERİK SOĞUK PLAZMA UYGULAMASI VE RGD
PEPTİD KONJÜGASYONU İLE YÜZEY
MODİFİKASYONU SAĞLANAN DENTAL
İMLANTLARIN OSSEOİTEGRASYON SÜRELERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

SEYFİ KELEBEK

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Murat ULU

II. DANIŞMAN

Prof. Dr. M. Cemal AKAY

2017 - İZMİR

**T.C.
İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**ATMOSFERİK SOĞUK PLAZMA UYGULAMASI VE RGD
PEPTİD KONJÜGASYONU İLE YÜZEY
MODİFİKASYONU SAĞLANAN DENTAL
İMLANTLARIN OSSEOİTEGRASYON SÜRELERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

SEYFİ KELEBEK

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Murat ULU

II. DANIŞMAN

Prof. Dr. M. Cemal AKAY

Bu tez İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 2015-TDR-SABE-0012 proje numarası ile desteklenmiştir

2017 - İZMİR

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 15 / 11 / 2017

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Murat ULU, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Nergiz Yılmaz, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. M. İbrahim TUĞLU, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Mehmet SAĞLAM, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı

Üye : Yrd. Doç. Dr. Emrah SOYLU, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

ONAY: Bu Doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'na belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet KOYU

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Diş hekimliğinde, gün geçtikçe kullanım alanı artmakta olan dental implant uygulamaları ile ilgili oldukça fazla deneysel ve klinik çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmaların başlıca amaçları; çene kemiklerini dental implant uygulamalarına elverişli hale getirebilmek, dental implantların biyomekanik stabilitesini optimum seviyeye çıkarabilmek ve daha kısa sürede diş eksikliklerini tedavi edebilmektir. Özellikle son dönemde, osseointegrasyon sürecini kısaltabilmek amacıyla yapılan birçok çalışmada dental implantların yüzeyleri çeşitli yöntemlerle modifiye edilmektedir. Bu tez çalışmasını planlarken ulaşmak istediğimiz temel hedef; implantların yüzey özelliklerini fiziko-kimyasal olarak modifiye ederek daha kısa sürede osseointegrasyonu sağlayabilmektir. Bu amaçla yaptığımız in vivo çalışmada çeşitli yöntemler uygulayarak değişik parametreleri değerlendirdik. Oldukça uzun soluklu ve zorluklarla geçen bu sürenin sonunda birçok kişi, kurum ve kuruluşun desteğiyle literatüre katkısı olacağını düşündüğümüz bu tez çalışmasını ortaya çıkardık.

Doktora eğitimim boyunca her türlü yardım ve desteğini sonuna kadar bana gösteren, bu çalışmanın planlanması, yürütülmesi ve sonuçlandırılmasında büyük pay sahibi olan danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Murat ULU'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Ortak doktora programı vesilesiyle birlikte çalışma fırsatı bulduğum bilimsel, klinik ve sosyal anlamda her daim motive eden ve doktora eğitimim süresince her türlü desteği veren danışman hocam sayın Prof. Dr. M. Cemal AKAY'a sonsuz şükranlarımı sunarım.

Çalışmanın başından sonuna kadar desteklerini hiç esirgemeyen sayın Prof. Dr. M. İbrahim TUĞLU, Yrd. Doç. Dr. Emrah SOYLU, Yrd. Doç. Dr. Ozan KARAMAN, Yrd. Doç. Dr. U. Kürşat ERCAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım ve bu tez çalışmasında da desteklerini esirgemeyen kıymetli asistan arkadaşlarım M. Furkan CİCIK, Özgür GÖZLÜKLÜ, Tuğrul ALİYEV, Keremcan KURU ve özellikle Nuri ÜNAL'a sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmayı yapmamızda büyük katkısı olan İKÇÜ BAP Koordinatörlüğü'ne ve NucleOSS implant firmasına sonsuz teşekkürler.

Son olarak; her günümde yanımda olan kıymetli ailem ve sevgili eşim Edvina PERE KELEBEK'e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	iii
Önsöz	iv
İçindekiler	v
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	viii
Şekiller Dizini	ix
Resimler Dizini	xii
Tablolar Dizini	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	3
2.1. DİŞ İMPLANTLARININ TARİHÇESİ	3
2.1.1. İmplant Kavramı	3
2.1.2. Tarihçesi	3
2.2. OSSEOİNTEGRASYON	5
2.3. İMPLANTIN STABİLİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	9
2.3.1. İnvaziv Metodlar	10
2.3.1.1. Histomorfometrik Analiz	
2.3.1.2. Germe Testi (Tensional Test)	
2.3.1.3. Push-out / Pull-out Testi	
2.3.1.4. Geri Çıkarma Torku Testi	
2.3.2. İnvaziv Olmayan Metodlar	11
2.3.2.1. Cerrahın El Hassasiyeti	
2.3.2.2. Radyolojik analiz/görüntüleme teknikleri	
2.3.2.3. Kesme Torku Rezistansı Analizi (Primer Stabilitate için)	
2.3.2.4. İmplant İnsersiyon Torku Ölçümü	
2.3.2.5. Reverse Tork Testi (Geri Çıkarma Torku Testi)	
2.3.2.6. İmplant yerine oturma torku testi	

- 2.3.2.7. Modal analiz ve İmplatest
- 2.3.2.8. Perküsyon testi
- 2.3.2.9. Periotest
- 2.3.2.10. Rezonans Frekans Analizi (RFA)

2.4. DENTAL İMPLANTLARIN YÜZEY KARAKTERİSTİĞİ

2.4.1. İMPLANT YÜZEY ÖZELLİKLERİ	16
2.4.2. İMPLANT YÜZEY DÜZENLEMELERİ (MİKRODİZAYN)	20
2.4.2.1. Substraktif Yöntemler	21
2.4.2.1.1. Kuşlama	
2.4.2.1.2. Asitle Aşındırma	
2.4.2.1.3. Kuşlama ve Asitle Aşındırma	
2.4.2.1.4. Kimyasal Olarak Modifiye Edilmiş Asitle Pürüzlendirilmiş - Kuşlanmış Yüzey (SLAktif Yüzey)	
2.4.2.2. Additif Yöntemler	25
2.4.2.2.1 Titanyum Plazma Sprey (TPS)	
2.4.2.2.2. HA Kaplama	
2.4.2.2.3. Oksidasyon	
2.4.2.3. Yeni Yüzey Modifikasyonları	29
2.4.2.3.1. Lazerle asitleme	
2.4.2.3.2. İyonlar- Fluorid	
2.4.2.3.3. Kalsiyum Fosfat (CaP)	
2.4.2.3.4. Biyoaktif Proteinler – Kemik Morfogenetik Proteinler (BMP)	
2.4.2.3.5. Biyoaktif Proteinler – Sitokinler	
2.4.2.3.6. Farmakolojik Yüzey Kaplamaları	
2.4.2.3.7. Nanoteknoloji	

2.4.2.3.8. Fotofonksiyonallzasyon	
2.5. ATMOSFERİK SOĞUK PLAZMA (ASP) İLE YÜZEY MODİFİKASYONLARI	34
2.6. RGD PEPTİD İLE YÜZEY MODİFİKASYONU	37
2.7. OSSEOİNTEGRASYONUN HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRMEĞİ	40
3. GEREÇ VEYÖNTEM	42
4. BULGULAR	65
5. TARTIŞMA	86
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	111
ÖZET	112
ABSTRACT	113
KAYNAKLAR	114
ÖZGEÇMİŞ	

Simgeler ve Kısaltmalar Dizini

ALP	: Alkalın Fosfataz
ASP	: Atmosferik Soğuk Plazma
BMP	: Bone Morphogenetic Protein
b FGF	: basic Fibroblast Growth Factor
Ca	: Kalsiyum
CaP	: Kalsiyum Fosfat
ECM	: Ekstracellular Matrix
GÇT	: Geri Çıkarma Torku
GH	: Growth Hormone
HE	: Hematoksilen Eosine
HA	: Hidroksiapatit
HMDSO	: Hexamethyldisiloxane
IGF	: Insuline Like Growth Factor
ISQ	: Implant Stability Quotient
KİK	: Kemik İmplant Teması
MS	: Milattan Sonra
Ncm	: Newton Cantimetre
OK	: Osteokalsin
OPG	: Osteoprotegerin
PGE-2	: Prostoglandin E2
PDGF	: Platelet-Derived Growth Factor
PMN	: Polimorfo Nüklear Lökosit
RFA	: Rezonans Frekans Analizi
RGD	: Arginine–Glycine–Aspartic Acid
rhBMP	: Rekombinant Bone Morphogenetic Protein
SLA	: Sand- blasted, Large grit, Acid-etched
TGF- β	: Transforming growth factor beta
TG II	: Transglutaminaz II
TPS	: Titanyum Plasma Sprey
UV	: Ultraviyole
VEGF	: Vascular endothelial growth factor

Şekiller Dizini

Şekil 1: Dental implant osseointegrasyonu için biyomekaniksel değerlendirmeler

Şekil 2: SmartPeg ile Ostell ISQ kablosu arasında gerçekleşen manyetik alan ve temassız ölçüm

Şekil 3: A, Ostell ISQ cihazı ve ölçüm kablosu. B, SmartPeg ile birbirine dik iki ölçüm yapılması

Şekil 4: Titanyum yüzeyinin hava ile temasa geçmesi ile yüzeyde meydana gelen TiO_2 tabakasının kalınlığında zamanla meydana gelen değişim

Şekil 5: A, Titanyum yüzeyi ve oluşan oksit tabakası. B, Negatif yüklü titanyum oksit ile Ca iyonun bağlanma mekanizması

Şekil 6: Aminoasitlerin izoelektrik noktası (x ekseni) ve hidropati endeksi (y ekseni)

Şekil 7: *Sol*, HA partikülleri ile kumlanmış implant yüzeyi (MTX, Zimmer Dental, Carlsbad, CA). *Sağ*, titanyum oksit partikülleri ile kumlanmış implant yüzeyi (Osseospeed, Astra Tech, Molndal, Sweden).

Şekil 8: A, asitle pürüzlendirilmiş implant yüzeyi (Osseotite, Biomet 3i, Palm Beach Gardens, FL). B, SLA yüzeyli bir implant (SLA, Straumann, Basel, Switzerland)

Şekil 9: SLA ve SLAktif yüzeye sahip titanyum implantlar ile disklerin suyla ilk temas ettiklerinde ortaya çıkan görünüm

Şekil 10: A, TPS yüzeyin nasıl elde edildiğinin şematize edilmesi. B, TPS ile kaplanmış implant yüzeyinin SEM görüntüsü

Şekil 11: HA partikülleri ile kaplanmış implant yüzeyinin SEM görüntüsü

Şekil 12: Anodize implant yüzeyinin SEM görüntüsü (TiUnite, Nobel Biocare, Yorba Linda, CA)

Şekil 13: A, Boyun kısmı lazer ile modifiye edilmiş dental implantın SEM görüntüsü (Laser-Lok, BioHorizons, Birmingham, AL). B, Lazer ile hazırlanmış mikrokanallara yapışan bağ dokusu ataşmanları

Şekil 14: Fluorid iyonları ile yüzeyi kaplanmış implant yüzeyleri

Şekil 15: Asitle pürüzlendirilmiş implant yüzeyindeki CaP nanokristallerinin birikiminin SEM görüntüsü

Şekil 16: 1 hafta sonunda implantın yivleri arasında plazma uygulanan grupta implanta komşu alanda kemik oluşumunun ilk işaretleri ve erken bağ dokusu tabakalarının varlığı görülmektedir. Bunun yanında plazma uygulanmayan grupta sadece yivin merkezinde kollabe olmuş stroma varlığı görülmektedir. 3. haftada her iki grupta kemik oluşumu görülürken plazma grubunda daha fazla kemik-implant teması vardır

Şekil 17: Anodize titanyum implant yüzeyine kimyasal olarak konjuge edilmiş RGD peptid sekansı

Şekil 18: Peptid konjugasyonunun şematik görünümü

Şekil 19: Gruplar arasındaki ilişki 2, 4 ve 8. haftada grafik ile gösterilmiştir. Her periyotta Grup 3 daha fazla ISQ değerine sahip olmuştur

Şekil 20: İmplantlar yerleştirildikten sonraki 2, 4 ve 8 haftalık süreçlerde elde edilen geri çıkarma tork değerleri görülmektedir. 2 haftalık süreçte değerler birbirine oldukça yakinken özellikle 4. haftada ASP ve ASP + RGD peptid grubunda diğerlerine göre fark vardır. 8 hafta sonunda ise RGD peptid grubu daha yüksek değer vermiştir

Şekil 21: Farklı zaman periyotlarında gruplara göre kemik-implant temasını gösteren grafik.

Şekil 22. Hematoksilen ve Eozin boyamalarında implant yerleşimi sonrası 2. haftada kemik ve fibröz doku oluşumu

Şekil 23. Hematoksilen ve Eozin boyamalarında implant yerleşimi sonrası 4. haftada kemik ve fibröz doku oluşumu

Şekil 24. Hematoksilen ve Eozin boyamalarında implant yerleşimi sonrası 8. haftada kemik ve fibröz doku oluşumu

Şekil 25. Hematoksilen ve Eozin boyamalarında implant sonrası 2. haftada kemik ve fibröz doku oluşumu

Şekil 26. Hematoksilen ve Eozin boyamalarında implant sonrası 4. haftada kemik ve fibröz doku oluşumu

Şekil 27. Hematoksilen ve Eozin boyamalarında implant sonrası 8. haftada kemik ve fibröz doku oluşumu

Şekil 28. İmplant sonrası 2.haftada kemik oluşumu ve fibröz doku oluşumunun grafiği. 2. haftada sadece RGD peptid grubunda kemik oluşumu daha fazla bulunmuştur.

Şekil 29. İmplant sonrası kemik ve fibröz doku oluşumunun grafiği. 2. haftada olduğu gibi 4. haftada da RGD peptid grubunda daha fazla kemik dokusu oluşumu görülmüştür

Şekil 30. İmplant sonrası kemik ve fibröz doku oluşumunun grafiği. ASP+RGD peptid grubu dışında diğer gruplarda daha fazla kemik oluşumu görülmüştür

Şekil 31. Hematoksilen ve Eozin boyamalarında implant sonrası 2. haftadaki osteokalsin boyaması

Şekil 32. Hematoksilen ve Eozin boyamalarında implant sonrası 4. haftadaki osteokalsin boyaması

Şekil 33. Hematoksilen ve Eozin boyamalarında implant sonrası 8. haftadaki osteokalsin boyaması

Şekil 34. İmplant sonrası H-skor ile osteoblast belirteci osteokalsin histomorfometresi. Grafikte görüldüğü gibi her periyotta da RGD peptid grubunda belirgin bir artış söz konusudur

Şekil 35. Hematoksilen ve Eozin boyamalarında implant sonrası 2. haftadaki VEGF boyaması

Şekil 36. Hematoksilen ve Eozin boyamalarında implant sonrası 4. haftadaki VEGF boyaması

Şekil 37. Hematoksilen ve Eozin boyamalarında implant sonrası 8. haftadaki VEGF boyaması

Şekil 38. İmplant sonrası H-skor ile osteoblast belirteci VEGF histomorfometresi.

Resimler Dizini

Resim 1: A, B,C,D, Dental implant kullanımının ilk örnekleri

Resim 2: SLAktif yüzeyin yapısı

Resim 3: A, UV ile muamele edilmiş dental implantın su ile ıslanabilirlik farkı. B, UV ile muamele edilmiş dental implantın kan ile temas etmesindeki ıslanabilirlik farkı

Resim 4: A-B, SLA yüzeyli bir titanyum diske plazma uygulamadan önce yüzeye su damlatıldığında oluşan su kontak açısı. C, 60 saniye disk yüzeyine ASP uygulanması. D-E, disk yüzeyine su damlatıldığında su temas açısı. Yüzey süperhidrofilik hale gelmiştir.

Resim 5: Her deneğin bir iliak kemiğinin ortasından geçen hattın sağ ve sol tarafına 6'şar implant yerleştirilmiştir. Aynı işlem deneğin diğer iliak kemiğine de yapılmıştır. Sonuç olarak bir deneğin iki iliak kemiğine, 4 gruba ait olacak şekilde 24 implant yerleştirilmiştir.

Resim 6: A; Atmosferik soğuk plazma jeneratörü ve ona bağlı olan yüksekliği ayarlanabilir platform üzerine adapte edilmiş plazma uygulama ucu. B; elektrik kaynağına bağlı olan dışı silikon kaplı, içinde bakır plaka olan plazma ucunun yakından görünümü.

Resim 7: A; SLA yüzeye sahip titanyum diske su damlatıldığında yüzeyin ıslanabilirliği. B; aynı diske ASP uygulanması. C; ASP uygulandıktan sonra yüzeyin ıslanabilirliğindeki değişim. D; optik tansiyometre ile su temas açısı ölçümü. E; 15 sn sonunda ölçülen su temas açısı. F; 60 sn plazma uygulandıktan sonra yaklaşık 0° 'ye yakın olan su temas açısı

Resim 8: Operasyon bölgesinin steril drep ve ameliyat örtüsü ile hazırlanmış hali

Resim 9: İliak kemiğinin açığa çıkmış hali

Resim 10: İliak krestin iki tarafına 6'şardan toplam 12 adet implant yuvası hazırlanışı

Resim 11: İmplantların taşıma parçalarının çıkarılması

Resim 12: Her bir implanta SmartPeg takıldıktan sonra dört bir tarafından ISQ değeri alınıp tüm implantların RFA ölçümünün yapılması

Resim 13: Operasyon bölgesinde iliak krestin her iki tarafına toplamda 12 adet implant ve kapama vidasının yerleştirilmiş son hali

Resim 14: Sakrifikasyondan sonra iliak kemiklerinin görüntüsü

Resim 15: Bir grubun bir zaman periyodundaki osseointegrasyon değerlendirme parametleri

Resim 16: İliak kemiğindeki implantlarda RFA ölçümü yapılması

Resim 17: İliak kemiğindeki implantlarda GÇT testi yapılması

Resim18: Trefan frezle elde edilmiş içinde implant olan kemik örnekleri

Resim 19: Dekalsifiye edilmiş kemik bloklarında kırmızı çizgilerde gösterildiği gibi bistüri ile kemik ikiye ayrılmış ve kemik içindeki implant hiç bir suretle kemiğin yapısını bozmadan çıkarılmıştır

Resim 20: Exakt elmas testeresi hassas kesme cihazı

Resim 21: Hassas kesme ile elde edilen 2-3 mm kalınlığında implant-kemik kesitleri

Resim 22: Vakumlu dahidratasyon ve infiltrasyon ünitesi

Resim 23: Işıklı polimerizasyon ünitesi

Resim 24: Örnekleri lama yapıştırma ünitesi

Resim 25: İmplantın bir yüzü. Kırmızı: Kemik teması olmayan implant yüzeyi, Yeşil: Kemikle teması olan yüzey

Resim 26: Aynı implantın diğer yüzü. Kırmızı: Kemik teması olmayan implant yüzeyi, Yeşil: Kemikle teması olan yüzey

Tablolar Dizini

Tablo 2.1: Çalışma boyunca 2, 4 ve 8 haftalık osseointegrasyonu periyotlarında 4 gruptaki implant sayısı ve osseointegrasyonu değerlendirmek için bakılan parametreler ile kaç adet implantta bu parametrelerin değerlendirildiğini gösteren tablo

Tablo 3.1: Rezonans Frekans Analizi tablosu (ISQ)

Tablo 3.2: 2 hafta sonunda yüzey modifikasyonlarına göre RFA ölçümlerinin karşılaştırılması (ISQ değerleri)

Tablo 3.3: 4 hafta sonunda yüzey modifikasyonlarına göre RFA ölçümlerinin karşılaştırılması (ISQ değerleri)

Tablo 3.4: 8 hafta sonunda yüzey modifikasyonlarına göre RFA ölçümlerinin karşılaştırılması (ISQ değerleri)

Tablo 3.5: Geri çıkarma tork testi tablosu

Tablo 3.6: Gruplara ait histomorfometrik değerler

Tablo 3.7: 4. Hafta Gruplar Arası Kemik-İmplant Teması Değerlendirilmesi

Tablo 3.8: 4. Hafta Gruplar Arası H Skorlamasıyla yapılan OK Değerlendirilmesi

Tablo 3.9: 2. Hafta Gruplar Arası H Skorlamasıyla yapılan VEGF Değerlendirilmesi

Tablo 3.10: 4. Hafta Gruplar Arası H Skorlamasıyla yapılan VEGF Değerlendirilmesi

1. GİRİŞ

Geçmişten günümüze kadar insanlar eksik olan dişlerinden dolayı estetik, fonksiyon, konuşma problemi gibi çeşitli olumsuzluklarla başa çıkmak zorunda kalmıştır. Diş eksiklikleri ve bunlara bağlı sorunları giderebilmek adına konvansiyonel yöntemler yüzyıllardır kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında dental implant uygulamaları da günümüzde oldukça yaygın kullanım alanına sahip olan bir tedavi seçeneğidir.

Brånemark'ın osseointegrasyonun temel felsefesini tanımladığı 1970'li yıllara kadar çeşitli materyaller kullanılarak eksik olan dişler ve bunlara bağlı ortaya çıkan sorunlar giderilmeye çalışılmıştır. Brånemark'ın titanyum materyalinden geliştirdiği modern anlamda ilk dental implantları diş eksikliğini tedavi etmede kullanması ve bunu biyolojik temeller üzerine inşa etmesi, dental implantolojinin dönüm noktası olmuştur. Hızla gelişen bilimsel süreç ve klinik tecrübeler ışığında, modern dental implantların makro-mikrotopografisi ve temel yüzey özellikleri oldukça iyi hale getirilerek başlıca biyomekanik prensipler de belirlenmiştir.

Bir dental implantın uzun dönemde etkin bir şekilde işlev görebilmesi, iyileşme döneminde osseointegrasyonun başarılı bir şekilde gerçekleşmesine bağlıdır. Elverişli bir kemiğe yapılan ve yeterince süre iyileşmesi için beklenen doğru bir implant uygulamasının başarı şansı oldukça yüksektir. Ancak günümüz toplumunun yaşam tarzı ve artan yaşam standartları; dental implantolojinin özellikle iyileşme süreci için gerekli olan zamanı kısaltabilmesini ve dişsizlik sorunun mümkün olduğunca hızlıca çözüme kavuşturabilmesini arzulamaktadır. Bu nedenle; günümüzde dental implantoloji adına gerçekleştirilen birçok deneysel ve klinik çalışma bu sürenin kısaltılması üzerine yoğunlaşmıştır.

Bu amaçla özellikle son dönemde yapılan birçok araştırmada; dental implantlara, osteoblastik aktiviteyi hızlandırarak daha erken dönemde kemik iyileşmesini sağlayabilecek yüzey özelliklerini kazandırmak hedeflenmektedir. İmplant yüzeylerinin ıslanabilirliğini arttıracak şekilde yüzeyi modifiye etmek, kemik hücrelerinin afinitesini arttıracak çeşitli biyomolekülleri yüzeye entegre etmek, bu amaçla uygulanan yüzey modifikasyon yöntemlerinin temel uğraşı alanıdır.

Bu tez çalışmasında; konik makrogeometrik yapıya sahip olan SLA yüzeyli dental implantları Atmosferik Soğuk Plazma ve RGD peptid konjugasyonu şeklinde iki farklı yöntemle ve bunların da kombinasyonuyla modifiye edilmiştir. Bu şekilde implantların yüzey enerjisi ve kimyasal yapısı değiştirilerek ıslanabilirliği arttırmak ve implant yüzeyine olan ostoblastik hücre aktivitesinin de arttırmak amaçlanmıştır. Bu sayede; osseointegrasyon için gerekli olan iyileşme süresini kısaltarak, dental implantların daha erken sürede fonksiyon görebildikleri yeni bir protokolü gündeme getirmek hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

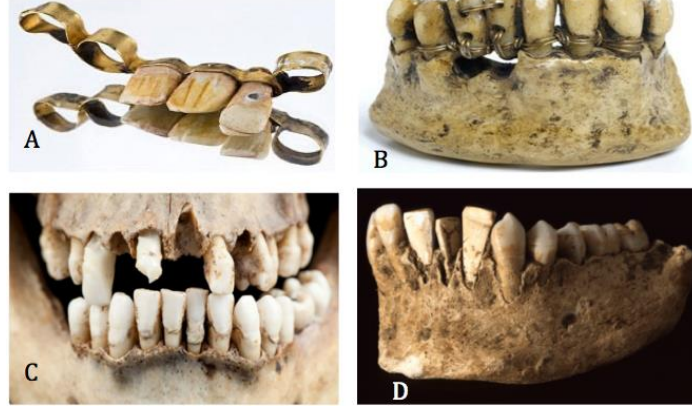
2.1. DİŞ İMPLANTLARININ TARİHÇESİ

2.1.1. İmplant Kavramı

İmplant terimi, Latince'den gelen 'in: içinde, içine, içerisine' ve 'plato: dikme, ekme, yerleştirme' kelimelerinin birleşmesinden ortaya çıkmıştır. İmplantın terim anlamı ise 'bir fonksiyon elde etmek için uygun bir yere yerleştirilen organik veya inorganik cisim'dir. Medikal alanda genel anlamıyla vücut içerisine yerleştirilen yapay materyallere implant denilir. Diş hekimliğinde eksik dişlerin yerine çene kemiği içerisine yerleştirilen bu yapay materyallere 'dental implant' adı verilir. Dental implantlar diş hekimliğinde, eksik olan dişlerin neden olduğu fonksiyon ve estetiği geri kazandırmak için yapılan protezlere destek olması amacıyla kullanılmaktadır.

2.1.2. Tarihçesi

Eksik olan dişlerin yerine benzer işlevi görmesi için tarih öncesi dönemlerden günümüze kadar deniz kabukluları, ağaç parçaları, metal yapılar, çekilmiş insan ve hayvan dişleri gibi çeşitli materyaller kullanılmıştır (1). Günümüz İtalya bölgesinde yaşayan antik Etrüskler dental aygıtları, köprüleri ve retansiyon bantlarını kullanan ilk toplumdur (Resim 1A, B). Yaklaşık dört bin yıl öncesinde Antik Çin'de eksik dişlerin yerine kemiğe bambu parçaları veya metal parçalar yerleştirilirken, Eski Mısır döneminde ise eksik dişlerin yerine çekiçle yerleştirilmiş deniz kabukları, metal parçaları veya başka insan dişleri koyularak diş kayıpları restore edilmeye çalışılmıştır (Resim 1C). Elde edilen arkeolojik veriler ışığında gerçek anlamda dental implant olarak kabul edilen ilk örnek 1931 yılında Honduras'ta bulunan MS 600 yıllarına ait olduğu düşünülen insan mandibulasıdır. Bulunan bu insan fosiline ait çene kemiğindeki eksik dişler deniz kabukları ve taş ile restore edilmiştir (Resim 1D).



Resim 1A, B,C,D: Dental implant kullanımının ilk örnekleri.

12. yüzyılda İspanya’da yaşayan Abulcosidi Zaero paylaştığı tecrübelerinde çekilen dişin yerine inek dişi transplantasyonu yapılabileceğini bildirmiştir. 1500’lü yıllarda başka insan dişinin transplantasyonu yapıldığı bilgisi vardır. 1757’de Fauchard insandan insana yapılan diş transplantasyonunun detaylarını yazdığı kitabında açıklamıştır.

Yıllar geçtikçe eksik dişlerin yol açtığı fonksiyonel ve estetik kayıpları yerine koyabilmek için çok farklı türde materyaller çene kemiklerine yerleştirilmiştir. Ancak erken dönemde kullanılan implantlarda primer stabilite oldukça başarısızdı çünkü bu materyallerle destek kemik dokusu arasında sıkı bir integrasyon durumu söz konusu değildi. İyileşme döneminin sonunda implante edilen materyal ile kemik arasında uzanan bir yumuşak doku mevcudiyeti söz konusuydu. Sonuç olarak implantlar ağız içerisinde hareketliyken aynı zamanda enfeksiyon ve ağrıya da yol açmakta, ilerleyen dönemlerde implante edilen bu materyaller kaybedilmekteydi. 1800’lü yılların sonunda gerçek anlamda metalik implantların ilk denemeleri yapılmıştır. Strock; 1938 yılında içi dolu vida şekilli implantı, 1940 yılında ise endodontik implantı geliştirmiştir (2). 1953 yılında Sollier and Chercheve transosseöz implantların klinik kullanımını rapor etmişlerdir. Perron Andre Formiggi 1962’de yaptığı histolojik çalışmalarda vida şekilli implantların yivleri arasında kemik entegrasyonu olduğunu rapor etmiş ve bunun gerçekleşebilmesi için implantın travmaya maruz kalmadan en az bir yıl kemikte sabit bırakılması gerektiğini vurgulamıştır (3).

Modern dental implantların hikayesi titanyum implantların kullanılmasıyla başlamaktadır (4). 1950'lerde İsveçli anatomi ve ortopedi uzmanı olan Per-Ingvar Brånemark kemikteki kan dolaşımıyla ilgili çalışırken kemik içine yerleştirilen titanyum implant ile kemik arasında çok sıkı bir temas olduğunu, bu bağlantısında yük transferinde yeterli mukavemeti gösterdiğini gözlemlemiştir. Mikroskopik olarak baktığında titanyum implantın vida yivleri arasına yeni kemik apozisyonu olduğunu ve kemik dokusunun geri dönüşümsüz bir şekilde implanta bağlandığını görmüştür. Brånemark tespit ettiği bu fenomene 'osseointegrasyon' adını vermiştir. Silindir formunda dizayn ettiği titanyum implantın ilk formlarını hastalara uygulayıp uzun süre takibini yaptıktan sonra sonuçlarını literatüre sunmuştur (5). Daha sonra çalışmalarının sonucunda; dental implant cerrahisinin protokolünden, dirillerle kemikte çalışırken kemiğin oluşan ısıdan korunması için bolca sıvı irrigasyonu gerektiğinden ve titanyum implant silindirlerinin kemikle entegrasyonu için bir iyileşme periyoduna gerek olduğundan detaylıca bahsetmiştir (6). Aynı dönemde bir başka araştırma grubunda implant yüzey teknolojisiyle ilgilenen Schroeder et al, implant ile kemik arasındaki bağlantıyı " fonksiyonel ankiloz" olarak tanımlamıştır (7).

2.2. OSSEOİNTEGRASYON

Osseointegrasyon kavramı ilk defa Brånemark ve ark. tarafından literatüre sunulmuş, sonrasında birçok araştırmacı bu konuda önemli çalışmalar yapmıştır. Sonuçta osseointegrasyon "canlı kemik dokusunun implanta komşu yüzeyi ile yükleme altındaki implant yüzeyi arasında fibröz doku olmaksızın direkt yapısal ve işlevsel bağlantı " olarak tanımlanmıştır (7). Osseointegre olan bir dental implant elektron mikroskobu ile incelendiğinde kemik doku ile implant yüzeyi arasında yumuşak doku olmaksızın direkt temasın olduğu görülmektedir.

Kemikte hazırlanan sokete yerleştirilen implant materyali üzerinde oluşan kemik apozisyonunun tamamlanması sürecinde, çevresindeki spongios ve kortikal kemikte bir dizi biyolojik olaylar gelişmektedir. Osseointegrasyonun kemik rezorpsiyonu ve kemik

apozisyonu gibi birbiri ardınca gerçekleşen süreçleri insan ve hayvan çalışmalarında histolojik olarak detaylıca açıklanmıştır.

Terheyden et al. 2012’de yaptığı derlemede osseointegrasyonu 4 fazda ele almıştır; 1) Eksüdatif faz (hemostaz), 2) Enflamatuar faz, 3) Proliferatif faz, 4) Remodelasyon fazı (9).

I. **Eksüdatif Faz** : İmplant drilleri ile soketin hazırlanıp implantın yerleştirilmesiyle başlayan ve dakikalar ile saatler arasında süren bir süreçtir. Kemik matriksinin mekanik olarak bozulmasıyla içerisinde depolanmış olan büyüme ve farklılaşma faktörleri serbest kalır. Kemik içindeki kesilmiş damarlardan çıkan kan, defekt alanında ilk Extra Cellular Matrix’i (ECM) oluşturmak için fibrinojen polimerizasyonunun altyapısını kurar. İmplant yerine yerleşir yerleşmez implant yüzeyi su molekülleri ve iyonlarla etkileşime geçer ve yüzeyin yük paterni değişir. Kalsiyum gibi iki değerlikli pozitif yüklü iyonlar eşit bir şekilde negatif olarak yüklü eşdeğerlerine potansiyel olarak bağlanırlar. İyonları takiben özellikle ilk olarak yüksek konsantrasyonda albümin yüzeye tutunurken sonrasında vitronektin ve fibronektin yüzeye adsorbe olur. Protein adsorbsiyonu sayesinde implant yüzeyine hücre bağlanması gerçekleşir. Bu yüzden özellikle fibronektin gibi yüzey proteinleri hücre bağlanma bölgeleri (RGD sekansı) içererek hücresel adezyon proteinleri (integrinler) ile etkileşime girerler (10). Aktive olan integrinler fibrinojen ile etkileşime geçerek trombosit tıkaçı oluştururlar. Aynı zamanda trombositler kollajene bağlanarak implant yüzeyine doğru kollajen fibrillerini oluşturup yüzeye bir ağ gibi bağlanmalarını sağlar. Bağlanma sonucunda degranüle olan trombositlerden salınan sitokinler enflamatuar fazı başlatır (9).

II. **Enflamatuar Faz**: İmplant yerleştirildikten yaklaşık 10 dk sonra başlar ve cerrahi sonrası ilk güne kadar sürer. Trombositlerin degranülasyonu ile başlayan süreçte; ortama parçalanmış trombositlerden *platelet-derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor beta* (TGF- β), *basic fibroblast growth factor* (bFGF) salınır ve ilk fazda oluşan vazokonstriksiyon bu faz ile vazodilatasyona döner.

Konak savunmasının ilk cevabı olarak polimorfonükleer lökosit (PMN) ve makrofajlar damarlardan ortama salınır. İlk önce ortama hakim olan PMN'ler ortamda bulunan bakterileri elimine etmek için reaktif radikalleri ortama salar. Aynı zamanda kollajenaz ve elastaz gibi sindirim enzimlerini de ortama salar. Bu enzimler aynı zamanda implantın çevresindeki yaralanmış ve sağlıklı dokuları da sindirerek hasara uğratar. Akut dönem geçince ortama lenfosit ve makrofajlar hakim olur. Bakteri, debris ve işlevi bitmiş nötrofilleri ortamdaki temizlerken aynı anda salgıladıkları proenflamatuar sitokinler, *vascular endothelial growth factor* (VEGF), PDGF ve FGF ile enflamatuar fazı sonlandırırlar. Makrofajlardan salınan anjiogenik ve fibrojenik büyüme faktörleri ile proliferatif faz başlar. Enflamatuar fazı sınırlandırmak için antibiyotik ve lokal dezenfektanlar kadar önemli olan diğer bir husus da cerrahi bölgenin mümkün olan en temiz haliyle cerrahi işlemi sonlandırmak ve bu şekilde en düşük bakteriyel inokülasyonu sağlamaktır (9).

III. Proliferatif Faz: Proliferatif faza geçiş; enflamatuar fazın akut döneminde degrade olan ECM'nin yeniden oluşması ve anjiogenezis ile karakterizedir. Yeni oluşan bu dokuya granülasyon dokusu denir. Bu fazın süresi bir kaç gün ile hafta arasında değişir. Makrofajların salgıladıkları VEGF, PDGF ve FGF ile endotelial hücrelerin prekürsörleri uyarılarak anjiogenezis uyarılmış olur. VEGF'e cevap olarak damar duvarlarından salınan *perisitler* endotelial progenitor hücrelere dönüşerek oksijenin düşük olduğu alanlara doğru kümelenerek tüp şeklinde ilerlerler. Oluşan vasküler tüplerin mevcut damarlarla birleşmesiyle meydana gelen yeni vasküler looplara kan akımını yeniden başlatır ve anjiogenezis gerçekleşir. Sonuç olarak osteogenezis gerçekleşmesi için anjiogenezis bir önkoşuldur. Yeni kemik oluşumu sadece kan damarlarına yakın olan alanlarda meydana gelir.

Bir osteoprogenitör hücre, integrinler vasıtasıyla implant yüzeyine tutunur. İntegrinler de ECM proteinlerine tutunmasını sağlayan, fibronektinde olduğu gibi RGD motifleridir. Bir osteoblast direkt metal yüzeyine tutunamaz ama implantın en dışındaki protein tabakasına tutunur. Kemik prekürsör hücreleri, titanyum

yüzeyinde fibronektin üretimi gerçekleştirerek hücrel atışman için gerekli olan ortamı hazırlamış olur. İmplant yüzeyine sıkıca tutunduktan sonra osteoprogenitör hücreler kemik üretimi için aktif olan osteoblastlara dönüşür ve osteoblastlar da moleküler markır olarak osteokalsin ve alkalın fosfotaz sentezlemeye başlar.

İmplant ilk yerleştirildiğinde yivleri ile kemik arasında oluşan sürtünmeden dolayı primer stabilite kazanır. Primer stabilite implantın yerleştirildiği ilk gün önemlidir. Normal şartlarda sekonder stabilite gelişmeden önce, primer stabilite kritik seviyelere kadar azalacağından ilk hafta en zayıf fazdır. İmplant yerleştirildikten yaklaşık bir hafta sonra yeni kemik apozisyonu başlar ve primer kemik temaslarının yerini yeni oluşan sekonder kemik temasları alır (11).

Soketin içinde, dril ile kemiğin yaralanmasından sonra oluşan ilk kemik *woven bone*'dur. Woven bone oluşumu mevcut kemikten implant yivlerinin arasına doğrudur. Osteoblastların Tip 3 kollajen matriks sentezlemesiyle alveol kemiğinde intramembranöz kemikleşmeyle yeni kemik oluşumu başlar. Sürecin sonunda her koşulda Tip 1 kollajen kemikte yerini alır. Bu matriks daha sonra hidroksiapatit tarafından mineralize edilir. Primer kemik oluşmu sırasında mineralizasyon daha hızlı olur ancak; tam olarak organize değildir ve kollajen ile (ekstrafibriller) entegrasyonu gerçekleşmemiştir. Remodeling safhasında *woven bone* osteoklastlar tarafından kaldırılır ve yerlerine lameller kemik oluşur. Daha sonra; nanometrik ölçekte yönlendirilmiş hidroksiapatit kristal plakları belirli bir dizilim göstermeksizin kollajen lifler içersinde (intrafibriller) oluşur (12).

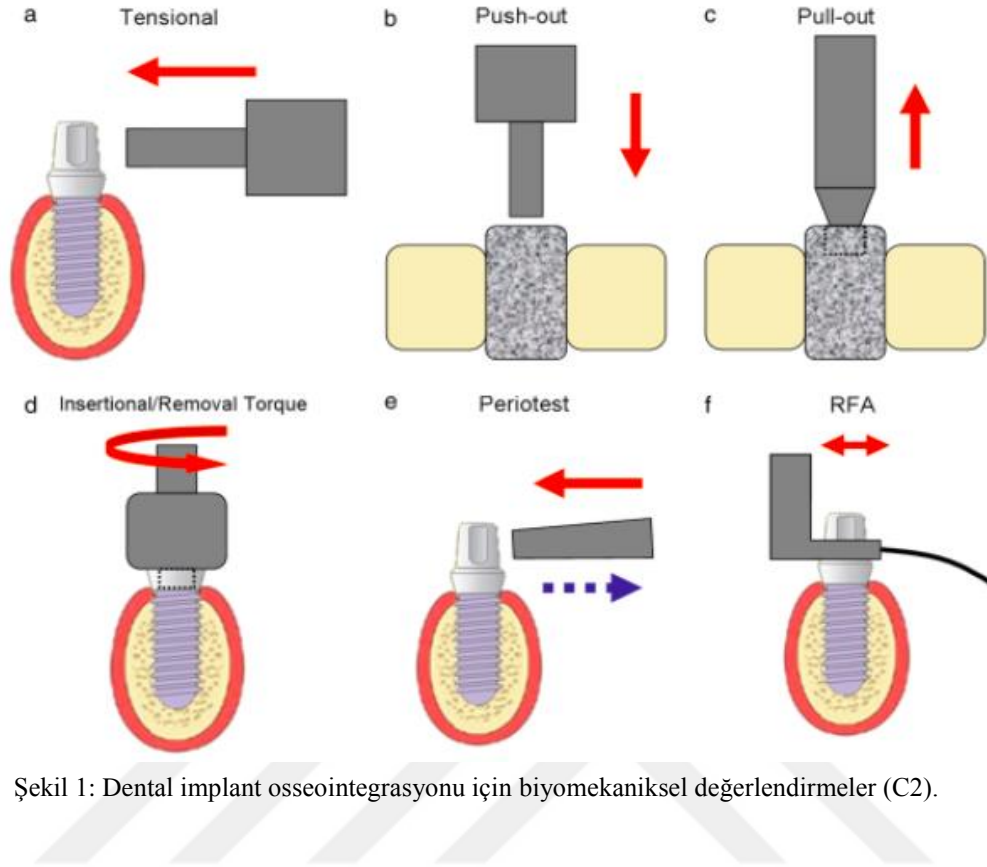
- IV. **Remodelling Fazı:** Kemik yapısının remodelasyon fazındaki hücrel anlamda önemli elemanlarından birisi de osteoklastlardır. Kemikte yara oluşmasını takiben birkaç gün sonra ortamda görülürler. Yeni kemik oluşumu için gerekli olan boşluğu hazırlar ve primer kemik-implant temaslarını ortadan kaldırır. Remodelasyon fazı; primer kemik temasını oluşturan *woven bone* ve olgun kemiğin yeri, yeni oluşmuş kemik dokusu ve yükleme kuvveti ile yönlendirilmiş kemik dokusuyla yer değiştirinceye kadar devam eder. Remodelasyondan sonra oluşan kemik lameller kemiktir ve lameller kemiğin kollajen lifleri, woven

bone'dan farklı olarak kemikten çıkarak ilerler ve implantın vida yivlerine dikine bağlanır. Osseointegrasyonun son aşaması olan remodeling fazı hayat boyu devam eder ve implanta gelen yüklerin şiddeti ve yönüne göre kemikte apozisyon-rezorpsiyon şeklinde gerçekleşir (9). İmplantların iyileşme prosesinde genellikle marjinal alveol kemik yüksekliğinde azalma olur. Buna göre implant yerleştirildikten sonraki ilk yıl ortalama 0.5-1.5 mm vertikal kemik kaybı gözlenmektedir.

2.3. İMPLANTIN STABİLİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

İmplant stabilitesi osseointegrasyon için bir zorunluluktur. İmplant stabilitesi olmaksızın uzun dönem başarıyı kazanmak mümkün değildir. Nicel ve objektif bir biçimde devamlı olarak yapılan gözlemler implant stabilitesinin durumunu belirlemede oldukça önemlidir. Osseointegrasyon, implantın kemiğe ilk yerleştirildiğinde elde edilen primer stabilite ile daha sonraki süreçte çevre kemik dokusunun remodelasyonu ile elde edilen sekonder stabilitenin bir ölçümüdür (13). Primer stabilite (mekanik stabilite) genellikle kortikal kemikle implantın yivleri arasında oluşan sıkı temasla elde edilir. Sekonder stabilite ise kemik rejenerasyonu ve remodeling yoluyla oluşan biyolojik stabiliteye denir.

Primer stabilite; kemik kalitesi ve miktarı, cerrahi teknik ve implant geometrisinden (uzunluk, çap, yüzey özellikleri vb.) etkilenmektedir. Sekonder stabilite (biyolojik stabilite) ise primer stabiliteye bağlıdır. Primer stabilitesi yeterli olan implantın çevresinde kemik hücrelerinin artması ve yeni kemik oluşmasıyla sekonder stabilite oluşur. İmplantların stabilitesini değerlendirmek için birçok metod vardır. Bunlar invaziv ve invaziv olmayanlar şeklinde iki grup altında incelenebilir (Şekil 1) (14).



Şekil 1: Dental implant osseointegrasyonu için biyomekaniksel değerlendirmeler (C2).

2.3.1. İnvaziv Metotlar

2.3.1.1. Histomorfometrik Analiz

İmplant ve çevresindeki kemik dokusundan elde edilen boyanmış kesitlerden implantı çevreleyen kemik miktarı ve kemik-implant teması hesaplanarak elde edilen analizdir. Tam ve kesin bir değerlendirmeye olanak sağlamakla birlikte invaziv ve destrüktif bir işlem olması uzun dönem çalışmalar için yöntemi elverişli kılmaz. Kliniksel olmayan ve deneysel çalışmalarda bu metod kullanılmaktadır. Cerrahi öncesi, cerrahi aşaması ve cerrahi sonrası zamanların değerlendirilmesine olanak sağlar (15).

2.3.1.2. Germe Testi (Tensional Test)

Önceki dönemlerde kullanılmaktaydı. İmplantın destek kemik dokusundan sökülmesi esnasında elde edilen verilere dayanmaktaydı. Daha sonra Bränemark implant üst yapısına lateral yük uygulayarak modifiye etmiştir (Şekil 1a). Ancak; test sonuçlarının

etkili bir şekilde değerlendirilemesindeki zorluklardan dolayı etkin bir şekilde kullanılamamıştır (16).

2.3.1.3. Push-out / Pull-out Testi

Çekme testi implant kemik temasındaki iyileşme yeteneklerini araştırmaktadır. İmplant kemik temasına paralel uygulanan arayüzey kesme kuvvetini ölçer. Klasik silindirik şeklinde bir implant kemiğe transkortikal veya intramedullar yerleştirildikten sonra implant-kemik temasına paralel uygulanan kuvvetle çıkarılır (Şekil 1b,c). (17). İyileşme periyodu sırasında değerlendirilir. Klinikte kullanılan implantların çoğunluğu vida tipi yivli implantlar olmasına rağmen bu testler sadece yivsiz implantlarda uygulanabilmektedir.

2.3.1.4. Geri Çıkarma Torku Testi

Geri çıkarma torku testi implant üst yapı parçalarının bağlandığı sırada sekonder stabiliteyi değerlendirmeye olanak sağlar. Bu test uygulanırken oluşan stres implantın yüzeyinin, bir kısmının veya tamamının kırılmasına yol açabileceğinden klinik kullanımı mümkün değildir. Bu yüzden deneysel çalışmalarda kullanımı uygundur. Kuvveti kademeli olarak arttırılan tork cihazı ile uygulanan bu yöntemde implantın çevre kemik dokudan ayrıldığı andaki tork değeri implant stabilitesini gösterir (Şekil 1d). İmplantın geri çıkarma torku değeri 20 Ncm'den büyükse implant stabil olarak kabul edilir (18).

2.3.2. İnvaziv Olmayan Metodlar

2.3.2.1 Cerrahın El Hassasiyeti

Primer stabiliteyi anlamak için kullanılan en basit yöntemlerden birisidir. İmplant drilleri ile kemikte kesme-delme işlemi yapılırken hissedilen direnç, implantı yerleştirirken yivlerde meydana gelen sürtünme kuvvetinin oluşturduğu his, implantın tam olarak yerine oturduğunda alınan sıkışma hissi tecrübeli bir cerrah tarafından implantın primer stabilitesini belirlemede önemlidir (19). Ancak sayısal bir karşılığı olmaması, bu hissin kişiler arasında objektif aktarımının olmaması ve implantın

yüklenmesinden önceki durumuyla ilgili bilgi vermemesinden dolayı bu metod implant stabilitesine ait bir veri olarak kullanılamaz.

2.3.2.2. Radyolojik analiz/görüntüleme teknikleri

Radyografik değerlendirme, tedavinin istenilen her aşamasında yapılabilen, implantın pozisyonu, çevre kemik yoğunluğundaki değişimi ve kemik miktarının gözlenmesine olanak sağlayan invaziv olmayan bir yöntemdir. Konvansiyonel periapikal ve panoramik filmler kemiğin yoğunluğu, kalitesi ve implantın stabilitesi hakkında kesin bilgi veremez çünkü 3 boyutlu yapıyı 2 boyutta gösterdiği gibi kemiğin mineral yoğunluğunun en az % 40'ı azaldığında bunu radyografilerle görebiliriz (20). Bukkaldeki kemik dehisenisi gibi farklı kemik defektlerini periapikal veya panoramik filmlerle görebilmek mümkün değildir. Bu noktada, kristal kemik seviyesi değişiminin ve kemik yoğunluğunun bilgisayar destekli ölçümleri en doğru radyografik bilgileri verebilir.

2.3.2.3. Kesme Torku Rezistansı Analizi (Primer Stabilite için)

Johansson and Strid tarafından geliştirilen bu teknikte düşük hızda çalışırken drilleme sırasındaki el basıncını kontrol ederek akım beslemeli elektrik motoruyla kaldırılan birim kemik hacmi miktarı ölçülür (21). İmplantın yerleştirildiği seansta implant osteotomisi sırasında kemiğin yoğunluğunun düşük olduğu alanlarını belirler ve kemiğin sertliğini ölçer. Ancak bu teknik osteotomi alanı hazırlanıncaya kadar kemik kalitesi hakkında hiçbir bilgi vermez ve ayrıca kesme tork değerinin en düşük kritik sınırını tespit edemez (örneğin implantın risk altında olabileceği değer gibi).

2.3.2.4. İmplant İnsersiyon Torku Ölçümü

İmplant yerleştirilirken ne kadar enerji harcandığı ve primer stabilite hakkında bilgi verir. İmplantın kesici yiv özellikleri, boyun bölgesindeki kortikal kemiğin yoğun olması ve işlem esnasında ortamda sıvı bulunmasına bağlı olarak ölçümlerin etkilenmesi yöntemin dezavantajıdır. Ayrıca tedavinin ileri aşamaları hakkında bilgi vermez. Ölçülen değer yüksek olması koronal yada apikal alanlarda kortikal kemiğe çarpıldığını ve

fraktür hattı oluşturulduğunu da gösterebilir. Son olarak sekonder stabilite hakkında bilgi vermez (22).

2.3.2.5. Reverse Tork Testi (Geri Çıkarma Torku Testi)

İmplantların sekonder stabilitesini değerlendirir. Reverse tork uygulandığında implantın dönmesi demek, kemik-implant kontağının (KİK) bozulması demektir. Ayrıca eşik sınırları; hastalar, implant materyalleri, kemik kalitesi ve miktarı arasında farklılık göstereceğinden bu test osseointegrasyon derecesinin miktarını ölçemez. Başarılı bir tedavi sonucu için kullanışlı bir indikatör olan lateral stabiliteyi de ölçemez (23).

2.3.2.6. İmplant yerine oturma torku testi

İmplant insersiyon torku gibi final implant oturtma torku da implant apiko-okluzal pozisyonda tam yerine yerleştiğinde implantın primer stabilitesi hakkında bazı bilgi vermektedir (24).

2.3.2.7. Modal analiz ve İmplatest

Modal analiz, vibrasyon analizi ile aynı anlama gelmektedir ve eksternal durağan durum dalgaları veya bir geçiş impuls kuvveti ile başlatılan bir rezonans içindeki doğal frekans yada yer değiştirme sinyalini ölçer. Sonlu eleman analizi ve dinamik analiz olarak iki şekli vardır.

İmplatest ise daha çok mühendislik dallarında kullanılan ve implant stabilitesini dijital ortamda görüntüleyen bir analiz yöntemidir (24, 25). Bir implantın konvansiyonel impuls testi; bir hızlandırıcının teller ve bağlaçlar vasıtasıyla implanta bağlanarak uyumlandırılmasına ve kalibre edilmiş bir çekiçle implanta vurulmasına ihtiyaç duymaktadır. Daha sonra datalar kaydedilir ve yorumlanır. İmplantların elektrik impuls metodu ile test edilmesinin amacı; implantların ayırt edici özelliklerini karakterize etmek, analiz etmek ve göstermektir.

2.3.2.8. Perküsyon testi

Osseointegrasyon seviyesini tahmin etmede kullanılan en basit testlerden biridir. Titreşimsel-akustik bilimi ve etki-tepki cevabı teorisine dayanmaktadır. Metal bir aletle implantın taşıyıcı parçasına hafifçe vurularak çıkan sese göre stabilite iyi veya kötü diye belirlenir. Berrak ve tok bir ses geldiğinde osseointegrasyon iyi, az yoğun ve donuk bir ses geldiğinde ise implant çevresinde yumuşak doku kapsülü oluşumu yani başarısızlık şeklinde değerlendirilme yapılır. Subjektif bir testtir ve genellikle güvenli bir yöntem olarak kabul edilmez (26).

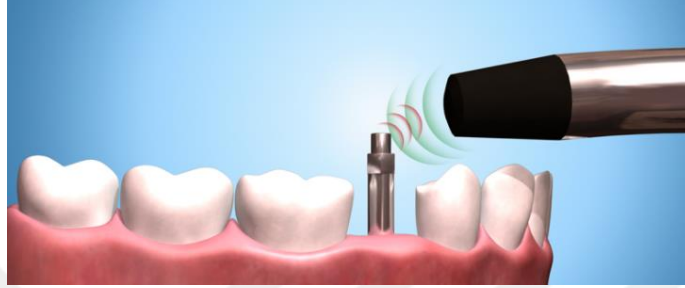
2.3.2.9. Periotest

İmplant veya doğal dişlerin çevre dokularının belirli bir kuvvet karşısında reaksiyonlarını ölçerek mobilitiyeyi tespit eder. İlk kez Schulte et al. tarafından doğal dişlerin periodontal ligamentinin zayıflayan özelliklerini ölçmede kullanılmıştır (27, 28). Periotestte ölçüm değerleri -8 ile +50 arasındadır. Testte belirtilen değer ne kadar düşükse ölçülen dişin ya da implantın stabilitesi o kadar iyidir (29). Periotest ile implantasyonun her safhasında primer stabilite ölçülebilir. Osseointegrasyon seviyesinin implantların yüklenmesine izin verecek düzeyde olup olmadığının değerlendirilmesinde kullanılabilir (29). -8 ile 0 arası olan değerler; yeterli osseointegrasyon, implant yüklenebilir demektir. +1 ile +4 arası değerler; klinik muayene gerekli, bir çok vakada implantlar yüklenmeye henüz hazır değildir. +10 ile +50 arası değerler; Osseointegrasyon yetersiz, implant yüklenmemelidir

2.3.2.10. Rezonans Frekans Analizi (RFA)

İlk olarak Meredith'in 1998 yılında tanımladığı bu objektif yöntemle implantların lateral yönde primer stabilitesi ve daha sonraki istenilen her dönemde sekonder stabilitesi ölçülebilmektedir (30). Geçmişte L şekline benzeyen, vida ile implanta sabitlenen ölçüm parçasına sahip cihaz modeli kullanılmıştır. Günümüzde "SmartPeg" denilen baş kısmında manyetik alan ihtiva eden özel metal parçası implanta yerleştirildikten sonra temassız bir şekilde ölçüm yapılmaktadır (Şekil 2). Elde tutulan Osstell ISQ cihazının kablolu uç kısmıyla implanta sabitlenen metal çubuğun mıknatıs kısmına manyetik

uyarılar gönderilir (Şekil 3A). Metal çubuk birbirine dik olan iki yönde manyetik uyarıyı alır ve titreşim gösterir. Bu iki yönden alınan titreşimlerden birisi implantın en stabil olduğu yön, diğeri de en az stabil olduğu yöndür (Şekil 3B).



Şekil 2: SmartPeg ile Ostell ISQ kablosu arasında gerçekleşen manyetik alan ve temassız ölçüm (31).

Her implant firmasına özel olarak üretilen SmartPeg implanta yerleştirildikten sonra Ostell ISQ cihazının ucu SmartPeg parçasına temas etmeyecek şekilde 1-2 saniye süren ölçüm yapılır. İmplantın stabilite değeri cihazın ekranında okunan ISQ (İmplant Stability Quotient- İmplant Stabilite Katsayısı) ile ifade edilir (31). 0-100 arasında değişen ISQ değerleri genellikle 40-85 arasında değişmekte; 40 başarısız implantı, 85 ise maksimum stabiliteye sahip bir implantı gösterir (25). Klinik çalışmalarda başarılı bir implant stabilitesi için kabul edilen ISQ değeri 55-85 aralığındadır (19, 32,33).



Şekil 3: A, Ostell ISQ cihazı ve ölçüm kablosu. B, SmartPeg ile birbirine dik iki ölçüm yapılması.

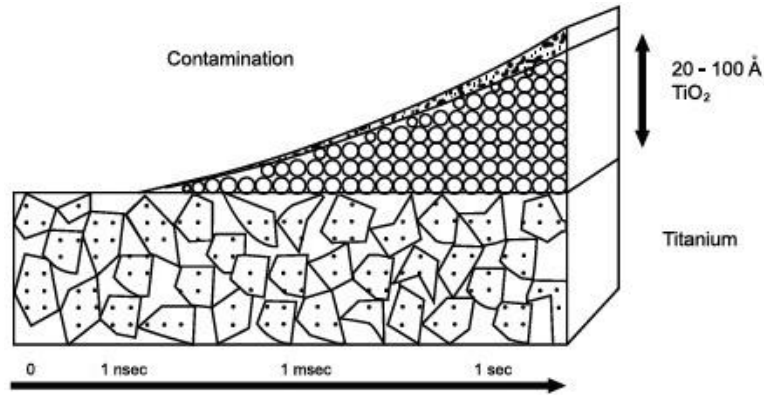
Cihazın kablolu ucu SmartPeg'ten 1-3 mm uzaklıkta, 90° açıyla ve yumuşak dokunun 3 mm üzerinde olacak şekilde ölçüm yapılmalıdır. Aksi halde, ölçülen değer bunlardan etkilenebilir.

2.4. DENTAL İMPLANTLARIN YÜZEY KARAKTERİSTİĞİ

2.4.1. İMPLANT YÜZEY ÖZELLİKLERİ

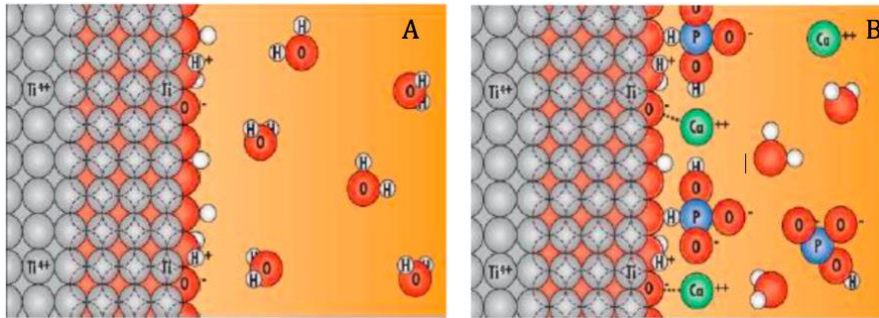
Osseintegrasyonun miktarı ve kalitesi implant yüzey özellikleriyle oldukça yakından ilgili olduğundan modern titanyum implant yüzeyleri, yerleştirildikleri kemik dokusunun osteojenik hücre popülasyonuna optimal cevap verebilecek şekilde yüksek biyouyumluluğa sahip olmalıdır (34, 35). Dental implant materyali olarak kullanılan 'titanyum' metalinin; insan kemiğine yakın olan elastik modülü, düşük molekül ağırlığı, ani yüklemelere karşı gösterdiği dayanma drensinin kortikal kemik ve dentinden fazla olması, gerilme tipi kuvvetlere gösterdiği direnç en önemli avantajlarından (36). İmplant yüzeyinin oksit kompozisyonu ve kalınlığı, yüzey fizikokimyası ve yüzey topografyası; protein adsorpsiyonu, hücre-yüzey etkileşimi ve hücre/doku gelişimi gibi süreçleri etkileyerek osseintegrasyonunun başarısında büyük önem taşır (37).

Tüm titanyum implantların yüzeyleri hava ile temasa geçtikleri anda kontamine olurlar ve implant yüzey özelliği tipine göre değişen miktarlarda TiO_2 , TiO , Ti_2O_3 kompozisyonundan oluşan bir oksit tabakası ile kaplanır. Kalınlığı değişmekle birlikte genellikle 20-100 Å⁰ aralığındadır (Şekil 4). Yüzey özelliği bozulduğunda reokside olma özelliğine sahiptir. Kalınlık farkı ise fabrikasyon teknikleri ve sterilizasyon işlemlerine bağlı oluşmaktadır.



Şekil 4. Titanyum yüzeyinin hava ile temasa geçmesi ile yüzeyde meydana gelen TiO_2 tabakasının kalınlığında zamanla meydana gelen değişim.

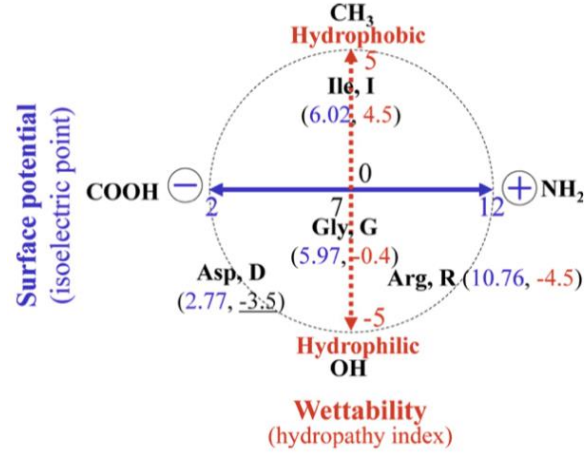
Titanyum disklerin üzerindeki oksit tabakasının kalınlığı ve içeriği incelendiğinde, TiO_2 (Titanyum Oksit)'in ortama hakim oksit tipi olduğu gösterilmiştir (38). Bu oksit tabakası birçok koşulda yalıtkan özelliğe ve ECM'nin ihtiva ettiği biyolojik moleküllerin adezyonuna ve bağlanmasına etki eden bir negatif yüzey yüküne sahiptir (Şekil 5A) (39). Titanyum oksit tabakasının negatif yüklü oksijenle bağlanmasıyla oluşan oksidize yüzey, vücut sıvılarıyla girdiği etkileşim sonucunda kalsiyum (Ca) iyonu ile bağ oluşturur (Şekil 5B). Ca metabolizmasına benzer şekilde titanyum yüzeyi de serum proteinleri, albümin ve proteoglikan gibi asidik molekülleri absorbe ederek anyonik yapıdan katyonik yapıya değişim gösterecektir (40).



Şekil 5. A, Titanyum yüzeyi ve oluşan oksit tabakası. B, Negatif yüklü titanyum oksit ile Ca iyonun bağlanma mekanizması.

Osseointegrasyonun başarılı olması için kemik ile yüzeyde oluşan bu oksit tabakası direkt temas etmelidir (7, 41). İyi bir hücre-yüzey etkileşiminde; hücrelerin biyomateryale karşı adezyonunu arttırmak için biyomateryal yüzeyinin fizikokimyasal olarak ECM'ye benzer olması arzu edilmektedir çünkü; biyomateryale olan hücre adezyonuna ECM molekülleri aracılık eder. ECM moleküllerinden olan proteinler biyomateryal yüzeyine spontan olarak kültür ortamı ve diğer vücut sıvılarından adsorbe olabildikleri gibi kemik yapıcı hücrelerin kendi bünyesinde de bulunabilir. Bir biyomateryal biyolojik ortama yerleştirildiğinde yüzeydeki ilk hücre bağlanmasında bu proteinlerin önemli rol oynadığı çalışmalarda bildirilmektedir (42-44).

Yüzey topografisi hücre davranışı üzerine belirgin etkiye sahiptir (45). Genellikle pürüzlü yüzeylere olan hücre adezyonu düzgün yüzeylerdekinden daha fazladır ancak gerçek adezyon oranı hücre tipine bağlıdır (46). Yüzey topografisine örnek olan kontak rehberliği; hücrelerin materyalin yüzeyindeki çukurcuklar boyunca sıralanmasını ifade eden bir fenomendir (47). Yüzey pürüzlülüğü in vitroda; osteoblast çoğalmasını, farklılaşmasını ve matris üretimini değiştirmektedir. İn vivo da; hücrelerin fenotipik ekspresyonunu belirlemede rol oynamaktadır (48). Yüzey topografisi yüzeyin işlendiği makine, kumlama, asit uygulanması ya da lazer litografisi ile değiştirilebilir. Yüzey fiziko-kimyası ise; proteinlerin, bakterilerin ve hücrelerin materyal yüzeyi üzerinde tutunmasını (adsorbsiyonu) içermektedir. Yüzeyde tutunma olayı iki madde arasındaki afiniteyi (birbirine ilgiyi) yansıtmaktadır. Titanyum implantları ele aldığımızda; iki maddeden birisi implant yüzeyi diğeri de implantın koyulduğu ortamda yüzeye ilk bağlanan proteinlerdir. Adsorbsiyon özellikleri primer olarak; hidrofobisite (ıslanabilirlik) ve elektrokinetik potansiyelinden etkilenmektedir. Protein içerisindeki aminoasitlerin hidropati indeksleri *yüzey ıslanabilirliğini*, izoelektrik noktaya göre yüzey elektrik yükleri de aynı aminoasitlerin *elektrokinetik potansiyelini* göstermektedir (Şekil 6) (49).



Şekil 6: Aminoasitlerin izoelektrik noktası (x eksenini) ve hidropati endeksi (y eksenini)

Titanyum implantlar gibi biyomateryallerin topografisi, pürüzlülüğü, kimyası ve yüzey enerjisi; biyomateryalin üzerine yukarıda bahsi geçen proteinlerin adsorbe olması, hücre adezyonu ve proliferasyonunda önemli rol oynar (50, 51). Kimyasal kompozisyon, enerji, topografi ve pürüzlülük kemik oluşumu ile ilgili olarak en çok incelenen yüzey özellikleridir. İmplantların yüzey topografisi ve yüzey pürüzlülüğünün kemik formasyonu prosesi üzerine etkileri yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Çalışmalarda yüzey pürüzlülüğü çok fazla olan Ti implantların daha çok kemik-implant temasına olanak sağlayabileceği ve geri çıkarma torku kuvvetini arttırabileceği gösterilmiştir (52-55).

Yüzey topografisi ve pürüzlülüğü yanında yüzey hidrofilitesi/ıslanabilirliği araştırmacıların ilgisini çekmeye başlamıştır. Bir biyomateryal biyolojik ortama maruz kaldığında yüzeye ilk ulaşan molekül sudur. Bu yüzden materyallerin hidrofilitesi, hücre adezyonu ve protein adsorbsiyonu arasında bir ilişki vardır. Yüzey hidrofilitesi yani ıslanabilirliği yüksek olan yüzeylere protein adsorbsiyonu ve hücre adezyonu daha hızlı ve kolay olmaktadır (57, 57). Hidrofilik yüzeyin yara iyileşmesinin erken fazı sırasında büyük bir avantaj sağladığı, osseointegrasyonu hızlandırdığı çalışmalarda gösterilmiştir (58, 59). Hayvan çalışmalarında aynı yüzey topografisine sahip hidrofilik ve hidrofobik implant yüzeleri karşılaştırıldığında iyileşmenin 2 ve 4. haftalarında hidrofilik yüzeyin anlamlı olarak daha fazla kemik-implant temasına sahip olduğu gösterilmiştir (60).

Hidrofilik yüzeylerin ıslanabilirliği önemli bir fizikokimyasal özelliktir ve protein adsorpsiyonu ile hücre davranışını regüle eder. Hidrofilik yüzeylerin osteoblastların hücresel davranışları üzerindeki etkisi, çeşitli hücre kültürü ve hayvan modelleri kullanarak incelenmiştir (61-64). Sonuçlara bakıldığında yüksek yüzey enerjisine sahip hidrofilik yüzeyli implantların osteoblastların diferansiyasyonunu hızlandırmada daha yüksek etkiye sahip olabileceği; Alkalın Fosfataz (ALP), Osteokalsin (OK), Transglutaminaz II (TG II) gibi hücre diferansiyasyon ve hücre aktivite markırlarının yüksek ekspresyonu gösterilerek ortaya konmuştur (65, 66). Osteoblastlar için Tip I kollajen ve Osteoprotegerin (OPG) gibi kemik-spesifik diferansiyasyon markırlarının ekspresyonları hidrofilik yüzeyler üzerinde daha yüksek oranda bulunmuştur. Hidrofilik yüzeylerdeki hücreler TGF- β 1 ve Prostaglandin E2 (PGE-2) gibi daha fazla sitokin üreterek bir osteojenik mikroortam oluşturabilir (65, 66).

2.4.2. İMPLANT YÜZEY DÜZENLEMELERİ (MİKRODİZAYN)

Dental implantların yüzey özellikleri; moleküler etkileşimler, hücresel cevaplar ve kemik oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. Osseointegre implantların başlangıcıyla birlikte implant yüzeyleri için *Brånemark titanyum yüzeyi* altın standart olarak kabul edilmektedir. Titanyumdan yapılmış bir rodun tornalanmasıyla dental implantlar elde edilmektedir (67). Oluşan yüzey, tornalama yönü boyunca girinti ve çıkıntılardan oluşan uniform bir yapıdadır. Birçok bilimsel yayında bu implantlar '*işlenmiş=machined*' yüzey diye adlandırılmış olsa da frezeli, pürüzlü, kumlanmış, elektrik akımı verilmiş ve cilalı yüzeyleri içeren başka birçok tipte *işlenmiş* implant yüzeyleri vardır (68).

İkinci jenerasyon implant yüzeyleri, artmış bir yüzey topografisi elde etmek için kimyasal ve topografik modifikasyonlar ile geliştirilmiştir. İşlenmiş implant yüzeylerine uygulanan bu yöntemlerle temelde amaçlanan; yüzeyin mikropürüzlülüğünü arttırarak daha hızlı kemik oluşumu sağlamaktır (69).

Dental implantların yüzey topografisi substraktif ve additif işlemlerle değiştirilebilir. Substraktif işlemler; elektropolisaj, mekaniksel polisaj, kumlama ve

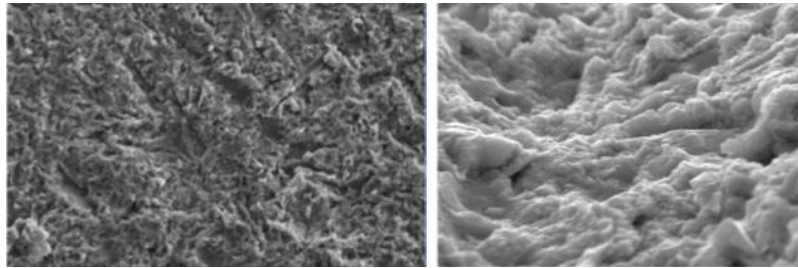
asitlemeyi içermektedir. Additif işlemler; oksidasyon, Hidroksiapatit (HA) ve kalsiyum fosfat (CaP) kaplamanın diğer formları, titanyum plazma sprej (TPS) ve iyon depozisyonunu içermektedir. Kumlama, asitleme, plazma sprej kaplama ve oksidasyon yüzey pürüzlülüğünü artırıp yüzey alanını genişletmektedir.

2.4.2.1. Substraktif Yöntemler

Titanyum implant yüzeyinden madde uzaklaştırılarak implant yüzeyinde mikro düzeyde girinti ve çıkıntılar oluşturulur. İmplant yüzey alanı artırılarak implantın kemikle daha fazla yüzey alanında temas etmesi sağlanır.

2.4.2.1.1. Kumlama

Farklı boyutlarda kum partikülü formunda olan Alüminyum Oksit (Al_2O_3), HA veya TiO_2 tozları titanyum yüzeyine püskürtülerek yüzeyin mikro pürüzlülüğü artırılır. Yüzeyde oluşan pürüzlülük; kullanılan partikülün boyutuna, kumlama süresine, uygulanan basınca ve partikülün püskürtüldüğü kaynakla yüzey arasındaki mesafeye bağlı olarak değişmektedir. Kumlanmış titanyum implant yüzeyleri tornalanmış/işlenmiş yüzeylere göre artmış osteoblast adezyonu, proliferasyonu, farklılaşması ve kemik integrasyonu göstermektedir (Şekil 7) (70-72).



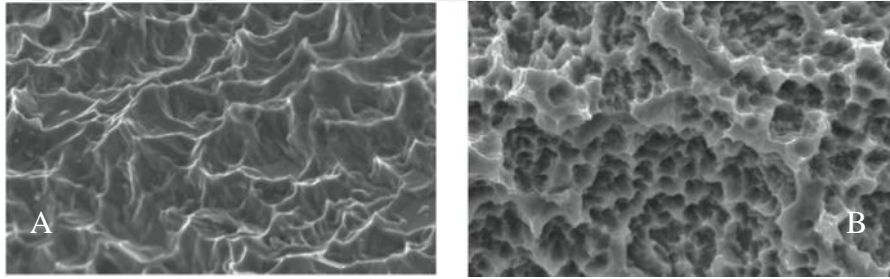
Şekil 7. Sol, HA partikülleri ile kumlanmış implant yüzeyi (MTX, Zimmer Dental, Carlsbad, CA). Sağ, titanyum oksit partikülleri ile kumlanmış implant yüzeyi (Osseospeed, Astra Tech, Mölndal, Sweden) (73).

2.4.2.1.2. Asitle Aşındırma

Titanyum metali korozyona karşı dirençli olsa da bazı asitler titanyum yüzeylerini aşındırmak için kullanılabilir. Sülfürik, hidroklorik, hidroflorik ve nitrik asitler aşındırma

işlemi için kullanılmaktadır. Bu asitler titanyum implant yüzeyini erozyona uğratarak spesifik çap ve şekillerde mikroçukurcuklar oluşturmaktadır (74). Bu işlemle yüzey alanı artabilirken ortalama yükseklik deviasyonu tam olarak artmaz. Bu işlem sonucunda temiz, yüksek detaylı yüzey yapısı olan, kirlilikten yoksun ve minimum ile orta derecede pürüzlülüğe sahip bir yüzey ortaya çıkar (Şekil 8A) (74). Hayvan çalışmalarında asitlenmiş yüzeylere sahip olan implantlar, işlenmiş implantlara göre daha erken sürede daha iyi kemik - implant teması göstermiştir (74, 75). Hızlanmış kemik cevabıyla birlikte klinik olarak kısalmış implant iyileşme zamanı öngörülmüştür (76).

Osseotite implantlar: İmplant yüzeyleri, iki kez asitle pürüzlendirme (dual acid etch) işlemine tabi tutulmuştur. İmplantın kemikle temas eden kısmı hidroklorik ve sülfürik asitle pürüzlendirilirken mukozaya bakan kısmı mikroorganizma retansiyonunu azaltmak için parlak bırakılır. Minimal pürüzlü yüzeye sahip osseotite implantlarda uzun dönem klinik başarı % 95-99 arasında bulunmuştur (77).



Şekil 8. A, asitle pürüzlendirilmiş implant yüzeyi (Osseotite, Biomet 3i, Palm Beach Gardens, FL). B, SLA yüzeyli bir implant (SLA, Straumann, Basel, Switzerland).

2.4.2.1.3. Kumlama ve Asitle Aşındırma

Titanyum dental implantların yüzeylerinin modifikasyonu için sıklıkla kullanılan bir başka yöntem de kumlama ve asitleme işleminin kombine yapıldığı tekniktir. Titanyum yüzeyi ilk önce 0.25-0.50 mm'lik geniş Al_2O_3 kum partikülleri ile modifiye edilir ve makropürüzlülük elde edilir. Daha sonra yüksek sıcaklıklarda hidroklorid/sülfürik asit banyosu yapılarak 1-2 μm 'lik çukurcuklar oluşturularak

mikropürüzlülük sağlanır. X ışını fotoelektron spektroskopisinde (XPS) yüzey incelendiğinde yüzeyin TiO₂'den oluştuğu görülür.

Buser et al, bu özgün yüzeyi **SLA** şeklinde kısaltarak tanımlamıştır ve açılımı da Sand- blasted, Large grit, Acid-etched şeklindedir (52). Kum püskürtmesi orta derecede pürüzlü yüzey oluştururken asitle aşındırma implant yüzeyini temizleyip daha kompleks bir mikroyüzey meydana getirir (78) (Şekil 8B). İşlenmiş yüzeylerle kıyaslandığında kumlanmış ve asitlenmiş titanyum implant yüzeyleri kesinlikle kemik içerisinde daha güçlü bir integrasyona sahiptir. Ancak; kumlanmış ve asitlenmiş yüzeylerin diğer yüzeylerle kıyaslanmasına dair sonuçlar henüz tam kesin değildir (79).

2.4.2.1.4. Kimyasal Olarak Modifiye Edilmiş Asitle Pürüzlendirilmiş - Kumlanmış Yüzey (SLAktif Yüzey)

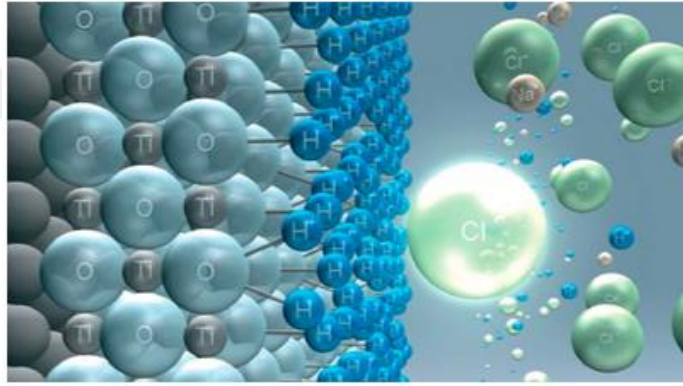
Temel olarak SLA yüzey topografisine uyan, kimyasal olarak daha aktif olan hidrofilik yüzeydir (80). SLAktif yüzey topografisi ve kimyası, yerleştirme sırasında oluşan ıslanabilirliği ve peri-implant alanda oluşan kemik apozisyonunu etkilemektedir. Osseointegrasyonun başlangıç aşamasında osteoprogenitör hücrelerin implant yüzeyiyle direkt etkileşimini sağlayarak periimplanter iyileşmeyi hızlandırır ve kemik formasyonunu erkenden başlatır. SLA yüzey kısmi olarak hidrokarbon ve karbonat kaplamadan dolayı "hidrofobik"tir. SLAktif yüzey ise azot atmosferinde oluşturulup daha sonra izotonik Sodyum Klorür (NaCl) sıvısı içerisinde muhafaza edildiğinden havadaki karbondan ve diğer moleküllerden izole edilmiş durumdadır (Resim 2).



Resim 2. SLAktif yüzeyin yapısı (81)

Dinamik kontak açı analizi ile değerlendirilen SLA ve SLAktif yüzeylerin su temas açısı sırasıyla $\geq 90^0$ ve 0^0 olarak ölçülmüştür. Bu ölçümle SLAktif yüzeyin hidrofilik olduğu gösterilmiştir. Uygun saklama koşulları altında SLAktif yüzeyli implantlar hidrofilik özelliğini 3 yıl devam ettirebilir.

Asitle pürüzlendirme ve kuşlama işlemine ilaveten kimyasal olarak aktif ve hidrofilik olan, osteojenik özelliği zenginleşmiş SLAktif yüzey; osseointegrasyonun başlangıç aşamasında direk hücre implant etkileşimine ortam sağlayarak iyileşmeyi hızlandırır. Rupp et al.'a göre SLAktif yüzeyin koruyucu gaz (N_2) koşullarında asitle pürüzlendirilmesi ve implantın sıvı ortamda saklanması, havayla kontamine olmaması için oldukça önemlidir (82). Bu durum, implantın yüzey termodinamiğinin değişiminde ve ıslanabilirliğinin artmasında ciddi rol oynamaktadır (Şekil 9).



Şekil 9. SLA ve SLAktif yüzeye sahip titanyum implantlar ile disklerin suyla ilk temas ettiklerinde ortaya çıkan görünüm (81)

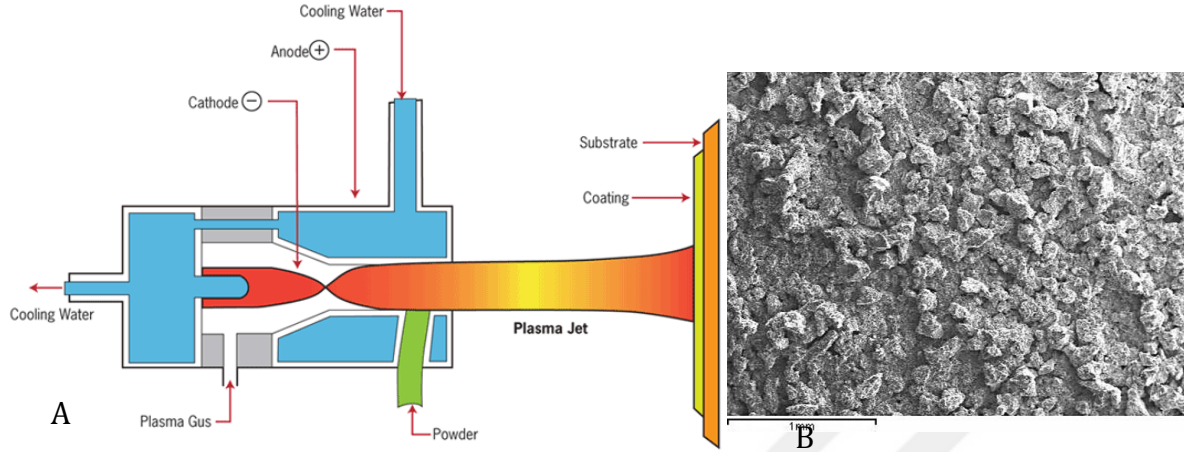
SLA yüzeyli implantlarda implant kemiğe yerleştirildikten hemen sonra implant yüzeyindeki pasif tabakanın organizma tarafından uzaklaştırılması gerektiğinden; bu pasif tabakanın varlığından dolayı yüzeyin kan ve kan ürünleriyle gerçekleşen ilk teması ve hücrel etkileşimler de etkilenmektedir. Koruyucu N_2 gazı ortamında yüzey özellikleri geliştirilen SLAktif implantlar kanla ilk temas ettiğinde osseointegrasyon süreci için hayati öneme sahip olan albumin ve fibronektin gibi serum proteinleri ve yüzey etkileşimleri, aktif bir yüzey ile karşılaştığı için artmaktadır. Bu sayede artmış olan protein bağlantısı hücrel bağlantının sayısını ve hızını da arttırmaktadır.

2004 yılında Buser et al, çalışmasında aynı denekte çift taraflı yerleştirilen SLA ve SLAktif implantlar karşılaştırmıştır. Deneklerden 2, 4 ve 8 haftalık sürelerde alınan histolojik kesitlerde; SLAktif implantlarda oluşan KİK 2. haftada %60, 4. haftada ise yaklaşık %25 fazlayken 8. haftada her iki yüzeyin benzer KİK gösterdiği görülmüştür. Bu çalışmaya göre SLAktif yüzeyli implantların etrafında özellikle iyileşmenin erken safhalarında daha fazla kemik oluşumu olduğu gösterilmiştir (37).

2.4.2.2. Additif Yöntemler

2.4.2.2.1 Titanyum Plazma Sprey (TPS)

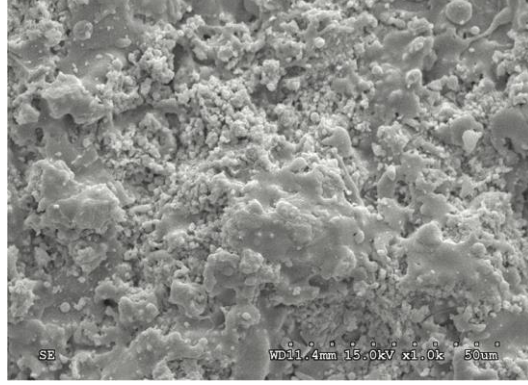
TPS yüzeyi; yüksek hızda, oldukça yüksek sıcaklıkta 40-µm büyüklükte titanyum partiküllerinin plazma alevi ile ısıtılıp, yüksek ısı ve hızla argon gazıyla birlikte implant yüzeyine püskürtülmesiyle elde edilir (Şekil 10A). Bu işlemle engebeli ve düzensiz bir yüzey konfigürasyonu elde edilir (Şekil 10B). Bu şekilde oluşan üç boyutlu pürüzlü topografi implant-kemik birleşimindeki gerilme kuvvetini arttırmaktadır (74). Leize et al, 2000 yılında yaptıkları çalışmada TPS kaplı olup kemikten sökülmüş olan implantları elektron mikroskopunda incelediklerinde; implant ile kemik arasında kimyasal bağlantı olduğunu ve mikroçukurcukların içerisine kalsiyum fosfat kristallerinin bağlandığını gözlemlemişlerdir (83). TPS yüzey, işlenmiş implant yüzeylerine göre daha iyi kemik cevabına neden olur. Silindir şeklinde olan implantlar kemiğe kuvvet iletimi için gerekli olan makrogeometriden yoksun olduklarından birçok press-fit implant sistemi TPS yüzey modifikasyonunu kullanarak kemik integrasyonunu hızlandırmayı amaçlar. SLA ve TPS yüzeyli implantları kıyaslayan bir klinik çalışmada iki yüzey arasında klinik olarak fark bulunmamıştır (84) ancak; klinik raporlara göre TPS yüzeye sahip dental implantlar diğer hafif ve orta seviye pürüzlü yüzeylere göre sıklıkla daha fazla marjinal kemik rezorpsiyonuna ve periimplantitise neden olmaktadır (85-87). Prensip olarak yüzeyde madde tutunmasıyla elde edilen yüzey olduklarından yerleştirme sırasında veya sonrasında kopabilecek titanyum partikülleri çevre kemik, yumuşak doku veya lenf nodlarında izlenebilir (88). Günümüzde TPS yüzey dental implantların üretimi ve klinik kullanımı oldukça düşüktür.



Şekil 10. A, TPS yüzeyin nasıl elde edildiğinin şematize edilmesi. B, TPS ile kaplanmış implant yüzeyinin SEM görüntüsü.

2.4.2.2.2. HA Kaplama

Kalsiyum fosfat; hidrojen veya hidroksit iyonları ile beraber kalsiyum iyonları içeren bir mineral ailesidir. Kemikğin %70'ini oluşturan HA bir kalsiyum fosfat mineralidir. Titanyum implant yüzeyleri klinik uygulamalarında HA ile kaplanırken sıklıkla plazma-sprey tekniği kullanılarak bu işlem yapılmaktadır. Kaplanan partiküllerin yüzeydeki mekanik retansiyonunu sağlamak için metalik implant yüzeyi genellikle kumlama ile pürüzlendirilir. Bir plazma alevi altında, çoğunlukla argon olan, inert bir ortam içinde HA partikülleri titanyum implant yüzeyine püskürtülür. Daha ince bir kaplama ise iyon püskürtme tekniği ile üretilebilir. Bu teknikte bir iyon demeti HA bloğu üzerine doğru yönlendirilir, bir plazma yaratmak için buharlaşır ve sonra bu HA içeren plazma implant yüzeyine yeniden kondanse olur (Şekil 10A). HA partiküllerinin yüzeyde sıkışması ve bir araya gelmesi ile implant yüzeyinde 50-100 mikrometre aralığında bir yüzey kalınlaşması oluşur (Şekil 11).



Şekil 11: HA partikülleri ile kaplanmış implant yüzeyinin SEM görüntüsü (73).

HA gibi kalsiyum fosfat mineralleri ile yapılan yüzey kaplamaları da kemiğin mineral matriksine benzer olduklarından uygulanmıştır ve bu tür kaplamaların klinik-deneysel olarak etkinliği araştırılmıştır. HA osteokondüktif özellikte olduğundan yüzey kaplamasının implant yüzeyine kemik büyümesini arttıracığı gösterilmiştir (88).

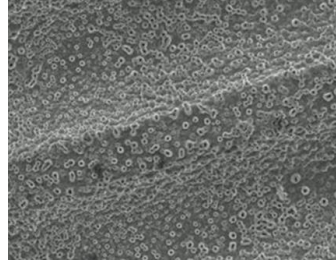
Hayvan çalışmalarında HA kaplanmış implantların kemikle olan yüzeysel temas gücü ve kemik gerilim gücü, kaplanmayanlara göre oldukça fazla bulunmuştur (89). Ayrıca, HA kaplaması kemik oluşumunu hızlandırmakta ve implant çevresinde daha geniş yüzey alanında kemik apozisyonu meydana getirmektedir. HA kaplanmış implantların çevresindeki artmış kemik cevabı özellikle sorunlu kemik bölgelerinde HA kaplı implantları cazip bir alternatif haline getirmektedir (90). Klinik çalışmalarda özellikle Tip 3 ve Tip 4 kemik bölgelerinde kemik yoğunluğu düşük olduğundan HA kaplamasının implantın kemik desteğini arttıracığı düşünülmüştür (91).

Bazı çalışmalarda HA kaplamasının bağlandığı implant yüzeyinden ayrılıp çevresindeki doku sıvısı içerisinde çözülmeye uğrayabileceği bildirilmiştir. Organizmanın biyoaktif HA partiküllerini yok etmeye çalışırken implantların çevresinde de kemik kaybına yol açabileceği rapor edilmiştir (92). Bu nedenle HA kaplamanın kimyasal özellikleri uzun dönem implant stabilitesini etkilemektedir. Poröz, amorf bir yüzey çözünebilirken; sıkı ve yüksek kristalli bir yüzey çözülmeye ve in vivo rezorpsiyona direnç göstermektedir (93). İmplant sistemi üreticileri yüksek kristalite ile birlikte birbirini daha iyi tutan kaplama elde etmek için yeni teknikler geliştirmektedir. Yüzey kaplaması çalışmalarında dikkat edilen önemli hususlardan birisi HA kaplama ve

metal alt yapı arasındaki bağlantı kuvvetidir. HA ve kemik arasındaki bağlantı kuvveti HA ve implant yüzeyi arasındaki bağlantı kuvvetinden üstündür. Kaplama ile ilgili komplikasyonları içeren sınırlı sayıda rapor olmasına rağmen genel klinik güvenilirliği oldukça umut vericidir. HA kaplamanın yeni uygulama teknikleri, implant yüzeyinde daha ince bir kaplama oluşturarak partiküllerin yüzeyden kopma riskini azaltmaktadır. Ayrıca HA kaplamanın periimplantitis gelişme riskini arttırdığına dair kaygı ortaya çıkmıştır (94). Hayvan çalışmalarında deneysel olarak oluşturulan periimplantitisin sorumlusu olarak pürüzlü yüzey gösterilmiştir (95). Birçok klinik çalışmada HA kaplanmış implantların erken dönemde sağ kalım oranları oldukça yüksekken uzun dönem sağ kalım oranları diğer implant yüzey kaplamalarına göre düşük bulunmuştur (96-98). Son dönemdeki klinik trend pürüzlü plazma-sprey implant yüzeylerinin yerine orta seviyede pürüzlendirilmiş implantların kullanımınıdır.

2.4.2.2.3. Oksidasyon

Tüm implant yüzeyleri yaklaşık olarak 5 nm kalınlığında yüzeyde bir oksit tabakasına sahiptir (99). Oksidize implantlar kalın bir oksit tabakasıyla hazırlanır. Isı uygulaması ya da uygun bir elektrolit ile galvanik bir ortam içine anot olarak yerleştirilen bir implant (anodize) yoluyla oksidasyon işlemi geliştirilir (100). Güçlü asitler elektrolit solüsyonu içinde kullanıldığında oksit tabakası mevcut yayılım yolları boyunca çözünür ve diğer bölgelerde kalınlaşır. Oksit tabakasının mevcut yayılım yolları boyunca çözünmesi titanyum yüzey üzerinde mikroporlar yaratmaktadır (Şekil 12). Farklı voltajlarla muamele edilmiş anodize implantlar farklı seviyelerde yüzey düzensizliği meydana getirmektedir (100). Oksidize yüzeyler için pürüzlülüğün yükseklik farkı ile kemik integrasyonu arasında genellikle bir ilişki söz konusu değildir. Anodize implantlar genellikle minimal olarak pürüzlü kabul edildiği için oksidasyon işlemi yüzeyin girinti çıkıntı farklılığı oluşturmasından ziyade topografik özellikleri değiştirebilir (74).



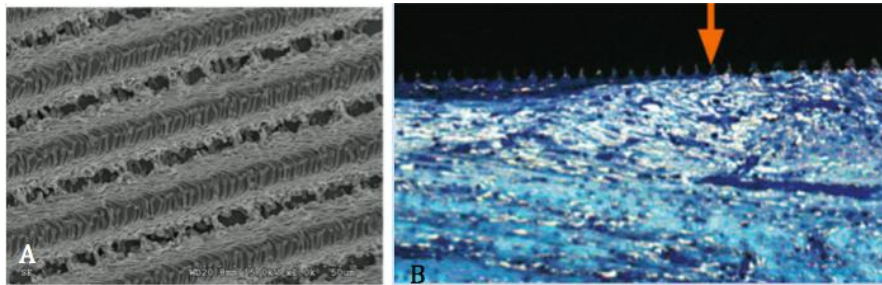
Şekil 12: Anodize implant yüzeyinin SEM görüntüsü (TiUnite, Nobel Biocare, Yorba Linda, CA).

İnsan çalışmalarından elde edilen sonuçlara göre oksidize edilmiş implant yüzeyleri işlenmiş yüzeylere göre daha fazla kemik-implant teması ve daha güçlü bağlanma göstermektedir (101). Klinik çalışmalarda genellikle erken dönemde oksidize (anodize) implantlarda daha yüksek oranda başarı görülürken 5 yıl gibi süre sonunda bu oran işlenmiş yüzeyli implantlarla anlamlı farklılık göstermemektedir (102, 103).

2.4.2.3. Yeni Yüzey Modifikasyonları

2.4.2.3.1. Lazerle asitleme

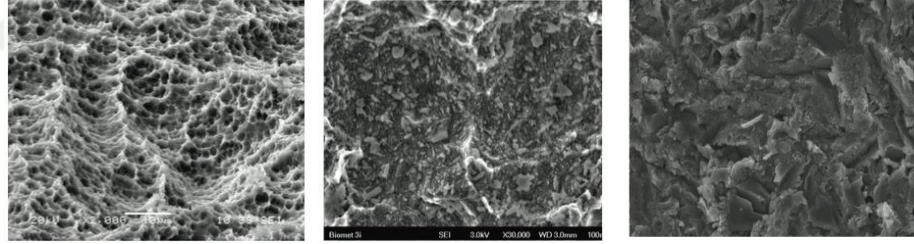
Hassas lazer asitleme mikrokanallarıyla implant boyun yüzeyi içinde benzersiz bir aşındırıcı yüzey modifikasyonu oluşturulmaktadır. 8-12 mikrometre aralığında lazer ile çizgisel, oluklu, tekrarlayan desenler implantın boyun bölgesinde oluşturulur (Şekil 13A). Lazerle oluşturulan mikrokanallar; epitel dokusunun implant yüzeyine doğru büyümesini önlerken bağ dokusu ataşmanı için implantın boyun kısmında bir alan oluşturur (Şekil 13B) (104). Bu şekilde elde edilen implantlarda; aynı yüzey özelliğine sahip olup lazerle elde edilmiş mikrokanalları olmayan implantlara göre kemik ataşmanında artma ve marjinal kemik kaybında azalma rapor edilmiştir (104, 105).



Şekil 13: A, Boyun kısmı lazer ile modifiye edilmiş dental implantın SEM görüntüsü (Laser-Lok, BioHorizons, Birmingham, AL). B, Lazer ile hazırlanmış mikrokanallara yapışan bağ dokusu ataşmanları (73)

2.4.2.3.2. İyonlar- Fluorid

İlk defa Ellingsen tarafından uygulanan bu yöntemde; TiO₂ tozuyla kumlanmış implant yüzeyinin topografisinin daha ileri modifikasyonu için florid ile birlikte kimyasal bir yüzey kaplaması oluşturulmuştur (Şekil 14) (106). Oksit tabakası içerisinde küçük miktarlarda florid iyonlarını birleştirme, yüzey düzensizliğinde mikrometre seviyesinde hafif bir artma ve nano ölçekte bir topografi görünümü bu yüzey için rapor edilmiştir (107, 108). Hayvan ve insan çalışmalarında Ti₂O kaplanmış veya işlenmiş implantlarla kıyaslandığında; florid kaplanmış implantlarda daha kısa dönemde artmış kemik oluşumu ve daha güçlü kemik-implant bağlanması rapor edilmiştir (109, 110). Ancak; implant yüzeyine yapışmış florid iyonları seviyesi oldukça düşük olduğundan (<1%) bu kadar az olan bir yapının kimyasal etkisi sorgulanmaktadır (69).

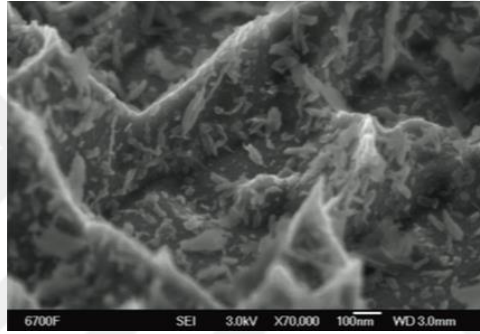


Şekil 14. Fluorid iyonları ile yüzeyi kaplanmış implant yüzeyleri.

2.4.2.3.3. Kalsiyum Fosfat (CaP)

CaP, kemik mineraline benzeyen biyoaktif bir biyomateryaldir. Hücresel fonksiyonu tetikler, güçlü bir kemik-kalsiyum fosfat bağlantısı oluşturulur. Plazma-sprey HA kaplamada karşılaşılan sorunlardan kaçınmak için bilim insanları yeni metodları geliştirmişlerdir. Bu tekniklerden birisi de aralıklı kristalin birikimi kullanılarak implant yüzeyine CaP nanopartiküllerinin uygulanmasıdır. İki defa asitle pürüzlendirilmiş implant yüzeyleri 20-100 nm boyutunda CaP partikülleri ile kaplanmaktadır.

CaP nanopartikülleri implant yüzeyine kaplanmadan, CaP kristallerinin aralıklı olarak implant yüzeyinde gerçek birikimleri olmaktadır (Şekil 15). Nanokristaller sayesinde yüzeyin nanotopografisi %50 artar ve diğer CaP kaplama tekniklerine göre implant yüzeyine karşı adeziv kuvvetinde anlamlı bir artış olur (111). Kemik oluşumu-iyileşmesinde CaP'ın bilinen biyolojik faydaları sayesinde osteokondüktif özellikte anlamlı bir artış olur (112). Bir insan çalışmasında asitle pürüzlendirilmiş implantlarla kıyaslandığında CaP nanopartikülleri bağlanmış implant yüzeylerine karşı maksillada güçlü bir kemik cevabı görülmüştür (113).



Şekil 15. Asitle pürüzlendirilmiş implant yüzeyindeki CaP nanokristallerinin birikiminin SEM görüntüsü.

2.4.2.3.4. Biyoaktif Proteinler – Kemik Morfogenetik Proteinler (BMP)

BMP'ler ilk olarak 1965 yılında tanımlanmıştır ve TGF- β ailesine ait olan en az 18 büyüme faktörü içeren bir gruptan oluşmaktadır (114). *In vivo*da, BMP'ler osteoblastlar, plateletler ve endotelial hücrelerden salınır ve implant soketi hazırlanırken serbest oluncaya kadar kemik matriksi içinde depolanırlar (115). BMP'ler kollajen, alkalın fosfotaz ve osteopontin için gerekli olan genleri regüle ederler (115). Kemik iyileşmesini hızlandıran biyoaktif proteinlerden olan BMP'lerin implant yüzeyine lokal olarak uygulanmasıyla daha hızlı kemik iyileşmesi elde etmek amaçlanır. BMP'lerin bir çok tipi vardır ve BMP-2 ve BMP-7 çalışmalarda en çok incelenenlerdir çünkü; bunlar anlamlı osteoindüktif özelliğe sahiptir (116). BMP'lerden yeterli verimi elde etmek için bu proteinlerin bir rekombinant teknik içinde (sıklıkla insan rekombinantı) üretilmeleri gerekmektedir.

Güncel biyomateryal araştırmalarında nano ölçek üzerinde biyoaktif moleküller ile yüzey modifikasyonu ana uğraşı alanıdır. Anodize olmuş bir titanyum oksit tabakası içine nükleik asit dizilerinin nanomekaniksel fiksasyonu, biyoaktif moleküllerin konjuge olmasına ve immobilize olmasına izin vermektedir (117). Titanyum yüzeyinin anodize edilmesiyle elde edilen nanotübüler yapı uzun süreyle BMP salınımı için umut verici bir konfigürasyondur (118). BMP'nin bir biyomimetik CaP kaplama içine entegre edilmesi de büyüme faktörünün kademeli salınımı için başka bir yöntemdir. İmplant yüzeyine fikse edilmiş nanotübüler yapıya sahip biyoaktif moleküllerin yüzeyden hızlıca kopmalarından ziyade kontrollü bir şekilde degradasyonu sağlanmış olur. Ayrıca bu sayede BMP gibi moleküllerin efektif dozu da kontrol edilmiş olur (119). Bir hayvan çalışmasında rhBMP-2 ile kaplanmış anodize titanyum implantın lokal kemik oluşumu uyarımında anlamlı farklılık gösterdiği bildirilmiştir (120). BMP-2'nin tedavi edici dozu 0.75-1.5 mg/mL arasında değişmektedir ve yüksek konsantrasyonlarında daha çok olgunlaşmamış kemik, seroma oluşumu, kemik remodellingi görülmektedir. Bu durumda istenmeyen implant kayıpları söz konusu olabilir (121).

2.4.2.3.5. Biyoaktif Proteinler – Sitokinler

Trombositlerin içindeki alfa granülleri; PDGF, TGF- β , bFGF, Insulin-Like Growth Factor (İGF), Growth Hormone (GH) gibi bir çok büyüme faktörü içermektedir. Bu yüzden trombosit konsantreleri, sokete yerleştirilmeden önce implantların yüzeylerinin kaplanması için kullanılan otojen büyüme faktörü kaynağı olarak değerlendirilmektedir. İmplantların yüzeylerine konjuge edilen bu moleküllerin osteoindüksiyon özelliğı olmasa da implant çevresinde yara iyileşmesinde rol oynadığı düşünülmektedir (122). Ayrıca makrofajlar da büyüme faktörleri için ikincil bir kaynaktır. Bu hücreler de VEGF, PDGF ve FGF salınımı yaparak osseointegrasyonun proliferatif fazını başlatır. VEGF, osteogenezis için çok önemli olan neoanjigenezisi başlatır (9).

Büyüme faktörleri de BMP'de olduğu gibi kademeli salınım için rekombinant teknolojisine benzer CaP kaplaması veya polimerler gibi taşıyıcılar içerisine entegre edilirler. Bazı hayvan çalışmalarında büyüme faktörlerinin bağlandığı implantların

çevresindeki kemik dokusunda daha hızlı iyileşme ve artmış kemik-implant teması görülmesine rağmen bazılarında ise sonuçlar daha az cesaret vericidir (123-125). Bu yüzden büyüme faktörlerinin, kaplandığı dental implantların kemikle entegrasyonunda pozitif etkisi olduğuna dair kesin bir kanıt yoktur (114).

2.4.2.3.6. Farmakolojik Yüzey Kaplamaları

Dental implantların çevresindeki kemik iyileşmesini etkilemek için geliştirilen yöntemlerden biri de farmakolojik ajanların kemik remodelingini kontrol etmek için implant yüzeyine bağlanmasıdır. Bifosfonat gibi kemik antirezorptif ilaçların implant yüzeyleriyle birleştirilmesi özellikle kemik kalitesinin zayıf olduğu bölgelerde implantlar üzerinde olumlu etki göstermektedir. Antirezorptif ilaçlar osteoklastik aktiviteyi inhibe ederek, daha fazla net osteoblastik aktiviteye yol açmakta ve implantların çevresindeki kemik dokusunun yoğunlunu da arttırmaktadır (126). Aynı zamanda; KİK'te artma, artmış kemik oluşum oranı ve yüksek geri çıkarma tork değeri görülmektedir (127).

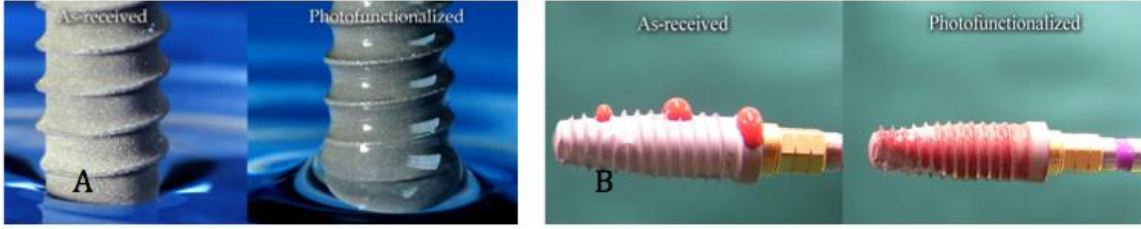
2.4.2.3.7. Nanoteknoloji

Nanometre boyutunda yüzey düzensizlikleri olan dental implantlar yüzey modifikasyonlarının yeni bir jenerasyonunu oluşturmaktadır. Dental implant yüzeylerinde nanometrik yapılar bulunmasının kemik iyileşmesini nasıl etkilediğine yönelik gün geçtikçe artan bir ilgi söz konusudur. Son dönemde yapılan in vitro çalışmalar farklı nanofaz yüzeylere karşı artmış osteoblast cevabı olduğunu ortaya çıkarmıştır (112, 128). Nanometrik pürüzlülük, proteinler ve osteoblastik hücrelerin adezyonu için daha fazla bağlanma alanı sunabilir (128). Kendinden önceki implantlara göre nanometrik yüzeyli implantlarda daha güçlü kemik cevabı olduğuna dair kanıtlar vardır (112). Bu durumu açıklayabilecek nanometrik pürüzlülük dışında bir çok faktör olabilir. Bu yüzden artmış biyolojik aktivite için optimal yüzey nanotopografisi henüz bilinmemektedir.

2.4.2.3.8. Fotofonksiyonalizasyon

Dental implantların ultraviyole (UV) ile muamele edilmesinden sonra yüzeydeki Ti₂O tabakası değişir. UV uygulaması dental implantın da biyoaktivitesini artırır ve

osseointegrasyonu hızlandırır. Hücrelerin ve proteinlerin implant yüzeyine olan moleküler seviyedeki etkileşimlerini hızlandırarak UV ışığının osteokondüktiviteyi arttırdığına inanılmaktadır (129). UV uygulaması yüzeyin hidrokarbon seviyesini azaltmakta ve yüzey enerjisi ile ıslanabilirliğini arttırmaktadır (Resim 3). UV ışığının titanyum yüzeyine protein absorpsiyonu ve hücresel atışman seviyesini arttırdığı ileri sürülmektedir ve implantın ömrüne bağlı oluşan degradasyonlardan kaynaklı biyoaktivitedeki bozulmayı onardığı da gösterilmiştir (130, 131). Klinik çalışmalar sınırlı olmakla birlikte UV ile muamele edilmiş dental implantlarda özellikle osseointegrasyonun erken safhalarında kemik apozisyonunu arttırdığı gösterilmiştir (131,



Resim 3. A, UV ile muamele edilmiş dental implantın su ile ıslanabilirlik farkı. B, UV ile muamele edilmiş dental implantın kan ile temas etmesindeki ıslanabilirlik farkı (133).

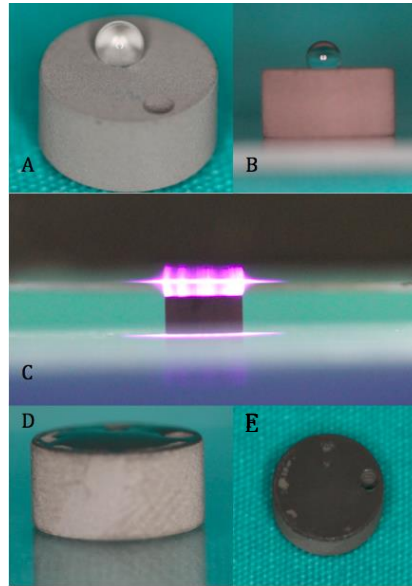
132).

2.5. ATMOSFERİK SOĞUK PLAZMA (ASP) İLE YÜZEY MODİFİKASYONLARI

Biyomateryallerin yüzey hidrofilitasını arttırmak için uygulanan yöntemlerden bir diğeri ASP uygulamasıdır (49). Plazma maddenin dördüncü hali olarak bilinmekte ve gazların iyonizasyonu sonucu oluşmaktadır. Soğuk plazma bir elektrik alan altında üretilmektedir. İki elektrot arasında bir elektrik alan oluşturulduğunda elektronlar enerjiyi çevredeki daha ağır gaz moleküllerinden daha hızlı almakta ve sıcaklıkları, ortam gazı ısınma fırsatı bulmadan binlerce derecelere kadar ulaşmaktadır. Sonuç olarak ortam gazı oda sıcaklığında kalmakta ve enerji olarak ısınan elektronların da soğumasına yardımcı

olmaktadır (66, 134). Plazma üretim sürecinde, süperoksit, hidrojen peroksit, OH radikalleri, singlet oksijen, nitrik oksit, ozon ve peroksinitrit gibi reaktif oksijen ve nitrojen (ROS ve RNS) ile beraber serbest elektronlar, uyarılmış atom ve moleküller, ultraviyole ışık ve elektrik alan oluşumu bilinmektedir. Bu plazma ürünlerinin oluşumu tıbbi ve biyolojik alanda ASP'nin kullanımının yolunu açmış ve yapılan çalışmalarda ASP'nin; antimikrobiyal etkinlik, yara yileşmesini hızlandırma gibi etkileri gösterilmiştir. Aynı zamanda soğuk plazmaların diş hekimliği alanında; dental malzemelerin dezenfeksiyonu, diş kanalı dezenfeksiyonu, diş beyazlatması, implantlarda osseointegrasyonu artırma, hücre proliferasyonunu artırma gibi etkileri gösterilmiştir (66, 134, 135).

Plazma kimyasına ya da gaz konsantrasyonuna bağlı olarak oldukça reaktif olan plazma türleri temiz ve pürüzlendirilmiş yüzeylerle reaksiyona girer, farklı substratlara bağlanır ya da ince bir plazma kaplaması oluşturmak için birleşirler ve sonuç olarak yüzey özelliklerini değiştirirler (136). Uygun bir plazma uygulanması yüzeyi hidrofilik hale getirir, oksit tabakasını modifiye eder ve böylece plazma uygulanan yüzey; çevresindeki dokularda bulunan proteinler ve hücreler ile etkileşime geçebilir. Plazma uygulandıktan sonra hidrofilik gruplar bir süreliğine yüzeyi kaplayarak anlamlı olarak yüzey ıslanabilirliğini artırırlar ve biyomateryal yüzeyinin çevre dokuya adezyonunda artış olur (Resim 4) (137, 138).

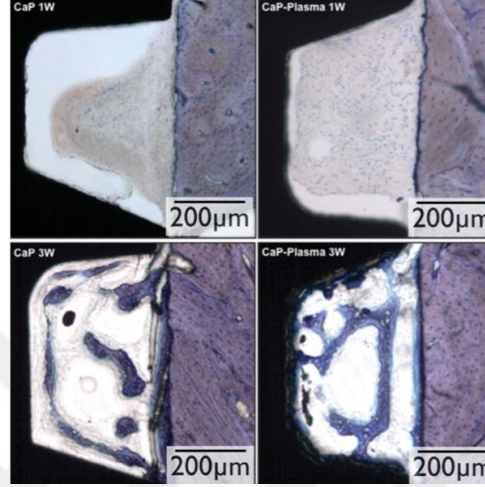


Resim 4. A-B, SLA yüzeyli bir titanyum diske plazma uygulamadan önce yüzeye su damlatıldığında oluşan su temas açısı. C, 60 saniye disk yüzeyine ASP uygulanması. D-E, disk yüzeyine su damlatıldığında su temas açısı. Yüzey süperhidrofilik hale gelmiştir.

Literatürde plazma uygulamasıyla ilgili olarak **Wei ve ark.** yaptıkları çalışmada Hexamethyldisiloxane (HMDSO) yüzeyini O₂ plazma ile muamele etmeden önce iki kez damıtılmış suyla ıslanabilirliğini incelediklerinde kontak açısının 100⁰ den fazla olduğunu; ancak O₂ plazma ile muamele ettiklerinde kontak açısının 0⁰ olduğunu göstermişlerdir. Bu sayede hidrofobik bir organosilikon monomer olan HMDSO'yu süperhidrofilik yüzeye dönüştürmüşlerdir. Bu şekilde plazma uygulaması yüzeyin topografisini değiştirmeden ıslanabilirliğini arttırmıştır. Bu çalışmayla plazma uygulandığında osteoblastik hücrelerin yüzeye bağlanmasında aracı reseptör görevi gören bir ekstrasellüler matris glikoproteini olan Fibronektinin gibi hidrofilik grupların yüzeye adsorbe olmasını kolaylaştırdığı in vitro olarak gösterilmiştir (56). **Shon ve ark.** DBD (dielektrik bariyer deşarj) jet plazma ile muamele ettikleri zirkonyum dental implantları tavşan tibia kemiklerine implante ettikleri çalışmalarında 4 hafta sonunda, plazma muamelesi gören implantların ayrılma torkunun plazma uygulanmayan implantlara göre arttığını bulmuşlardır. Aynı şekilde 4 hafta sonunda histomorfometrik olarak değerlendirdikleri örneklerde plazma uygulanmayan implantlara göre plazma uygulanan implantlarda daha fazla implant-kemik teması ve kemik hacmi/doku hacmi oranı bulmuşlardır. Plazma uygulamasının yüzey hidrofilisitesini arttırdığını ancak yüzey topografisini değiştirmediğini göstermişlerdir (139).

Duske ve ark. farklı yüzey topografisine sahip olan titanyum disklerin Argon plazma uygulamasından önce yüzey su temas açılarını 68⁰-117⁰ aralığında ölçmüştür. Plazma uygulandıktan sonra farklı yüzey topografisi olan disklerin su temas açısı neredeyse hepsinde 0⁰ olarak ölçülmüştür. Aynı şekilde farklı yüzeyli disklerin üzerinde insan osteoblastik hücrelerin davranışlarını plazma uygulamasından önce ve sonra değerlendirdiklerinde plazma uygulandıktan sonra yüzeyin topografisine bakılmaksızın hepsinde osteoblastik hücrelerin daha fazla yayılım gösterdikleri bildirilmiştir (57). **Giro ve ark.** köpek radiusuna yerleştirdikleri Argon soğuk plazma uygulanmış ve uygulanmamış CaP kaplanmış implantların 1 ve 3 haftalık osseointegrasyonunu değerlendirdikleri çalışmalarında histomorfometrik inceleme sonuçlarında 1 haftalık osseointegrasyonda iki grup arasında anlamlı fark bulamamışlardır (Şekil 16). Ancak; 3

haftalık osseointegrasyon değerlendirildiğinde histomorfometrik incelemede plazma uygulanan implantlarda anlamlı olarak daha fazla kemik-implant teması ve yivler arasında kemik alan fraksiyonu göstermişlerdir (140).



Şekil 16. 1 hafta sonunda implantın yivleri arasında plazma uygulanan grupta implanta komşu alanda kemik oluşumunun ilk işaretleri ve erken bağ dokusu tabakalarının varlığı görülmektedir. Bunun yanında plazma uygulanmayan grupta sadece yivin merkezinde kollabe olmuş stroma varlığı görülmektedir. 3. haftada her iki grupta kemik oluşumu görülürken plazma grubunda daha fazla kemik-implant teması vardır (140).

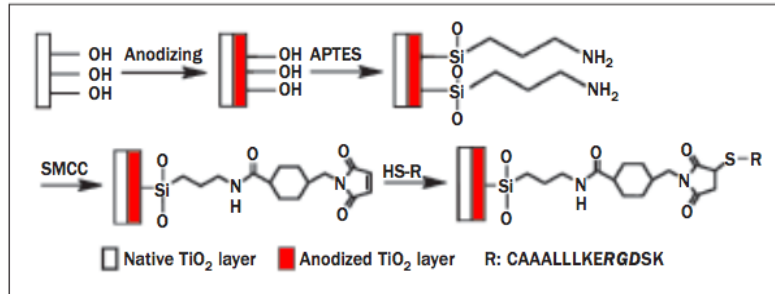
Coelho ve ark. tarafından yapılan çalışmada, plazma ile yüzey şekillendirmesi yapılmış titanyum implantlar 1 ve 3 haftalık dönemde değerlendirilmiş ve histolojik değerlendirmede plazma uygulanmış grupta 1. hafta sonunda konnektif doku oluşumunun, 3. hafta sonunda ise kemik oluşumunun implant yüzeyine daha yakın temasta izlendiği bildirilmiştir (141). **Valverde ve ark.** atmosferik basınçta argon plazma muamelesi ile zirkonya dental restorasyon malzemelerin ıslatılabilirliğinin artırıldığını göstermişlerdir (142).

2.6. RGD PEPTİD İLE YÜZEY MODİFİKASYONU

Titanyum implantların yüzey hidrofiliğini ve buna bağlı hücre tutunmasını arttırdığı bilinen bir başka yüzey modifikasyonu uygulaması da peptid konjugasyonudur (143). Konağın implantlara karşı vereceği cevap; hücreler ve organik ekstrasellüler

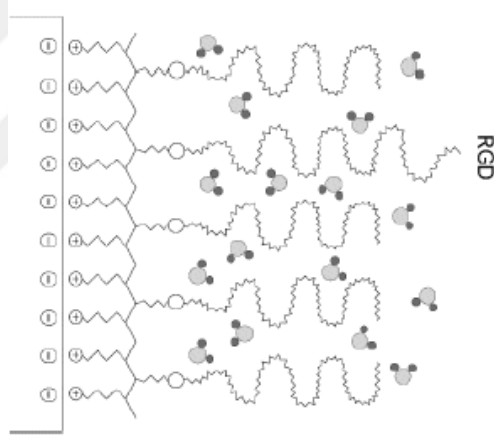
matriks (ECM) arasındaki düzenleyici etkileşimlerin aracılığıyla gerçekleşir (144). ECM, kemik hücreleri için sadece bir yapı iskelesi görevi görmez aynı zamanda ECM'nin bir çok komponenti sitokinlere ve büyüme faktörlerine bağlanabilme kabiliyetindedir ve böylece integrinler ya da diğer spesifik hücre yüzey reseptörleri yoluyla kemik hücreleri ile etkileşebilirler (145, 146). Böylece kemik hücrelerinin büyümesi, migrasyonu, farklılaşması ve adezyonunu direkt yada indirekt olarak etkilerler. ECM proteinlerini taklit eden kısa peptid sekanslarının implantın yüzeyine konjuge edilmesi yoluyla spesifik hücre atışmanı ve ‘‘yönlendirilmiş hücre rejenerasyonu’’nun hızlanması sağlanır ve bu sayede implantların çevresinde kemik iyileşmesinin daha hızlı olması beklenir (147). Şu ana kadar sınırlı sayıda ECM molekülleri metalik implantların kaplanmasında kullanılmıştır. Bunların yaygın olanlarından biri de fibronektin ve vitronektin gibi ECM proteinlerinin bağlanma bölgelerinde yerleşmiş olan **RGD (arginine–glycine–aspartic acid)** peptid sekansıdır (148, 149).

RGD farklı hücre tiplerinin a/b (alfa/beta) integrin hücre yüzey resöptörleri ile etkileşerek özellikle osteoblast adezyonu gibi hücre adezyonuna yol açan belirli hücre etkileşimlerine neden olur (150). RGD peptidin osteoblastlar içerisinde oldukça fazla oluşan **a₅b₁**'i de içeren multiple a/b integrinlerine yüksek affinitesi bulunmaktadır (151). Bu sayede RGD peptidlerle konjuge edilmiş biyomateryallerin kemik dokuya uygulandıklarında integrinlere olan yüksek afinitesi sayesinde özellikle erken dönemde hızla yüzeyde daha fazla osteoblast adezyonu sağlayarak kemik apozisyonu kısa sürede başlatmaktadır (Şekil 17) (152).



Şekil 17. Anodize titanyum implant yüzeyine kimyasal olarak konjuge edilmiş RGD peptid sekansı.

RGD peptid ile konjuge edilmiş çeşitli biyomateryallerin kemik oluşumu üzerine etkilerini değerlendiren literatürde birçok çalışma mevcuttur. **Germanier ve ark.** domuzlarda yaptıkları çalışmada SLA yüzey implantların yüzeyini ko-polimer (PLL-g-PEG/PEG) ile kaplamış ve bunlara da RGD peptid konjuge etmişlerdir. Aynı yüzey topografisine sahip SLA yüzeyli implantlar ile RGD peptid konjuge edilmiş implantların 2 ve 4 haftalık sürelerde kemik-implant temasını değerlendirdiklerinde; RGD peptid konjuge edilen implantlarda 2. haftada anlamlı olarak daha fazla kemik-implant teması bulmuşlardır ancak 4. haftada anlamlı bir fark bulamamışlardır. Buna göre RGD'nin erken dönemde kemik apozisyonun uyardığını bildirmişlerdir (Şekil 18) (153).



Şekil 18. Elektrostatik etkileşimden dolayı negatif yüklü titanyum oksit yüzeyine pozitif yüklü ko-polimer bağlanmıştır. Ko-polimere bağlı olan RGD peptid ortamdaki H₂O moleküllerini kolayca bağlamaktadır.

Schuler ve ark. da benzer bir çalışmada RGD peptid ile konjuge edilmiş titanyum disklerde RGD peptid yoğunluğu arttıkça osteoblast yapışmasının ve osteoblastların kapladığı alanların arttığını bildirmiştir (154). **Mas-Moruno ve ark.** trimlenmiş ve kumlanmış titanyum disklerde RGD peptid konjugasyonu uygulayarak disklere yapışan primer insan osteoblastları değerlendirdikleri çalışmada özellikle erken dönemde RGD peptidin hücre adezyonunda önemini ortaya koymuşlardır. İki farklı yüzeyde de RGD peptid konjugasyonu; osteoblast hücrelerinin adezyonunu RGD peptid uygulanmayan disklerde göre arttırmışken bu etki kumlanmış disklerde trimlenmiş olanlara göre daha

fazla bulunmuştur (155). **Chen ve ark.** 4 farklı yüzeye sahip titanyum disklerin ıslanabilirliği ve yüzeydeki osteoprogenitör hücrelerin etkileşimlerini değerlendirdikleri çalışmada; RGD peptidin yüzey ıslanabilirliğini arttırdığını ve alkalen fosfataz (ALP) ekspresyonunun artışı ile osteoprogenitör hücrelerin çoğalmasını ve kemik mineralizasyonunu arttırdığını bildirilmiştir (156). **Ferris ve ark.** rat femuruna yerleştirdikleri RGD kaplanmış ve kaplanmamış implantları 2 ve 4 haftalık periyotlarda değerlendirdiklerinde; 2 ve 4. haftanın sonunda RGD uygulanmış implantların çevresinde kemik kalınlığının anlamlı olarak daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. 4. hafta sonunda yapılan mekanik çekme testinde RGD uygulanan implantlarda ortalama interfasiyel gerilme kuvveti %38 daha fazla bulunmuştur (157). **Rammelt ve ark.** rat tibialarına yerleştirilen yüzeyleri RGD peptid, Tip 1 kollajen ve Tip 1 kollojen + kondroitin sülfat kaplanmış 3 farklı yüzeyli titanyum implant ile herhangi bir modifikasyon yapılmamış titanyum implantları 4, 7, 14 ve 28. günlerde histomorfometrik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirdiklerinde kemik miktarı ve sayılabilen osteoblast miktarı RGD peptid uygulanan implantlarda daha fazla bulunmuştur (158).

2.7. OSSEOİNTEGRASYONUN HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRMESİ

Kemik oluşumu intramembranöz ve endokondral kemikleşme şeklinde iki farklı yolla gerçekleşmektedir. Bazı kafatası ve yüz kemikleri ile kemik segmentlerinin stabil olduğu durumlarda hasar görmüş kemik dokusunun tamiri; intramembranöz kemikleşme olarak adlandırılan mezenkimal prekürsör hücrelerin direkt osteoblastlara farklılaşarak kemik sentezlemesiyle gerçekleşmektedir. Osteoblastlar kemik matriksinin kollajen liflerini ve şekilsiz temel maddesini sentezledikten sonra matriks içinde gömülü kalırlar. Mezenkim doku içerisinde osteoid odakları meydana gelir. Osteoid odaklarının arasında kalan mezenkim dokusunun içine kapiller damarlar filizlenir. Bu damarlardan çıkıp osteoid dokuya giren kalsiyum ve fosfor iyonları, buradaki osteoblastların salgıladığı Alkalen fosfotaz enziminin aracılığıyla CaP şeklinde kemik matriksine çöker. Böylece osteoid doku kalsifiye olarak primer kemik dokusu halini alır, osteoblastlar da primer

kemik dokusu içinde kendilerine ait lakünalar içinde osteositlere dönüşür, kemik trabekülleri meydana gelir. Trabeküllerin yüzeyindeki osteoprogenitör hücrelerden türeyen osteoblastlar tek sıra halinde sıralanarak lameller kemik dokusunu yapmaya başlar (159).

Günümüzde kemik yapımı ve kemiğin yeniden şekillenmesine dair önemli ip uçları veren bazı belirteçler vardır. VEGF, OK, ALP bunlardan önemli olanlarıdır. Osteogenesis ve anjiogenesis; kemik büyümesi, gelişimi, remodelingi ve tamiri sırasında birbiriyle oldukça yakın korele olan süreçlerdir (160). VEGF, anjiogenesis süreci boyunca rol oynayan önemli bir mediatördür. VEGF; neovaskülarizasyonu tetikler, vasküler endotel hücreleri uyararak büyüme faktörlerinin ile sitokinlerin salınımında rol oynar ve bu şekilde mezankimal hücrelerin farklılaşmasını uyararak osteojenik yola girmelerini ve osteogenesisi gerçekleştirmelerini sağlar (161). Ayrıca çok fazla yeni kemik oluşumu olduğunda aynı şekilde çok fazla VEGF ekspresyonu da olmaktadır. Bu yüzden VEGF miktarındaki artışın yeni kemik oluşumu miktarıyla ilgili olduğu sonucuna varılabilir (162,163). Kemik büyümesi ve tamiri bir şekilde benzer yolla regüle edildiğinden; VEGF kemiğin tamiri sırasında da benzer etkiye sahip olmalıdır (164). Büyük kemik defektlerinin tamirinde kemik greftleri ile birlikte VEGF uygulandığında greftlenen bölgede daha fazla miktarda kemik oluşumu gözlenmiştir. Benzer şekilde distraksiyon osteogenesisinde primer olarak intramembranöz kemikleşme gerçekleştiğinden neovaskülarizasyon ve kemik oluşumundaki artış VEGF sinyalinin fonksiyonel rolündeki artış ile korele bulunmuştur (164).

OK; kemik remodelasyonunun kemik oluşum fazı sırasında osteoblastlar tarafından salgılanan *bone gamma-carboxyglutamic acid containing protein* (BCLAP) olarak da bilinen, kemik matriksinde en çok bulunan nonkollegenaz proteindir (165). OK; kemik oluşumu sırasında osteoblastlardan salınması ve mineralize kemik matriksine bağlanmasına rağmen kemik metabolizmasındaki kesin fonksiyonu henüz tam anlamıyla açığa çıkarılamamıştır (166). Farklı deneysel çalışmalarda OK'in dolaşımdaki monositlerin ve osteoklast prekürsörlerinin sisteme katılması ve farklılaşmasını tetikledikleri, bu sayede osteoblast-osteoklast etkileşimi ve kemik rezorpsiyonu üzerinde rolü olduğu gösterilmiştir (167-169). Bu çalışmalara göre; OK yetersizliği olduğunda osteoklastlar kemik alanlarını rezorbe etmede zayıf kalmaktadır (170).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışması; ATA FEN A.Ş. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 29.09.2015 tarihli, 09 Rapor No'lu onayıyla yapılmıştır. Çalışmanın deney aşamaları, deneklerin bakımı ve sakrifikasyonu ATA FEN Veteriner Malzemeleri Hayvancılık Pazarlama Sanayi ve Ticaret Anonim Şirketi'ne (Kemalpaşa/ İZMİR) ait özel birimde gerçekleştirilmiştir. Deney aşamasında kullanılan sarf malzemeler, makine-teçhizatın büyük bir kısmı İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi AD ve Mühendislik Fakültesi Biyomedikal Mühendisliği Bölümü'nün kendi imkanları ile gerçekleştirildi. Çalışmada kullanılan Reverse Torkmetre cihazı dış merkezden temin edilmiştir. Deneklere uygulanan dental implantlar NucleOSS marka olup SLA yüzeyli titanium implantlardır ve Şanlılar Tıbbi Cihazlar Medikal Kimya (Menderes, İZMİR, TÜRKİYE) tarafından tez çalışması için tedarik edilmiştir.

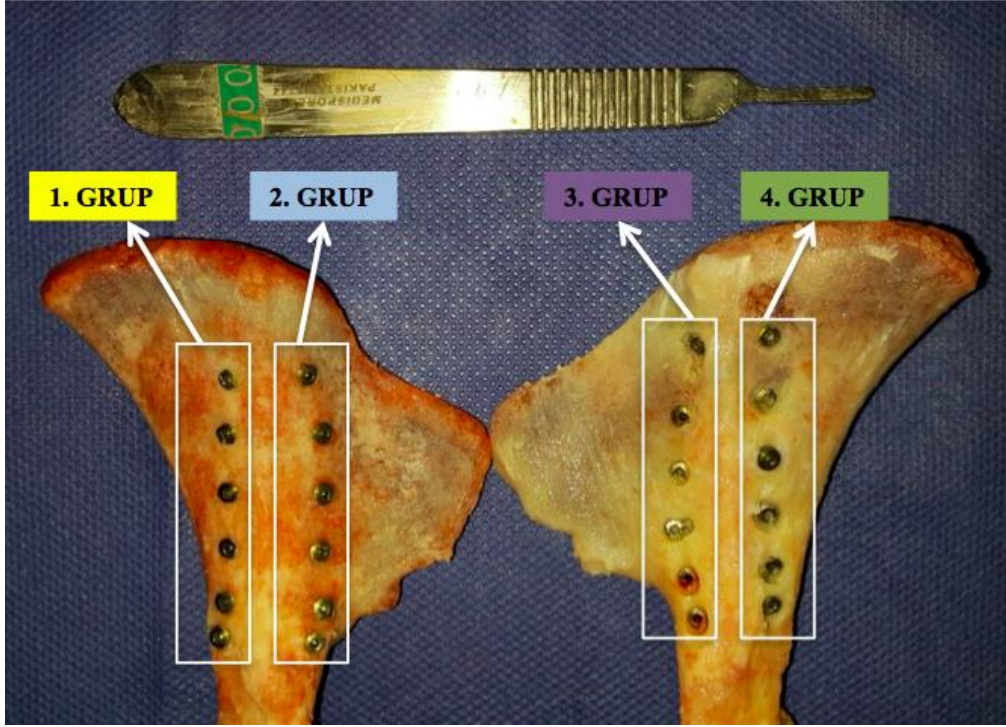
SLA yüzeyli implantların yüzey modifikasyonları İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomedikal Mühendisliği bölümünde mevcut sarf malzeme, makine-teçhizat kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sert doku kesme ve undekalsifiye histomorfometrik örnek hazırlama işlemleri Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Labratuarında yapıldı. Histomorfometrik inceleme amacıyla alınan örneklerin analizi ve dekalsifiye histolojik örneklerinin hazırlanması ve analiz işlemleri de Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji AD'de yapıldı.

3.1. ÇALIŞMA DİZAYNI

Çalışmada denek sayısı belirlenirken İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Bölümü'nde istatistiksel güç analizi yaptırılmıştır. İstatistiksel güç tahmininde, benzer bir çalışmanın (Ernst et al, 2014, Stübinger et al, 2013) verileri referans alınmıştır (171, 172). Analiz için kullanılan G power ver. 3.1.9.2 programına göre en az %80 istatistiksel güç sağlayacak 4 gruplu ve 3 tekrarlayan ölçümlü bir

tekrarlayan ölçümler ANOVA (Repeated Measures ANOVA) modelinde grup başına 5-6 implant yeterli olmaktadır. Elde edilen verilere göre bu çalışma için her bir zaman periyodunda grup başına 6 implant kullanılmasına karar verilmiştir.

Çalışmanın deney aşamasının gerçekleştiği kurumun veteriner hekimi tarafından sağlıklı olduğuna karar verilen, kiloları birbirine yakın olan (30-35 kg), aynı yaşta 3 adet Karaman cinsi erişkin koyun kullanılmıştır. Deney ve kontrol gruplarını oluşturan dental implantların yerleştirilmesi amacıyla her bir deneğin sağ ve sol iliak kemiği kullanılmıştır. Bir deneğin bir iliak kemiğine 12, toplamda 24 adet titanyum dental implant uygulanmıştır (Resim 5). Tüm çalışmada 72 adet dental implant uygulanmıştır ve tüm implantlar 3 deneğe aynı anda yerleştirilmiştir. Çalışmada; denekler sırasıyla 2 hafta, 4 hafta ve 8 hafta sonra sakrifiye edilmiştir. Çalışmada kontrol grubuyla birlikte 4 grup bulunmaktadır. Bir deneğin bir iliak kemiğine bir gruptan 6 implant olacak şekilde 12 implant yerleştirilmiştir. Sonuç olarak bir deneğin sağ ve sol tarafına bir grup için 6 implant uygulanmıştır.



Resim 5. Her deneğin bir iliak kemiğinin ortasından geçen hattın sağ ve sol tarafına 6'şar implant yerleştirilmiştir. Aynı işlem deneğin diğer iliak kemiğine de yapılmıştır. Sonuç olarak bir deneğin iki iliak kemiğine, 4 gruba ait olacak şekilde 24 implant yerleştirilmiştir.

3.1.1. Çalışma Grupları

Çalışmada bir kontrol grubu ve üç deney grubu vardır. Deney gruplarında üç farklı yöntem uygulanarak SLA yüzeye sahip implantların yüzey fiziko-kimyasal yapısı modifiye edildi.

❖ Grup 1 (Kontrol Grubu) : Kontrol Grubu

Tümünün yüzeyi SLA olan ve herhangi bir yüzey modifikasyonu yapılmamış 18 adet implant toplam 3 koyuna 6'şar adet olacak şekilde 2, 4 ve 8 haftalık osseointegrasyon periyotlarını değerlendirmek için yerleştirildi.

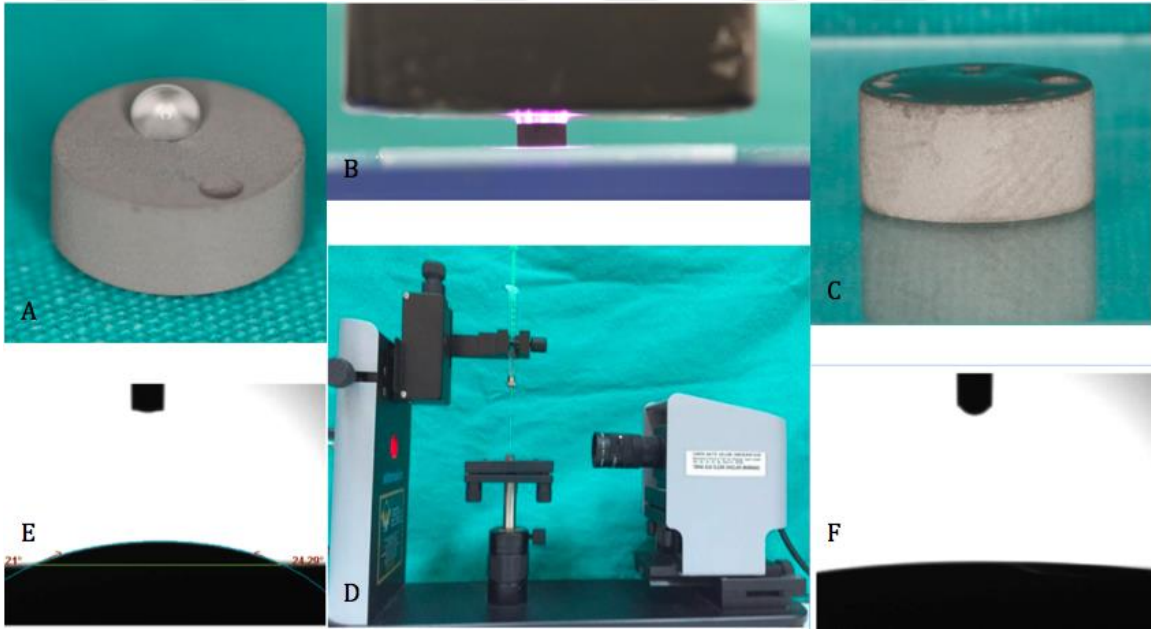
❖ Grup 2 (Deney Grubu) : Atmosferik Soğuk Plazma (ASP) uygulaması

Bu çalışmada ASP'nin uygulanma amacı titanyum dental implantların hidrofilitelerini artırarak yüzeyin daha fazla ıslanabilir olmasını sağlamaktır. Bu amaçla implant yüzeyleri direkt plazma muamelesine tabi tutuldu. Plazma uygulaması İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomedikal Mühendisliği Bölümü'nde bulunan mikrosaniye plazma jeneratörü ile atmosferik basınçta yapıldı (Resim 6).



Resim 6. A; Atmosferik soğuk plazma jeneratörü ve ona bağlı olan yüksekliği ayarlanabilir platform üzerine adapte edilmiş plazma uygulama ucu. B; elektrik kaynağına bağlı olan dışı silikon kaplı, içinde bakır plaka olan plazma ucunun yakından görünümü.

Bu çalışmanın öncesinde optimum ıslanabilirliğin sağlanması amacıyla plazma jeneratörünün güç ve süresini belirlemek için SLA yüzeye sahip titanyum diskler üzerinde bir in vitro çalışma yapıldı (Resim 4). Pilot çalışmada tüm yüzeyleri SLA olan titanyum disklere plazma jeneratörüyle ilk önce 15 saniye belirlenen güçte plazma uygulanıp üzerine steril su damlası (0,5 mikrolitre damla hacmi) dökülüp suyun statik temas açısı özel bir işlevsel kamera ile (Optik Tansiometre) fotoğraf şeklinde alınıp özel bilgisayar programı ile ölçüldü. Her defasında 15 sn süre uzatıldığında 60. saniyeden sonra su temas açısının süperhidrofilik hale geldiği görüldü (Resim 7).



Resim 7. A; SLA yüzeye sahip titanyum diske su damlatıldığında yüzeyin ıslanabilirliği. B; aynı diske ASP uygulanması. C; ASP uygulandıktan sonra yüzeyin ıslanabilirliğindeki değişim. D; optik tansiometre ile su temas açısı ölçümü. E; 15 sn sonunda ölçülen su temas açısı. F; 60 sn plazma uygulandıktan sonra yaklaşık 0°'ye yakın olan su temas açısı.

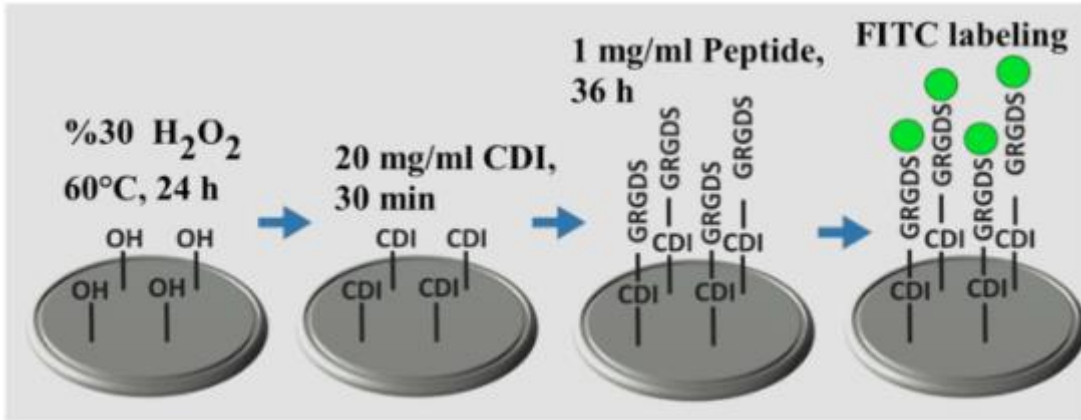
Pilot çalışmanın sonucunda yapılan değerlendirmelere göre; süperhidrofilik (su kontak açısı 7° ve altı) bir titanyum implant yüzeyi elde etmek için belirlenen optimum değerler: 1.5 kHz ve 30 kV' ta 0.29 W/cm² güç dağılımında 60 saniye boyunca, plazma jeneratöründen 3 mm uzak olacak şekilde ASP ile muamele etmektir.

Bu çalışmanın uygulamasında taşınabilir plazma jenarötörü operasyon sahasında bulunduruldu ve 6 adet implanta ASP uygulanmasını takiben hemen bir koyunun bir tarafındaki iliak kemiğe yerleştirildi. Aynı şekilde diğer koyunların bir tarafındaki iliak kemiğine de 6'şar adet ASP uygulandı. Her bir zaman periyodunda (2, 4 ve 8. hafta) her koyuna toplam 6 adet ASP uygulanmış implant yerleştirildi. Çalışmanın tamamında üç zaman periyodunda (2, 4, 8 hafta) 3 koyuna toplam 18 adet ASP uygulanmış implant yerleştirildi.

❖ **Grup 3 (Deney Grubu) : Yüzeve RGD Peptid Konjugasyonu**

Katı fazda peptid sentezi işlemi için literatürde belirtilen yöntemler takip edilmiştir. Sistin ile sonlandırılmış GRGDC peptidi Rink Amide NovaGel reçinesi üzerinde sentezlenmiş ve glisin amino asidinden sonra sistin ile fonksiyonelleştirilmiştir. Peptit dizisi Rink Amid NovaGel™ reçinesi (0.62 mmol/g) üzerinde üretilmiştir. 100 g reçine DMF (3 ml) içerisinde 30 dakika bekletilerek şişirilmiş ve ardından DMF ile yıkanmıştır (2x3 ml). Fmoc-korumalı amino asit türevleri (1 eq) ve HOBt (2 eq) kuru DMF (3 ml) ve DIC (1.1 eq) içerisinde çözdürülüp karışıma eklenmiştir. Son karışım 5-10 dakika boyunca karıştırılarak reçineye eklenmiştir. Ardından, 0.05 M DMAP'tan 0.2 ml eklenip karışım 4-6 saat boyunca 30°C orbital çalkalayıcıda karıştırılmıştır. Az bir miktar reçine ayrılıp reaksiyona girmemiş aminlerin varlığına bakmak için Kaiser testine tabi tutulmuştur. Test sonuçları pozitif olduğunda reçine DMF (5x3 ml) ile yıkanmış ve negatif sonuç alınıncaya kadar reaksiyonlar tekrarlanmıştır. Test sonuçları negatif çıktığında reçine ilk önce DMF (5x3 ml) ile yıkanmış, daha sonra Fmoc-koruma grubunun uzaklaştırılması için DMF içerisindeki %20'lik piperidinle oluşturulmuş solüsyon ile 2x15 dakika boyunca bekletilmiş ve son olarak DMF ile yıkanmıştır. Fmoc koruma grubunun uzaklaştırıldığından emin olmak için Kaiser testi tekrarlanmış ve pozitif sonuç çıkmaması halinde %20'lik piperidine içinde inkübasyonu pozitif sonuç alınmaya kadar devam etmiştir. Devamındaki amino asitler de aynı yöntem ile

birleştirilmiştir. Ardından reçine, %95 TFA/ %2.5 TIPS/ %2.5 H₂O karışımına peptid çapraz bağlayıcısının reçineden ayrılması için iki saat boyunca bırakılmıştır. Çözelti soğuk eter içerisine dökülmüş ve -20°C'de 24 saat bırakılarak ürünün çökmesi sağlanmıştır. Süspansiyon santrifüj edilmiş ve üst faz atılmış ve katı kısım dondurarak kurutma yöntemi ile liyofilize edilmiştir. Liyofilize edilen GRGDC peptit, dental implant yüzeyindeki hidroksil grubu ile peptit yapısındaki sistin amino asitinin sülfhidril grubu arasındaki Michael ekleme reaksiyonu konjügasyonu sağlanmıştır. Peptit konjügasyonu orbital karıştırıcıda 30 C° 24 saat sürede gerçekleştirilmiştir (Şekil 18). Daha sonra karışım distile suya karşı diyalize edilmiş ve kalan karışım liyofilize edilmiştir. Konjügasyon işlemi her ürün eldesinden sonra H-NMR ölçümleri yapılarak peptit yapının implanta entegrasyonu kontrol edilmiştir. Steril şekilde muhafaza edilen 6 adet implant bir koyunun bir tarafındaki iliak kemiğine 6 adet olacak yerleştirilmiştir.



Şekil 18: Peptid konjügasyonunun şematik görünümü.

❖ Grup 4 (Deney Grubu) : ASP ve RGD Peptidin Birlikte Uygulanması

Yukarıda belirtilen ASP uygulama yöntemlerinin aynısı SLA yüzeyli implantlara uygulandıktan hemen sonra aynı şekilde yukarıda belirtildiği gibi aynı implantlara RGD peptid konjüge edildi. Steril şekilde muhafaza edilen 6 adet implant bir koyuna yerleştirilmiştir. 3 deneye toplam 6'şar adet implant olacak şekilde toplamda 18 adet implant yerleştirildi.

3.1.2. Osseointegrasyon değerlendirme periyotları

Osseointegrasyonu gruplar arasında değerlendirmek için 2 hafta, 4 hafta ve 8 haftalık süreler belirlenmiştir. Kullanılacak olan koyunlardan bir tanesi operasyondan 2 hafta sonra, diğeri operasyondan 4 hafta ve sonuncusu da operasyondan 8 hafta sonra sakrifiye edilmiştir. Bir zaman periyodunda (örn. 2. hafta) bir grup için 6 adet implant değerlendirilmiştir. Toplam 4 grup olduğuna göre yine bir zaman periyodunda 24 implant değerlendirilmiştir.

3.1.3. Osseointegrasyon değerlendirme parametreleri

Her bir grupta 3 farklı osseointegrasyonu periyodunda; RFA, Geri Çıkarma Torqu Testi (GÇT), histolojik ve histomorfometrik inceleme yapılmıştır. Tüm implantların operasyondan hemen sonra ve denekler sakrifiye edilir edilmez Ostell cihazıyla RFA ölçümleri yapılmıştır. Bir zaman periyodunda bir gruptaki 6 adet implantın 2 tanesi GÇT Testine tabi tutulmuş, 2 implantın çevresindeki kemik dokunun histolojik incelemesi yapılmıştır. Geriye kalan 2 implantta ise implantı çıkartmadan alınan sert doku örneğinde histomorfometrik inceleme yapılmıştır (Tablo 1). GÇT testine tabi olan 2 implantın kemik örneği alınmayacağından; iliak kemiğin distal ucuna ve birbirine yakın olacak şekilde konumlandırması yapılmıştır.

2. HAFTA				4. HAFTA				8. HAFTA			
GRUP 1 N: 6	GRUP 2 N:6	GRUP 3 N: 6	GRUP 4 N: 6	GRUP 1 N: 6	GRUP 2 N:6	GRUP 3 N: 6	GRUP 4 N: 6	GRUP 1 N: 6	GRUP 2 N:6	GRUP 3 N: 6	GRUP 4 N: 6
RFA N: 6	RFA N: 6	RFA N: 6	RFA N: 6	RFA N: 6	RFA N: 6	RFA N: 6	RFA N: 6	RFA N: 6	RFA N: 6	RFA N: 6	RFA N: 6
GÇT Testi N: 2	GÇT Testi N: 2	GÇT Testi N: 2	GÇT Testi N: 2	GÇT Testi N: 2	GÇT Testi N: 2	GÇT Testi N: 2	GÇT Testi N: 2	GÇT Testi N: 2	GÇT Testi N: 2	GÇT Testi N: 2	GÇT Testi N: 2
Histoloji N:2	Histoloji N:2	Histoloji N:2	Histoloji N:2	Histoloji N:2	Histoloji N:2	Histoloji N:2	Histoloji N:2	Histoloji N:2	Histoloji N:2	Histoloji N:2	Histoloji N:2
HMI N: 2	HMI N: 2	HMI N: 2	HMI N: 2	HMI N: 2	HMI N: 2	HMI N: 2	HMI N: 2	HMI N: 2	HMI N: 2	HMI N: 2	HMI N: 2

Tablo 2.1: Çalışma boyunca 2, 4 ve 8 haftalık osseointegrasyonu periyotlarında 4 gruptaki implant sayısı ve osseointegrasyonu değerlendirmek için bakılan parametreler ile kaç adet implantta bu parametrelerin değerlendirildiğini gösteren tablo.

RFA: Rezonans Frekans Analizi, GÇT: Geri Çıkarma Torku, HMI: Histomorfometrik İnceleme

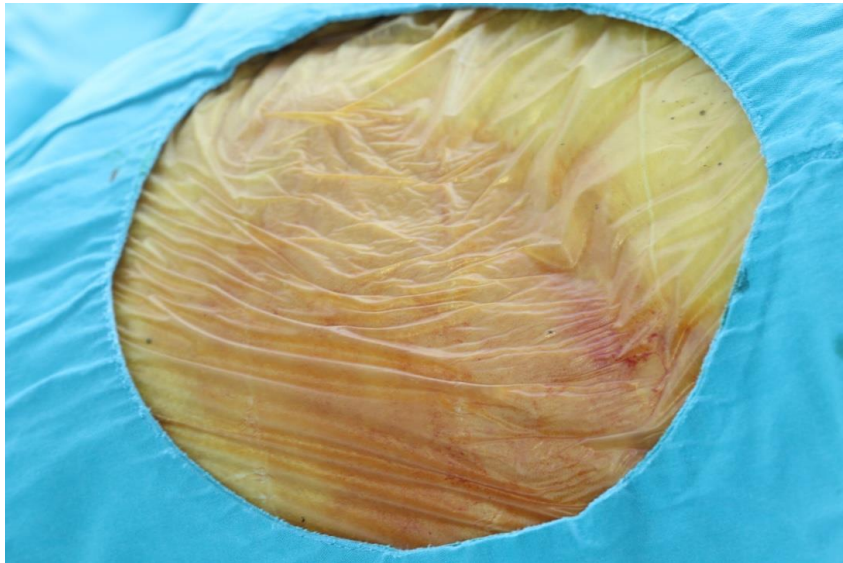
3.3. KULLANILAN SARF MALZEME VE MAKİNE-TEÇHİZAT

- 72 adet SLA yüzeye sahip olan 10 mm boy, 3.4 mm çapta titanyum dental implant (NucleOSS, Şanlılar Tıbbi Cihazlar Medikal Kimya, Menderes-İzmir).
- Dental implant cerrahi seti (NucleOSS, Şanlılar Tıbbi Cihazlar Medikal Kimya, Menderes-İzmir).
- ASP uygulanması için soğuk plazma jenarötörü ve uygulama ucu (İKÇÜ Mühendislik Fakültesi Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, İzmir).
- RGD peptid konjugasyonu için sarf malzemeler (İKÇÜ Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, İzmir).
- İmplant drilleri ve trefan frezlerin takıldığı angldruva (NSK, Ti-max, Japonya).
- Dış çapı 6-8 mm olan trefan frezler (Hu-Friedy, ABD).
- Fizyodispenser seti (NSK, Surgic XT, Japonya).
- RFA cihazı (Osstell ISQ, Göteborg, İsveç).
- Torkmetre cihazı (MARK-10, NY, ABD).
- Ameliyatların yapılmasında kullanılan steril cerrahi el aletleri.
- Operasyon bölgesini izole etmek için steril tek kullanımlık örtü.
- Operasyon bölgesini steril etmek için batikon (POVIODEKS, Tıp Kim San, Türkiye)
- 3-0 ipek sutur (Doğsan, Türkiye)
- 3-0 vikril suture (Ruschmed, Türkiye) (
- Lokal anestezi solüsyon (0,006mg/ml epinefrin hidroklorür ve 40 mg/ml Artikain hidroklorür 2 ml) (Ultracain DS Ampul, Sanofi Aventis İlaç, Türkiye)
- Klindamisin Fosfat (Klindan Ampul 300 mg, Bilim İlaç, Türkiye)
- Ksilazin Hidroklorür (Rompun, Bayer İlaç, Türkiye), Ketamin Hidroklorür (Alfamine, Ege-Vet, Türkiye), Apoderm (Klortetrasiklin sprej, Ege-Vet, İzmir).
- Ksilazin HCl (Alfazyne % 2, Ege-Vet, Türkiye).
- RİF (Rifamisin SV 125 mg ampul, Koçak Farma, İstanbul) (
- Histolojik inceleme için sarf malzemeler (Celal Bayar Ü. Tıp Fak. Histoloji AD, Manisa, Türkiye).

- Histomorfometrik örnek hazırlamak için sert doku hassas kesme cihazı ve mikro aşındırma cihazı (Exact 300 CP, Exact 400 CS, Almanya).
- Histomorfometrik inceleme örneği hazırlamak için sarf malzemeler (Erciyes Ü. Diş Hekimliği Fak. Araştırma Lab., Kayseri, Türkiye).
- Histolojik ve histomorfometrik analizlerin yapıldığı ışık mikroskobu (Olympus BX50, Japonya)

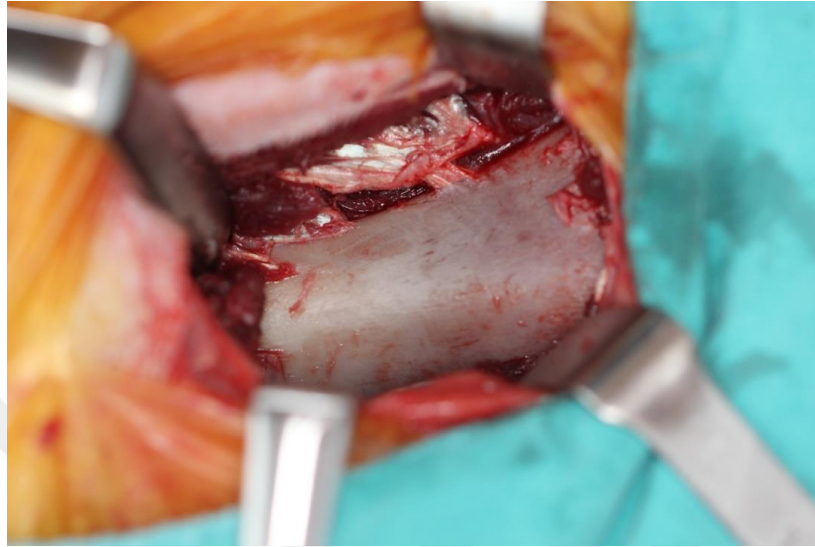
3.4. CERRAHİ OPERASYON YÖNTEMİ

Etik kurul onayı alınan ATA-FEN kurumu tarafından sağlıklı olduğuna karar verilen, kiloları birbirine yakın olan (30-35 kg), aynı yaşta 3 adet Karaman cinsi erişkin koyun temin edilmiştir. Cerrahi operasyondan 12 saat önce tüm deneklerin yiyecek ve içecek alımları kesilmiş, 3 denekte aynı gün operasyona alınmıştır. Genel anestezi için intramusküler olarak her bir deneye 2 mg/kg Ksilazin Hidroklörür (Rompun, Bayer, İstanbul, Türkiye) ve 5 mg/kg Ketamin Hidroklörür (Alfamyne, Ege-Vet, İzmir, Türkiye) verilmiştir. Yeterli anestezi derinliği sağlandıktan sonra her denegin sağ ve sol iliak kemik bölgesindeki tüyler genişçe traş edildi. Operasyon sahası batikon ile yüzeysel olarak dezenfekte edildikten sonra ilk önce steril drep ile daha sonra steril cerrahi ameliyat örtüsü ile ameliyat sahası açıkça görülecek şekilde denegin üzeri örtüldü (Resim 8).



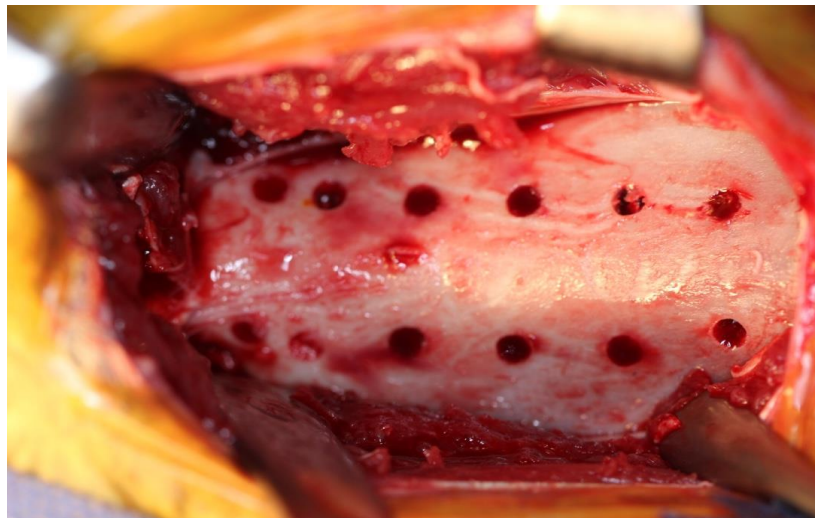
Resim 8. Operasyon bölgesinin steril drep ve ameliyat örtüsü ile hazırlanmış hali.

Operasyon alanine kanama kontrolü sağlanması ve postoperatif ağrının azaltılması için, % 2'lik artikain (Ultracain DS Ampul, Sanofi Aventis İlaç, Türkiye) enjeksiyonu yapıldı. 20 nolu bistüri ile deri, kas dokusu ve periost sırasıyla diseke edilerek iliak kemiği açığa çıkarılmıştır (Resim 9).



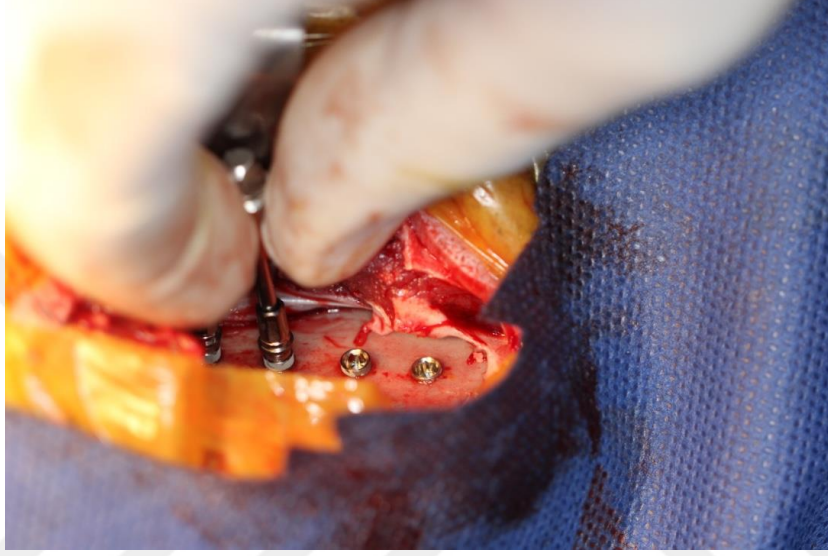
Resim 9. İliak kemiğinin açığa çıkmış hali.

Kumpas yardımıyla implantların arasında yeterli kemik mesafesi olacak şekilde iliak kemiğin ortasındaki krestin sağında ve solunda 6 adet implant yeri belirlendi. Fizyodispensır, angldruva ve dental implant cerrahi seti kullanılarak 12 adet implant yuvası hazırlandı. Distal uçtaki implantların yuvaları, bu implantlar GÇT testine tabi olacağından diğerlerine göre daha yakın yerleştirildi (Resim 10).

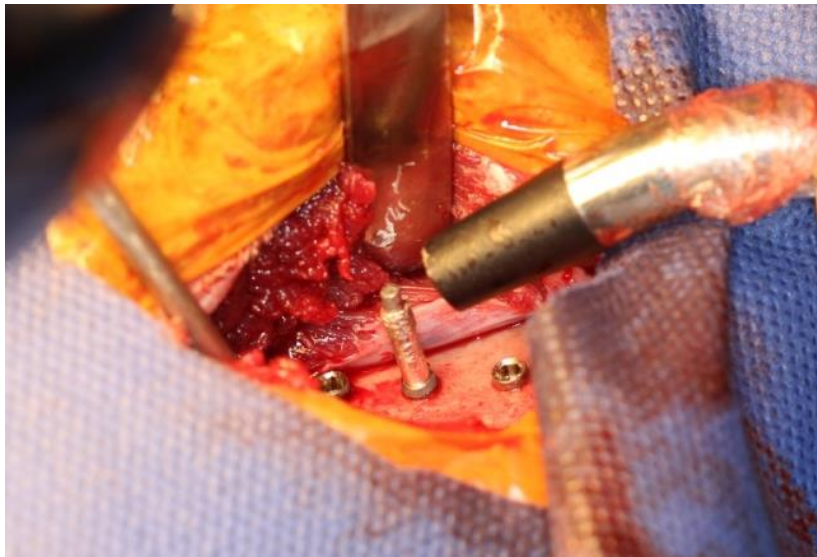


Resim 10. İliak krestin iki tarafına 6'şardan toplam 12 adet implant yuvası hazırlanışı

İmplantlar sokete yerleştirildikten sonra taşıma parçaları çıkarıldı (Resim 11). Kullanılan implant için özel üretilmiş Ostell ISQ cihazının SmartPeg parçası implantlara tek tek takılarak her bir implantın dört bir tarafından RFA ölçümü yapıldı (Resim 12).

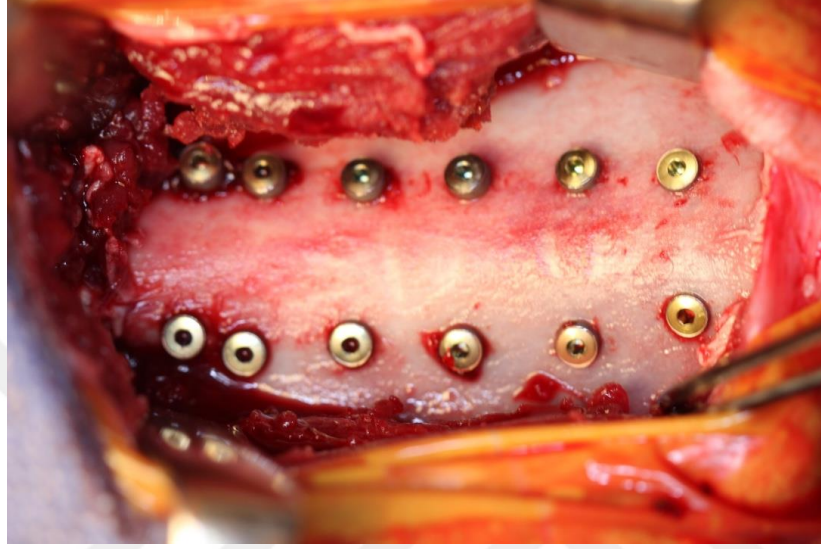


Resim 11: İmplantların taşıma parçalarının çıkarılması.



Resim 12: Her bir implanta SmartPeg takıldıktan sonra dört bir tarafından ISQ değeri alınıp tüm implantların RFA ölçümünün yapılması.

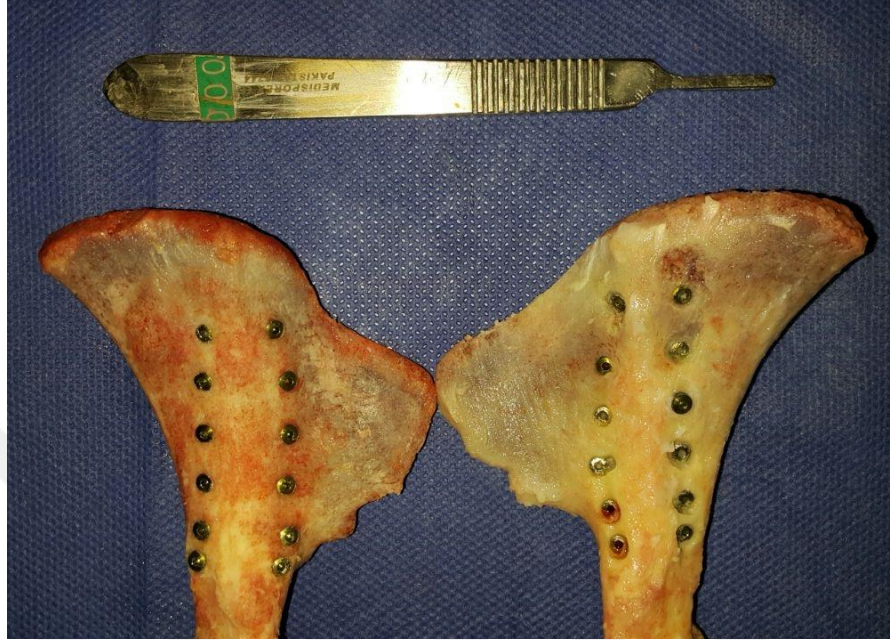
Tüm implantların RFA analizleri yapıldıktan sonra implantların kapama vidaları takıldı (Resim 13).



Resim 13: Operasyon bölgesinde iliak krestin her iki tarafına toplamda 12 adet implant ve kapama vidasının yerleştirilmiş son hali.

Tüm implantların kapama vidası takıldıktan sonra bölge RİF (Rifamisin SV 125 mg ampul, Koçak Farma, İstanbul) ile dikkatlice yıkandı. Daha sonra 3-0 vikril sutur ile (Ruschmed, Türkiye) sırasıyla periost, kas tabakası ve subkütan dokular primer olarak dikildi. En son dermis tabakası 3-0 ipek sutur (Doğsan, Türkiye) ile primer olarak kapatıldı. Deri yüzeyi batikon ile yüzeysel olarak temizlendikten sonra dikişleri tamamen kapatacak şekilde steril gazlı bez ve bandaj ile operasyon sahası kapatıldı. Bu işlemlerin hepsi 3 denekte ve her iki tarafta eksiksiz olarak uygulandı. Operasyondan sonra denekler kendi kendilerine ayakta durabilinceye kadar veteriner kontrolünde ayrı ayrı odalarda tutuldu. Deneklerin tamamen normale döndüğünden emin olunduktan sonra üçü bir arada olacak şekilde yine ayrı bir odaya alındı. Post-operatif olarak hayvanlara enfeksiyon kontrolü için 1g/gün Klindamisin ampul intramüsküler, beş gün boyunca; analjezik olarak günde bir kez Ketoprofen 500 mg/gün intramüsküler üç gün boyunca uygulandı. Operasyon sahasından bandaj çıkarıldıktan sonra Apoderm (Klortetrasiklin sprey, Ege-Vet, İzmir) sprey bir hafta boyunca uygulandı. İlk hayvan 2 hafta, 2. hayvan 4 hafta ve 3. hayvan 8 hafta sonra sakrifiye edildi. Deneklerin sakrifikasyonundan sonra sağ ve sol

iliak kemikleri eklem yerlerinden dikkatlice ayrılarak atravmatik olarak çıkarıldı. Tüm kas, lif vs. gibi yumuşak doku atışmanlarından temizlendikten sonra osseointegrasyonu belirleyici parametrelere bakıldı (Resim 14).



Resim 14: Sakrifikasyondan sonra iliak kemiklerinin görüntüsü

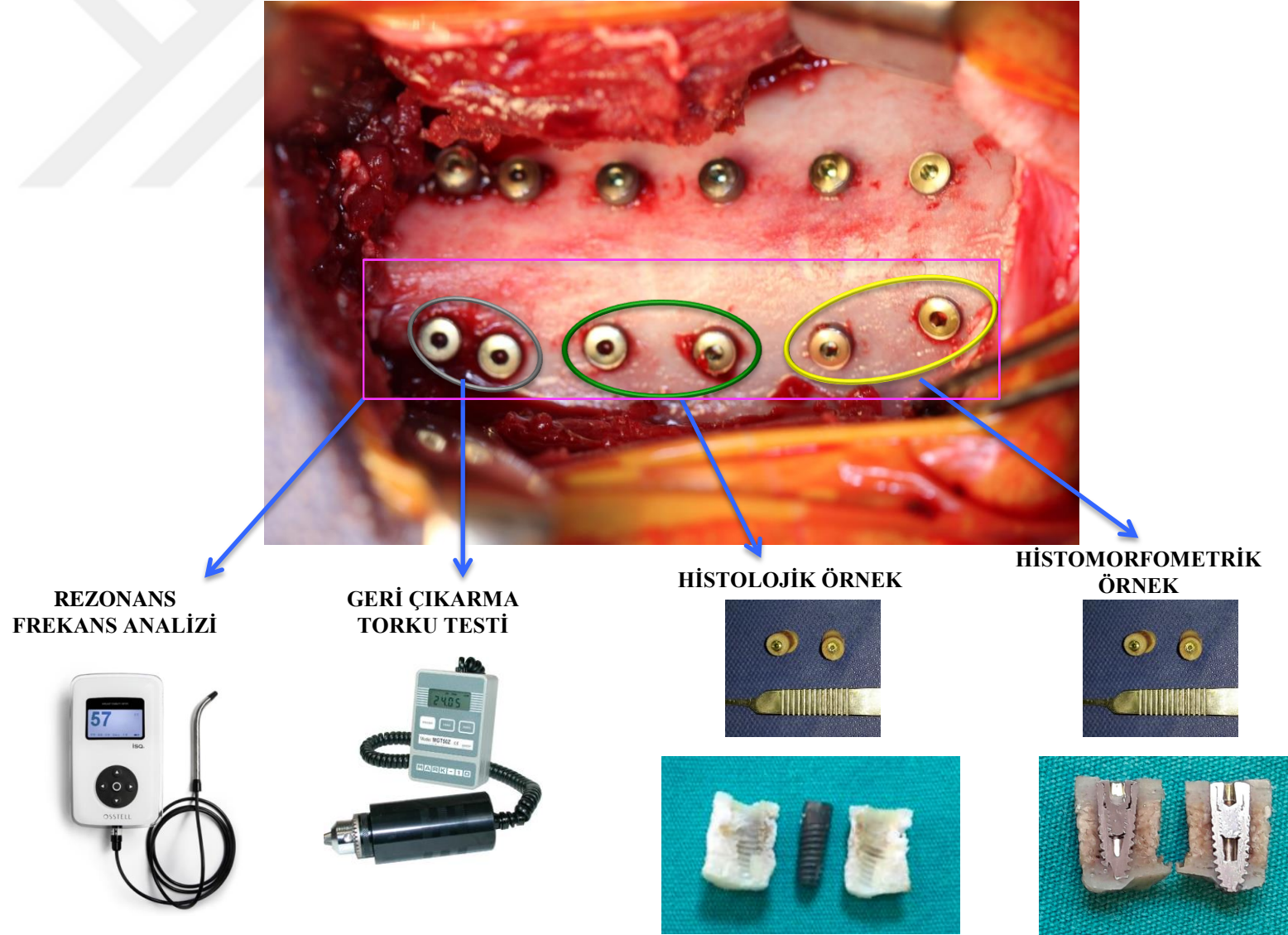
3.5. OSSEOİTEGRASYONUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışmaya dahil edilen 3 deneğin ameliyatları aynı zamanda yapılmış olup daha sonra bu denekler 2, 4 ve 8 hafta sonunda sakrifiye edildi. Ameliyat esnasında sadece RFA yapılmış ve sakrifikasyondan sonra her bir koyunun iki adet iliak kemiği atravmatik olarak çıkarıldı. Daha sonra bu taze kemik örneklerinde RFA, GÇT Testi, histolojik inceleme ve histomorfometrik analiz yapıldı (Resim 15).

3.5.1. Rezonans Frekans Analizi (RFA)

Çalışmada kullanılan toplam 72 adet implantın tümüne, iliak kemiğine yerleştirildikten hemen sonra ve sakrifikasyondan hemen sonra olacak şekilde iki defa RFA yapıldı (Resim 12) (Resim 16). NucleOSS implantlarına uygun olarak üretilmiş olan Ostell ISQ cihazının manyetik SmartPeg parçası her implanta tam oturacak şekilde adapte edildi. Tüm implantlardan dört ayrı yönde ölçüm yapılmış ve bunların ortalaması alınarak bir implantın ISQ değeri elde edildi.

Resim 15. Bir grubun bir zaman periyodunda osseointegrasyon değerlendirme parametreleri





Resim 16: İliak kemiğindeki implantlarda RFA yapılması

3.5.2.Geri Çıkarma Torku (GÇT) Testi

Hazırlanan örneklerdeki her bir grubun iki adet implantına GÇT testi uygulandı. İmplantların kapama vidası çıkarıldıktan sonra implantın kemiğe vidalama anahtarı torkmetrenin ucuna adapte edildi. Daha sonra ucunda anahtar olan tork aleti (MARK-10 NY, USA) implanta sabitlenip, saat yönünün tersi tarafına çıkartma kuvveti yavaşça ve artan bir şekilde manuel olarak uygulandı. İşlem implantın kemik yuvası içerisinde dönmeye başlamasıyla bitirildi. Kırılma anında elde edilen en yüksek tork değeri newtonsantimetre (Ncm) cinsinden kaydedildi (Resim 17).



Resim 17: İliak kemiğindeki implantlarda GÇT testi yapılması

3.5.3. Histolojik İnceleme Örneklerinin Hazırlanması ve Analizi

İmplantların RFA yapıldıktan sonra bir piyasemene takılan iç çapı 8 mm olan trefan frezler ile implantların çevresinde en az 2 mm sağlam kemik dokusu kalacak şekilde her grup için üç zaman periyodunda ikişer örnek elde edildi (Resim 18).

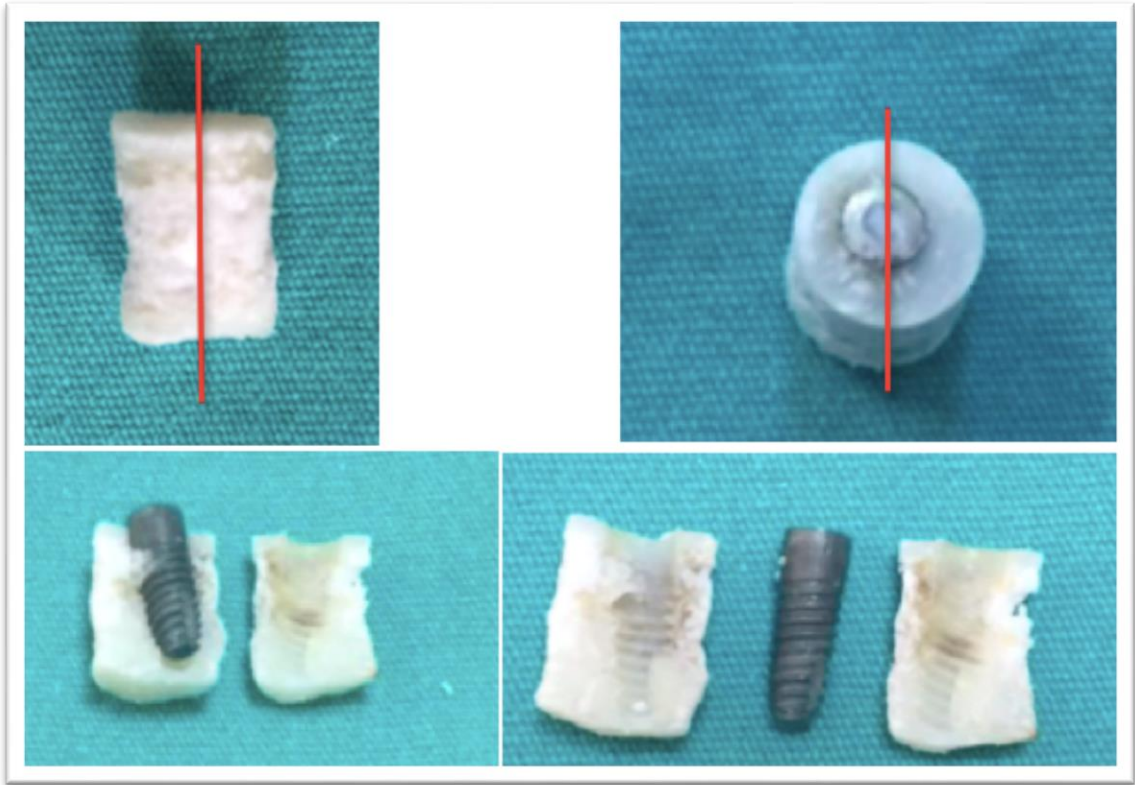


Resim18: Trefan frezle elde edilmiş içinde implant olan kemik örnekleri.

Bu çalışmada implanta komşu olan kemikteki histopatolojik değişimler; 2, 4 ve 8 haftalık örneklerde incelemek için literatürde daha önce uygulanmamış bir yöntem ile değerlendirilme yapıldı. Bu amaçla örnekler ilk önce % 10'luk formalinde fikse edildi. Histopatolojik ve immunohistokimyasal boyamalar için fikse edilen örnekler dekalsifikasyon işlemine alındı. Bu amaçla 3 kez 5'er dak. Fosfat Tampon Solüsyonu (PBS; Posphate Buffer Solution) ile 3 kez yıkandıktan sonra PBS içerisinde %10' luk hazırlanan EDTA (1.08418, Merck-Millipore) solusyonuna alındı. EDTA solusyonu iki günde bir değiştirilerek dokular 8 hafta süre ile dakalsifiye edildi. Bu süre sonunda inorganik yapısını kaybeden içinde implant olan örnekler yumuşak katı arası elastik bir kıvama geldi. İmplantlar hiç bir şekilde yerinden oynatılmadan, keskin bir bistüri yardımıyla etraflarındaki kemik dokusu uzunlamasına ikiye ayrılarak kemik dokusunun yapısı hiç bir şekilde bozulmadan implant kemikten ayrıldı (Figür 39).

Parafin Doku Takibi

Dekalsifiye edilen dokular EDTA'nın uzaklaştırılması amacıyla 1 gece akar su altında yıkandıktan sonra, dehidratasyon amacıyla 30'ar dakika % 60'dan % 100'e artan etil alkol serilerinden geçirildi. Ardından 15 dakika 1:1 oranında ksilen-alkol karışımına ve şeffaflaştırma amacıyla 30'ar dakika iki değişim ksilene tabi tutularak ve 60°C'lik etüv içerisinde 15 dakika 1:1 oranında ksilen-parafin uygulanıp 60'ar dakika iki değişim parafin ile immersiyonu sağlandıktan sonra dokular parafin bloklar içerisine gömüldü.



Resim 19: Dekalsifiye edilmiş kemik bloklarında kırmızı çizgilerde gösterildiği gibi bistüri ile kemik ikiye ayrılmış ve kemik içindeki implant hiç bir suretle kemiğin yapısını bozmadan çıkarıldı.

Histopatolojik Değerlendirme

Rotary mikrotom (RM 2135, Leica) aracılığı ile alınan 5 µm'lik parafin kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C'lik etüvde bırakıldıktan sonra, 30'ar dakika iki değişim ksilen ile muamele edildi. Ardından rehidratasyon işlemi için %95'den %60'a azalan alkol serilerinden geçirilen kesitler 5 dakika akar su altında yıkandı. Kesitler 3 dakika **Hematoksilen** ile boyamanın ardından, fazla boyanın dokudan uzaklaştırılması

için 5 dakika akar suda yıkanan kesitler 30 saniye **Eozin** ile boyandı. Aynı şekilde 5 dakika akar su altında yıkama yapıldıktan sonra sırasıyla %80 ve %95'lik alkol serilerinden geçirilip havada kurutulan kesitler şeffaflaştırma amacıyla 30'ar dakika iki değişim ksilende tutulduktan sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı. Histopatolojik değerlendirme amacıyla hematoksilen ve eozin ile boyanan dokuların ışık mikroskopi altında incelemeleri yapıldı.

İndirekt immunohistokimya boyaması

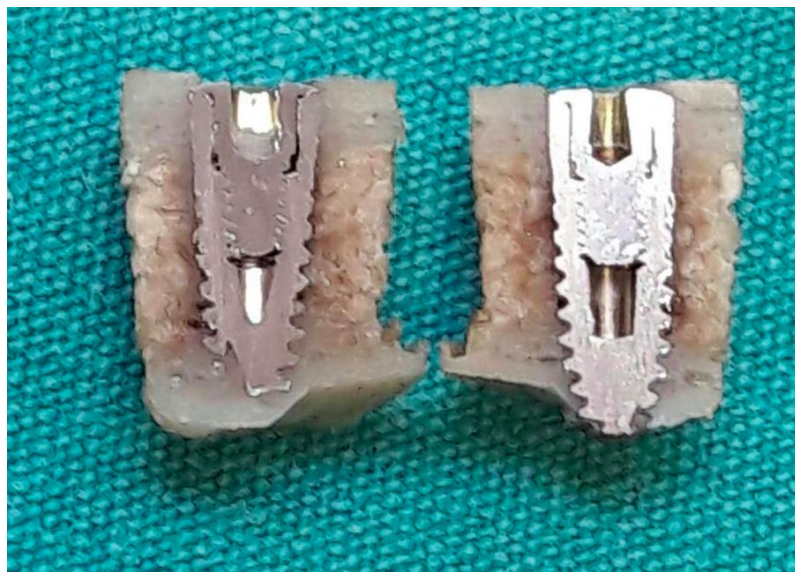
Alınan kesitler immunohistokimyasal boyama için bir gece 60 C°'lik etüvde tutulduktan sonra, 30'ar dakika iki saat değişim ksilen ile şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Ardından % 95'ten % 60'a azalan derecede alkol serileri ile rehidratasyon sağlanarak distile suda 5 dakika bekletildi. Dakopen (IM3580, Immunotech, France) ile sınırlandırılan % 0,5'lik tripsin solüsyonu içinde oda sıcaklığında 15 dakika tutulan kesitlere, doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dk %3'lük H₂O₂ uygulandı. 3 defa 5'er dakika fosfat tampon solüsyonu (PBS; Posphate buffer solution) ile yıkanan kesitlere bloklama amacıyla 1 saat bloklama solusyonu (TA-125-UB, Lab Vision, Fremont, CA) ile muamele edildi. Bloklama solusyonu dokudan uzaklaştırıldıktan sonra primer antikolar **Osteokalsin**, **VEGF** ile bir gece inkübe edildi. Ertesi gün tampon solüsyonu ile 3 defa yıkanan kesitler, anti-mouse biotin-streptavidin hidrojen peroksidaz ikincil antikoru (85-9043 Zymed Histostain kit San Francisco,USA) ile 30'ar dakika boyandı. Yine üç defa 5'er dakika tampon solusyonu solüsyonu ile yıkanan kesitler, oluşturulan immunohistokimyasal reaksiyonun görünürlüğünü saptamak amacıyla DAB ile 5 dk boyandı. Mayer's hematoksilen (72804E, Microm, Walldorf, Germany) ile artalan boyaması sağlandıktan sonra distile su ile 10 dk yıkanan kesitler kapatma medyumunu (AML060, Scytek, Logan, Utah, USA) ile kapatıldı. İmmunohistokimyasal boyama sonuçları H-skor ile incelenerek değerlendirildi. Boyanma oranı semikantitatif olarak derecelendirildi ve 0 = hücrelerin %1'den azında boyanma; 1+ = hücrelerin %1-10'unda boyanma; 2+ = hücrelerin %11-50'sinde boyanma; 3+ = hücrelerin %51-80'inde boyanma; 4+ = hücrelerin %80'inden fazlasında boyanma ile boyanma şiddeti de 0 = boyanma yok; 1 = soluk; 2 = orta dereceli; 3 = yoğun olarak kör yöntemle belirlendi. Daha sonra "(1+boyanma şiddeti/3) x boyanma oranı" formülü ile toplam skor hesaplandı. Elde edilen veriler One Way-ANOVA istatistik testiyle karşılaştırıldı ve p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.5.4. Histomorfometrik Örneklerin Hazırlanması ve Analizi

İçinde implant olan kemik blokları trefan frezle elde edildikten sonra % 10'luk formalinde fikse edildi. Daha sonra sert doku kesme ve bileyleme işlemi için Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Labratuarı'na gönderildi. Her bir kemik bloğundan Exakt Hassas Kesme Cihazı(Exakt 300 CL, Exakt Apparaturbau, Norderstad, Almanya) ile 2-3 mm kalınlığında kesitler elde edildi (Resim 20, 21).

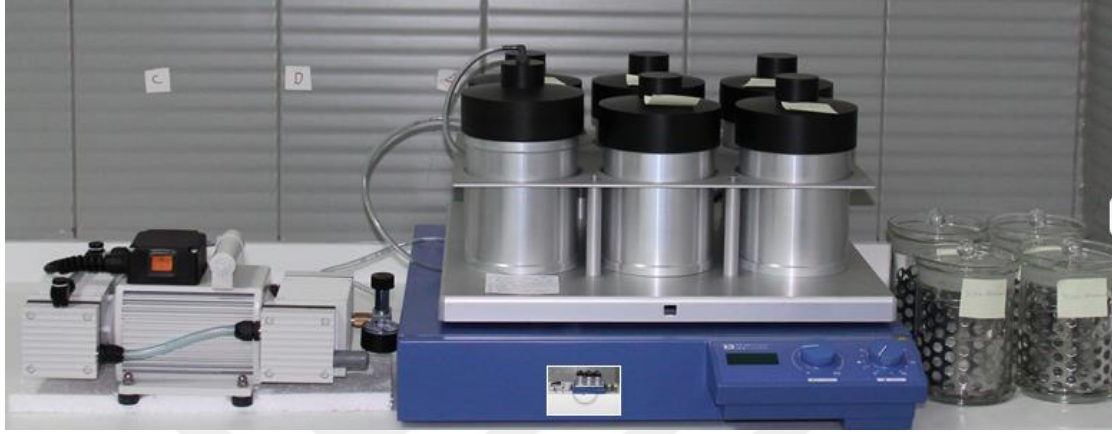


Resim 20: Exakt elmas testeresi hassas kesme cihazı



Resim 21: Hassas kesme ile elde edilen 2-3 mm kalınlığında implant-kemik kesitleri.

Örnekler %60, %80, %96, %100,%100 oranlarında etanol içeren alkol havuzlarında birer gün süreyle dehidrate edilmiştir. Dehidrate edilen örnekler sırasıyla, %30 metil metakrilat rezin (Tecnovit 7200) ve %70 alkol karışımında daha sonra %50 alkol %50 tecnovit 7200, %70 Tecnovit 7200- %30 alkol ve en sonunda da %100 lük Tecnovit 7200 içersinde 24 saat vakum altında infiltre edildi (Resim 22).



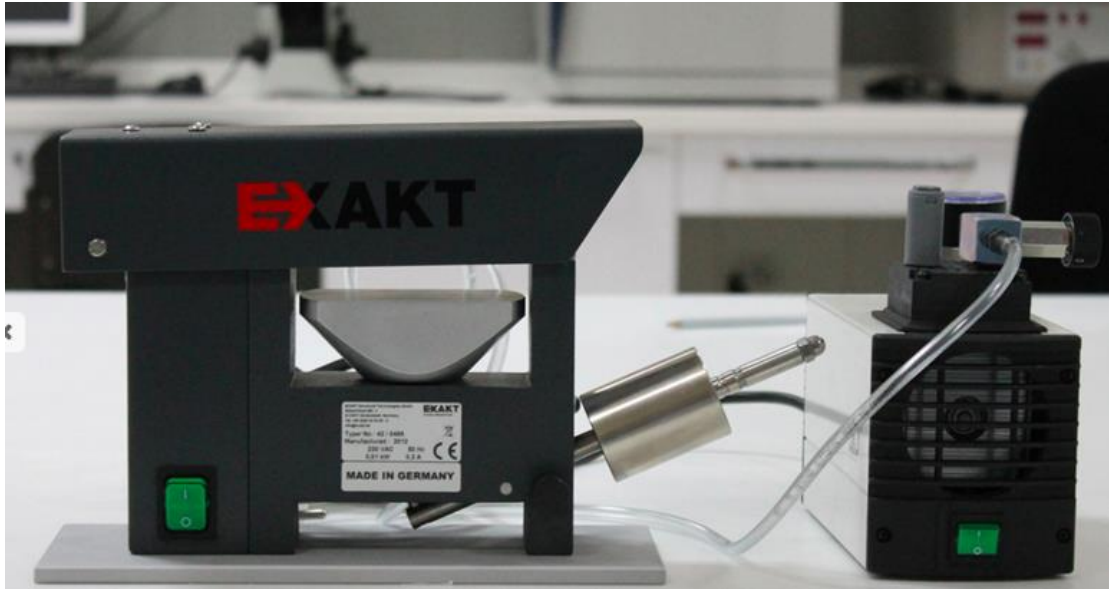
Resim 22: Vakumlu dahidratasyon ve infiltrasyon ünitesi

Daha sonra, örnekler metil metakrilat (Tecnovit 7200) içeren plastik kalıplar içerisinde 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 (Resim 23).



Resim 23: Işıklı polimerisasyon ünitesi

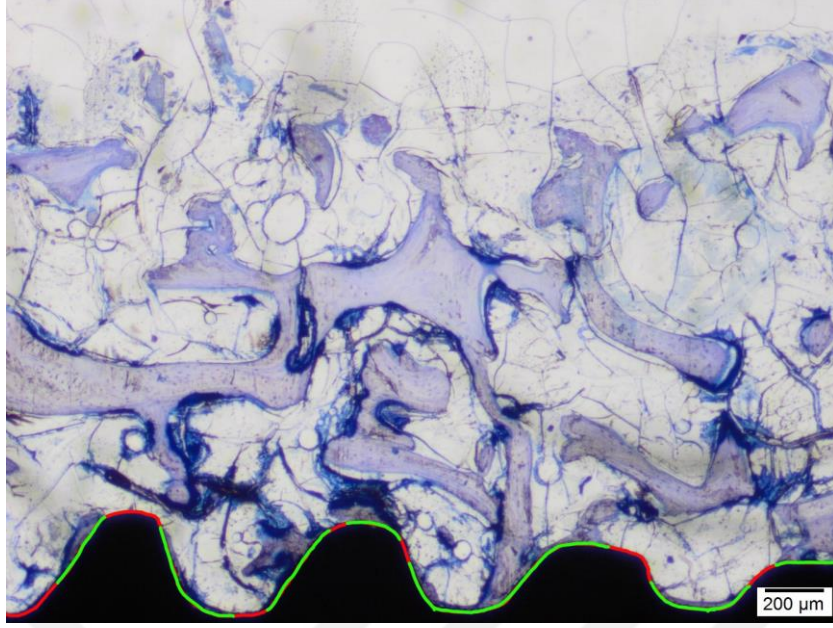
Tamamen sertleşmiş olan bloklar, ilk kesime hazırlamak ve paralel yüzey hazırlığını yapmak için şeffaf kutucuklardan çıkartıldı. Düz olan alt yüzey bir pleksiglas lam üzerine Technovit 7210 VLC (Kulzer & CO. GmbH, Friedrichsdorf, Almanya) kullanılarak vakum altında yapıştırıldı (Figür 43). Lam üzerine yapıştırılmış bu kesitler, mikro aşındırma sistemine (Exakt 400 CS, Exakt Apparatabau, Norderstad, Almanya) bağlı zımparalar ile 40 µm kalınlığına kadar inceltildi (Resim 24). Toluidin mavisi boyama yöntemi ile boyandıktan sonra, metil metakrilat kullanılarak üzerleri lamel ile kapatıldı.



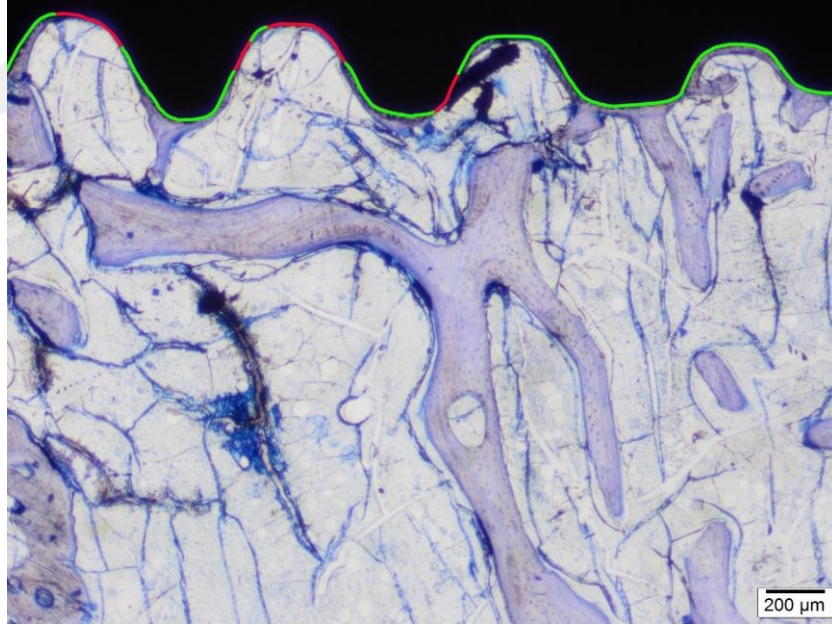
Resim 24: Örnekleri lama yapıştırma ünitesi

Kantitatif ölçümlerin yapılması

Sonuçların kantitatif olarak yorumlanabilmesi için implant yüzeyi görülecek şekilde fotoğraf ataçmanı bulunan mikroskop (Olympus® CX41, Tokyo, Japan) ile küçük büyütmede mikroskoba bağlı dijital kamera ile (Olympus® DP 25, Tokyo, Japan) fotoğraflar çekilmiştir. Daha sonra fotoğraflar dijital ortamda Imagej programı ile, ilk olarak implant yüzeyinin toplam yüzeyi ölçülmüş ve sonuç implant yüzeyindeki kemikleşme ile beraber yüzdesi alınarak total kemikleşme yüzdesi hesaplanmıştır. İmplantın alt ve üst yüzeyleri ayrı ayrı hesaplanmış ve sonuçların ortalaması alınarak total yüzeydeki tutunma hesaplanmıştır (Resim 25, 26).



Resim 25. İmplantın bir yüzü. Kırmızı: Kemik teması olmayan implant yüzeyi, Yeşil: Kemikle teması olan yüzey



Resim 26. Aynı implantın diğer yüzü. Kırmızı: Kemik teması olmayan implant yüzeyi, Yeşil: Kemikle teması olan yüzey

3.BULGULAR

3.1. REZONANS FREKANS ANALİZİ

Tüm deneklerde Ostell[®] cihazı kullanılarak operasyonun yapıldığı ilk gün ve deneğin sakrifiye edildiği gün olacak şekilde her implantın iki defa RFA ölçümü yapılmıştır. Her bir implanta takılan SmartPeg'in dört bir tarafından ölçüm yapılarak elde edilen ISQ değerlerinin ortalaması alınarak ilgili implantın RFA değeri ISQ biriminden kaydedilmiştir. Gruplardaki her bir implantın ilk gün ve sakrifiye edildiği gün ölçülen ISQ değerleri **Tablo 3.1** de gösterilmiştir. Gruplar arasında ilişkinin daha kolay görülebilmesi için veriler **Şekil 19'da** aktarılmıştır. Verilerin istatistiksel analizinde genel doğrusal modellerden faydalanılmıştır. Tekrarlı ölçümlerde iki yönlü varyans analizi kullanıldı. Çoklu karşılaştırma testi olarak Bonferroni testi kullanıldı. $p < 0.05$ olanlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

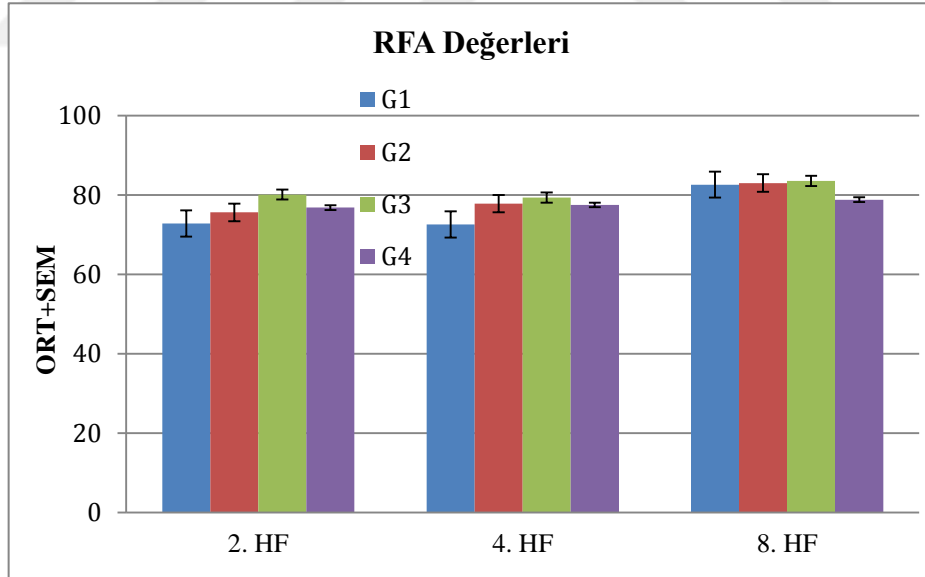
TABLO 3.1: REZONANS FREKANS ANALİZİ TABLOSU (ISQ)

		1. GÜN	2 HAFTA	4 HAFTA	8 HAFTA
GRUP 1	İmplant No				
	1	76	76		
	2	72	74		
	3	73	79		
	4	67	65		
	5	54	63		
	6	77	80		
	7	63		74	
	8	69		73	
	9	67		71	
	10	70		72	
	11	70		73	
	12	69		73	
	13	54			76
	14	70			82
	15	59			85
	16	77			81
	17	78			87
18	65			85	

GRUP 2		1. GÜN	2 HAFTA	4 HAFTA	8 HAFTA
	1	72	67		
	2	75	79		
	3	74	77		
	4	75	75		
	5	77	76		
	6	81	80		
	7	52		72	
	8	71		72	
	9	75		83	
	10	80		80	
	11	79		78	
	12	80		82	
	13	73			81
	14	75			82
	15	69			82
	16	75			83
	17	76			85
	18	83			85

GRUP 3		1. GÜN	2 HAFTA	4 HAFTA	8 HAFTA
	1	60	78		
	2	69	74		
	3	74	77		
	4	70	80		
	5	78	87		
	6	70	85		
	7	66		75	
	8	69		79	
	9	71		80	
	10	75		78	
	11	69		80	
	12	70		84	
	13	70			77
	14	80			84
	15	74			81
	16	87			85
	17	83			88
	18	80			86

GRUP 4		1. GÜN	2 HAFTA	4 HAFTA	8 HAFTA
	1	79	74		
	2	73	74		
	3	79	74		
	4	83	83		
	5	84	76		
	6	86	80		
	7	77		76	
	8	67		76	
	9	83		82	
	10	80		74	
	11	83		77	
	12	81		80	
	13	63			75
	14	79			79
	15	82			85
	16	81			85
	17	83			88
	18	85			85



Şekl 19: Gruplar arasındaki ilişki 2, 4 ve 8. haftada grafik ile gösterilmiştir. Her periyotta Grup 3 daha fazla ISQ değerine sahip olmuştur.

Tablo 3.2: 2 hafta sonunda yüzey modifikasyonlarına göre RFA ölçümlerinin karşılaştırılması (ISQ değerleri).

2. HAFTA RFA DEĞERLENDİRMESİ			
GRUPLAR	İlk gün	2.hafta	
	<i>Ortalama ± s.sapma</i>	<i>Ortalama ± s.sapma</i>	<i>p</i>
1	69,83±8,51 ^{a+}	72,83±7,19	0,098
2	75,66±3,07 ^{ab}	75,66±4,63	1,000
3	70,16±6,01 ^a	80,17±4,95	<0,001 [*]
4	80,66±4,67 ^b	76,83±3,81	0,038 ^{**}
<i>p</i>	0,014 ^{**}	0,151	

* $p < 0.001$, ** $p < 0.05$, + aynı harflere sahip gruplar arasında istatistiksel farklılık yoktur.

Tablo 3.2'ye bakılarak 2. hafta RFA ölçümleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; RGD peptidin tek başına uygulandığı implantlarda RFA'daki artış oldukça anlamlıdır ($p < 0,001$). ASP + RGD grubunda da anlamlı bir azalma vardır ($p < 0,05$).

Tablo 3. 3: 4 hafta sonunda yüzey modifikasyonlarına göre RFA ölçümlerinin karşılaştırılması (ISQ değerleri).

4. HAFTA RFA DEĞERLENDİRMESİ			
Gruplar	İlk gün	4.hafta	
	<i>Ortalama ± s.sapma</i>	<i>Ortalama ± s.sapma</i>	<i>p</i>
1	68,00±2,68	72,66±1,03 ^{a+}	0,048 ^{**}
2	72,83±10,79	77,83±4,83 ^{ab}	0,035 ^{**}
3	70,00±2,96	79,33±2,94 ^b	<0,001 [*]
4	78,50±6,05	77,50±2,94 ^{ab}	0,656
<i>p</i>	0,057	0,011 ^{**}	

* $p < 0.001$, ** $p < 0.05$, + aynı harflere sahip gruplar arasında istatistiksel farklılık yoktur.

4. haftada grupların RFA değerlerindeki değişimler **Tablo 3.3'** te görülmektedir. 4 haftalık implantların kemiğe yerleştirildikleri andaki RFA değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasında kontrol ve RGD peptid arasında istatistiksel farklılık vardır. 1, 2 ve 3. grupların kendi aralarında ilk ve 4. hafta RFA değerleri karşılaştırıldığında iki zaman periyodunda anlamlı farklılık vardır. Bu durum özellikle RGD peptid grubunda oldukça anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). Gruplar arasında ise; kontrol ve RGD peptid arasında 4. haftada anlamlı farklılık bulunmuştur ($p = 0,011$).

Tablo 3.4: 8 hafta sonunda yüzey modifikasyonlarına göre RFA ölçümlerinin karşılaştırılması (ISQ değerleri).

8. HAFTA RFA DEĞERLENDİRMESİ			
Gruplar	İlk gün	8.hafta	p
	<i>ortalama±s.sapma</i>	<i>ortalama±s.sapma</i>	
1	67,16±9,66	82,66±3,93	<0,001*
2	75,16±4,57	83,00±1,67	0,001
3	79,00±6,13	83,50±3,93	0,036**
4	75,04±8,24	78,83±8,01	1,000
p	0,067	0,364	

* $p < 0.001$, ** $p < 0.05$, + aynı harflere sahip gruplar arasında istatistiksel farklılık yoktur.

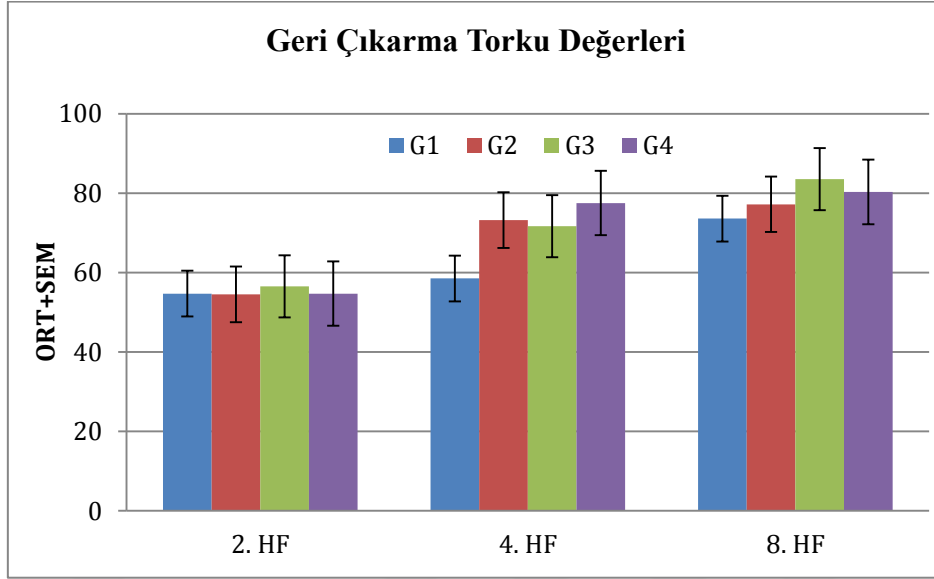
Osseintegrasyon için en uzun periyot olan 8 haftalık süreçte **Tablo 3.4'e** bakıldığında; ilk gün ve 8 hafta sonundaki RFA değerlerinde gruplar arasında farklılık yoktur. Kontrol grubunda ve ASP grubundaki implantların RFA değerlerindeki değişim 8 hafta sonunda oldukça anlamlı bulunmuştur. RGD peptid grubunda ise ilk gün ve 8 haftalık RFA değerlerinde değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p = 0.036$).

3.2. GERİ ÇIKARMA TORK TESTİ

Denekler sakrifiye edildikten sonra her bir gruba ait 2 adet implantın RFA ölçümlerinin yapılmasını takiben uygun deney ortamı hazırlanarak ilgili implantların geri çıkarılması esnasında elde edilen en yüksek tork değerleri Ncm cinsinden 2, 4 ve 8. haftalar için **Tablo 3.5'**te gösterilmiştir. Örnek adedi az olduğundan istatistiksel karşılaştırma yapılmamıştır. Gruplar arasında ve farklı periyotlardaki değerlerin daha iyi anlaşılabilmesi için **Şekil 20'de** oluşturulmuştur.

TABLO 3.5: GERİ ÇIKARMA TORK TESTİ TABLOSU

		2 HAFTA	4 HAFTA	8 HAFTA
GRUP 1	İmplant No			
	5	56		
	6	53		
	11		57,0	
	12		60,2	
	17			75,0
	18			72,2
GRUP 2	5	56,7		
	6	51,4		
	11		74,0	
	12		72,5	
	17			77,5
	18			77,1
	GRUP 3	5	53,5	
6		58,9		
11			64,0	
12			68,2	
17				85,0
18				82,2
GRUP 4		5	54,4	
	6	55,0		
	11		72,0	
	12		71,5	
	17			87,5
	18			74,1



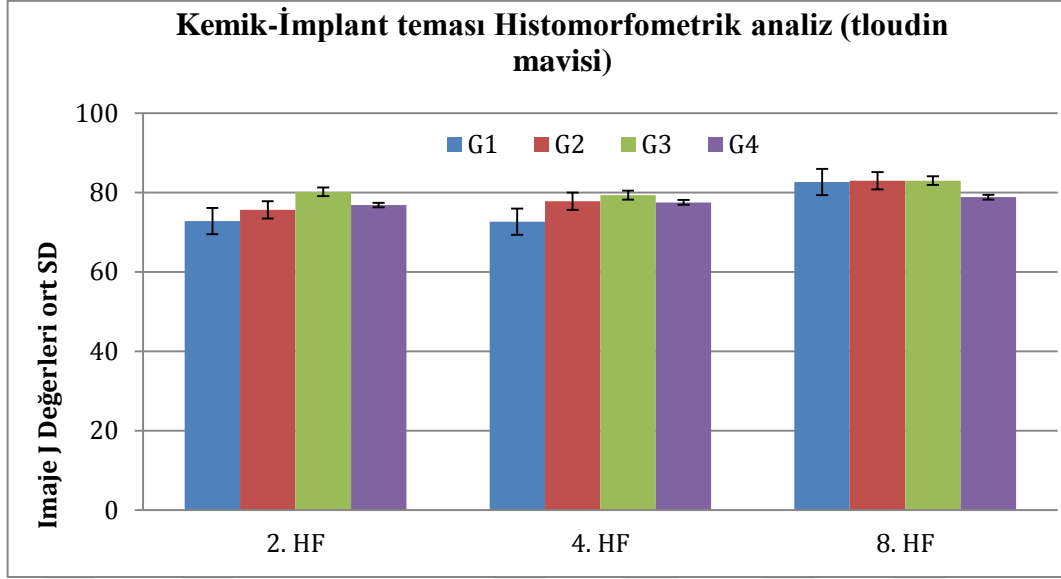
Şekil 20: İmplantlar yerleştirildikten sonraki 2, 4 ve 8 haftalık süreçlerde elde edilen geri çıkarma tork değerleri görülmektedir. 2 haftalık süreçte değerler birbirine oldukça yakinken özellikle 4. haftada ASP ve ASP + RGD peptid grubunda diğerlerine göre fark vardır. 8 hafta sonunda ise RGD peptid grubu daha yüksek değer vermiştir.

3.3.HİSTOMORFOMETRİK DEĞERLENDİRME

Exakt cihazıyla Undekalsifiye sert doku kesme yöntemiyle yapılan kesit alma işleminden sonra kemik–implant temasının fotoğrafik görüntüsü ışık mikroskobu altında (Olympus® CX41, Tokyo, Japan) dijital kamera (Olympus® DP 25, Tokyo, Japan) yardımı ile alınmış ve Olympus analysis LS research programı yardımı ile histomorfometrik ölçümler yapılmıştır. Kesitlerin incelenmesiyle elde edilen 2, 4 ve 8. haftalarda alınan ölçümler **Tablo 3.6'** da gösterilmiştir. Verilerin daha kolay anlaşılması için yapılan **Şekil 21'**de de görüleceği üzere sadece 4. haftada gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmıştır. Buna göre kontrol grubuyla RGD peptid grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur (**Tablo 3.7**).

TABLO 3.6: GRUPLARA AİT HİSTOMORFOMETRİK DEĞERLER

	GRUP 1		GRUP 2		GRUP 3		GRUP 4	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
2. HAFTA	72.833	7.195	75.667	4.633	80.167	4.956	76.833	3.817
4. HAFTA	72.667a	1.033	77.833ab	4.834	79.333b	2.944	77.500ab	2.950
8. HAFTA	82.667	3.933	83.000	1.673	83.000	3.937	78.833	8.010



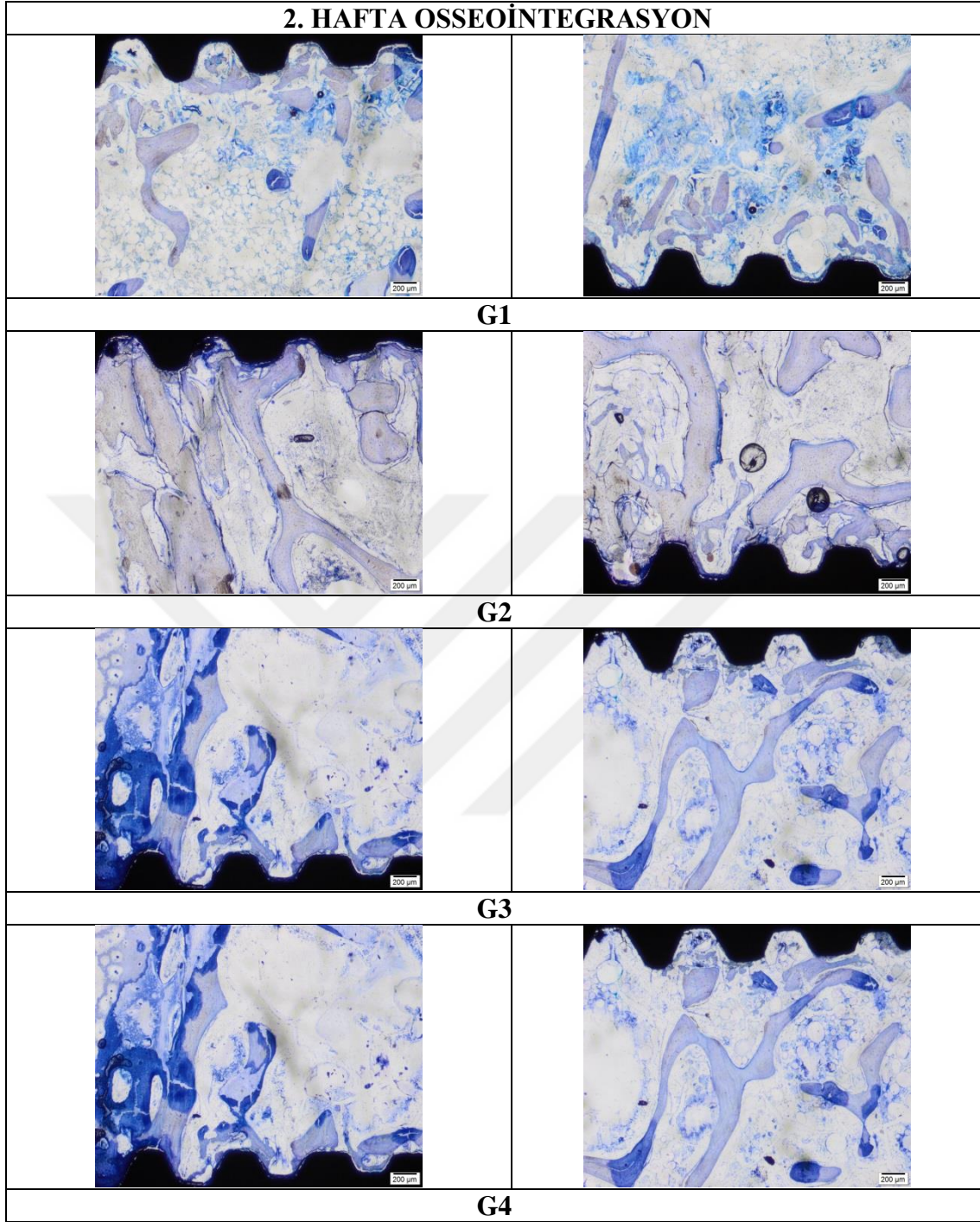
Şekil 21: Farklı zaman periyotlarında gruplara göre kemik-implant temasını gösteren grafik.

4. Hafta Gruplar Arası Kemik-İmplant Teması Değerlendirilmesi			
Karşılaştırılan Gruplar	Ortalama ± s.sapma		p değeri
G1 vs G2	-5.167	3.915	P>0.05
G1 vs G3	-6.667	5.052	* P<0.01
G1 vs G4	-4.833	3.662	P>0.05
G2 vs G3	-1.500	1.137	P>0.05
G2 vs G4	0.333	0.252	P>0.05
G3 vs G4	1.833	1.389	P>0.05

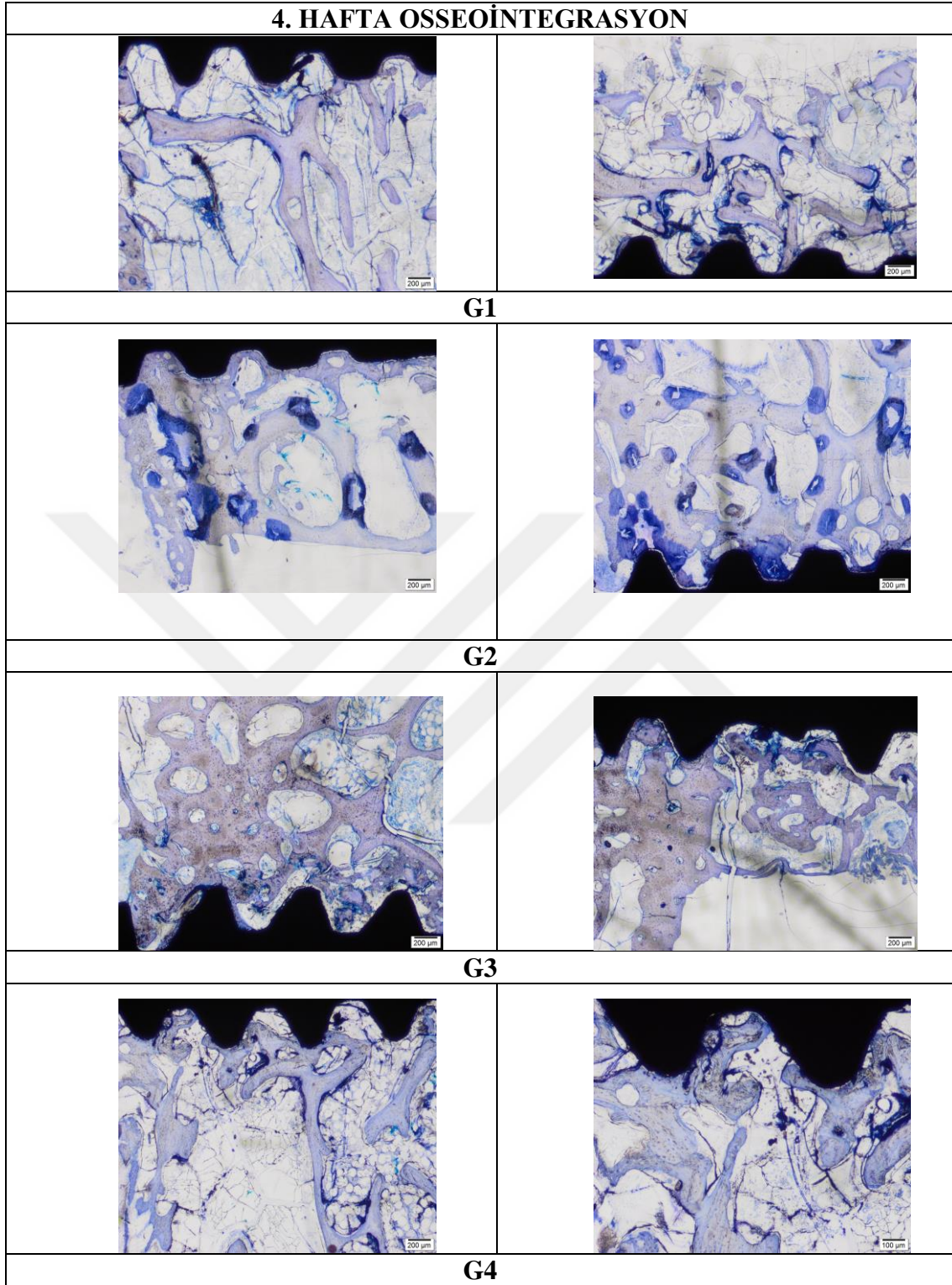
* $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlıdır.

Tablo 3.7: Osseintegrasyonun 4.haftasında gruplar arasında kemik-implant temasının karşılaştırılması. Sadece kontrol grubu ile RGD peptid grubu arasında anlamlı fark bulunmuştur.

Üç farklı osseintegrasyon periyodunda gruplarda kullanılan tüm implantların kesitlerinin görüntüsü alınarak kemik-implant temasına bakılmıştır. Bu işlem yapılırken her bir implant için en doğru bilgiyi verebilecek olan, implantın iki yüzeyinden de en iyi görüntü alınmıştır. **Şekil 22, 23 ve 24**'te detaylıca görülmektedir.

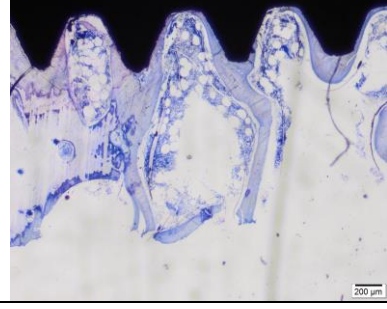
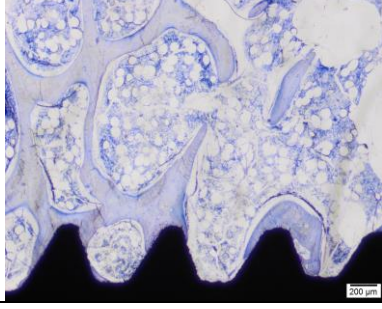


Şekil 22. Toluidin boyamasında implant yerleşimi sonrası 2. haftada kemik ve fibröz doku oluşumu

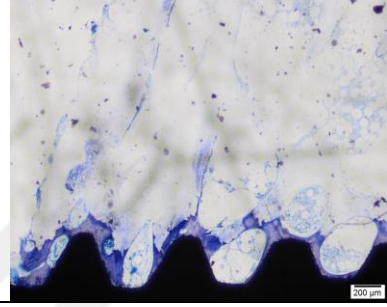
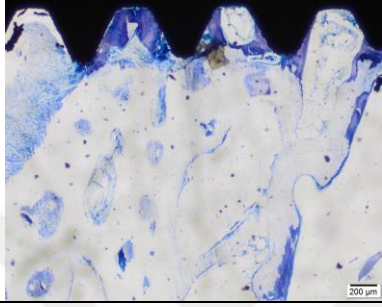


Şekil 23. Toluidin boyamasında implant yerleşimi sonrası 4. haftada kemik ve fibröz doku oluşumu

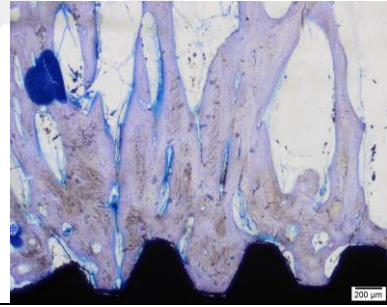
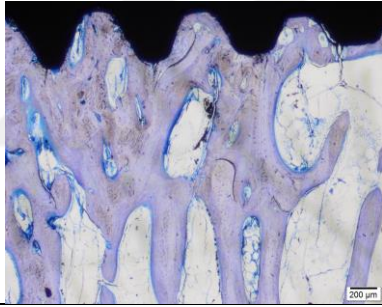
8. HAFTA OSSEOİNTEGRASYON



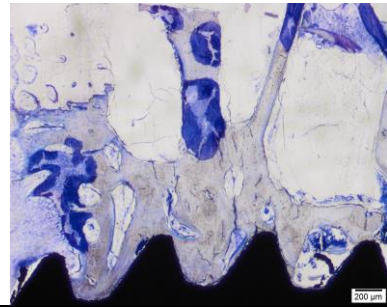
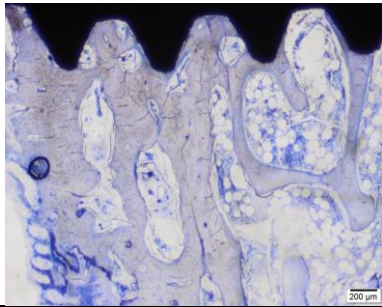
G1



G2



G3



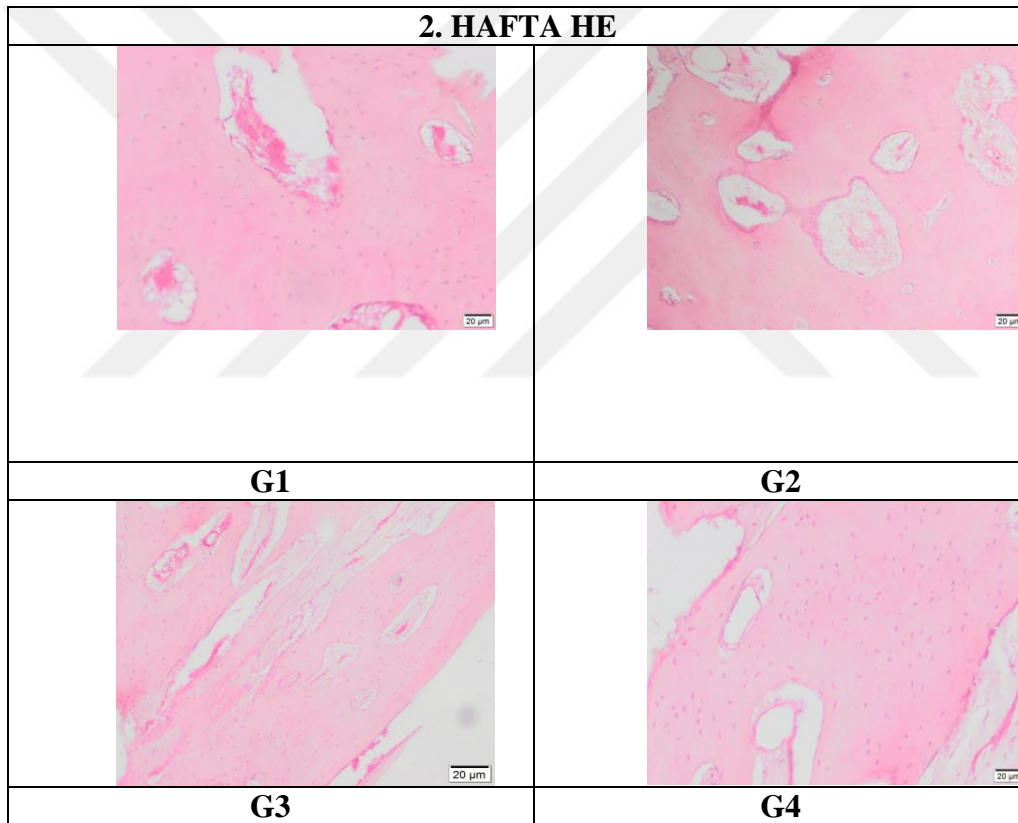
G4

Şekil 24. Toluidin boyamasında implant yerleşimi sonrası 8. haftada kemik ve fibröz doku oluşumu

3.4. HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRMELER

3.4.1. Kemik ve Fibröz Doku Değerlendirmesi

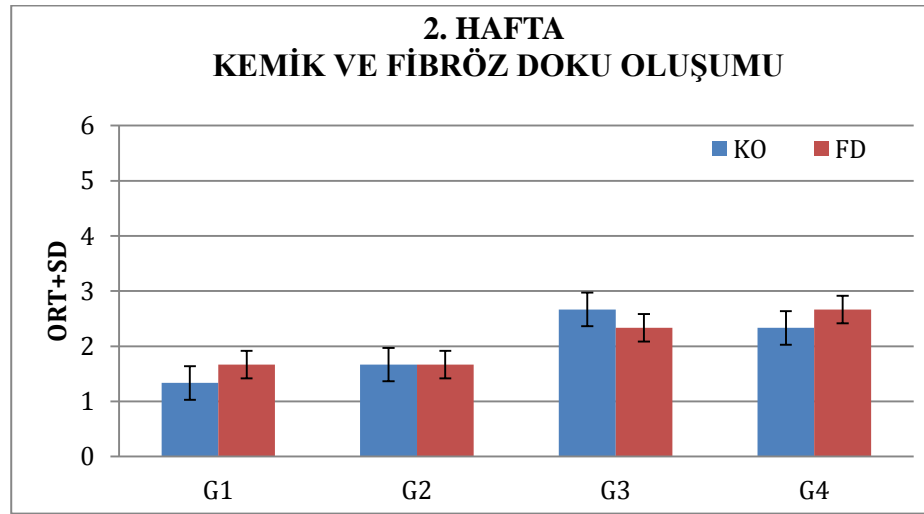
Örneklerin EDTA ile takibi sonrasında parafin gömme ile yapılan histolojik kesitlerinde Hematoksilen Eosin (HE) boyamalarında 2, 4 ve 8. Haftalarda alınan mikroskopik sonuçlar Şekil 25, 26 ve 27’de gösterilmiştir. Görüntüler uzman bir araştırmacı tarafından mikroskop altında incelendikten sonra 1-6 arasında skorlama yapılmıştır. Örneklem büyüklüğü yeterli olmadığından gruplar arası istatistiksel karşılaştırma yapılamamıştır. Gruplar arasındaki farklılığın daha iyi anlaşılabilmesi için Şekil 28, 29 ve 30 hazırlanmıştır.



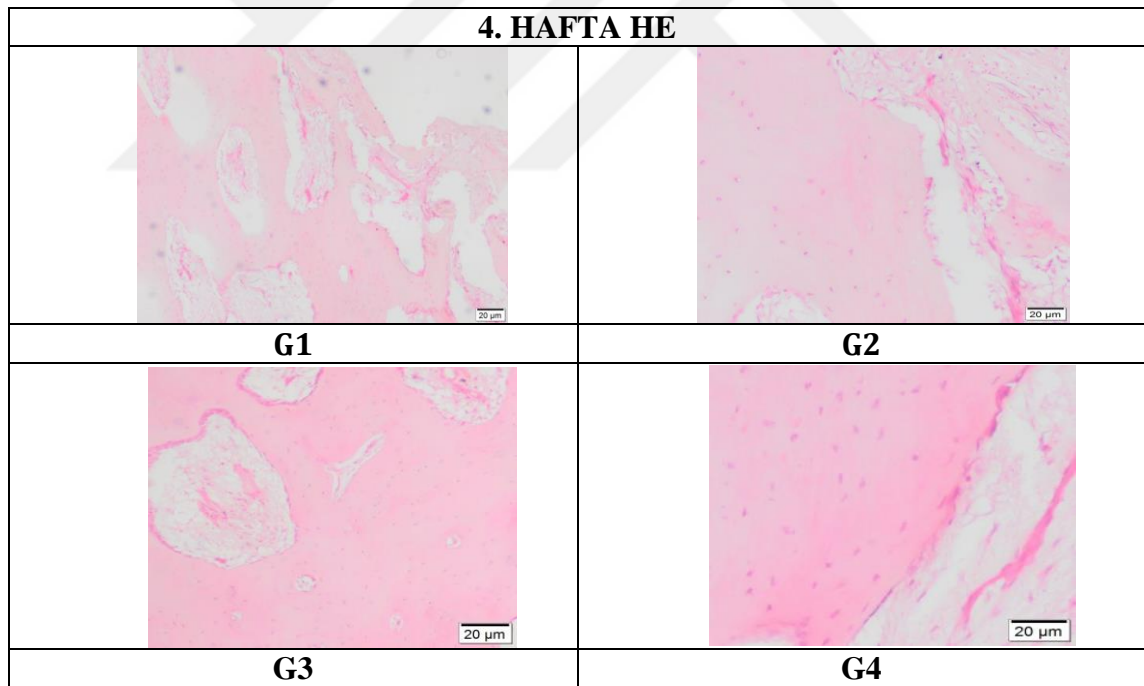
Şekil 25. Hematoksilen ve Eozin boyamalarında implant sonrası 2. haftada kemik ve fibröz doku oluşumu.

Osseointegrasyonun 2 ve 4. haftalarında özellikle RGD peptidin tek başına uygulandığı implantların çevresinde daha fazla kemik dokusu oluşumu gözlenirken kontrol grubu ve ASP+ RGD peptid grubunda fibröz doku oluşumu daha fazla görülmüştür. ASP grubunda ise eşit miktarda fibröz ve kemik dokusu oluşumu gözlenmiştir. Osseointegrasyonun 8. haftasında ise; kontrol grubu, ASP ve RGD peptid

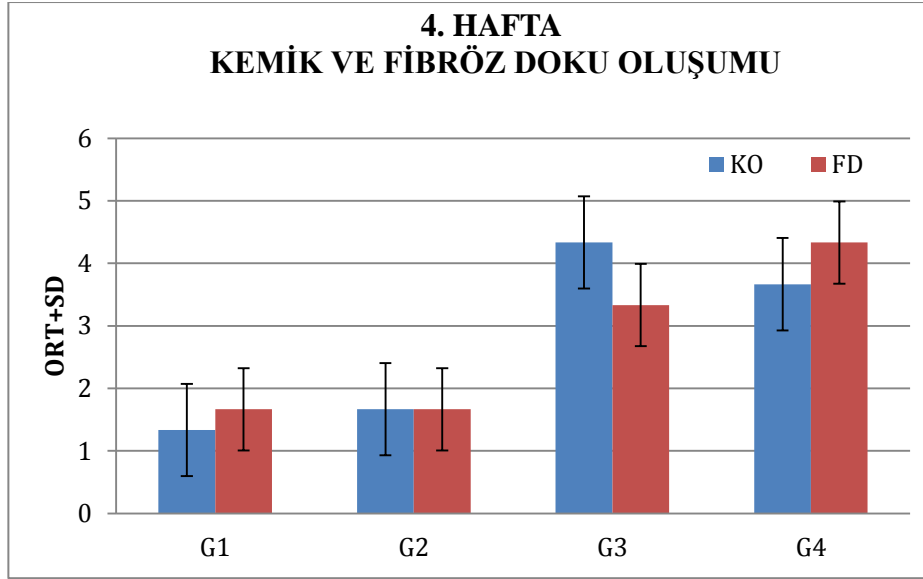
grubunda kemik oluşumu belirgin olarak daha fazla iken bu durum ASP+ RGD peptid grubunda tam tersi bir durum göstermiştir (Grafik 4.4, 4.5 ve 4.6).



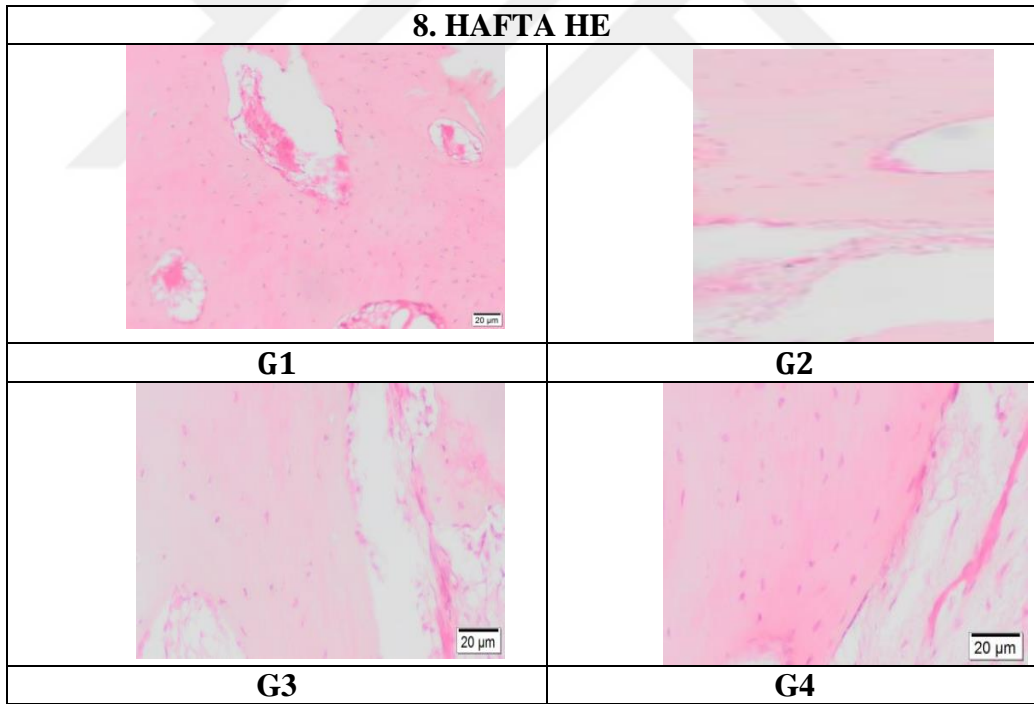
Şekil 28. İmplant sonrası 2.haftada kemik oluşumu ve fibröz doku oluşumunun grafiği. 2. haftada sadece RGD peptid grubunda kemik oluşumu daha fazla bulunmuştur.



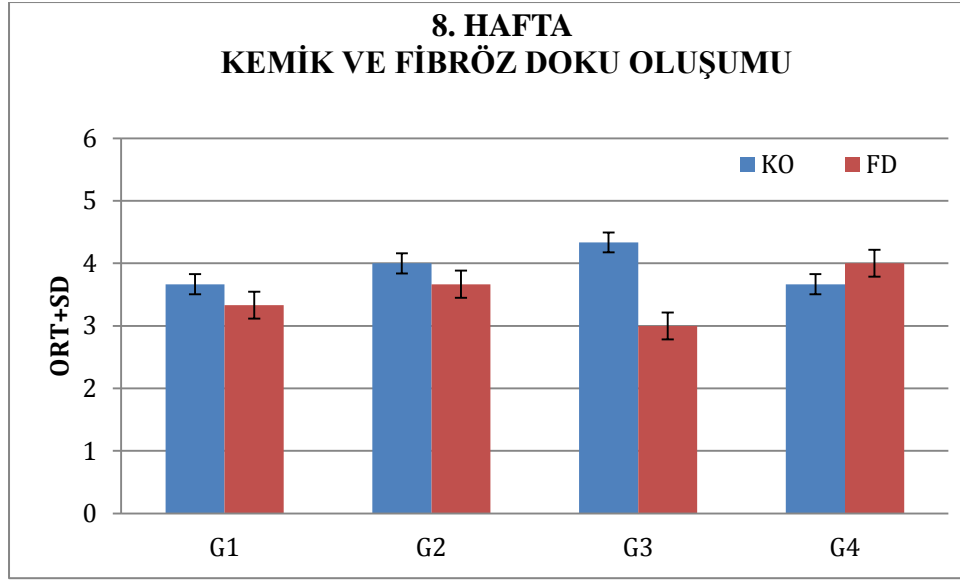
Şekil 26. Hematoksilen ve Eozin boyamalarında implant sonrası 4. haftada kemik ve fibröz doku oluşumu



Şekil 29. İmplant sonrası kemik ve fibröz doku oluşumunun grafiği. 2. haftada olduğu gibi 4. haftada da RGD peptid grubunda daha fazla kemik dokusu oluşumu görülmüştür.



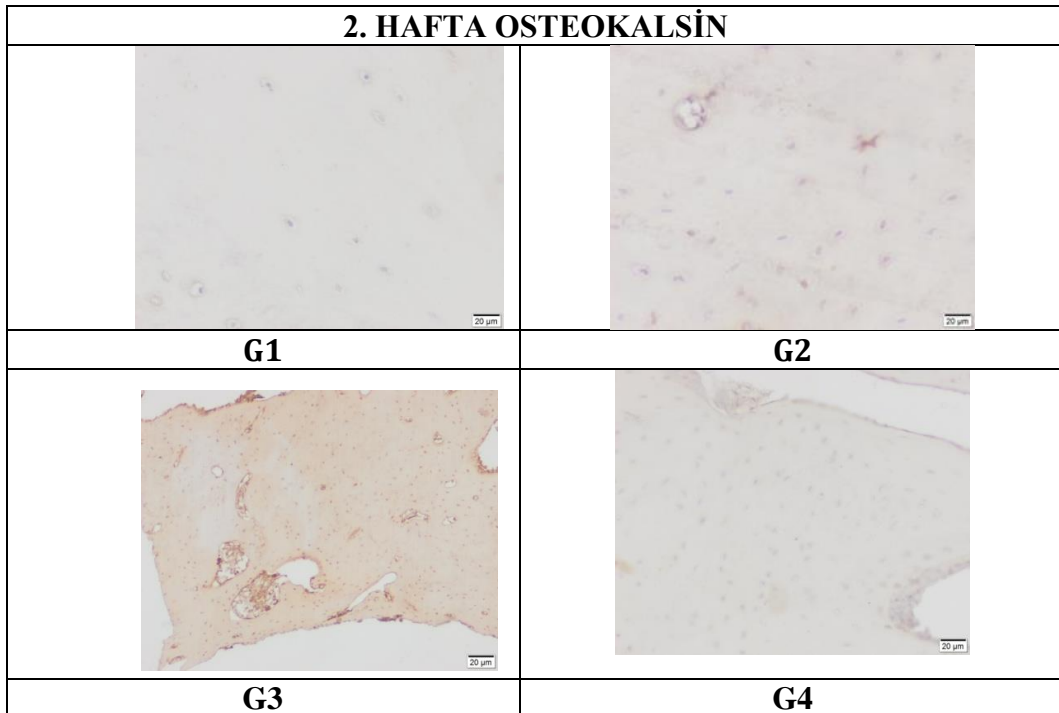
Şekil 27. Hematoksilen ve Eozin boyamalarında implant sonrası 8. haftada kemik ve fibröz doku oluşumu



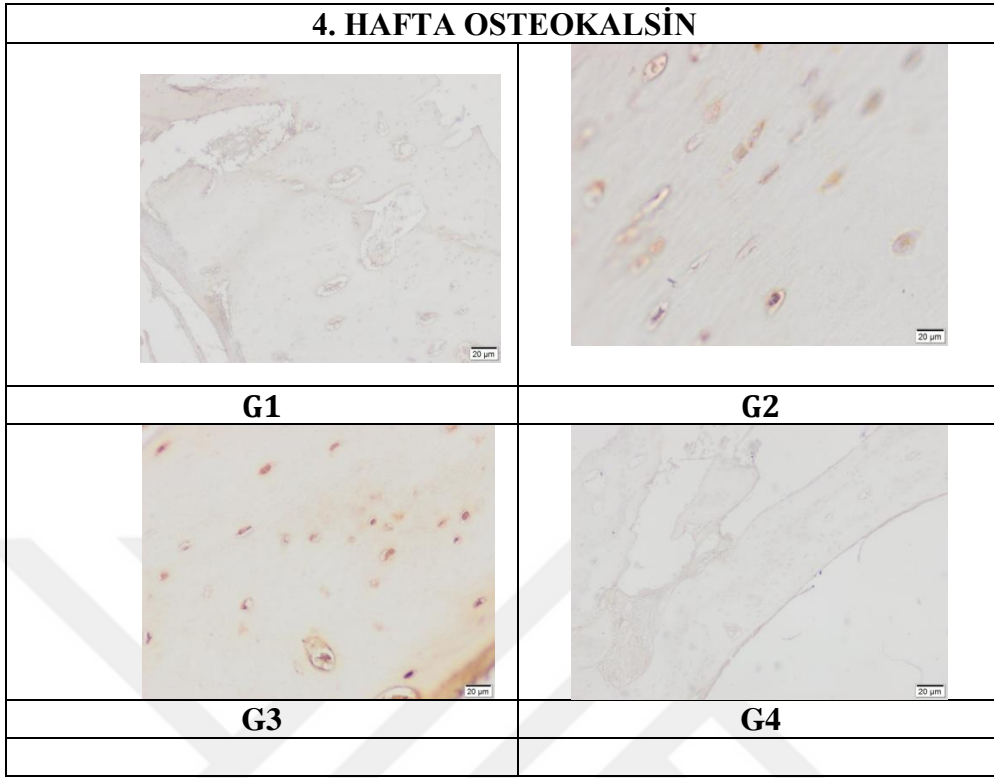
Şekil 30. İmplant sonrası kemik ve fibröz doku oluşumunun grafiği. ASP+RGD peptid grubu dışında diğer gruplarda daha fazla kemik oluşumu görülmüştür.

3.4.2. Osteokalsin Değerlendirmesi

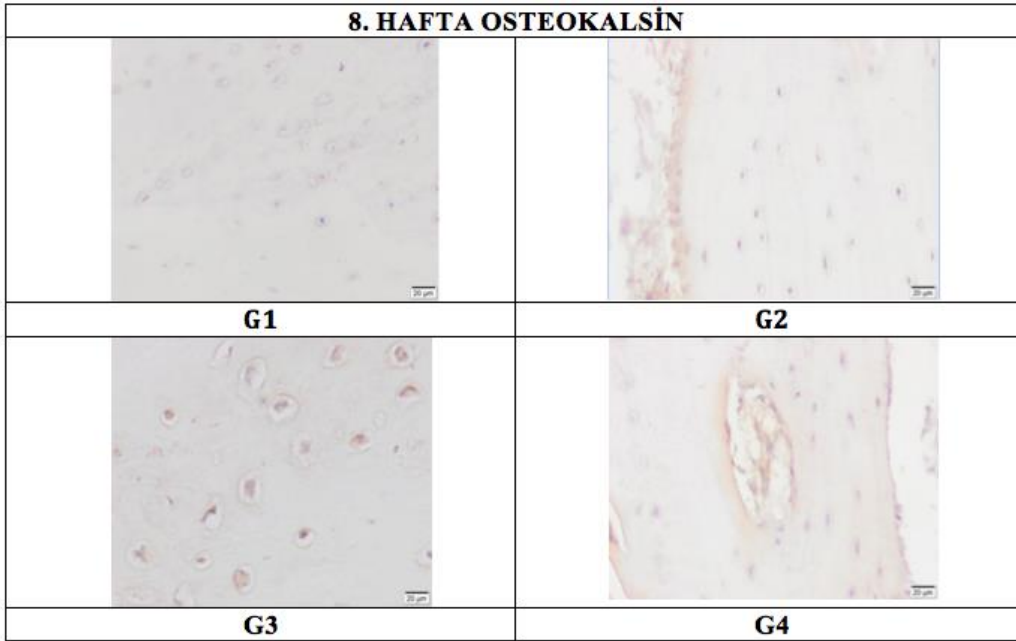
2 ve 8. haftalarda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Sadece 4. haftada kontrol grubuyla RGD peptid grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (**Tablo 3.8**).



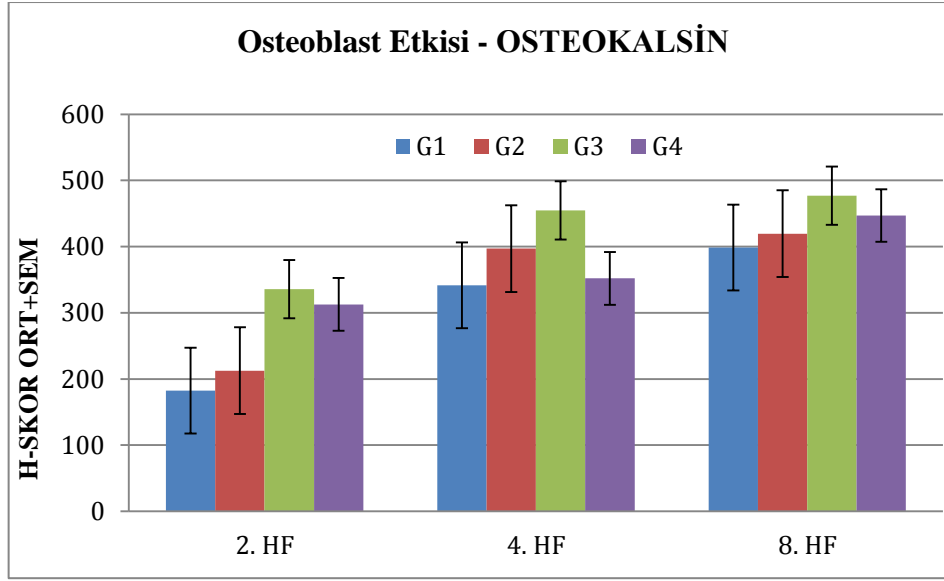
Şekil 31. Hematoksilen ve Eozin boyamalarında implant sonrası 2. haftadaki osteokalsin boyaması



Şekil 32. Hematoksilen ve Eozin boyamalarında implant sonrası 4. haftadaki osteokalsin boyaması



Şekil 33. Hematoksilen ve Eozin boyamalarında implant sonrası 8. haftadaki osteokalsin boyaması



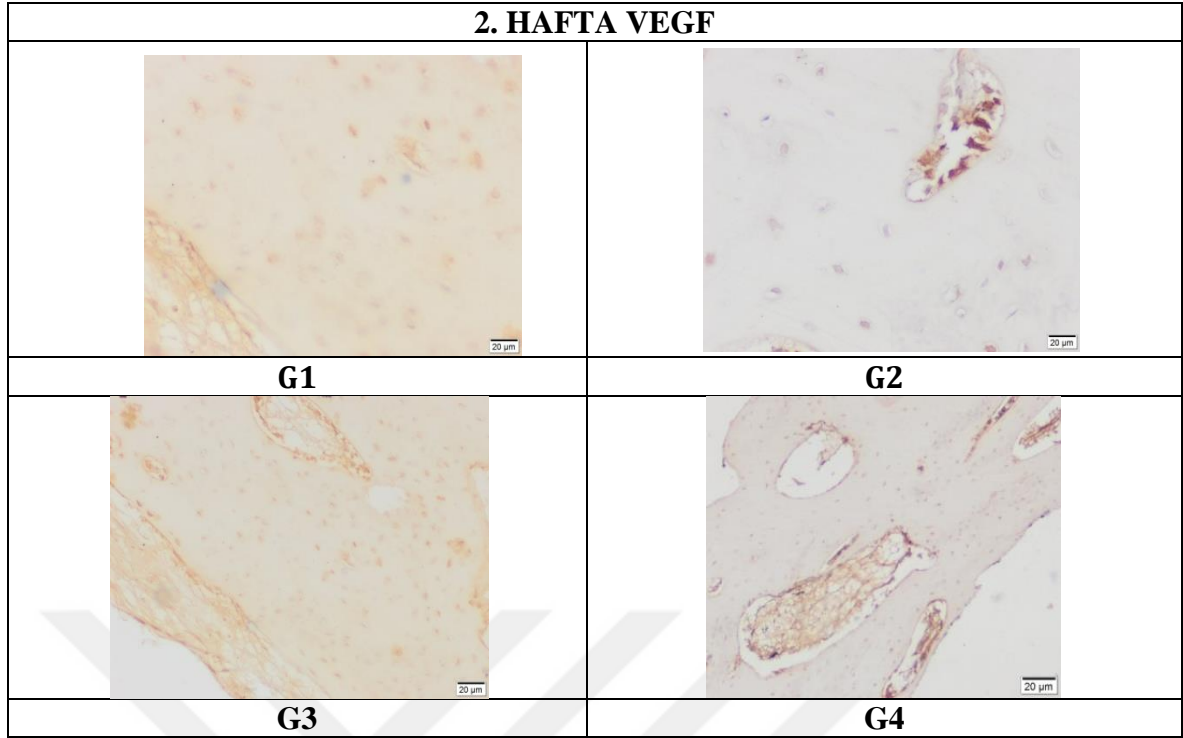
Şekil 34. İmplant sonrası H-skor ile osteoblast belirteci osteokalsin histomorfometresi. Grafikte görüldüğü gibi her periyotta da RGD peptid grubunda belirgin bir artış söz konusudur.

4. Hafta Gruplar Arası H Skorlamasıyla yapılan OK Değerlendirilmesi		
Karşılaştırılan Gruplar	Ortalama ± s.sapma	p değeri
G1 vs G2	-55.333 2.226	p>0.05
G1 vs G3	-113.00 4.546	*p<0.05
G1 vs G4	-10.333 0.4157	p>0.05
G2 vs G3	-57.667 2.320	p>0.05
G2 vs G4	45.000 1.810	p>0.05
G3 vs G4	45.000 1.810	P>0.05

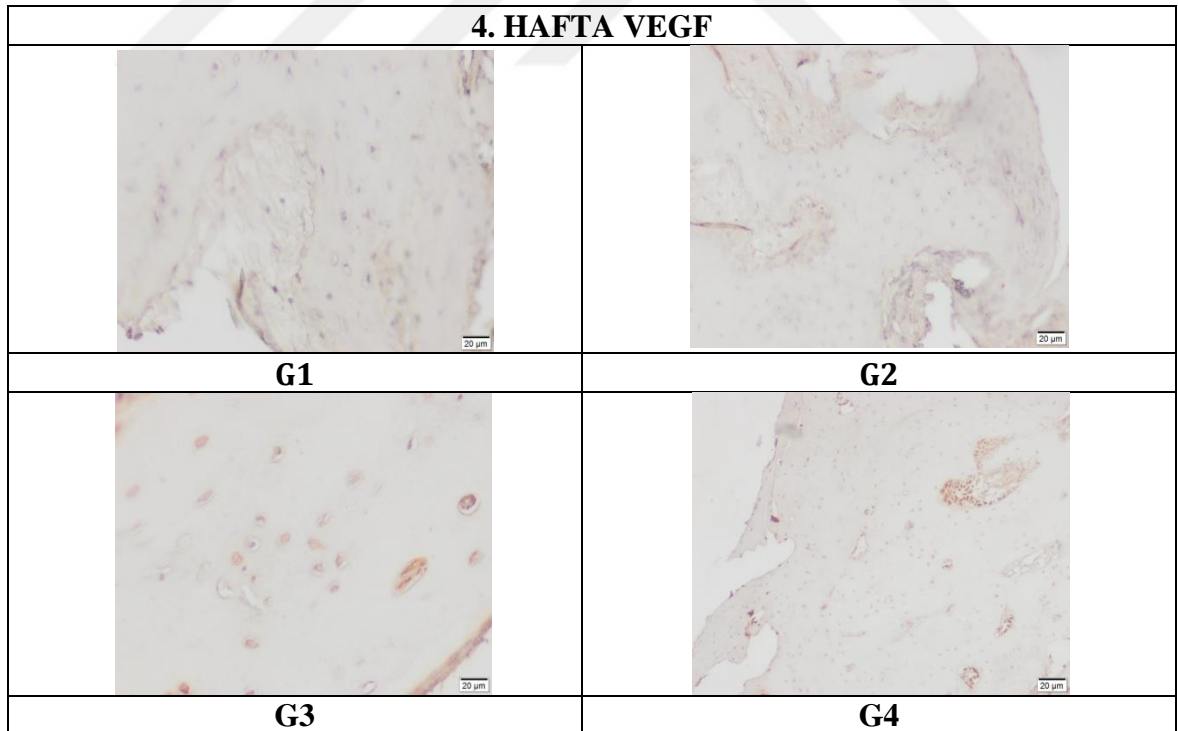
Tablo 3.8. 4. Haftada gruplar arasında OK'in H skorlaması istatistik tablosu. RGD peptid grubundaki artış, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

3.4.3. VEGF Değerlendirmesi

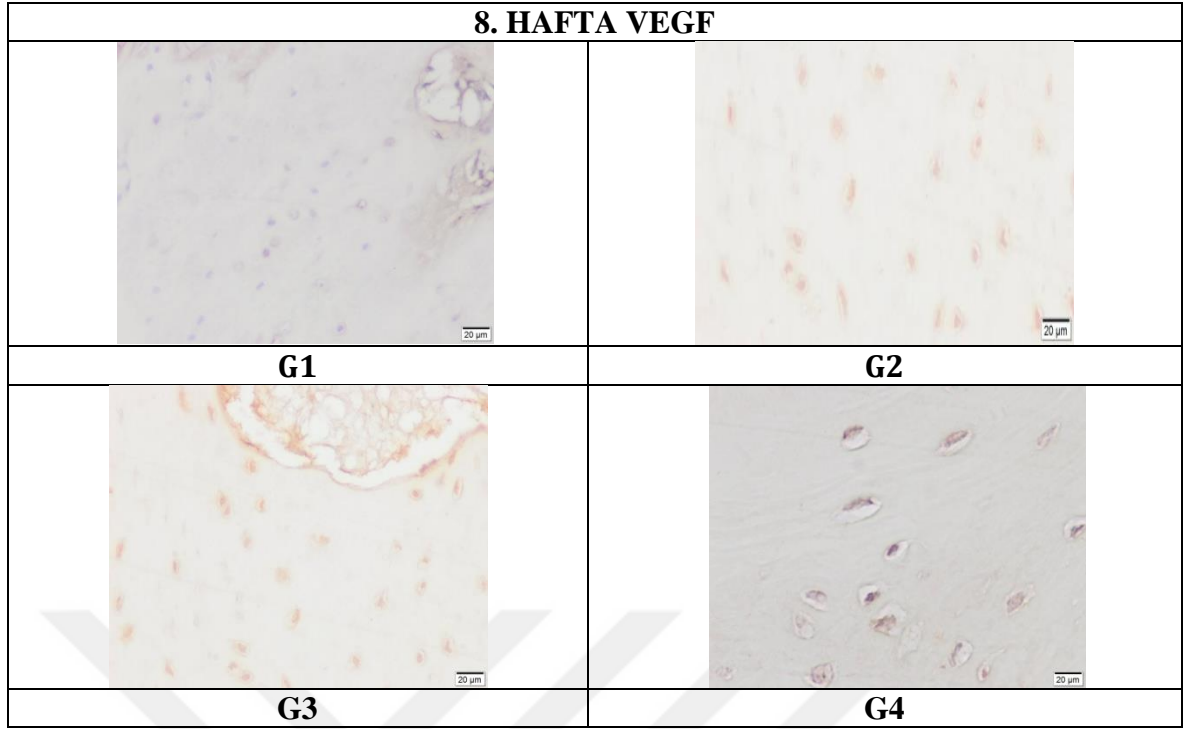
2, 4 ve 8 haftalık periyotlarda grupların VEGF histomorfometrisi kıyaslandığında; özellikle 2.haftada gruplar arasında oldukça anlamlı fark bulunmuştur. Aynı zamanda 4 ve 8.haftalarda da gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur (**Tablo 3.9, 3.10 ve 3.11**). 2 haftalık süreçte RGD peptidin kontrol grubuna göre oldukça anlamlı H skoruna sahip olduğu görülmektedir (352±32, 205±39). Daha sonra gruplar arası kıyaslamada ASP + RGD peptid grubunun kontrol grubuna göre üstünlüğü görülmektedir (315±10, 205±39). Aynı zamanda RGD peptid grubu; ASP ve ASP+RGD peptid grubuna göre üstündür.



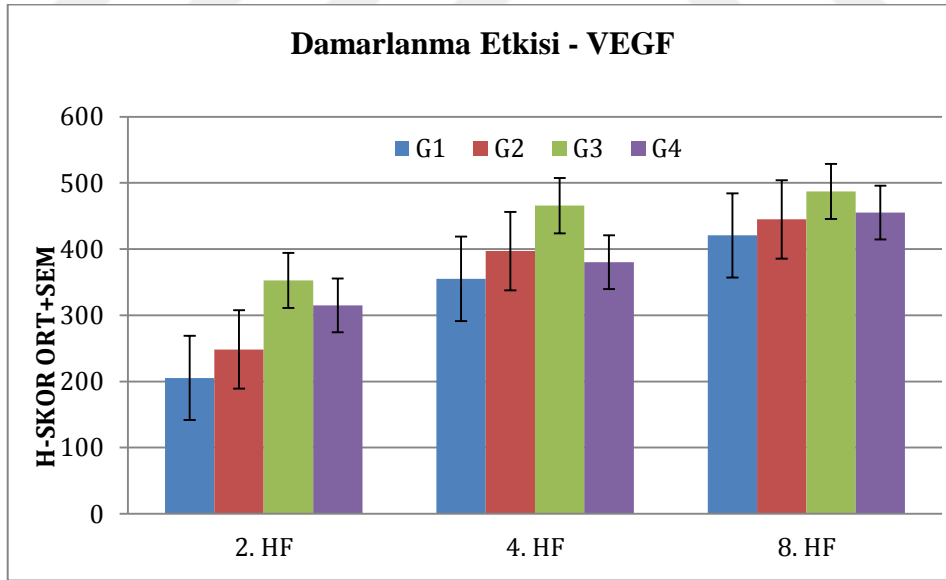
Şekil 35. Hematoksilen ve Eozin boyamalarında implant sonrası 2. haftadaki VEGF boyaması



Şekil 36. Hematoksilen ve Eozin boyamalarında implant sonrası 4. haftadaki VEGF boyaması.



Şekil 37. Hematoksilen ve Eozin boyamalarında implant sonrası 8. haftadaki VEGF boyaması.



Şekil 38. İmplant sonrası H-skor ile osteoblast belirteci VEGF histomorfometresi.

Tablo 3.9: 2. Hafta Gruplar Arası H Skorlamasıyla yapılan VEGF Değerlendirilmesi		
Karşılaştırılan Gruplar	Ortalama ± s.sapma	p değeri
G1 vs G2	-43.000 2.581	p>0.05
G1 vs G3	-147.33 8.844	*p<0.01
G1 vs G4	-109.67 6.583	*p<0.01
G2 vs G3	-104.33 6.263	*p<0.01
G2 vs G4	-66.667 4.002	p>0.05
G3 vs G4	37.667 2.261	p>0.05

*p <0.01 istatistiksel olarak oldukça anlamlıdır.

Tablo 3.9'da VEGF değerlendirmesinin yapıldığı 2. haftada kontrol grubuna göre; RGD peptid ve ASP+RGD peptid grubu oldukça anlamlı olarak fazla H skorlamasına sahiptir. RGD grubunda yine ASP grubuna göre oldukça anlamlı olarak daha fazla VEGF göstermiştir.

Tablo 3.10: 4. Hafta Gruplar Arası H Skorlamasıyla yapılan VEGF Değerlendirilmesi		
Karşılaştırılan Gruplar	Ortalama ± s.sapma	p değeri
G1 vs G2	-42.000 2.407	p>0.05
G1 vs G3	-110.67 6.341	**p<0.01
G1 vs G4	-25.333 1.452	p>0.05
G2 vs G3	-68.667 3.935	p>0.05
G2 vs G4	16.667 0.9550	p>0.05
G3 vs G4	85.333 4.890	*p<0.05

**p <0.01 istatistiksel olarak oldukça anlamlıdır. *p <0.05 istatistiksel olarak anlamlıdır.

Tablo 3.10'da 4.hafta değerlendirmesi yapılmış olup RGD peptid grubundaki VEGF için H skoru kontrol grubuna göre oldukça anlamlı fazlayken (p<0.01); RGD peptid grubunu H skoru, ASP+RGD peptid grubuna göre anlamlı fazla (p<0.05) bulunmuştur.

Tablo 3.11: 8. Hafta Gruplar Arası H Skorlamasıyla yapılan VEGF Değerlendirilmesi		
Karşılaştırılan Gruplar	Ortalama ± s.sapma	p değeri
G1 vs G2	-24.333 2.069	p>0.05
G1 vs G3	-66.333 5.640	*p<0.05
G1 vs G4	-34.667 2.948	p>0.05
G2 vs G3	-42.000 3.571	p>0.05
G2 vs G4	-10.333 0.8787	p>0.05
G3 vs G4	31.667 2.693	p>0.05

* $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlıdır.

Tablo 3.11' de 8. haftada H skorlaması bakımından sadece kontrol grubu ile RGD peptid grubu arasında VEGF incelemesinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur.

Sonuç olarak kemik oluşumunun temel belirteçlerinden birisi olan VEGF bir parametre olarak değerlendirdiğimizde özellikle erken dönemde RGD peptid ile muamele edilmiş SLA yüzeyli dental implantların daha iyi osseointegre olduğu görülmektedir. Buna göre RGD peptidin yüzeyi osteoblastik aktivitelere daha uygun hale getirdiği söylenebilir.

5. TARTIŞMA

Dental implantlar, dişlerinin bir kısmını ya da tamamını kaybetmiş hastalarda doğal diş köklerinin yerini tutar ve üzerine protetik bir yapının yerleştirilmesine olanak tanır. Prof. Per Ingvar Brånemark'ın kemik dokusundaki mikrosirkülasyon çalışmalarını yürütürken yaptığı araştırmalar sayesinde dental implantlar günümüzdeki önemini kazanmaya başlamıştır. Brånemark, yaralanmış kemik dokusunun anatomi ve fizyolojisini incelerken paslanmaz çelikten yapılmış optik odacıklar kullanmıştır. Sonraki çalışmalarında aynı amaçla titanyum materyalini kullandığında bu yapının kemiğe sıkıca tutunduğunu gözlemlemiştir (5). Titanyum odacıklar kemik dokusu iyileştikten sonra kemiğin içerisinden bir daha çıkarılamamıştır. Bu durumu araştırmak için yapılan histolojik çalışmalarda kemik ile titanyumun tamamen entegre olduğu görülmüştür. Şans eseri yapılan bu çalışmalardan sonra Brånemark dental implantların önünü açan osseointegrasyonun yeni bir konseptini geliştirmiştir. 1965 yılından sonra da titanyum materyalinden yapılmış dental implantlar insanlarda kullanılmaya başlanmıştır.

Özellikle titanyum materyali kullanılarak çeşitli şekillerde dizayn edilen ve yüzey özellikleri modifiye edilerek üretilen dental implantların dişsiz çene kemiklerine yerleştirilmesini takiben iyileşme süreci başlar. Ortalama 3 aylık bir iyileşme sürecinden sonra protetik olarak uygun bir restorasyon ile mevcut dişsizlik hali çözülmüş olur. Çoğu diş eksiklikleri sadece doğal dişlerin kullanıldığı sabit restorasyonlarla çözülebilir. Bazı durumlarda total dişsizliğin olduğu ve konvansiyonel hareketli protezler için yeterli tutuculuğun olmadığı ciddi kemik rezorpsiyonu olan vakalarda, dental implantlar hareketli protezlerde tutuculuğu arttırmak için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Günümüzde dental implant uygulamaları oldukça yaygınlaşmıştır, diş eksikliklerinin tedavisinde hekimler ve hastalar tarafından neredeyse ilk akla gelen tedavi seçeneği durumundadır çünkü; diş eksikliği olan hastalar için üst seviyede fonksiyon ve konfor sunmaktadır.

Brånemark tarafından tanımlanan ilk protokol iki aşamalı bir yöntemdir. Ayrıca Brånemark ihtiyatlı davranarak ilk uygulamaları sadece mandibulada yapmıştır. Bu protokole göre; ilk aşamada kemikte uygun bir kavite hazırlanıp implant yerleştiriliyor ve kemiğin kalitesine göre 3-6 aylık bir iyileşme dönemi bekleniyordu. İkinci aşama ise protez aşamasıydı. Bu teknikle tüm doğal dişler yerine konabiliyor, hastanın kaybettiği fonksiyon ve estetik yeniden kazandırılıbiliyordu (173). Sonraki yıllarda implant yerleştirme ve protez uygulamasının aynı seansta yapılabildiği tek aşamalı protokol

tanımlanmıştır. Bu protokole immediyat yükleme denilmektedir. Burada amaç; uygulanan implantların hızlı bir şekilde fonksiyona girmesini sağlamak ve hastayı mümkün olan en kısa sürede konforuna kavuşturmaktır. Dental implantolojinin tarihçesine bakıldığında, yapılan çalışmalar ve elde edilen kazanımlar cerrahi işlem sonrası iyileşme zamanını azaltma ve implantların çiğneme kuvvetlerine karşı kısa sürede güvenle yüklenmesi üzerine yoğunlaşmıştır. İyileşme sürecini kısaltmak için gereken strateji; titanyum implant yüzeylerinin biyouyumluluğunu arttırmak, cerrahi teknikleri modifiye etmek ve implant dizaynını en uygun olacak şekilde değiştirmektir (174).

Kullanıma sunulduğu günden itibaren çeşitli materyallerden, farklı makro geometride dental implantlar elde edilmiştir. Günümüzde kullanılan implant sistemlerinden önce genellikle; blade implantlar, press-fit silindirik implantlar, subperiostal implantlar ve transmandibular implantlar kullanılmıştır. Bu sistemlerden bazıları yaklaşık 5 yıllık bir periyotta ilk başta stabil ve başarılı gözükmekteyken; uzun dönem periyotta ise stabilite kaybı yaşayarak semptomatik hale gelip kaybedilmekteydi. İlk dönemlerde elde mevcut olan sadece saf titanyum materyaliydi ve bununla birlikte vidalı dizayn ve torna yüzey osseointegrasyon için elzem kabul ediliyordu. Günümüzde; tantalyum, niobiyum, titanyum alaşımlarının veya seramik materyallerinin yeterli miktarda implant stabilitesine sahip olacak şekilde osseointegrasyon gösterdikleri bilinmektedir (175-177). Torna yüzeyli implantlar günümüzde sadece çalışma amaçlı kullanılmaktadır ve öngörülebilirlikten yoksun olan bu sistemlerin yerini Branemark'ın çalışmaları sonrasında günümüzdeki modern, orta seviyede pürüzlü, silindirik veya konik formda olan, vida şeklinde konik forma sahip olan veya silindirik formda yivli implant sistemleri almıştır (178, 179).

İmplant dizaynının, primer stabilite ve okluzal kuvvetlerin dağılımı üzerine bariz etkisine rağmen; implant dizaynı ile ilgili henüz bir standardizasyon mevcut değildir (180). Silindirik yivli implantlar en çok kullanılanlardır. Biyomekanik ve klinik olarak bakıldığında ise; konik implantlar silindirik olanlara göre daha yüksek kompresyon kapasitesine sahiptir. Konik implantları kemiğe yerleştirirken, implantlar kemik üzerine kompresyon kuvveti uygular ve bu durum implantın primer stabilitesini artırır. Ancak, tüm vakalar için uygun olduğu söylenemez (180).

Dental implantoloji oldukça geniş bir uğraşı alanıdır. Dental implantların stabilitesi ve osseointegrasyonun devamlılığı genel olarak; implantların şekli ve boyutu, uygulandığı kemiğin kalitesi ve miktarı, cerrahi teknik, protetik uygulama durumlarından (kuvvet yoğunluğu, mevcut kuvvetlerin yönü gibi) etkilenmektedir. Bu faktörlerin hepsi başlı başına bağımsız olarak araştırılabilecek konulardır. Bu tez çalışmasında ise implant yüzeyinde gerçekleştirilen modifikasyonların osseointegrasyon üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Titanyum materyalinin biyoaktivitesi yüzeyinde bulunan oksit tabakasının fiziksel ve kimyasal karakteristiklerinden etkilenmektedir. Titanyum kaynaklı materyallerin yüzeyindeki oksit tabakası oldukça önemlidir. Titanyum canlı dokuya uygulandığında ortamdaki biyomoleküller ile etkileşimi, bu tabakanın kalsiyuma bağlanma yeteneği ve kemik dokusunun biyomineralleri ile iyon değişimini uyarması yoluyla gerçekleşir (39). Titanyum yüzeyinde kendiliğinden oluşan titanyum oksit tabakasının kalınlığı ve kemiğe bağlanma kapasitesi; titanyum kaynaklı biyomateryallerin etkili biyoaktivitesi için yetersiz kalır. Bu yüzden birçok fiziksel ve kimyasal yüzey modifikasyon yöntemi titanyumun biyoaktivitesini arttırmak için implantın yüzeyine uygulanmaktadır (74).

Dental implantların yüzeyleri kimyasal, mekanik ve elektrokimyasal yöntemlerle modifiye edilebilir. Bu yöntemlerin bir çok değişkenleri ve kombinasyonları söz konusudur. Dental implant üretimi yapan bir çok ticari firma yüzey modifikasyonu için çeşitli teknikleri benimsemektedir. İmplantların yüzeyleri yukarıda belirtilen yöntemlerle modifiye edilerek stabilite, ıslanabilirlik, hücrel etkileşim, implant-kemik teması ve implant-kemik birleşiminin direnci arttırılmaktadır. Bunları takiben dokunun retansiyonu geliştirilir, iyileşme prosesi stimule edilir ve yükleme için gerekli olan zaman kısaltılmış olur. Tüm bunların sonucunda dental implant ile tedavi edilen hastalarda implant başarı oranlarının arttırılması hedeflenmektedir (174).

Makrotopografi, mikrotopografi ve nanotopografi için gerekli olan prosedürler farklı olduğundan; yüzey modifikasyonlarında kullanılan metodolojinin seçiminde öncelikle implantın şeklinin belirlenmesi ve buna uygun pürüzlendirme yönteminin geliştirilmesi önemlidir.

Makrotopografi ile implantların yivleri, vida yapısı veya konik-silindirik formunu ifade eden gözle görülebilir olan yapılar ifade edilmektedir. Her ne kadar son

dönemlerdeki çalışmalar mikro ve nanotopografi üzerine yoğunlaşsa da dental implantların primer stabilitesi ve klinik başarısının temelinde; uygun bir makrogeometrinin seçilmesi ve bu geometriye uygun kemik socketinin drillerle hazırlanması yatmaktadır (181).

Mikrotopografi ile ilgili bilimsel anlamda önemli gelişmeler 1990 yılından itibaren ortaya çıkmıştır. O döneme kadar dental implantlar primer olarak işlenmemiş, parlak görünümlü torna yüzeye (machined surface) sahiplerdi. Bu yüzeye sahip olan implantlarda osteoblastlar, implant yüzeyinde var olan oldukça sığ oluklar boyunca büyüme eğilimi gösterdiğinden; bu durum implant uygulaması ile protetik yükleme arasındaki sürenin daha uzun olması anlamına gelmektedir. İmplantın yerleştirildiği bölgenin anatomisine ve kemik kalitesine bağlı olarak 3-6 aylık bir iyileşme süresi söz konusudur (181, 182). Morfolojik özellikleri ve geri döndürme kuvvetlerine karşı yetersiz direnç göstermelerinden dolayı torna yüzeyli implantlar artık klinik olarak tercih edilmemekte ancak deneysel çalışmalarda kullanılmaktadır.

Torna yüzeyin sahip olduğu dezavantajlardan ötürü araştırmacılar farklı yüzey şekillendirme yöntemlerini denemişler ve bu çalışmaların sonucunda günümüzde birçok dental implant firmasının tercih ettiği SLA yüzey teknolojisi geliştirilmiştir. Makrotopografisinde büyük kum partikülleri kullanılırken, mikrotopografisinde ise asitleme yöntemi kullanılmaktadır (182). Buser et al., 1991 yılında yaptığı histomorfometrik çalışmada aynı yüzeye sahip düz titanyum implantlar 5 farklı yöntemle maumele edildikten sonra deneklere yerleştirilip 3 ve 6 aylık periyotlardan sonra değerlendirilmiştir. İmplant-kemik temasları değerlendirildiğinde; düz yüzey ve orta büyüklükte kumlama-asitlemenin ortalama %20-25 implant- kemik temasına sahip olduğu, büyük partiküllü kumlamanın ve TPS'nin ortalama %30-40 implant- kemik temasına sahip olduğu, SLA yüzeyin ortalama %50-60 implant- kemik temasına sahip olduğu ve son olarak HA kaplamanın %60-70 arasında implant- kemik temasına sahip olduğu bildirmiştir. Ancak; HA partiküllerinin ciddi rezorbsiyon gösterdiği rapor edilmiştir (52). Ayrıca HA kaplama kimyasal olarak stabil olmadığı gibi implant yüzeyine de zayıf bağlanmaktadır (54).

SLA yüzeyle ilgili yapılan klinik çalışmalarda başarı oranları oldukça yüksektir. Fischer et al., total üst çene dişsizliği olan 24 hastada toplam 139 SLA implant ve üzerine sabit protetik restorasyon uygulamış ve 10 yıl sonunda % 95.1'lik implant sağ kalım oranı

ile ortalama 1.07 mm marjinal kemik kaybı rapor etmiştir (183). Buser et al., 10 yıllık bir periyotta kısmi dişsizliği olan 303 hastada toplam 511 SLA dental implantın başarı oranını % 97 ve periimplantitis oranını da % 1.8 olarak rapor etmiştir (181). Cochran et al., ise 120 hastaya yaptıkları toplam 385 SLA yüzeyli implantların 5 yıllık başarı oranını % 98.8 ve kümülatif sağ kalım oranını da % 99.1 olarak rapor etmiştir (184).

SLA yüzeye benzer modifikasyonlardan bir diğeri de; düz yüzeyli implantların belli bir sıcaklıkta büyük kum partikülleri ile pürüzlendirilmesi, takiben hidroklorik, sulfurik, hidroflorik ve oksalik asitle muamele edilmesi ve son olarak özel bir teknikle nötralize edilmesidir (185). *Friadent plus surface* diye lanse edilen bu yüzey ile ilgili klinik çalışmalar sınırlıdır. Degedi ve ark. 321 hastada toplam 802 implantın bir yıl sonunda toplam başarı oranını % 99.6 olarak rapor etmiştir (186).

Geçmişte uygulanan bir diğer yöntem de TPS'dir. Düz yüzeye göre oldukça iyi klinik başarı göstermesine karşılık SLA yüzey ile karşılaştırıldığında mikropürüzlülük bakımından benzer bulunmuşlar ancak; uzun dönemde ciddi marjinal kemik kaybı ve periimplantitis gelişmesi sebebiyle günümüzde kullanımı çok düşüktür (84, 85).

Dental implantların mikrotopografisinin osseointegrasyonun hücresel seviyesinde rol aldığı ileri sürüldüğü gibi implant nanotopografisinin de hücresel ve protein seviyesinde hücre-implant etkileşiminde rol oynadığı düşünülmektedir (185, 187). Yüzey enerjisindeki artış, sadece mikropürüzlülüğün değiştirilmesinin bir sonucu değildir; aynı zamanda yüzeyin kimyasındaki değişimlerinde bunda bir payı vardır (188). Bu nedenle nanotopografideki değişimler etkilerini osteojenik hücrelerin artmış adezyonuyla sonuçlanan fiziksel, kimyasal ve biyolojik seviyede sergilemektedir. Bu şekilde potansiyel olarak da osseointegrasyonu hızlandırmaktadır (189). Bu amaçla yapılan yöntemlerden bazıları; aralıklı kristalin birikimi, lazer ablasyonu ve anodik oksidasyondur.

Titanyum alaşımlarının yüzeyi, iki kez asitlendikten sonra aralıklı kristalin birikimi denilen yöntemle 20-100 nm'lik CaP partikülleri ile muamele edilmektedir. *Osseotite* ve *NanoTite* denilen bu yüzeylerin yaklaşık %50'si CaP partikülleri içermektedir (190). Klinik çalışmalar sınırlı olmakla birlikte Östman et al., yaptıkları çalışmada 335 adet *NanoTite* yüzeyli implant kullanmış ve bir yıl sonunda %94.9 sağ kalım oranı rapor etmiştir (190). Bir başka çalışmalarında ise 112 adet *NanoTite* yüzeyli implantın bir yıl sonunda sağ kalım oranını % 99.4 olarak bildirmişlerdir (191).

Lazer ablasyon tekniğinde ise; implantın platformuna yakın kısmında lazer ile mikro ve nano düzeyde mikrokanallar oluşturulmuş, bağ dokusu ile kemiğin bu mikrokanallara yapışması sağlanarak epitelyal yürümei engeleyen biyolojik bir bariyer elde edilmiştir (192). *Laser-Lok* denilen bu implantlar ile ilgili sınırlı sayıda çalışma vardır. Boyun kısmı düz yüzeye sahip implantlarla karşılaştırılan bir çalışmada 15 hastaya 20 adet *Laser-Lok* implant yerleştirilmiş olup bunların sondalama derinliği 2.3 mm ve ortalama krestal kemik kaybı 0.59 mm bulunmuştur. Kontrol grubu implantlarda ise sondalama derinliği 3.6 mm ve krestal kemik kaybı 1.94 olarak bulunmuştur. Bu verilere göre; *Laser-Lok* implantların boyun bölgesinde bağ dokusu bandı oluştuğu bildirilmiştir (193).

Anodik oksidasyon yönteminde ise; implant yüzeyinde normalde 17-200 nm kalınlığında var olan TiO_2 tabakası, elektrokimyasal olarak modifiye edilip bu kalınlık 600-1000 nm'ye getirilir (194). Anodik oksidasyonla elde edilen titanyum yüzeylerinin insan dişeti fibroblastlarının adezyonu, proliferasyonu ve ekstraselüler matriks birikimini arttırdığı görülmüştür (195). *TiUnite* olarak adlandırılan bu yüzeylerin etkinliğini değerlendiren Ivanoff et al., 20 hastaya düz yüzeyli kontrol grubuyla birlikte 40 adet mikroimplant yerleştirmiş ve 3-6 aylık süreçlerde elde ettiği kemik örneklerinde implant-kemik temasına baktıklarında *TiUnite* yüzeylerde anlamlı olarak daha fazla temas olduğunu bildirmiştir (101).

Sonuç olarak; torna yüzeyli implantlara alternatif olarak geliştirilen en elverişli yüzeylerden olan SLA implantlar oldukça uzun süredir kullanımdadır. Literatürdeki çok sayıda deneysel ve klinik çalışmada SLA yüzeyin başarısı farklı parametrelere bakılarak ortaya konulmuştur. Yıllardır insanlarda uygulanıyor olması ve başarıyla işlev görmesinden dolayı ciddi bir klinik tecrübe birikimine de sahiptir. Tüm bunlardan dolayı bu çalışmada SLA yüzeyli implantların kullanılmasına karar verilmiştir.

İmplant yüzeylerinin topografisi ve pürüzlülüğünün yanında yüzeyin ıslanabilirliği veya hidrofiliği de osseointegrasyonun önemli bir hususudur. Hücrelerin implant yüzeyindeki tutunma ve hareket etme kabiliyetleri protein adsorpsiyonu ile yönetilir. Hidrofilik yüzeyler daha yüksek protein affinitesine sahiptir (9). Osteoblastların farklılaşmasını ve maturasyonunu hızlandırarak osseointegrasyonun hızlanmasına katkıda bulunurlar (137). Kısacası hidrofilik yüzey, dental implantın sekonder stabilitesinin teminini hızlandırabilmektedir. Dental implantların hidrofilitelerini arttırmak adına başlıca;

ASP, fotofonksiyonalizasyon ve SLAktif yüzey yöntemleri uygulanmaktadır.

Fotofonksiyonalizasyon, dental implantların yüzeyinin UV ile muamele edilmesinden sonra yüzeydeki titanyum oksit tabakasının değiştirilmesiyle biyoaktivitenin ve osseointegrasyonun hızlanmasını sağlar. UV'nin moleküler seviyede hücrelerin ve proteinlerin etkileşimlerini hızlandırarak osteokondüktifliği arttırdığına inanılmaktadır (129). UV uygulaması yüzey hidrokarbon seviyesini düşürür ve yüzey enerjisi ile ıslanabilirliği artırır (130, 196, 197). UV ışığı, titanyum yüzeyine olan protein adsorbsiyon seviyesini ve hücresel ataşmanı artırır, yaşa bağlı degradasyonlardan dolayı oluşan azalmış biyoaktiviteyi restore eder (198, 199). Funato et al., 2013'te yaptıkları vaka serisinde kemik kalitesi ve miktarı sorunlu olan bölgelere aynı mikropürüzlüğe sahip implantları UV uygulayarak yerleştirmişler ve restorasyondan 1 yıl sonra kemik durumunu değerlendirmişlerdir. Restorasyon yapıldığında -0.35 ± 0.71 mm olan marjinal kemik seviyesi bir yıl sonunda 0.16 ± 0.53 mm kadar artmıştır. Aynı şekilde implantların yerleştirildiği seansta ISQ değerleri 48-71 ölçülmüş, bir yıl sonunda 68- 81 değerine ulaşmıştır. Bu değerleri literatür verileriyle karşılaştırdıklarında anlamlı olarak yüksek bulunmuşlardır (132). Shen et al., tavşan modelinde yaptıkları çalışmada 5 farklı yüzeyi 3 ve 6 haftalık periyotlarda, kontak açısı, geri çıkarma torku ve histomorfometri ile değerlendirmiştir. SLA, SLAold (4 hafta bekletilmiş), modSLA (4 hafta distile suda bekletilmiş), UV uygulanmış SLAold, UV uygulanmış modSLA olarak oluşturulan 5 grubu karşılaştırdıklarında; SLAold hariç diğerleri süperhidrofilik bulunmuş, geri çıkarma torku 3 ve 6. haftalarda en fazla UV-modSLA ve sonrasında UV-SLAold, implant-kemik temaslarında da yine en fazla UV-modSLA ve sonrasında UV-SLAold yüksek bulunmuştur (200).

Başka bir araştırmacı grubu in vitro ve in vivo çalışmada düz yüzeyli ve asitle pürüzlendirilmiş titanyum disk ve mini vida yüzeylerine UV uygulamıştır. UV uygulanan disklerde uygulanma süresi arttıkça kontak açısını sifıra yakın elde etmişler, uygulanmayan disklerde ise yüzey hidrofobik olduğundan yüksek kontak açısı elde edilmiştir. Aynı zamanda rat kemik iliği kök hücrelerinin adezyonu, yayılması, çoğalması ve farklılaşması ile protein adsorbsiyonuna baktıklarında; UV uygulanan disklerde üç kata kadar artış bulunmuştur. Rat femuruna yerleştirdikleri mini vidaları 2 ve 4 hafta sonunda push-in testine tabi tutup, histomorfometrik inceleme yapmışlar; düz ve pürüzlü vidaların UV uygulananlarında yaklaşık 2 katı fazla push-in direnci görülmüş, UV yapılmış pürüzlü

implantlarda kemik teması 2. haftada %75 ve 4 hafta sonunda %100 olarak ölçülmüştür. Bu değerler UV uygulanmayanlara göre en az 2 kat daha fazladır (199).

SLA yüzeyli implantların yüzey enerjileri, ortamdaki havadan kaynaklanan hidrokarbon ve karbonatların yüzeydeki absorpsiyonundan dolayı düşüktür. Bu nedenle yüzeyin havayla temasını önlemek için SLAktif implant denilen, nitrojen muhafazası altında yıkanıp izotonik serum içerisinde tutulmasıyla hidrofilik özellikli hidroksilatlı/hidratlı titanyum yüzeyleri üretilmiştir. SLAktif implantlar su temas açısı 0° olan süperhidrofilik implantlardır (137). SLAktif implantların yüzey enerjisinin arttırılmasının in vitroda hücre farklılaşması ve büyüme faktörü üretimi; in vivo da osseointegrasyonun erken dönemde sağlanması, geri çıkarma torku değerleri bakımından SLA yüzeylerle kıyaslandığında anlamlı olarak belirgin artmış özellikleri gösterilmiştir (138, 201).

Schwarz et al., SLA ve SLAktif implantları karşılaştırdığı hayvan modelinde ilk 2 haftalık kemik iyileşmesinde; SLAktif yüzeye daha fazla başlangıç kan pıhtısı afinitesi olduğu, artmış neoanjienez, artmış kemik-implant teması ve daha yoğun kemik dokusu olduğunu rapor etmiştir (202).

Buser et al., literatürde SLA yüzey ile SLAktif yüzeyin etkinliğini in vivo da değerlendiren ilk araştırmacılardandır. 2, 4 ve 8 haftalık osseointegrasyonu histomorfometrik olarak değerlendirdiklerinde 2 ve 4 haftada SLAktif yüzeyin belirgin olarak daha fazla kemik-implant temasını sağladığını belirtmişlerdir. Çalışmada kullanılan tüm implantlar aynı yüzey topografisine sahip olduğundan iyileşmedeki bu farklılığın yüzeylerin kimyasal yapılarındaki farklılıktan dolayı olduğunu belirtmişlerdir. Titanyum yüzeylerin ıslanabilirliğine baktıklarında SLAktif yüzeyin hidrofilik olduğunu (Dinamik Kontak Açısı = 0°), SLA yüzeyin ise hidrofobik olduğunu (Dinamik Kontak Açısı = $138.3^\circ \pm 4.2$) göstermişlerdir. 2 haftalık kemik-implant teması SLA yüzeyde % 29.42, SLAktif yüzeyde % 49.30; 4 haftalık kemik-implant teması SLA yüzeyde % 66.57, SLAktif yüzeyde % 81.91; 8 haftalık kemik-implant teması SLA yüzeyde %75.45, SLAktif yüzeyde %78.47 olarak bulunmuştur. Buna göre SLAktif implantların hidrofilitesinin osseointegrasyonun özellikle erken dönemlerinde faydalı olduğu sonucuna varmışlardır (37). Ayrıca SLAktif implantların SLA yüzeylere göre daha yüksek geri çıkarma tork değerleri ölçülmüş ve bunu da implantın iyileşmenin erken döneminde daha iyi kemik ankrajı sağlamasına bağlamışlardır (201).

Son dönemde yapılan bir insan çalışmasında Lang et al., SLA ve SLAktif implantları kıyaslamışlardır. Deneklerin retromolar bölgelerine yerleştirdikleri iki farklı yüzey özelliğine sahip (SLA-SLAktif) 2.8 mm çap ve 4 mm boydaki implantları 7, 14, 28 ve 42. günlerde etraflarında sağlam kemik dokusuyla çıkarıp histomorfometrik olarak incelemişlerdir. İlk hafta içerisinde kemiğin trabeküler kısmında yeni kemik oluşum süreci başlamış ve kademeli olarak 42. güne kadar devam etmiştir. 2 ve 4. haftalarda SLA yüeyli implantlara göre; SLAktif yüzeyli implantlarda yeni oluşan kemik ile daha fazla direkt temas olmuştur (2.haftada SLAktif: 14.8%, SLA: 12.2%; 4.haftada SLAktif: 48.3%, SLA: 32.4%). Ancak 42. günde implant-kemik teması birbiriyle aynıdır (SLAktif: 61.6%, SLA: 61.5%). Çalışmaya göre 2 ve 4. haftalarda SLAktif yüzeyin belirgin üstünlüğü söz konusuyken; 7 ile 42. günler arasında kemik iyileşmesinin karakteristikleri olan kemik apozisyonu ve rezorpsiyon olayları bakımından iki yüzey birbirine çok benzer bulunmuştur (203).

Bosshardt et al., neredeyse tamamıyla aynı dizayna sahip başka bir çalışmada 28 gönüllü bireyin retromolar bölgesine yerleştirdikleri SLAktif ve SLA yüzeyli implantları 7, 14, 28 ve 42. günlerde değerlendirmişlerdir. SLAktif yüzeyli implantların çevresinde oluşan yeni kemik miktarı istatistiksel olarak anlamlı olmasa da 2 ve 4. haftalarda daha fazla bulunmuştur. Aynı zamanda soketin içersindeki kemik debrislerinin osseointegrasyona olan etkisini de değerlendirmiş olup iki farklı yüzeyin kemik debris / yumuşak doku (BD / ST) oranlarını 7 ile 42. günler arasında karşılaştırmışlardır. SLAktif yüzeyde bu oran 7'den 42. güne 50:50'den 10:90'a; SLA yüzey için de 38:62'den 10:90'a değişmiştir. Bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. BD: ST oranındaki azalmayı değerlendirmeleri de aşağıdaki gibi olmuştur. İmplant yeri hazırlanırken oluşan kemik debris; pürüzlü implant yüzeylerine yapışmakta, kemik depozisyonunun başlamasına anlamlı olarak katkıda bulunmakta ve implant çevresindeki eski kemik dokusuyla yeni oluşan kemik dokusu arasında bağlantıya aracılık etmektedir (204).

Alayan et al., 2016 yılında yaptıkları çalışmada koyunlarda sinüs lifting yaparak SLA ve SLAktif implantların erken dönem etkinliği karşılaştırmıştır. Ksenojen ve otojen greft kullanılarak sinüs lifting yapıldıktan 12 ay sonra sinüslere yerleştirilen dental implantların osseointegrasyonu 2 ve 4 hafta sonra histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir. SLAktif implantların implant-kemik teması SLA yüzeyli implantlara göre 2 ve 4. haftada anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur (2.hafta için %16.48-%14.63, 4.hafta için %37.8-%26.4). Zamana bakmaksızın SLAktif yüzeyin %10 daha fazla kemik

temasına sahip olduğu gösterilmiştir. SLAktif implantların çevresinde oluşan Woven bone (SLAktif: 11.17% - SLA: %6.82) ve lameller kemik yüzdesi (SLAktif: 11.06% - SLA: %3.67) de SLA yüzeyli implantlarla karşılaştırıldığında daha fazladır. İmplantların çevresindeki yumuşak doku redüksiyonu da aynı şekilde SLAktif implantlarda istatistiksel olarak daha fazladır (SLAktif: %16.78 – SLA: % 6.19) (205).

Abdel-Haq et al., koyunlarda yaptıkları çalışmada SLA ve SLAktif implantların osseointegrasyon değerlerini hem mekanik testlerle hem de histomorfometrik olarak karşılaştırmıştır. 3 koyunun sağ ve sol tibiasına 5'er implanttan 10 implant olacak şekilde toplam 30 implant yerleştirmişlerdir. Koyunlardan ilki 3. haftada, diğer ikisi de 6. haftada sakrifiye edilmiştir. Tüm implantların insersiyon tork değerleri ve RFA değerleri yerleştirildikten hemen sonra ölçülmüş ve aynı zamanda sakrifikasyondan sonra tüm implantların RFA yapılmıştır. 3 ve 6 hafta sonunda elde edilen kemik örneklerinin histomorfometrik incelemesi yapılarak kemik iyileşmesi ve kemik-implant temasına bakılmıştır. Ayrıca 6 haftalık implantların bir kısmında da geri çıkarma tork değerine de bakılmıştır. Tüm implantların insersiyon tork değeri 35-37 N/cm aralığında bulunmuştur. SLA yüzeyli implantların 3 haftalık dönemdeki kemik-implant teması %64.39 ve SLAktif implantların da %80.64 bulunmuştur. SLA yüzeyli implantların 6 haftalık kemik-implant teması da %83.47 ve SLAktif implantların ise %84.75 bulunmuştur. İki farklı yüzeyin kemik-implant teması 3. haftadaki bulgularda istatistiksel olarak anlamlıyken bu durum 6. hafta için anlamlı bulunmamıştır. İmplantların yerleştirildiği sırada ölçülen RFA değerleri SLA için 72.27 ve SLAktif için 71.6 olarak bulunmuştur. 3. haftada bu değerler SLA için 74.2'ye ve SLAktif için 76.8'e yükselmişken 6. hafta RFA değerlerinde bir miktar azalma görülerek SLA için 73.6 ve SLAktif için 72.3 olarak ölçülmüştür. Bu değerler tüm zaman periyotlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir. En yüksek RFA değeri SLAktif implantların 3 haftalık iyileşme döneminde elde edilmiştir ve bu değer; tüm implantların ilk yerleştirildiklerinde elde edilen RFA değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Geri çıkarma tork değerleri de iki farklı yüzey için birbirine yakın bulunmuş, istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır (206).

Süperhidrofilik yüzeye sahip olduğu üretici firma ve çok sayıda bilimsel çalışmada bildirilen SLAktif yüzeyli implantların bu özelliğinin etkinliği artık bilinmektedir. Bu durumdan yola çıkarak bu çalışma planlanırken yapılan pilot çalışmada; SLA yüzeyli titanyum diskler kullanılmış, ASP uygulamasının optimum parametreleri belirlenerek SLA yüzeyli diskler süperhidrofilik hale getirilmiştir. Bu veriler kullanılarak SLA yüzeyli

implantlar da süperhidrofilik hale getirilip deneklere uygulanmıştır. Bulgularda da görüldüğü gibi bu durum osseointegrasyona ciddi bir katkı sağlamıştır.

Dental implantolojide daha ileri endikasyonlardaki zorlukları aşabilmek adına özellikle son dönemlerde biyoaktif yüzey kaplamaları konusunda ciddi bilimsel gayret sarfedilmektedir. Bu alan, osseointegrasyonun temel olarak biyolojik karakteristikleri üzerinde çalışmaktadır. Çeşitli inovatif yaklaşımlar insan kemiğinin biyokimyasal ortamını ve nanoyapısal iskeletini taklit etmeyi amaçlamaktadır. İmplant yüzey kaplamaları bu amaçla uygulanmaktadır. Özel bazı ajanlar, ilaçlar, proteinler ve büyüme faktörleri başlıca yüzey kaplama yöntemleridir.

Kemik dokusunu oluşturan yapılar; osteoblast, osteoklast, osteosit gibi hücreler ve kemik matriksidir. Kemik matriksi su ve organik-inorganik bileşenlerden oluşmaktadır. HA, CaP'ın en stabil biyolojik formudur ve mineralize olarak organik matriksi güçlendirir. HA kaplama yöntemleri bu elemanları implant yüzeyine entegre ederek osseointegrasyonu hızlandırmayı amaçlar (207). İmplant yüzeyinin HA ile kaplanmasıyla kalsiyum ve fosfat salınımı için bir kaynak elde edilmiş olunur.

Eom et al., HA ile yüzeyi kaplanmış implantları SLA yüzey ve resorbable blast medium (RBM) ile kıyasladıkları deneysel çalışmada 4, 8 ve 12 hafta sonunda implantların KİK ve geri çıkarma tork değerlerine bakmışlardır. Sonuçlara göre; osseointegrasyon süresi arttıkça HA grubunda önemli bir tork değeri artışı görülmüş ve üç periyotta da diğer iki yüzeye göre HA kaplanan implantlar daha yüksek osseointegrasyon değerine sahip olmuşlar. 2, 4 ve 8. haftalarda KİK oranları karşılaştırıldığında HA kaplı implantlarda tüm periyotlarda daha fazla temas alanı tespit edilmiştir. SLA yüzeyle kıyaslandığında 4 ve 8. haftada HA oldukça anlamlı bulunmuş, RBM ile kıyaslandığında sadece 8. haftada HA anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (208).

Başka bir çalışmada Wang et al., mezankimal kök hücrelerin büyümelerine dair biyolojik karakteristiklerini HA/SLA ve SLA yüzeye sahip olan dental implantların üzerinde incelemişlerdir. İmplantların üzerine ekilen kök hücreler belli sürelerde kültüre edilmişler ve SEM ile kök hücrelerin çoğalma indeksleri, ALP aktivitesi, kök hücrelerin OK içeriği ve osteopontinin mRNA rölatif ekspresyon seviyesi iki farklı yüzey arasında karşılaştırılmıştır. Mezankimal kök hücrelerinin HA/SLA yüzeye daha kolay adhere olduğu görülmüştür. Aynı zamanda ALP aktivitesi ve OK içeriğinin HA/SLA yüzeyde bariz daha yüksek olduğu, osteopontinin mRNA rölatif ekspresyon seviyesinin HA/SLA yüzeyde

4.78 kat daha fazla olduğu görülmüştür. Sonuçlara göre HA yüzey kaplamasının; kök hücrelerinin çoğalması ve osteoblastik farklılaşmasını arttırdığı, bu durumda HA kaplanmış dental implantların osseointegrasyonu erken dönemde sağlayabileceği kanaatine varılmıştır (209).

Osseointegrasyonun enflamatuar fazında alveol kemiğinin kesilmiş kılcal damarlarından ortama spesifik büyüme faktörleri salınır. Başlıcaları; PDGF, TGF- β , FGF ve VEGF'dir. Bone Morphogenetic Protein (BMP)'ler TGF- β ailesine ait olup en az 18 alt gruptan oluşmaktadır. BMP'ler; genleri, kollajeni ALP ve Osteopontin için regüle eder. BMP2, BMP4 ve BMP7 özellikle kemik oluşumunu stimüle eder. BMP'lerin etkinliğini göstermeleri için rekombinant teknikle üretilmesi gerekmektedir (210).

Jiang et al., tavşan modelinde kulanarak pürüzlendirilmiş titanyum implantları hBMP-2 ile kaplamışlar ve 2, 4, 8 hafta sonunda histomorfometrik analiz ile KİK değerlendirilmiştir. Bu zaman periyotlarında iki grup arasında anlamlı fark bulunmasa da özellikle erken dönemde BMP-2 ile yüzeyi kaplanan implantlarda erken dönemde peri-implant kemik dokusu oluşumu gözlenmiştir. Aynı zamanda disklerde yapılan değerlendirmelerde ise BMP-2 ile yüzeyi kaplananlarda daha fazla mezankimal hücre canlılığı görülmüştür (211). Kim et al., ise heparin ile modifiye edilen titanyum yüzeyini BMP-2 ile kapladıktan sonra osteoblastik aktiviteyi değerlendirmiş; in vitro ortamda ALP aktivitesi, kalsiyum depozisyonu, OK ve osteopontin seviyelerinin BMP-2 kaplanmayanlara göre artmış olduğunu bildirmiştir. Aynı zamanda in vivo olarak da KİK ve kemik yoğunluğuna baktıklarında anlamlı olarak BMP-2 ile kaplanan implantların yüksek değerlere sahip olduğunu bildirmiştir (212). Bu çalışmanın sonuçları da KİK değerleri bakımından benzerdir. 2. haftada gruplar arasında fark olmasa da RGD peptid konjuge edilen implantlarda daha fazla KİK bulunmuştur. 4. haftada ise RGD peptid grubu istatistiksel olarak daha yüksek KİK değerine sahiptir. 8. haftada ise gruplar birbirine yakın değerlere sahiptir.

Bir çok araştırmacı, implantların başarı ve sağkalım oranlarını arttırmak için implant yüzeyiyle etkileşebilecek olan kemik yapıcı hücre tiplerini seçebilmek adına dental implantların yüzey özelliklerini kontrol etmeyi denemiştir. Bilinen en temel gerçek; osteoblastik hücrelerin pürüzlü implant yüzeylerine olan afinitesi düz yüzeylere göre daha fazladır (213). Protetik alandaki ilerlemelere rağmen implant yüzeylerinin osseointegrasyon üzerindeki etkisinin açıklaması tam anlamıyla henüz yapılamamıştır.

Yeni yüzey özelliklerinin geliştirilmesi düşük kemik kalitesi ve miktarı olan hastalarda implantların başarısını arttırmasına karşın; implant kayıplarının nedenleri hala tam manasıyla açıklanamamaktadır. Literatürde bir çok çalışma titanyum yüzey özelliklerinin implant osseointegrasyonundaki önemini tanımlamaktadır. Bu araştırmalar; implant yüzeylerinin morfolojisi, topografisi, pürüzlülüğü, kimyasal kompozisyonu, yüzey enerjisi, ıslanabilirliği, residüel stres, yüzeydeki mevcut kirlilik, titanyum oksit tabakasının kalınlığı, metalik ve nonmetalik bileşenlerin mevcudiyetini değerlendirmektedir (54, 69, 74, 108). Yukarıda bahsedilen bu faktörler osseointegrasyonda rol oynayan hücrelerin konsantrasyonlarını etkilemektedir. Bu çalışmalar oldukça önemlidir, çünkü yüzey özellikleri eğer kontrol edilebilirse implantların iyileşme süresi kısalabilecek ve dental implantlar, KİK üzerine gelen okluzal ve lateral kuvvetlere karşı optimum mukavemeti göstererek yeterli mekanik dirence sahip olabilecektir.

Özellikle 1980'li yılların başından itibaren yüzey özellikleri; dental implantların kemiğe entegrasyonundaki en önemli faktörlerden birisi olarak kabul edilmiş ve araştırmalar öncelikle bu yönde ilerlemiştir (8). Daha hızlı ve güçlü kemik oluşumu, iyileşme boyunca daha iyi biyomekanik stabilite sağlayacağından bu durum dental implantlarında daha kısa sürede protetik olarak yüklenebileceği anlamına gelmektedir.

Osseointegre olmuş bir implant fonksiyonel olarak üzerine gelen çığneme kuvvetlerine sağlıklı bir şekilde mukavemet gösterebilen bir implanttır. Günümüzde osseointegrasyon, klinik başarı ile eş anlamlı olarak kabul edilen bir kavramdır. Aslında bu durum uygun olmayan yanlış bir kavramdır. Yeni geliştirilmiş birçok implant yüzeyi ve dizaynı üretilmekte ve oldukça hızlı bir şekilde pazarlanmaktadır. Geçmişte bilimsel ve klinik kayıtların domine ettiği dikkatli bir üretim protokolü mevcutken günümüzde araba modeli üretimine benzer bir yaklaşım, bu protokolün yerini almıştır. En fazla hangi dizayn talep görüyorsa genellikle buna benzer ürünler dental implant olarak üretilmekte ancak; gerçek anlamda biyolojik cevabın zorlayıcı limitleri gözden kaçırılmaktadır (180).

Tüm bu bilgi birikimi ve eksikliklerden yola çıkarak bu tez çalışmasında artık neredeyse bütün implant üreticileri tarafından kabul gören konik makrogeometrik yapıya sahip olan ve aynı şekilde mikrotopografik olarak da en çok tercih edilen SLA yüzeye sahip dental implantlar, Atmosferik Soğuk Plazma ve RGD peptid konjugasyonu şeklinde iki farklı yöntem ve bunların da kombinasyonuyla modifiye edilmiştir. Bu yöntemlerle

implant yüzeylerinin enerjileri ve kimyasal yapısı değiştirilerek ıslanabilirliği arttırılmış ve implant yüzeyine olan ostoblastik hücre aktivitesinin de arttırılması amaçlanmıştır.

Plazma kimyasına ya da gaz konsantrasyonuna bağlı olarak oldukça reaktif olan plazma türleri; temiz ve pürüzlendirilmiş yüzeylerle reaksiyona girer, farklı substratlara bağlanır ya da ince bir plazma kaplaması oluşturmak için birleşirler ve sonuç olarak yüzey özelliklerini değiştirirler. Uygun bir plazma uygulaması yüzeyi hidrofilik hale getirir, oksit tabakasını modifiye eder ve böylece bu yüzey, çevresindeki dokularda bulunan proteinler ve hücreler ile etkileşime geçebilir. Plazma uygulandıktan sonra hidrofilik gruplar (OH) bir süreliğine yüzeyi kaplayarak anlamlı olarak yüzeyin ıslanabilirliğini arttırırlar ve biyomateryal yüzeyine çevre dokularındaki kemik yapıcı hücrelerin adezyonunda artış olur.

Biyomateryaller canlı yapıya yerleştirildiklerinde onlara karşı oluşan cevapta ECM'in içerdiği komponentler ile çevredeki hücrelerin etkileşimleri oldukça önemlidir. ECM molekülleri kemik hücrelerindeki integrin veya diğer spesifik yüzey reseptörleri ile etkileşime girerek kemik hücrelerinin büyümesi, göçü, farklılaşması ve adezyonunda direkt yada indirekt olarak rol oynarlar. Bir ECM molekülü olan RGD peptidi; integrin hücre yüzey reseptörleri ile etkileşerek özellikle osteoblast adezyonu gibi belirli hücre etkileşimlerini sağlar. Bu sayede RGD peptidlerle konjuge edilmiş biyomateryaller kemik dokuya uygulandıklarında; biyomateryallerin integrinlere olan yüksek afinitesi sayesinde özellikle erken dönemde yüzeyde daha fazla ve hızla osteoblast adezyonu gerçekleştiğinden kemik apozisyonunu kısa sürede başlatmaktadır.

Yukarıda bahsedilen etkileşimler literatürde değişik araştırmacılar tarafından benzer yöntemler uygulanarak gösterilmiştir. Ancak çalışmalarda bu iki yöntem aynı dental implanta uygulanarak gösterilmemiştir. Bu çalışmayla aynı mikropürüzlülüğe (SLA yüzey) sahip olan dental implantlara ASP ve RGD peptid ile yapılan yüzey modifikasyonundan sonra elde edilen osseointegrasyon değerleri biyomekanik, histolojik ve histomorfometrik olarak karşılaştırılmıştır. Mevcut literatürden farklı olarak; iki yöntemin aynı implant yüzeyine uygulanmasıyla oluşacak etkiye de bu çalışmayla bakılmıştır. İlk önce ASP uygulaması yapılarak titanyum yüzeyinde daha fazla OH grupları açığa çıkarılmış ve böylece titanyum yüzeye daha fazla RGD peptid bağlanarak yüzeyin RGD peptid doygunluğu da arttırılmıştır. Bu tez çalışmasında bahsedilen yöntemlerle kemik oluşumunda rol oynayan hücrelerin erken dönemde titanyum

yüzeyinde kemik apozisyonunu arttırıcı etkisi sağlanarak daha kısa sürede osseointegrasyon elde edilmiştir.

Literatürde ASP ile modifiye edilen dental implantlarla ilgili çok fazla klinik çalışma mevcut değildir. Genellikle in vitro çalışmalarda biyofilm tabakasının uzaklaştırılması veya osteoblastik aktivite değerlendirilmiştir (134-136).

Duske et al., Argon (Ar) plazma ile titanyum dental implantların ıslanabilirliğini ve osteoblastik hücre aktivitesini değerlendirmiştir. Torna yüzey, frezle pürüzlendirilmiş, air flow ile pürüzlendirilmiş, SLA ve SLAktif yüzeye sahip implantları 30, 60 ve 120 saniye boyunca %0.2 O₂ + Ar, %1 O₂ + Ar ve sadece Ar ile ASP jeti kullanılarak titanyum disk yüzeyleri modifiye edildikten sonra su temas açısına ve osteoblastik hücre yayılımına bakmıştır. Ar-plazmanın uygulanan süreye bakılmaksızın modifiye edilmeyen SLAktif yüzeye göre diğer disklerin ıslanabilirliğini anlamlı olarak arttırdığı görülmüştür. Özellikle 60 ve 120 sn süreyle uygulanan %1O₂ + Ar-plazmanın kontak açısını 0°'ye kadar düşürdüğü görülmüştür. Başlangıç su temas açısı SLA yüzeyde 117.18 ± 0.07° dereceyken plazma uygulaması özellikle 60 ve 120 saniyelik uygulamaların sonunda 0°'ye düşürerek en anlamlı farkı göstermiştir. Diğer yüzeylerde ise başlangıçta torna yüzey 88.07 ± 1.75°, freze yüzey 67.84 ± 2.29°, air flow yüzey 72.22 ± 2.20°, SLAktif yüzey 5.48 ± 0.97° olarak ölçülmüştür. Hücre yayılımı ve metabolik aktivite bakımından artış; torna yüzey, freze yüzey ve airflow ile pürüzlendirilmiş yüzeydeki plazma uygulaması sonrasındaki değişim % 57-86 arasındadır. SLA yüzeydeki değişim plazma uygulandıktan sonra diğerlerine göre daha az bulunmuştur (başlangıç hücre alanı: 94.9 ± 10.21 µm², plazma sonrası: 103.0 ± 2.5 µm²) (57).

Giro et al., çalışmasında HA yüzeye sahip dental implantlar, Ar-ASP ile modifiye edilerek kemik dokusuna uygulandıktan sonra 1 ve 3 hafta sonunda kemik-implant teması ile kemik alanı fraksiyonu doluluğu bakımından incelenmiştir. İlk hafta sonunda plazma uygulanan grupta implant yüzeyine komşu alanlarda ilk kemik oluşumları gözlenmişken plazma uygulanmayan grupta yivler arasında kollabe bağ dokusu gözlenmiştir. 3 hafta sonunda ise iki grupta da kemik oluşumu görülmüştür. Ancak; KİK açısından ilk haftada istatistiksel bir fark bulunmamış, 3. haftada ise plazma uygulanan grupta kemik-implant KİK % 100, kemik alanı fraksiyonu doluluğu ise %82 olarak daha fazla bulunmuştur (140).

RGD peptid ile dental implantların yüzeyinin modifikasyonu ilk olarak Ferris et al., tarafından gerçekleştirilmiştir. Araştırmacılar rat femuruna yerleştirdikleri RGD kaplanmış ve kaplanmamış implantları 2 ve 4 haftalık periyotlarda değerlendirdiklerinde;

2 hafta sonunda RGD uygulanmış implantların çevresinde anlamlı olarak daha kalın yeni kemik kabuğu oluştuğunu görmüş, 4 hafta sonunda ise RGD uygulanan implantlarda kemik kalınlığı anlamlı olarak daha fazla bulunmuşlardır. 4. hafta sonunda yapılan mekanik çekme testinde RGD uygulanan implantlarda ortalama interfasiyel gerilme kuvveti %38 daha fazla bulunmuştur (157).

Schliephake et al., parlak yüzeye sahip titanyum implantlar, kollajen kaplanmış ve RGD peptid ile kaplanmış titanyum implantları köpek mandibulasına uyguladıktan sonra 1 ve 3 aylık periyotlarda kemik-implant teması bakımından değerlendirmiştir. 1 aylık periyotta gruplar arasında kortikal kemikte % 2.6-6.7, kansellöz kemikte % 4.4-5.7 arasında farklılık bulunmuştur. 3 ay sonunda ise parlak yüzeyli implantlarda kortikal kemikte % 26.5 ve kansellözde % 31.2; kollajen kaplanmış implantlarda % 19.5 ve % 28.4; RGD peptid kaplanmış implantlarda % 42.1 ve % 49.7 olarak kemik-implant teması ölçülmüştür. Gruplar arasındaki KİK değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da; 1 ve 3 aylık değerler kıyaslandığında sadece RGD peptid grubundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (214).

Germanier et al., SLA yüzeyli implantları RGD peptid ile kaplayarak 2 ve 4 haftalık sürelerde osseointegrasyonu değerlendirdikleri çalışmada RGD peptidin erken dönemde kemik oluşumundaki etkinliğini göstermiştir. 2. haftada SLA yüzeyde % 43.62, SLA + RGD peptid yüzeyde ise %61.68 KİK bulunmuştur. 4. haftada ise SLA yüzeyde % 62.46, SLA + RGD peptid yüzeyde ise % 62.52 KİK bulunmuştur. Buna göre; 2. haftada RGD peptid yüzeyi istatistiksel olarak daha fazla KİK göstermişken 4. haftada iki yüzey arasında fark bulunamamıştır (153). Bu çalışmada değerlendirme sürelerine göre sonuçlar biraz farklı çıkmıştır. 2 hafta sonunda KİK değerleri istatistiksel olarak farklı değilken (SLA: 72.833, RGD peptid: 80.167); 4 hafta sonunda RGD peptid grubu istatistiksel olarak daha fazla KİK'e sahip olmuştur (SLA: 72.667, RGD peptid: 79.333).

Literatürde RGD peptid ile ilgili çok fazla in vivo çalışma olmamakla birlikte çoğunlukla in vitro çalışmalarda RGD peptid ile modifiye edilmiş titanyum disk yüzeylerinde osteoblastik aktivite değerlendirilmiştir. Schuler et al., yaptıkları çalışmada RGD peptid ile konjuge edilmiş titanyum disklerde RGD peptid yoğunluğu arttıkça osteoblast yapışmasının ve osteoblastların kapladığı alanların arttığını bildirmiştir (154). Mas-Moruno et al., trimlenmiş ve kumlanmış titanyum disklerde RGD peptid konjugasyonu uygulayarak disklere yapışan primer insan osteoblastlarını değerlendirdikleri çalışmada özellikle erken dönemde RGD peptidin hücre adezyonunda önemini ortaya koymuşlardır. İki farklı yüzeyde de RGD peptid konjugasyonu; osteoblast

hücrelerinin adezyonunu RGD peptid uygulanmayan disklere göre arttırmışken bu etki kumlanmış disklere trimlenmiş olanlara göre daha fazla bulunmuştur (155). Chen et al., 4 farklı yüzeye sahip titanyum disklerin ıslanabilirliği ve yüzeydeki osteoprogenitör hücrelerin etkileşimlerine baktıkları çalışmada; RGD peptidin yüzey ıslanabilirliğini arttırdığını ve ALP ekspresyonunun artışı ile osteoprogenitör hücrelerin çoğalmasını ve kemik mineralizasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (156).

Bu tez çalışmasında; SLA yüzeye sahip olan implantlar ASP, RGD peptid ve ASP+RGD peptid ile modifiye edilmiştir. 2, 4 ve 8 haftalık osseointegrasyon periyotlarından sonra RFA, geri çıkarma torku, histomorfometrik ve histolojik analizler ile farklı yüzey modifikasyonlarının kemik oluşumlarındaki etkinliği değerlendirilmiştir.

Histomorfometrik analiz değerlerine bakıldığında; KİK üç farklı periyotta RGD peptid ile konjuge edilen implantlarda daha fazla bulunmuştur. 2. haftada; kontrol grubunda % 72.83, ASP grubunda % 75.66, RGD peptid grubunda % 80.16 ve ASP+RGD peptid grubunda % 76.83 değerleri ölçülmüştür ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. 4. haftada; kontrol grubunda % 72.66, ASP grubunda % 77.83, RGD peptid grubunda % 79.33 ve ASP+ RGD peptid grubunda % 77.50 değerleri ölçülmüştür. Sadece kontrol grubu implantlar ile RGD peptid konjugasyonu yapılan implantlar arasında istatistiksel farklılık bulunmuştur ($p < 0.05$). 8. haftada; kontrol grubunda % 82.66, ASP grubunda % 83.00, RGD peptid grubunda % 80.00 ve ASP+ RGD peptid grubunda % 78.83 değerleri ölçülmüştür ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. 2 haftalık süreç kemik iyileşmesinin erken dönemi olarak kabul edilirse RGD peptid konjugasyonu diğerlerine göre daha fazla KİK göstermiştir ancak; ASP+RGD peptidin kombine etkisi beklenenin aksine daha az KİK'e sahip olmuştur (% 80.16 / % 76.83). Osseointegrasyon süresi arttıkça RGD peptid grubu en fazla KİK değerine sahipken 4. haftada ASP+RGD peptid grubunun KİK yüzdesi sıralamada üçüncü (1.RGD - 2.ASP - 3.ASP+RGD - 4.Kontrol); 8. haftada ise dördüncü olmuştur (RGD=ASP - 3.Kontrol - 4. ASP+RGD). Bu çalışma sonucunda elde edilen KİK değerlerinden farklı olarak Germanier et al., 2 hafta sonunda SLA yüzey ile RGD peptid arasında anlamlı farklılık bulmuş ancak; 4 hafta sonunda birbirine çok yakın değerler ölçmüştür (SLA: % 62.46, SLA + RGD peptid: % 62.52) (153).

Bu çalışmadaki KİK değerleri; literatürde osseointegrasyonu hızlandırmadaki etkinliği birçok çalışmada gösterilen SLAktif yüzeyli implantlarla benzerlik göstermektedir. Buser et al., 2 haftalık kemik-implant temasını SLA yüzeyde % 29.42,

SLaktif yüzeyde % 49.30; 4 haftalık kemik-implant temasını SLA yüzeyde % 66.57, SLaktif yüzeyde % 81.91; 8 haftalık kemik-implant temasını SLA yüzeyde %75.45, SLaktif yüzeyde %78.47 olarak ölçmüştür. Tez çalışmasında sadece 4. haftada RGD peptid grubunda anlamlı farklılık mevcutken; Buser et al.'ın çalışmasında 2 ve 4. haftalarda istatistiksel farklılık vardır (37).

Lang et al., SLA ve SLaktif implantları kıyasladıkları çalışmada; 2 ve 4. haftalarda SLaktif yüzeyli implantlarda daha fazla KİK ölçmüştür. 2. haftada SLaktif yüzeyin KİK değeri %14.8, SLA yüzeyin %12.2; 4. haftada SLaktif yüzeyin KİK değeri %48.3, SLA yüzeyin %32.4 olarak bulunmuştur. Ancak 6. haftada KİK birbiriyle aynıdır (SLaktif: 61.6%, SLA: 61.5%). 2 ve 6 haftalık değerler istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermezken; 4 haftalık değerler de tez çalışmasındaki RGD peptid grubunda olduğu gibi anlamlı farklı bulunmuştur (203). Ancak bu çalışmadan farklı olarak, tez çalışmasında 8 hafta sonunda kemik-implant teması sırasıyla kontrol, ASP, RGD peptid ve ASP+RGD peptid şeklinde ölçülmüştür.

Benzer şekilde Alayan et al., SLA ve SLaktif implantların erken dönem etkinliğini karşılaştırdıkları çalışmada dental implantların osseointegrasyonunu 2 ve 4 hafta sonra histomorfometrik olarak değerlendirmiştir. Tez çalışmasından farklı olarak SLaktif implantların KİK değerleri, SLA yüzeyli implantlara göre 2 ve 4. haftada anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur. 2. hafta için SLaktif yüzey %16.48, SLA yüzey %14.63; 4.hafta için SLaktif yüze %37.8, SLA yüzey %26.4 olarak ölçülmüştür (205).

Tez çalışmasında osseointegrasyonu değerlendirmek için biyomekanik test olarak GÇT testi uygulanmıştır. Birçok araştırmacı test ortamının standardize edildiği durumlarda bu yöntemin güvenilir olduğunu belirtmiştir (215). GÇT kuvveti uygulanarak kemik-implant bağlantısının kopmaya karşı direnci ölçülmektedir. Dental implantın soket içinde sıkışma yönüne ters rotasyona zorlanmasıyla kemik-implant arayüzünde, artan gerilim kuvvetinin maksimum dayanma kuvvetini aştığı noktada bir kopma meydana gelir ve implant kemikten çıkacak şekilde dönmeye başlar (216). Bu noktada ölçülen değer implantın stabilitesi hakkında bilgi vermektedir.

Bu tez çalışmasında da üç zaman periyodunda tüm gruplarda ikişer adet implant GÇT testine tabi tutulmuştur. 2. haftada sırasıyla; RGD peptid (56,2 Ncm), ASP+RGD peptid (54,7), kontrol (54,5 Ncm), ASP (54,05) olacak şekilde en yüksek değer RGD

peptid grubunda ölçülmüştür. 4. haftada sırasıyla; ASP (73.25 Ncm), ASP+RGD peptid (71.75 Ncm), RGD peptid (66,1 Ncm), kontrol (58,6 Ncm) olacak şekilde en yüksek değer ASP grubunda ölçülmüştür. 8. haftada ise sırasıyla; RGD peptid (83,6 Ncm), ASP+RGD peptid (80,8 Ncm), ASP (77,3 Ncm), kontrol (73,6 Ncm) olacak şekilde en yüksek değer RGD peptid grubunda ölçülmüştür. Buna göre özellikle RGD peptid ile konjuge edilen dental implantların biyomekanik olarak daha stabil olduğu, kemikte daha fazla ankraja sahip olduğu görülmektedir.

Ferguson et al., hayvan çalışmasında 2, 4 ve 8 hafta sonunda SLA ile SLAktif yüzeyli implantların osseointegrasyonunu geri çıkarma torku testi ile değerlendirmiştir. SLAktif implantların GÇT değeri 2. haftada 148.5 Ncm, 4. haftada 170.9 Ncm, 8. haftada 134.5 Ncm; SLA implantların geri çıkarma tork değeri 2. haftada 123.1 Ncm, 4. haftada 158.5 Ncm, 8. haftada 114.3 Ncm olarak ölçülmüştür. SLAktif implantların ortalama değeri SLA yüzeyli implantlara göre %8-21 daha fazla bulunmuştur (201).

Abdel-Haq et al., koyun çalışmasında 6 hafta sonunda SLA ve SLAktif implantların biyomekanik stabilitesini GÇT testi ile değerlendirdiğinde; SLA implantların test değerini 115,2 Ncm, SLAktif implantların test değerini 114,4 bulmuştur. Geç dönemde kemik oluşumunun iki farklı yüzeyde benzer seviyeye geldiği görülmüştür (206).

Literatüre bakıldığında GÇT testi sonuçları bakımından özellikle RGD peptid ile SLAktif yüzeyli implantların benzerlik gösterdiği söylenebilir. Çalışmada teste tabi olan implant sayısı az olduğundan istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır. Mevcut verilere bakıldığında test değerleri arasında çok ciddi farklılık olmadığı da görülmektedir. GÇT testi ile ilgili çalışmaların genel olarak implantların makrodizaynını karşılaştırmak için yapıldığı düşünüldüğünde gruplar arasında belirgin farkın olmaması bu duruma bağlanabilir. Bu konuyu istatistiksel olarak açıklayabilmek için test ortamının aynı olduğu, daha fazla denek ve implantın kullanıldığı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Öte yandan bu testler klinik olarak kullanılamayacağından önemi de ayrıca değerlendirilmelidir.

Bu tez çalışmasında osseointegrasyonu değerlendirmek için geri çıkarma torku testine ilave olarak implant stabilitesini değerlendirmek amacıyla RFA yöntemi uygulanmıştır. Deneysel hayvan çalışmalarında dental implantların; stabilitelelerini, osseointegrasyon derecesini ve başarısızlık risklerini değerlendirmek amacıyla objektif ve kesin sonuçlar veren deneysel metodlar kullanılmaktadır. Histolojik ve histomorfometrik incelemeler, implant GÇT testi ve çekme – itme testleri klinik uygulamalardan farklı

olarak kabul gören deneysel uygulamalardır (17, 18, 37). RFA ise hem klinik hem de deneysel olarak dental implantların ve kemiğin yapısını bozmadan stabilite ve osseointegrasyon hakkında oldukça faydalı bilgiler veren objektif bir biyomekanik testtir (30, 171).

Osseointegrasyondaki en önemli unsur; dental implantın klinik olarak asemptomatik rijit fiksasyonudur. Rijit fiksasyonu tanımlanırken ortaya çıkan test etme problemi, dental implantların ilk uygulanmaya başladığı dönemlerde bir çift cerrahi forseps ile implantın stabilitesi test edilerek çözülmüştür. Ancak bu yöntem bilimsel olarak tartışmaya açık bir uygulamadır. RFA yönteminin geliştirilmesiyle stabilite için objektif bir metod ortaya çıkmıştır (30).

Dental implantların kemiğe yerleştirildikten sonra başlangıçta sahip oldukları primer stabilite, zamanla kemikte meydana gelen rezorpsiyonlardan ötürü azalmaktadır. Ancak; implantın etrafında kemik oluşup osseointegrasyonun sağlanmasıyla sekonder stabilite ile implantın stabilitesi de artmaktadır (9). Literatürde, RFA ile primer stabilitenin değerlendirilmesine ilave olarak implant çevresindeki kemik oluşumunun ve buna bağlı olarak osseointegrasyonun da zaman içerisinde istenilen periyotlarda ölçülüp karşılaştırılabileceği ve değerlendirilebileceği bildirilmiştir (14, 30).

Balshi et al., implant yerleşiminden sonra kemikteki enflamasyon fazında implantın çevresindeki kemiğin rezorpsiyonundan dolayı 30 gün sonunda stabilitede azalmaya bağlı olarak ISQ değerlerinde anlamlı bir azalma olduğunu rapor etmiştir (176, 218). Reva et al., 10 haftalık periyotta implant stabilitesini her hafta RFA ile değerlendirmişlerdir. Toplam 20 hastadaki implantların ISQ değerlerinin özellikle 3. haftada azaldığını bildirmişler ve bu durumun sekonder stabilitede etkili olan woven bone oluşuncaya kadar devam ettiğini ortaya koymuşlardır. İmplantın kemiğe yerleşiminden sonraki ilk 4-6 hafta içinde woven bone oluşumu belirgin bir şekilde arttığından özellikle 3. haftada yapılan stabilite değerlendirmesi oldukça önemlidir (177, 217)

Aynı zamanda RFA sayesinde implant fonksiyona girdikten sonra da meydana gelebilecek implant stabilite değişiklikleri ölçülebilmektedir. Stabilitenin negatif yönde değişimi, durumun telafisi için erken dönemde klinisyeni uyararak dengesiz okluzal kuvvet veya periimplanter enflamasyon gibi sorunları tespit edip çözmeye yardımcı olmaktadır (219).

RFA ile değerlendirilen implant stabilitesini ve kemikten elde edilen desteğin histolojik, histomorfometrik ve radyolojik analizler ile nasıl bir korelasyon gösterdiğini inceleyen çalışmalar sayesinde RFA'nın etkinliği artık kabul görmektedir. Literatürde bu

amaçla yapılan deneysel çalışmalarda bu durum açıkça gösterilmiştir. Ramp et al., implant stabilitesini test etmede RFA'nın etkinliğini, histolojik ve radyografik analizlerle korelasyon açısından değerlendirmiştir. Çalışmada hayvan modelinde yivli implantlar kullanılmış ve stabilite 6 ay boyunca RFA ile ölçülmüştür. Sonuçların histolojik ve radyografik veriler ile uyumlu olduğunu bildirmişlerdir (220).

Abdel-Haq et al., SLA ve SLAktif yüzeylerin biyomekanik stabiliteğini RFA ile değerlendirdikleri çalışmada; implantların yerleştirildiği sırada ölçülen RFA değerleri SLA için 72.27 ve SLAktif için 71.6 olarak bulunmuştur. 3. haftada bu değerler SLA için 74.2'ye ve SLAktif için 76.8'e yükselmişken 6. hafta RFA değerlerinde bir miktar azalma görülerek SLA için 73.6 ve SLAktif için 72.3 olarak ölçülmüştür. Bu değerler tüm zaman periyotlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir. En yüksek RFA değeri SLAktif implantların 3 haftalık iyileşme döneminde elde edilmiştir ve bu değer; tüm implantların ilk yerleştirildiklerinde elde edilen RFA değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu verilerin histomorfometrik ve GÇT testi değerleriyle uyumlu olduğunu rapor etmiştir (206).

Literatür verilerine dayanılarak bu tez çalışmasında da implant yüzey modifikasyonlarının etkinliği RFA ile değerlendirilmiştir. İmplantlar ilk yerleştirildiği anda ve kritik iyileşme süreçleri olarak kabul edilen 2, 4, 8 haftalık periyotlarda RFA ölçümleri ISQ biriminden yapılmıştır. 2 haftalık periyotta; ilk gün ölçümleri ile 2. hafta ölçümleri karşılaştırıldığında grup içi kıyaslamada; RGD peptid grubunda oldukça anlamlı artış vardır (ilk gün: 70.16±6.01, 2. hafta: 80.17±4.95) ($p < 0.001$). Ancak; ASP+RGD grubunda da anlamlı bir azalma söz konusudur (ilk gün: 80.66±4.67, 2. hafta: 76.83±3.81) ($p < 0.05$). Kontrol grubu ve ASP grubunda anlamlı olmasa da RFA değerlerinde artış vardır. Gruplar arası karşılaştırmada ise; ilk gün ölçümlerinde ASP+RGD peptid grubu, kontrol grubu ve RGD peptid grubuna göre anlamlı olarak yüksek RFA değerine sahiptir ($p < 0.05$). 2 hafta sonunda gruplar arası karşılaştırmada anlamlı fark olmamakla birlikte RGD peptid grubu en yüksek RFA değerine sahiptir (80.17±4.95).

4 haftalık periyotta; ilk gün RFA ölçümleri ile 4. hafta RFA ölçümleri bakımından grup içi kıyaslamada; kontrol grubu ile ASP grubunda istatistiksel olarak anlamlı artış, RGD peptid grubunda istatistiksel olarak oldukça anlamlı artış bulunmuştur (ilk gün: 70.00±2.96, 4. hafta: 79.33±2.94) ($p < 0.001$). Ancak; ASP+RGD peptid grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalma görülmüştür (ilk gün: 78.50±6.05, 4. hafta: 77.50±2.94). Gruplar arası kıyaslamada ise; ilk gün ölçümlerinde anlamlı fark olmasa da

ASP+ RGD peptid grubu en fazla RFA değerine sahipken, 4. hafta RFA ölçümlerinde RGD peptid grubu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p < 0.05$).

8 haftalık periyotta; ilk gün RFA ölçümleri ile 8. hafta RFA ölçümleri bakımından grup içi kıyaslamada; kontrol grubu (ilk gün: 67.16 ± 9.66 , 8. hafta: 82.66 ± 3.93) ile ASP grubunda (ilk gün: 75.16 ± 4.57 , 8. hafta: 83.00 ± 1.67) istatistiksel olarak oldukça anlamlı artış, RGD peptid grubunda istatistiksel olarak anlamlı artış bulunmuştur (ilk gün: 79.00 ± 6.13 , 8. hafta: 83.50 ± 3.93) ($p < 0.05$). ASP+RGD peptid grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı olmasa da artış görülmüştür (ilk gün: 75.04 ± 8.24 , 8. hafta: 77.50 ± 2.94). Gruplar arası kıyaslamada ise; ilk gün ölçümleri ve 8. hafta ölçümleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır.

Literatürde, özellikle implantasyondan sonraki ilk dönemlerde implant çevresindeki rezorpsiyona ve henüz organize olmamış *woven bone* oluşumuna bağlı olarak RFA ölçümlerinde ISQ değerlerinin azaldığı, sonraki süreçte kemik remodelasyonuna bağlı olarak ISQ değerinin arttığı bildirilmiştir (176, 177). Ancak bu çalışmada sadece ASP+RGD peptid grubunda literatüre uygun olarak 2 ve 4 haftalarda ISQ değerinde azalma görülmüştür (206, 220). Bununla birlikte RGD peptid grubu 2 hafta ve 4 hafta sonunda ISQ değeri bakımından istatistiksel olarak oldukça anlamlı artış göstermiş ve en yüksek değere sahip olmuştur. Kesitlerin alındığı bölge, implantın uygulandığı kemik kalitesi ve anatomisini tüm örneklerde standardize etmek ne kadar zor olsa da; bu değerlere göre RGD peptidin ISQ değerlerindeki değişime bakıldığında özellikle erken dönemde kemik iyileşmesini stimüle ederek osseointegrasyonu hızlandırdığı söylenebilir. RGD peptid konjugasyonunun etkinliği 4 ve 8 haftalık periyotlarda da ISQ ölçümleri bakımından diğer yöntemlerden daha yüksek değere sahip olduğundan kemik oluşumunda oldukça etkili olduğu söylenebilir. Çalışmanın histolojik verilerine bakıldığında; implant çevresindeki kemiğin fibröz doku miktarı ile kemik doku miktarı kıyaslandığında sadece RGD peptid grubunda bu oranın 2, 4 ve 8 hafta sonunda kemik dokusu lehine olduğu görülmüştür. Kontrol grubunda 2 ve 4 haftalarda fibröz doku oluşumu fazlayken; ASP grubunda birbirine yakın bulunmuştur. 8 hafta sonunda ise bu iki grupta kemik dokusu daha fazladır. Ancak; ASP + RGD peptid grubunda üç zaman periyodunda da fibröz doku miktarı daha fazla bulunmuştur. Sonuç olarak; kemik doku-fibröz doku kıyaslamasına bakıldığında RFA sonuçlarının RGD peptid grubunda fazla çıkması bu duruma bağlanabilir.

Literatürde ASP ile RGD peptidi birlikte uygulayıp osseointegrasyonu değerlendiren veya osteoblastik hücre aktivitesini inceleyen bir çalışma henüz mevcut olmadığından bu tez çalışmasında temel olarak kombine etkinin başarısı araştırılmıştır. İlk önce ASP uygulaması yapılarak SLA yüzeyli titanyum yüzeyinde daha fazla OH grupları açığa çıkarılmış ve böylece titanyum yüzeye daha fazla RGD peptid bağlanarak yüzeyin RGD peptid doyumluğu da arttırılmıştır. Kombine uygulamadan beklenen etki teorik olarak iki farklı yöntemin uygulandığı implantlardan daha fazla olması yönündeydi. Bu amaçla tez çalışmasından önce SLA yüzeyli titanyum diskler üzerinde aynı yöntemler kullanılarak ıslanabilirlik testi yapıldı ve mezankimal kök hücre aktivitesine bakıldı.

Islanabilirlik testinde ASP öncesi yüzeyin su temas açısı 84.6° ölçülmüş, 60 sn'lik plazma uygulaması sonunda bu değer 6.54° 'ye düşmüştür. RGD peptidin tek başına uygulandığı SLA yüzeyli disklerin su temas açısı 26.8° 'dir. Aynı disklere önce 60 sn boyunca ASP uygulanıp takiben RGD peptid konjuge edildiğinde bu değer 12.1° olarak ölçülmüştür. Modifiye edilmiş titanyum disk yüzeylerindeki mezankimal kök hücre adezyonu ve proliferasyonu 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) ile değerlendirilmiştir. 1. gün sonunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hücre adezyonu 3 grupta anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Hücre sayısı da kontrol grubuna göre diğer 3 grupta sırasıyla; ASP+RGD (27.917 ± 3.767), RGD (15.583 ± 4.541), ASP (9.083 ± 1.186) olacak şekilde anlamlı olarak fazla bulunmuştur. 4. gündeki hücre sayıları; APS+RGD (50.917 ± 12.719), RGD (29.583 ± 6.194), APS (16.250 ± 3.775) ve kontrol (8.667 ± 2.106) şeklinde sıralanmıştır. Kontrol grubuyla kıyaslandığında diğer üç grup anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. 7. günde; ASP+RGD (110.750 ± 9.291), RGD (38.182 ± 9.569), ASP (27.250 ± 5.131) ve kontrol grubu da (10.083 ± 4.342) olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna göre diğer üç grup anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Bu sonuçlara bakıldığında in vitro olarak iki farklı yöntem kombine olarak uygulandığında yüzeylerin hücre sayılarında diğerlerine göre ciddi bir artışa yol açtığı görülmektedir. Ancak burada görülen kombine uygulamanın anlamlı pozitif etkisi in vivo sonuçlarda ortaya çıkmamıştır. KİK değerleri karşılaştırıldığında; 2. haftada sırasıyla RGD peptid grubunda % 80.16, ASP+ RGD peptid grubunda % 76.83, ASP grubunda % 75.66 ve kontrol grubunda % 72.83 değerleri ölçülmüştür. 4. haftada sırasıyla; RGD peptid grubunda % 79.33, ASP grubunda % 77.83, ASP+ RGD peptid grubunda % 77.50 ve kontrol grubunda % 72.66 değerleri ölçülmüştür. 8. haftada sırasıyla; ASP grubunda % 83.00, kontrol grubunda % 82.66, RGD peptid grubunda % 80.00 ve ASP+ RGD peptid grubunda % 78.83 değerleri ölçülmüştür. RFA değerlerindeki durum biraz daha farklıdır.

2 ve 4. haftada ASP+ RGD peptid grubu dışındakilerde RFA değerleri artmışken özellikle 2. haftada ASP+ RGD peptid grubundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 8. haftada ise 3 grupta anlamlı artış olmuş ancak ASP+ RGD peptid grubunda anlamlı olmayan artış olmuştur. Yukarıda bahsedildiği gibi bu durum ASP+ RGD peptid grubunda daha fazla fibröz doku oluşumuna bağlanabilir.

Çalışmanın başında ASP ve RGD peptidin birlikte uygulanmasıyla in vitro çalışmada ortaya çıkan kombine etki, in vivo çalışmada ortaya çıkmamıştır. Bu durumun en kabul edilebilir açıklaması çalışmanın histoloji verilerine bakıldığında yapılabilir. Osseointegrasyon denilen kavramın temelinde implant yüzeyi ile kemik dokusunun direkt teması yatar. Verilere bakıldığında en fazla fibröz doku oluşumu ASP+ RGD peptid uygulanan implantlarda görülmüştür. Buna göre; yüzeyin RGD peptid konjugasyonu ile osteoblastlar için daha atraktif hale gelmesi beklenirken, tam tersine fibroblastlar için bu durum gerçekleşmiştir. Halbuki; sadece RGD peptid uygulanan implantlarda bu durum fazlasıyla gerçekleşmiş ve tüm zaman periyotlarında bariz bir şekilde kemik dokusu oluşumu görülmüştür. Buna göre; ilk önce gerçekleştirilen ASP uygulamasının implant yüzeyini fibroblastlar için daha aktif bir yüzey haline getirdiği ve fibroblast – osteoblast hücre aktivite dengesini fibroblast lehine değiştirdiği söylenebilir.

Son olarak; bu tez çalışmasında literatürde henüz mevcut olmayan bir yöntem kullanılarak histolojik inceleme de yapılmıştır. Deneklerden her bir zaman periyodunda grup başına iki adet olacak şekilde etrafında sağlam kemik dokusu olan implant elde edilmiştir. Dekalsifikasyon işleminden bir süre sonra inorganik yapısını kaybeden, içinde implant olan örnekler yumuşak katı arası elastik bir kıvama gelmiştir. İmplantlar hiç bir şekilde yerinden oynatılmadan, keskin bir bistüri yardımıyla etraflarındaki kemik dokusu uzunlamasına ikiye bölünerek kemik dokusunun yapısı hiç bir şekilde bozulmadan implant kemikten ayrılmıştır. Daha sonra elde edilen kemik dokularında hemotoksilen, eosin ve indirekt immunohistokimyasal boyama yapılmıştır. Boyanan histolojik kesitlerde; kemik alanları, fibröz doku alanları, osteokalsin ve VEGF, H-skorlaması ile değerlendirilerek gruplar arasında karşılaştırma yapılmıştır.

Osseointegrasyonun 2 ve 4. haftalarında özellikle RGD peptidin tek başına uygulandığı implantların çevresinde daha fazla kemik dokusu oluşumu gözlenirken kontrol grubu ve ASP+ RGD peptid grubunda fibröz doku oluşumu daha fazla görülmüştür. ASP grubunda ise eşit miktarda fibröz ve kemik dokusu oluşumu gözlenmiştir. Osseointegrasyonun 8. haftasında ise; kontrol grubu, ASP ve RGD peptid grubunda kemik oluşumu belirgin olarak daha fazlayken bu durum ASP+ RGD peptid

grubunda tam tersi bir durum göstermiştir. Kemik apozisyonu direk olarak osseointegrasyonu etkileyen bir parametre olduğundan bu sonuçlara göre RGD peptidin bu konuda daha etkili olduğu görülmektedir.

Osteokalsin incelemesinde; 2 ve 8. haftalarda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu dönemlerde en yüksek veriler RGD peptid grubunda görülmüştür. Sadece 4. haftada kontrol grubuyla RGD peptid grubu arasında RGD peptid fazla olacak şekilde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Kemik remodeling fazında osteoblastlar osteokalsin salgılamaktadır (165). Aynı zamanda osteokalsin; osteoblast-osteoklast etkileşimi ve kemik rezorpsiyonu aktivitesinde rol alarak, kemik dokusu oluşumunun organizasyonunda bulunmaktadır (165-168). Çalışmadaki verilere bakıldığında; dental implantlar ile kemik dokusu arasında osseointegrasyon için gerekli olan ve fonksiyonel kuvvetlere karşı stabil bir altyapı oluşturan direk kemik-implant temasının 2, 4 ve 8 hafta sonunda RGD peptid grubunda fazla olduğu görülmektedir.

2, 4 ve 8 haftalık periyotlarda grupların VEGF değerlerine bakıldığında; özellikle 2. haftada gruplar arasında oldukça anlamlı fark bulunmuştur. Aynı zamanda 4 ve 8. haftalarda da gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur. 2 haftalık süreçte RGD peptidin kontrol grubuna göre oldukça anlamlı H skoruna sahip olduğu görülmektedir (352 ± 32 , 205 ± 39). Benzer şekilde ASP + RGD peptid grubunun kontrol grubuna göre üstünlüğü görülmektedir (315 ± 10 , 205 ± 39). Aynı zamanda RGD peptid grubu; ASP ve ASP+RGD peptid grubuna göre de üstündür. 4. hafta da alınan örneklerde RGD peptid grubundaki VEGF'in H skoru; kontrol grubuna göre oldukça anlamlı fazla ($p<0.01$) ASP+RGD peptid grubuna göre de anlamlı fazla ($p<0.05$) bulunmuştur. 8. haftada alınan örneklerde sadece kontrol grubu ile RGD peptid grubu arasında VEGF incelemesinde RGD peptid fazla olacak şekilde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. Kemik büyümesi, gelişimi ve tamiri sırasında osteogenesis ve anjiogenesis birbirleriyle korele olan süreçlerdir (160). Kemik dokusunda VEGF miktarında artış olduğunda bu durumun yeni kemik dokusu ile ilişkili olduğu söylenebilir (162, 163). Bu çalışmanın verilerine bakıldığında diğer parametrelerde olduğu gibi VEGF incelemesinde RGD peptidin tek başına uygulandığı implantların üstün olduğu görülmektedir. Buna göre; RGD peptid yüzeyindeki kemik oluşumunun daha aktif gerçekleştiği, kemiğin daha hızlı organize olduğu söylenebilir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Dental implant uygulamaları eksik dişlerin tedavisinde en yaygın uygulanan tedavi yöntemlerinin başında gelmektedir. Çok sayıda marka ve tasarım, hasta ve klinisyenlerin kullanımına sunulmaktadır. Talep edicilerin en büyük beklentisi; daha kısa sürede fonksiyona girebilecek yani protetik olarak en kısa sürede üst yapının uygulanabileceği dental implantların üretilmesi ve pazarlanmasıdır. Günümüzde bazı üreticiler bu avantajı sunan dental implantları sağlayabilmektedir ancak; diğer implantlarla karşılaştırıldıklarında ekonomik olarak daha fazla yükümlülük getirmektedir. Bu nedenle ihtiyacı olan herkes tarafından diş eksikliklerinin tedavisinde tercih edilmesi mümkün olmamaktadır. Bu durum; benzer avantajlara sahip daha ekonomik alternatiflerin sunulması konusunda bir ihtiyaç ortaya çıkarmaktadır.

Dental implantların klinik olarak uzun yıllar boyunca başarı ile fonksiyon görebilmesinde en temel kriter osseointegrasyonun gerçekleşmesidir. Özellikle de zor vakalarda ve immediyat implantasyonun yapıldığı vakalarda osseointegrasyonu sağlamak daha güçtür. Bu çalışmanın sonuçlarına bakıldığında özellikle RGD peptid uygulanan implantların erken dönemde osseointegre olduğu görülmektedir. Yüzeyi RGD peptid ile modifiye edilen implantların daha kısa sürede osseointegre olup protetik yüklemesi yapılarak; hastaların estetik ve çiğneme fonksiyonunu geri kazandırmasıyla dişsiz kalma sürelerini kısaltıp yaşam kalitelerini arttıracakları söylenebilir.

Çalışmanın başında literatür verilerine bakılarak osseointegrasyonu daha kısa sürede sağlayacağı düşünülen ASP ve RGD peptidin birlikte uygulanmasının; biyomekanik yöntemler, histomorfometrik ve histolojik analizlerde kombine bir etki ortaya çıkaramadığı görülmüştür. Gelecekte yapılacak olan çalışmalarda farklı deney modelleri ve/veya daha fazla örnek sayıları kullanılarak ASP ve RGD peptidin kombine etkisi daha kapsamlı ve objektif olarak değerlendirilebilir. Aynı zamanda farklı yüzey topografilerinde bu yöntemler kullanılarak etkinlikleri araştırılabilir veya süperhidrofilik yüzeye sahip olan, literatürde birçok çalışmada çok kısa sürede osseointegre olduğu gösterilen SLAktif yüzeyli implantlar gibi farklı yüzey modifikasyonlarıyla karşılaştırılabilir.

ÖZET

Atmosferik Soğuk Plazma Uygulaması ve RGD Peptid Konjüasyonu ile Yüzey Modifikasyonu Sağlanan Dental İmplantların Osseointegrasyon Sürelerinin Değerlendirilmesi

Bu çalışmada aynı yüzey yapısına sahip SLA yüzeyli dental implantlar kullanarak implantların yüzey enerjileri ve fizikokimyasal yapısını ASP, RGD peptid konjugasyonu ve bu iki tekniğin birlikte uygulamasıyla modifiye edilerek implantların osseointegrasyonunu 2, 4 ve 8 haftalık zaman periyotlarında biyomekaniksel ve histolojik olarak değerlendirmek amaçlanmıştır.

Dental implantlar günümüzde eksik dişlerin tedavisinde rutin olarak kullanılmaktadır. Çene kemiğine yerleştirilen implantların osseointegrasyonu için 3-6 ay süreyle beklemek gerekmektedir. Bu süreyi kısaltmak adına birçok teknik, farklı implant dizaynları ve farklı yüzey modifikasyonları uygulanarak implantların protetik fonksiyonlara daha erken katılması sağlanmaktadır. Bu çalışmada 3-6 aylık osseointegrasyon süresini kısaltabilmek hedeflenmiştir. Literatürde aynı implant yüzeyine ASP ve RGD peptidi birlikte uygulayan bir çalışma olmaması bakımından bu çalışma bir ilktir. Çalışmanın sonunda elde edilen olumlu veriler ışığında klinik olarak daha kısa sürede osseointegre olan, hastaların dişsizliğe bağlı sorunlarını daha erken sürede çözebilen ve protetik olarak daha uygun, daha ekonomik dental implantların üretilebileceği bilimsel bir kaynak ortaya çıkmıştır.

Çalışmada 3 farklı yöntemle implantların yüzey modifikasyonu yapılarak 3 deney grubu ve 1 kontrol grubu oluşturulmuştur. Üç deneğin tümüne aynı anda implant yerleştirilmiştir. Deneklerin 1 tanesi 2 hafta sonra, 1 tanesi 4 hafta sonra ve sonuncusu 8 hafta sonra sakrifiye edilmiştir. Bir deneğe grup başına 6 implant olacak şekilde 24 implant yerleştirilmiştir. İmplantların osseointegrasyonları; Rezonans Frekans Analizi, Geri Çıkarma Torku Testi, histolojik ve histomorfometrik inceleme sonucunda değerlendirilmiştir.

Sonuçlara bakıldığında; özellikle 2 ve 4 haftalık sürelerde RGD peptidin tek başına uygulandığı implantların daha iyi osseointegre olduğu görülmüştür. ASP ve RGD peptidin birlikte uygulandığı implantlarda beklenen kombine etki görülmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Atmosferik soğuk plazma, RGD peptid, dental implant, yüzey modifikasyonu, osseointegrasyon

ABSTRACT

The evaluation of Osseointegration Periods of Dental Implants in which Surface Modification With Atmospheric Cold Plasma Application and RGD Peptide Conjugation Were Made

In this study, modification of the surface energy and physicochemical structure of some SLA surfaced dental implants by ACP, RGD peptid conjugation and the combination of these two technique, histological and biomechanical evaluation of osseointegration of these implants at 2, 4 and 8 weeks were aimed.

Today, dental implants are used routinely in treatment of edentulism. It is needed a period of 3-6 months for the osseointegration of the inserted dental implants into jaw bone. To reduce this long time of osseointegration; different techniques, implant designs and surface modifications are applied and implants can be provided to join the prosthetic functions in an earlier time. In this study, we aim to shorten the 3-6 months osseointegration period. In literature, this study is the first which apply together ACP and RGD peptide to the same implant. At the end of this study, after obtaining favourable results it is aimed to produce new dental implants which are osseointegrated in an earlier time, can solve the patients problems related to edentulism in a shorter time and are more economic and prosthetically more convenient for the patients

The study consisted of three experimental groups to modify the implant surfaces with three different modification techniques and a control group without any surface modification. All implants were inserted into the three sheep's bones at the same time. One sheep was sacrificed after 2 weeks, one sheep was sacrificed after 4 weeks and one sheep was sacrificed after 8 weeks. 24 implants were placed so that the 6 implant with a sheep per group. Osseointegration of dental implants were evaluated after Resonance Frequency Analysis, Removal Torque Test, histological and histomorphometric examination.

According to the results ; dental implants which were modified with RGD peptide alone displayed better osseointegration particularly at 2 and 4 weeks. Dental implants which were modified with ASP and RGD peptid did not show the expected combined effect.

Keywords: Atmospheric cold plasma, RGD peptide, dental implant, surface modification, osseointegration

KAYNAKLAR

1. Güzel KD, Meşe A, DüNDAR B. Tür, Form ve Materyal Açısından Günümüz Dental İmplantların Tarihçesi. Türkiye Klinikleri J Med Ethics 2006; 14: 41- 46. (A1)
2. Nakajima H, Okabe T. Titanium in dentistry: development and research in the U.S.A. Dent Mater J 1996; 15: 77-90. (A2)
3. Taylor TD, Agar JR. Twenty years of progress in implant prosthodontics. J Prosthet Dent 2002; 88:89-95. (A3)
4. Driskell TD: History of implants. CDA J 1987; 15:16-25. (A4)
5. Branemark 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 Recons Surg 1977; 11(16): 1-132. (A5)
6. Araujo MG, Lindhe J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction: an experimental study in the dog, *J Clin Periodontol* 2005; 32: 212. (A6)
7. Schroeder A, van der Zypen E, Stich H, et al. The reactions of bone, connective tissue, and epithelium to endosteal implants with titanium- sprayed surfaces. J Maxillofac Surg 1981; 9:15- 25. (A7)
8. Albrektsson T, Brånemark PI, Hansson HA, et al. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. Acta Orthop Scand 1981; 52(2): 155-70. (B1) (Tar 1)
9. Terheyden H, Lang NP, Bierbaum S, et al. Osseointegration – communication of cells. Clin Oral Impl Res 2012; 23, 1127-1135. (B2)
10. Lee MH, Oh N, Lee SW, et al. Factors influencing osteoblast maturation on microgrooved titanium substrata. Biomaterials 2010; 31: 3804-3815. (B3)
11. Berglundh T, Abrahamsson I, Lang NP, et al. De novo alveolar bone formation adjacent to endosseous implants. Clinical Oral Implants Research 2003;14: 251-262. (B4)
12. Olszta MJ, Cheng X, Jee SS, et al. Bone structure and formation: a new perspective. Materials Science and Engineering Reports 2007; 58: 77-116. (B5)
13. Swami V, Vijayaraghavan V. Current trends to measure implant stability. J Indian Prosthodont Soc 2016;16:124-30. (C1)
14. Chang PC, Lang NP, Giannobile WV. Evaluation of functional dynamics during osseointegration and regeneration associated with oral implants. Clin Oral Impl Res 2010; 21: 1-12. (C2)
15. Meenakshi S, Raghunath N, Raju SN, et al. Implant stability a key determinant in implant integration. Trends Prosthodont Dent Implantol 2013;4:28-48. (D1)
16. Branemark R, Ohnell LO, Skalak R, et al. Biomechanical characterization of osseointegration: an experimental in vivo investigation in the beagle dog. Journal of Orthopaedic Research 1998;16: 61-69. (D2)
17. Brunski JB, Puleo DA, Nanci A. Biomaterials and biomechanics of oral and maxillofacial implants: current status and future developments. International Journal of Oral and Maxillofacial Implants 2000 15: 15-46. (D3)
18. Johansson CB, Han CH, Wennerberg A, et al. A quantitative comparison of machined

- commercially pure titanium and titanium-aluminum-vanadium implants in rabbit bone. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants* 1998; 13: 315–321. (D4)
19. Sennerby L, Meredith N. Implant stability measurements using resonance frequency analysis: biological and biomechanical aspects and clinical implications. *Periodontol* 2000 2008; 47:51-66. (D5)
 20. Wyatt CC, Pharoah MJ. Imaging techniques and image interpretation for dental implant treatment. *Int J Prosthodont* 1998; 11:442-52. (D6)
 21. Johansson P, Strid K. Assessment of bone quality from cutting resistance during implant surgery. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1994; 9: 279-88. (D7)
 22. Bayarchimeg D, Namgoong H, Kim BK, et al. Evaluation of the correlation between insertion torque and primary stability of dental implants using a block bone test. *J Periodontal Implant Sci* 2013; 43:30-6. (D8)
 23. Roberts WE, Simmons KE, Garetto LP, et al. Bone physiology and metabolism in dental implantology: Risk factors for osteoporosis and other metabolic bone diseases. *Implant Dent* 1992; 1:11-21. (D9)
 24. O’Sullivan D, Sennerby L, Jagger D, et al. A comparison of two methods of enhancing implant primary stability. *Clin Implant Dent Relat Res* 2004; 6:48-57. (D10)
 25. Geçkili O. İki Farklı İmplant Yüzeyinin Kemik İçi Stabilite Ve Krestal Kemik Kayıpları Üzerine Etkilerinin İki Farklı Abutment Tipinin Hasta Memnuniyetlerinin Karşılaştırılması, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul 2007: 60 (D11)
 26. Dario LJ, Cucchiario PJ, Deluzio AJ. Electronic monitoring of dental implant osseointegration. *J Am Dent Assoc* 2002; 133(4): 483-490. (D12)
 27. Schulte W, Lukas D. Periotest to monitor osseointegration and to check the occlusion in oral implantology. *J Oral Implantol* 1993; 19:23-32. (D13)
 28. Schulte W, d’Hoedt B, Lukas D, et al. Periotest – A new measurement process for periodontal function. *Zahnartzl Mitt* 1983; 73:1229-30, 1233-6, 1239-40. (D14)
 29. 2017. Dentalradeonline.
<http://www.dentaltradeonline.com.au/images/stories/Imtec/periotest%20brochure.pdf> (22.06.2017). (D15)
 30. Meredith N. Assessment of implant stability as a prognostic determinant. *Int J Prosthodont* 1998;11:491-501. (D16)
 31. Ostell ISQ. <http://www.osstell.com/clinical-guidelines/> (22.6.2017). (D17)
 32. Ostman PO, Hellman M, Sennerby L. Direct implant loading in the edentulous maxilla using a bone density- adapted surgical protocol and primary implant stability criteria for inclusion. *Clin Implant Dent Relat Res* 2005; 7(1); 60- 69. (D19)
 33. Sjostrom M, Sennerby L, Nilson H, et al. Reconstruction of the atrophic edentulous maxilla with free iliac crest grafts and implants: a 3- year report of a prospective clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2007; 9(1): 46- 59. (D20)
 34. Klein MO, Bijelic A, Ziebart T, et al. Submicron scale-structured hydrophilic titanium surfaces promote early osteogenic gene response for cell adhesion and cell differentiation. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* 2013; 15(2), 166-75.

(E1)

35. Le Guehennec L, Lopez-Heredia M A, Enkel B, et al. Osteoblastic cell behaviour on different titanium implant surfaces. *Acta Biomaterialia* 2008; 4, 535–543. (E2)
36. Stanford CM, Keller JC. The concept of osseointegration and bone matrix expression. *Crit Rev Oral Biol Med* 1991; 2(1), 83–101. (E3)
37. Buser D, Broggini N, Wieland M, et al. Enhanced bone apposition to a chemically modified titanium surface, *Journal of Dental Research* 2004; 83, 529–533. (E4)
38. Machnee CH, Wagner WC, Jaarda MJ, Lang BR. Identification of oxide layers of commercially pure titanium in response to cleaning procedures. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1993;8:529-533. (E5)
39. Watanabe K, Okawa S, Kanatani M, et al. Surface analysis of commercially pure titanium implant retrieved from rat bone. Part 1: initial biological response of sandblasted surface. *Dent Mater J* 2009; 28(2), 178–184. (E6)
40. Ellingsen JE. Surface configurations of dental implants. *Periodontology* 2000 1998;17 (1): 36-46 (E7)
41. Branemark PI, Adell R, Breine U, et al. Intra osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1969; 3(2): 81-100. (E8)
42. Grinnell F, Feld, MK. Fibronectin adsorption on hydrophilic and hydrophobic surfaces detected by antibody binding and analyzed during cell adhesion in serum-containing medium. *J Biol Chem* 1982; 257: 4888–93. (E9)
43. Ganapathy R, Sarmadi M, Denes F. Immobilization of alpha-chymotrypsin on oxygen RF-plasma functionalized PET and PP surfaces. *J Biomater Sci Polym Ed* 1998; 9: 389–404. (E11)
44. Howlett, C. R, Evans, M. D, Wildish, K, et al. 1993. The effect of ion implantation on cellular adhesion. *Clin Mater* 1993; 14: 57–64. (E12)
45. Brunette DM. Principles of cell behaviour on titanium surfaces and their application to implanted devices. In: *Titanium in medicine*, Springer Verlag, 2001: 485-512. (E13)
46. Inoue T, Cox JE, Pilliar RM, et al. Effect of the surface geometry of smooth and porous coated titanium alloy on the orientation of fibroblasts in vitro. *J Biomed Mater Res* 1987; 21:107-26. (E14)
47. Martin JY, Schwartz Z, Hummert TW, et al. Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation, and protein synthesis of human osteoblast-like cells (MG63). *J Biomed Mater Res* 1995; 29: 389-401. (E15)
48. Matsuzaka K, Walboomers XF, de Ruijter JE, et al. The effect of poly-L-lactic acid with parallel surface micro groove on osteoblast-like cells in vitro. *Biomaterials*; 1999; 20, 1293-301. (E16)
49. Yoshinari M, Matsuzaka K, Inoue T. Surface modification by cold-plasma technique for dental implants Bio-functionalization with binding pharmaceuticals. *Japanese Dental Science Review* 2011; 47: 89-101. (E17)
50. Shekaran A, Garcia AJ. 2011. *Biochim. Biophys. Acta*; 2011: 1810, 350–360. (G1)
51. Goldberg VM, Jinno T. The bone-implant interface: A dynamic surface. *J Long Term Eff Med Implants* 1999; 9:11– 21. (G2)
52. Buser D, Schenk R, Steinemann S, et al. Influence of surface characteristics on bone

- integration of titanium implants: A histomorphometric study in miniature pigs. *J Biomed Mater Res* 1991; 25: 889–902. (G3) (Tar 22)
53. Cooper LF A role for surface topography in creating and maintaining bone at titanium endosseous implants. *J Prosthet Dent* 2000; 84: 522–534. (G4)
 54. Wennerberg A, Ektessabi A, Albrektsson T, et al. A 1-year follow-up of implants of differing surface roughness placed in rabbit bone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997; 12: 486–494. (G5)
 55. Klokkevold PR, Nishimura RD, Adachi M, et al. Osseointegration enhanced by chemical etching of the titanium surface: A torque removal study in the rabbit. *Clin Oral Implants Res* 1997; 8: 442–447. (G6)
 56. Wei J, Igarashi T, Okumori N, et al. Influence of surface wettability on competitive protein adsorption and initial attachment of osteoblasts. *Biomed Mater* 2009; 4: 1-7. (G7)
 57. Duske K, Koban I, Kindel E, et al. Atmospheric plasma enhances wettability and cell spreading on dental implant metals. *J Clin Periodontol* 2012; 39: 400–407. (G8)
 58. Rupp F, Scheideler L, Eichler M, et al. Wetting behavior of dental implants. *The International Journal of Oral and Maxillofacial Implants* 2011; 26: 1256–1266. (G9)
 59. Hirakawa Y, Jimbo R, Shibata Y, et al. Accelerated bone formation on photoinduced hydrophilic titanium implants: an experimental study in the dog mandible. *Clinical Oral Implants Research* 2012. (G10)
 60. Zollner A, Ganeles J, Korostoff J, et al. Immediate and early non-occlusal loading of Straumann implants with a chemically modified surface (SLActive) in the posterior mandible and maxilla: Interim results from a prospective multicenter randomized-controlled study. *Clin Oral Implants Res* 2008; 19: 442–450. (G11)
 61. Schneider GB, Zaharias R, Seabold D, et al. Differentiation of preosteoblasts is affected by implant surface microtopographies. *J Biomed Mater Res A* 2004; 69: 462– 468. (G12)
 62. Stanford CM, Brand RA. 1999. Toward an understanding of implant occlusion and strain adaptive bone modeling and remodeling. *J Prosthet Dent* 1999; 81: 553–561. (G13)
 63. Schneider GB, Perinpanayagam H, Clegg M, et al. Implant surface roughness affects osteoblast gene expression. *J Dent Res* 2003; 82: 372– 376. (G14)
 64. Bornstein MM, Valderrama P, Jones AA, et al. Bone apposition around two different sandblasted and acid-etched titanium implant surfaces: A histomorphometric study in canine mandibles. *Clin Oral Implants Res* 2008; 19: 233–241. (G15)
 65. Joshi SG. 2011. Nonthermal dielectric-barrier discharge plasma-induced inactivation involves oxidative DNA damage and membrane lipid peroxidation in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55(3): 1053-62. (G16)
 66. Ercan UK. Nonequilibrium Plasma-Activated Antimicrobial Solutions are Broad-Spectrum and Retain their Efficacies for Extended Period of Time. *Plasma Processes and Polymers* 2013; 10(6): 544-555. (G17)
 67. Kasemo B, Lausmaa J. Metal selection and surface characteristics. In Brånemark P-I, Zarb GA, Albrektsson T, editors. *Tissue- Integrated Prostheses: Osseointegration in Clinical Dentistry*. Chicago: Quintessence Publishing; 1985; pp. 99–116. (F1)

68. 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. (F2)
69. Wennerberg A, Albrektsson T. On implant surfaces: a review of current knowledge and opinions. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2010; 25:63–74. (F3)
70. Gotfredsen K, Wennerberg A, Johansson C, et al. Anchorage of TiO₂-blasted, HA-coated, and machined implants: an experimental study with rabbits. *J Biomed Mater Res* 1995; 29:1223–1231. (F4)
71. Piatelli A, Manzon L, Scarano A, et al. Histologic and histomorphometric analysis of the bone response to machined and sandblasted titanium implants: an experimental study in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1998; 13:805–810. (F5)
72. Ivanoff CJ, Hallgren C, Widmark G, et al. Histologic evaluation of the bone integration of TiO₂ blasted and turned titanium microimplants in humans. *Clin Oral Implants Res* 2001; 12:128–134. (F6)
73. Waite PD. Dentoalveolar and implant surgery, The since of osseointegration. In: Peterson's Principles of oral and maxillofacial surgery third edition. People's medical publishing house, USA, Shelton, Connecticut, 2011: p 229-268. (F7)
74. Wennerberg A, Albrektsson T. Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review. *Clin Oral Implants Res* 2009; 20 (4):172–184. (F9)
75. Trisi P, Lazzara R, Rebaudi A, et al. Bone-implant contact on machined and dual acid-etched surfaces after 2 months of healing in the human maxilla. *J Periodontol.* 2003; 74:945–956. (F10)
76. Lazzara RJ, Porter SS, Testori T, et al. A prospective multicenter study evaluating loading of Osseotite implants two months after placement: one-year results. *J Esthet Dent* 1998; 10:280–289. (F11)
77. Sullivan DY, Sherwood RL, Porter SS. Long-term performance of Osseotite implants: a 6-year clinical follow-up. *Compend Contin Educ Dent.* 2001; 22(4):326-8, 330, 332-4. (F12)
78. Cochran DL, Schenk RK, Lussi A, et al. Bone response to unloaded and loaded titanium implant with a sandblasted and acid etched surface: a histometric study in the canine mandible. *J Biomed Mater Res* 1998; 40:1–11. (F14)
79. Giovanna O, Bartolomeo A. Surface analysis of machined versus sandblasted and acid-etched titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000; 15:779–784. (F8)
80. Oates TW, Valderrama P, Bischof M, et al. Enhanced implant stability with a chemically modified SLA surface: a randomized pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2007; 22(5), 755-760. (H1)
81. (2012) .Strauman implants' web site. www.straumann.com (23.05.2017) (H2)
82. Rupp F, Scheideler L, Olshanska N, et al. Enhancing surface free energy and hydrophilicity through chemical modification of microstructured titanium implant surfaces. *J Biomed Mater Res A* 2006; 76(2): 323-334. (H3)
83. Leize EM, Hemmerle J, Leize M. Characterization, at the bone crystallevel, of the titanium-coating/bone interfacial zone. *Clin Oral Impl Res* 2000; 11: 279–288. (H5)

84. Rocuzzo M, Bunino M, Prioglio F, Bianchi SD. Early loading of sandblasted and acid-etched (SLA) implants: a prospective split-mouth comparative study. *Clin Oral Implants Res* 2001; 12:572–578. (H7)
85. Roynesdal AK, Ambjornsen E, Stovne S, Haanaes HR. A comparative clinical study of three different endosseous implants in edentulous mandibles. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1998; 13:500–505. (H8)
86. Astrand P, Anzen B, Karlsson U, et al. Nonsubmerged implants in the treatment of the edentulous upper jaw: a prospective clinical and radiographic study of ITI implants results after one year. *Clin Implant Dent Relat Res* 2000; 2:166–174. (H9)
87. Becker W, Becker B, Ricci A. A prospective, multicenter trial comparing one-and two-stage titanium screw shaped fixtures with one-staged plasma sprayed solid-screw fixtures. *Clin Implant Dent Relat Res* 2000; 2:159–165. (H10)
88. Weingart D, Steinemann S, Schilli W, et al. Titanium deposition in regional lymph nodes after insertion of titanium screw implants in maxillofacial region. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1994; 23: 450-452. (H11)
89. Søballe K, Hansen ES, Brockstedt-Rasmussen H, et al. Gap healing enhanced by hydroxyapatite coating in dogs. *Clin Orthop Relat Res* 1991; 272: 300–307. (H13)
90. Misch CM. Hydroxylapatite-coated implants: design considerations and clinical parameters. *N Y State Dent J* 1993; 59: 36–41. (H14)
91. Truhlar RS, Morris HF, Ochi S. Implant surface coating and bone quality-related survival outcomes through 36 months postplacement of root-form endosseous dental implants. *Ann Periodontol* 2000; 5: 109–118. (H15)
92. Albrektsson T. Hydroxylapatite-coated dental implants: a case against their use. *J Oral Maxillofac Surg* 1998; 56: 1312–1326. 55. (H16)
93. Chang YL, Lew D, Park JB, et al. Biomechanical and morphometric analysis of hydroxyapatite-coated implants with varying crystallinity. *J Oral Maxillofac Surg* 1999; 57: 1096–1108. (H17)
94. Johnson BW. HA-coated dental implants: long-term consequences. *J Calif Dent Assoc* 1992; 20: 33–41. (H18)
95. Hanisch O, Cortella CA, Boskovic MM, et al. Experimental periimplant tissue breakdown around hydroxyapatite-coated implants. *J Periodontol* 1997; 68: 59–66. (H19)
96. Wheeler SL. Eight-year clinical retrospective study of titanium plasma-sprayed and hydroxyapatite-coated cylinder implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1996; 11: 340–350. (H20)
97. Tinsley D, Watson CJ, Russell JL. A comparison of hydroxylapatite coated implant retained fixed and removable mandibular prostheses over 4 to 6 years. *Clin Oral Implants Res* 2001; 12:159–166. (H21)
98. Artzi Z, Carmeli G, Kozlovsky A. A distinguishable observation between survival and success rate outcome of hydroxyapatite-coated implants in 5-10 years in function. *Clin Oral Implants Res* 2006; 17: 85–93. (H22)
99. Kasemo B. Biocompatibility of titanium implants: surface science aspects. *J Prosth Dent* 1983; 49:832–837. (I1)
100. Sul YT, Johansson CB, Jeong Y, Albrektsson T. The electrochemical oxide growth

- behaviour on titanium in acid and alkaline electrolytes. *Med Eng Phys* 2001; 23:329–346. (I 2)
101. Ivanoff CJ, Widmark G, Johansson C, Wennerberg A. Histologic evaluation of bone response to oxidized and turned titanium micro-implants in human jawbone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003; 18:341–348. (I 4) (Tar 36)
 102. Rocci A, Martignoni M, Gottlow J. Immediate loading of Brånemark System TiUnite and machined-surface implants in the posterior mandible: a randomized open ended clinical trial. *Clin Implant Dent Relat Res* 2003; 5(Suppl 1): 57–63. (I 5)
 103. Friberg B, Jemt T. Clinical experience of TiUnite implants: a 5-year cross-sectional, retrospective follow-up study. *Clin Im- plant Dent Relat Res* 2010; 12(Suppl 1):95–103. (I 6)
 104. Nevins M, Nevins ML, Camelo M, et al. Human histologic evidence of a connective tissue attachment to a dental implant. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2008;V28:111–121. (K1)
 105. Pecora GE, Ceccarelli R, Bonelli M, et al. Clinical evaluation of laser microtexturing for soft tissue and bone attachment to dental implants. *Implant Dent* 2009; 18: 57–66. (K2)
 106. Ellingsen JE, Johansson CB, Wennerberg A, Holmén A. Improved retention and bone-to-implant contact with fluoride- modified titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19:659–666. (K3)
 107. Isa ZM, Schneider GB, Zaharias R, et al. Effects of fluoride- modified titanium surfaces on osteoblast proliferation and gene expression. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2006;21: 203–211. (K4)
 108. Svanborg LM, Andersson M, Wennerberg A. Surface characterization of commercial oral implants on the nanometer level. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2010;92:462–469. (K5)
 109. Meirelles L, Currie F, Jacobsson M, et al. The effect of chemical and nanotopographical modifications on the early stages of osseointegration. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008;23: 641–647. (K6)
 110. Rocci M, Rocci A, Martignoni M, Albrektsson T. A comparative study of TiOblast and OsseoSpeed implants retrieved from humans. *Appl Osseointegration Res* 2008; 7: 26–30. (K7)
 111. Bonfante EA, Granato R, Marin C et al. Biomechanical testing of microblasted, acid-etched/microblasted, anodized, and discrete crystalline deposition surfaces: an experimental study in beagle dogs. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2013; 28,136–142. (K8)
 112. Mendes VC, Moineddin R, Davies JE. Discrete calcium phosphate nanocrystalline deposition enhances osteoconduction on titanium-based implant surfaces. *J Biomed Mater Res A* 2009; 90:577–585. (K9)
 113. Telleman G, Albrektsson T, Hoffman M, et al. Peri-implant endosseous healing properties of dual acid-etched mini-implants with a nanometersized deposition of CaP: a histological and histomorphometric human study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2010; 12:153–160. (K10)
 114. Junker R, Dimakis A, Thoneick M, et al. Effectsof implant surface coatings and

- composition on bone integration: a systematic review. *Clinical Oral Implants Research* 2009; 20, supplement 4,185–206. (L1) (M6, TAR 6)
115. Carreira AC, Lojudice FH, Halcsik E, et al. Bone morphogenetic proteins: facts, challenges, and future perspectives. *Journal of Dental Research* 2014; 93: 335–345. (L2)
116. Wozney JM, Rosen V, Byrne M, et al. Growth factors influencing bone development. *J Cell Sci Suppl* 1990; 13:149–156. (L3)
117. Beutner R, Michael J, Schwenzer B, Scharnweber D. Biological nano-functionalization of titanium-based biomaterial surfaces: a flexible toolbox. *J R Soc Interface* 2010; 7: 93–105. (L4)
118. Bae IH, Yun KD, Kim HS, et al. Anodic oxidized nanotubular titanium implants enhance bone morphogenetic protein-2 delivery. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2010; 93: 484–491. (L5)
119. Liu Y, Huse RO, de Groot K, et al. Delivery mode and efficacy of BMP-2 in association with implants. *J Dent Res* 2007; 86:84–89. (L6)
120. Leknes KN, Yang J, Qahash M, et al. Alveolar ridge augmentation using implants coated with recombinant human bone morphogenetic protein-2: radiographic observations. *Clin Oral Implants Res* 2008; 19:1027–1033. (L7)
121. Wikesjö UM, Qahash M, Polimeni G, et al. Alveolar ridge augmentation using implants coated with recombinant human bone morphogenetic protein-2: histologic observations. *J Clin Periodontol* 2008; 35:1001–1010. (L8)
122. Le Guéhennec L, Soueidan A, Layrolle P, et al. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dent Mater* 2007; 23:844–854. (M1)
123. Nikolidakis D, van den Dolder J, Wolke JG, et al. Effect of platelet-rich plasma on the early bone formation around Ca-P-coated and non-coated oral implants in cortical bone. *Clin Oral Implants Res* 2008; 19:207–213. (M3)
124. Anitua EA. Enhancement of osseointegration by generating a dynamic implant surface. *J Oral Implantol* 2006; 32:72–76. (M4)
125. Fuerst G, Gruber R, Tangl S, et al. Enhanced bone-to-implant contact by platelet-released growth factors in mandibular cortical bone: a histomorphometric study in minipigs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003; 18:685–690. (M5)
126. Peter B, Pioletti DP, Laïb S, et al. Calcium phosphate drug delivery system: influence of local zoledronate release on bone implant osteointegration. *Bone* 2005; 36:52–60. (M7)
127. Meraw SJ, Reeve CM, Wollan PC. Use of alendronate in peri-implant defect regeneration. *J Periodontol* 1999;70:151–158. (M8)
128. Meirelles L, Melin L, Peltola T, et al. Effect of hydroxyapatite and titania nanostructures on early in vivo bone response. *Clin Implant Dent Relat Res* 2008; 10:245–254. (M9)
129. Gao Y, Liu Y, Zhou L, et al. The effects of different wave length UV photofunctionalization on micro-arc oxidized titanium. *PLoS ONE* 2013; 3, 7. (N1) (Tar 37)
130. Altmann B, Kohal RJ, Steinberg T, et al. Distinct cell functions of osteoblasts on uv-functionalized titanium- and zirconia-based implant materials are modulated by

- surface topography. *Tissue Engineering-Part C: Methods* 2013; 19: 850–863. (N2)
(Tar 38)
131. Funato A, Yamada M, Ogawa T. Success rate, healing time, and implant stability of photofunctionalized dental implants. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2013; 28:1261–1271. (N3)
132. Funato A, Ogawa T. Photofunctionalized dental implants: a case series in compromised bone. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2013; 28: 1589–1601. (N4)
133. WEB_1 (2016), Photofunctionalization's web site. <https://www.photofunctionimplant.org/principles/>. (22.10.2017). (N5)
134. Peng S. Tooth Whitening With Hydrogen Peroxide Assisted by a Direct-Current Cold Atmospheric-Pressure Air Plasma Microjet. *Plasma Science, IEEE Transactions* 2010; 38(8):1892-1896. (O1)
135. Sladek REJ. Plasma treatment of dental cavities: a feasibility study. *Plasma Science, IEEE Transactions* 2004; 32(4): 1540-1543. (O2)
136. Fauchais P, Vardelle A. Heat, mass and momentum transfer in coating formation by plasma spraying. *Int J Therm Sci* 2000; 39: 852–870. (O3)
137. Zhao G, Schwartz Z, Wieland M, et al. High surface energy enhances cell response to Ti substrate microstructure. *Journal of Biomedical Materials Research, Part A* 2005; 74: 49–58. (O4)
138. Schwarz F, Sager M, Ferrari D, et al. Bone regeneration in dehiscence-type defects at non-submerged and submerged chemically modified (SLActive) and conventional SLA titanium implants: an immunohistochemical study in dogs. *Journal of Clinical Periodontology* 2007; 35: 64–75. (O5)
139. Shon WJ. Peri-implant bone formation of non-thermal atmospheric pressure plasma-treated zirconia implants with different surface roughness in rabbit tibiae. *Clin Oral Implants Res* 2013; 1-7. (O6)
140. Giro G, Tovar N, Witek L, et al. Osseointegration assessment of chairside argon-based nonthermal plasma-treated Ca-P coated dental implants. *J Biomed Mater Res Part A* 2013; 101A: 98–103. (O7)
141. Coelho PG. Argon-based atmospheric pressure plasma enhances early bone response to rough titanium surface. *J Biomed Mater Res A* 2012; 100(7): 1901-6. (O8)
142. Valverde GB. Surface characterisation and bonding of Y-TZP following non-thermal plasma treatment. *J Dent* 2013;V41(1): 51-9. (O9)
143. Broggini N, Tosatti S, Buser D. Evaluation of chemically modified SLA implants (modSLA) biofunctionalized with integrin (RGD) and heparin (KRSR)-binding peptides. *J Biomed Mater Res Part A* 2012; 100A: 703–711. (R1)
144. Ruoslahti E, Yamaguchi Y. Proteoglycans as modulators of growth factor activities. *Cell* 1991; 64(5): 867–9. (R2)
145. Schonherr E, Hausser HJ. Extracellular matrix and cytokines: a functional unit. *Dev Immunol* 2000; 7(2–4): 89–101. (R3)
146. Taylor KR, Gallo RL. 2006. Glycosaminoglycans and their proteoglycans: host-associated molecular patterns for initiation and modulation of inflammation. *Faseb J*

- 2006; 20(1): 9–22. (R4)
147. Rickert D, Sauerbier S, Nagursky H, et al. Maxillary sinus floor elevation with bovine bone mineral combined with either autogenous bone or autogenous stem cells: a prospective randomized clinical trial. *Clin Oral Implants Res* 2011; 22: 251–8. (R5)
148. Choi HJ, Kim JM, Kwon E, et al. Establishment of efficacy and safety assessment of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells (hATMSCs) in a nude rat femoral segmental defect model. *J Korean Med Sci* 2011; 26: 482–91. (R6)
149. Levi B, Longaker MT. Concise review: adipose-derived stromal cells for skeletal regenerative Medicine. *Stem Cells* 2011; 29: 576–82. (R7)
150. Scherberich A, Muller AM, Schafer DJ, et al. Adipose tissue-derived progenitors for engineering osteogenic and vasculogenic grafts. *J Cell Physiol* 2010; 225: 348–53. (R8)
151. Gastaldi G, Asti A, Scaffino MF, et al. Human adipose-derived stem cells (hASCs) proliferate and differentiate in osteoblast-like cells on trabecular titanium scaffolds. *J Biomed Mater Res A* 2010; 94: 790–9. (R9)
152. Tatrai P. A novel cyclic RGD-containing peptide polymer improves serum-free adhesion of adipose tissue derived mesenchymal stem cells to bone implant surfaces. *J Mater Sci: Mater Med* 2013; 24: 479–488. (R10)
153. Germanier Y, Tosatti S, Brogгинi N, et al. Enhanced bone apposition around biofunctionalized sandblasted and acid-etched titanium implant surfaces. A histomorphometric study in miniature pigs. *Clin Oral Implants Res* 2006; 17: 251–7. (R12)
154. Schuler M, Gethin Rh, Owen GR, et al. Biomimetic modification of titanium dental implant model surfaces using the RGDSP-peptide sequence: A cell morphology study. *Biomaterials* 2006; 27: 4003–4015. (R13)
155. Mas-Moruno C, Dorfner PM, Manzenrieder F, et al. Behavior of primary human osteoblasts on trimmed and sandblasted Ti6Al4V surfaces functionalized with integrin avb3-selective cyclic RGD peptides. *J Biomed Mater Res Part A* 2012; 1-11. (R14)
156. Chen WC, Ko CL. Roughened titanium surfaces with silane and further RGD peptide modification in vitro. *Materials Science and Engineering C* 2013; 33: 2713–2722. (R15)
157. Ferris DM, Moodie GD, Dimond PM, et al. RGD-coated titanium implants stimulate increased bone formation in vivo. *Biomaterials* 1999; 20: 2323-2331. (R16)
158. Rammelt S, Illert T, Bierbaum S, et al. Coating of titanium implants with collagen, RGD peptide and chondroitin sulfate. *Biomaterials* 2006; 27: 5561–5571. (R17)
159. Marks SC, Hermey DC. The structure and development of bone. In: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA, editors. *Principles of bone biology*. San Diego: Academic Press 1996; 3–24. (VEGF1)
160. Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, et al. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature* 1996; 380(6573): 435–439. (VEGF 4)
161. Shum L, Rabie AB, Haegg U. Vascular endothelial growth factor expression and bone formation in posterior glenoid fossa during stepwise mandibular advancement.

- Am J Orthod Dentofacial Orthop 2004; 125(2): 185–190. (VEGF 48)
162. Rabie AB, Leung FY, Chayanupatkul A et al. The correlation between neovascularization and bone formation in the condyle during forward mandibular positioning. *Angle Orthod* 2002; 72(5): 431–443. (VEGF 35)
 163. Rabie AB, Shum L, Chayanupatkul A. VEGF and bone formation in the glenoid fossa during forward mandibular positioning. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2002; 122(2): 202–209. (VEGF 36)
 164. Emad B, Sherif EM, Basma GM et al. Vascular endothelial growth factor augments the healing of demineralized bone matrix grafts. *Int J Surg* 2006; 4(3): 160–166. (VEGF 8)
 165. Razzaque MS. Osteocalcin: a pivotal mediator or an innocent bystander in energy metabolism. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2011; 26: 42–45.
 166. Hauschka PV, Lian JB, Cole DE, et al. Osteocalcin and matrix Gla protein: vitamin K-dependent proteins in bone. *Physiological Reviews* 1989; 69: 990–1047, 1989.
 167. Villafan-Bernal JR, et al. Molecular modulation of osteocalcin and its relevance in diabetes. *International Journal of Molecular Medicine* 2011; 28: 283–293.
 168. Booth SL, Rajabi AA. Determinants of vitamin K status in humans. *Vitamins and Hormones* 2008; 78:1–22.
 169. Mundy GR, Poser JW. Chemotactic activity of the γ -carboxyglutamic acid containing protein in bone. *Calcified Tissue International* 1983; 35: 164–168.
 170. Glowacki J, Lian JB. Impaired recruitment and differentiation of osteoclast progenitors by osteocalcin-deplete bone implants. *Cell Differentiation* 1987; 21: 247–254, 1987.
 171. Ernst S, Stubinger S, Schupbach P, et al. Comparison of two dental implant surface modifications on implants with same macrodesign: an experimental study in the pelvic sheep model. *Clin. Oral Impl. Res* 2014; 1: 1–11.
 172. Stubinger S, Mosch I, Robotti P, et al. Histological and biomechanical analysis of porous additive manufactured implants made by direct metal laser sintering: A pilot study in sheep. *J Biomed Mater Res Part B* 2013; 1; 1-7.
 173. Anawati , Tanigawa H, Asoh H, Ohno T, Kubota M, Ono S. Electro-chemical corrosion and bioactivity of titanium-hydroxyapatite composites prepared by spark plasma sintering. *Corros Sci* 2013;70:212–220.
 174. Elias CN. Factors Affecting the Success of Dental Implants, *Implant Dentistry - A Rapidly Evolving Practice*, Prof. Ilser Turkyilmaz (Ed.), ISBN: 2011; 978-953-307-658-4. (Tar 15)
 175. Gottlander M. On hard tissue reactions to hydroxyapatite-coated titanium implants, PhD thesis. Sweden: Department of Biomaterials, University of Göteborg, 1994.
 176. Jeffcoat M, McGlumphy E, Reddy M, et al. A comparison of hydroxyapatite (HA)-coated threaded, HA-coated cylindrical and titanium threaded endosseous dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003; 18: 406–410. Tar 4
 177. Johansson CB, Hansson HA, Albrektsson T. Qualitative interfacial study between bone and tantalum, niobium or commercially pure titanium. *Biomaterials* 1990; 11: 277–280. Tar 5
 178. M. Esposito, Y. Ardebili, and H. V. Worthington, “Interventions for replacing missing

- teeth: different types of dental implants,” *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, vol. 7, Article ID CD003815, 2014. Tar 7
179. Gómez-de Diego R, Mang-de la Rosa MDR, Romero- Pérez MJ, et al. Indications and contraindications of dental implants in medically compromised patients: update. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal* 2014; 19, e483– e489. TAR 11
 180. Smeets R, Stadlinger B, Schwarz F, et al. Impact of Dental Implant Surface Modifications on Osseointegration. *BioMed Research International* 2016. Tar 12
 181. Buser D, Janner SFM, Wittneben G, et al. 10-Year survival and success rates of 511 titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: a retrospective study in 303 partially edentulous patients. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* 2012; 14:839–851. (Tar 20)
 182. Abraham CM. A brief historical perspective on dental implants, their surface coatings and treatments. *The Open Dentistry Journal* 2014; 8: 50–55. (Tar 21)
 183. Fischer K, Stenberg T. Prospective 10-year cohort study based on a randomized controlled trial (RCT) on implant- supported full-arch maxillary prostheses. Part 1: sandblasted and acid-etched implants and mucosal tissue. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* 2012; 14: 808–815. (Tar 23)
 184. Cochran DL, Jackson JM, Bernard JP, et al. A 5-year prospective multicenter study of early loaded titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2011; 26: 1324– 1332. Tar 24
 185. Rupp F, Scheideler L, Rehbein D, et al. Roughness induced dynamic changes of wettability of acid etched titanium implant modifications. *Biomaterials* 2004; 25: 1429–1438. Tar 25
 186. Degidi M, Piattelli A, Gehrke P, et al. Clinical outcome of 802 immediately loaded 2-stage submerged implants with a new grit-blasted and acid-etched surface: 12-month follow-up. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2006; 21: 763–768. Tar 26
 187. Mendonca G, Mendonca DBS, Aragao FJL, et al. Advancing dental implant surface technology from micron to nanotopography. *Biomaterials* 2008; 29: 3822–3835. Tar 27
 188. Coelho PG, Jimbo R, Tovar N, et al. Osseointegration: hierarchical designing encompassing the micrometer, micrometer, and nanometer length scales. *Dental Materials* 2015; 31: 37–52. Tar 28
 189. Webster TJ, Ejiófor JU. Increased osteoblast adhesion on nanophase metals: Ti, Ti6Al4V, and CoCrMo. *Biomaterials* 2004; 25: 4731–4739. Tar 29
 190. Ostman PO, Hupalo M, delCastillo R, et al. Immediate provisionalization of nanotite implants in support of single- tooth and unilateral restorations: one-year interim report of a prospective, multicenter study. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* 2010; 12: 47–55. Tar 30
 191. Ostman PO, Wennerberg A, Ekstubbé A, et al. Immediate occlusal loading of NanoTite tapered implants: a prospective 1-year clinical and radiographic study. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* 2013; 15: 809–818. Tar 31
 192. Nevins M, Kim DM, Jun SH, et al. Histologic evidence of a connective tissue

- attachment to laser microgrooved abutments: a canine study. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry* 2010; 30: 245–255. Tar 32
193. Pecora GE, Ceccarelli R, Bonelli M, et al. Clinical evaluation of laser microtexturing for soft tissue and bone attachment to dental implants. *Implant Dentistry* 2009; 18: 57–66. Tar 33
194. Sul YT, Byon E, Wennerberg A. Surface characteristics of electrochemically oxidized implants and acid-etched implants: surface chemistry, morphology, pore configurations, oxide thickness, crystal structure, and roughness. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2008; 23: 631–640. Tar 34
195. Guida L, Oliva A, Basile MA, et al. Human gingival fibroblast functions are stimulated by oxidized nanostructured titanium surfaces. *Journal of Dentistry* 2013; 41: 900–907. Tar 35
196. Park KH, Koak JY, Kim SK, et al. The effect of ultraviolet-C irradiation via a bactericidal ultraviolet sterilizer on an anodized titanium implant: a study in rabbits. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2013; 28: 57–66. Tar 39
197. Minamikawa H, Ikeda T, Att W, et al. Photofunctionalization increases the bioactivity and osteoconductivity of the titanium alloy Ti6Al4V. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 2014; 102: 3618–3630. Tar 40
198. Hori N, Ueno T, Suzuki T, et al. Ultraviolet light treatment for the restoration of age-related degradation of titanium bioactivity. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2010; 25: 49–62. Tar 41
199. Aita H, Hori N, Takeuchi M, et al. The effect of ultraviolet functionalization of titanium on integration with bone. *Biomaterials* 2009; 30:1015–1025. Tar 42
200. Shen J, Liu J, Chen X, et al. The In Vivo Bone Response of Ultraviolet-Irradiated Titanium Implants Modified with Spontaneously Formed Nanostructures: An Experimental Study in Rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2016; 31: 776-784. Tar 43
201. Ferguson SJ, Broggini N, Wieland M, et al. Biomechanical evaluation of the interfacial strength of a chemically modified sandblasted and acid-etched titanium surface. *Journal of Biomedical Materials Research A* 2006; 78: 291–297. Tar 44
202. Schwarz F, Herten M, Sager M, et al. Histological and immunohistochemical analysis of initial and early osseous integration at chemically modified and conventional SLA titanium implants: preliminary results of a pilot study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* 2007; 18: 481–488. Tar 45
203. Lang NP, Bosshardt DD, Salvi GE, et al. Early osseointegration to hydrophilic and hydrophobic implant surfaces in humans. *Clinical Oral Implants Research* 2011; 22. Tar 46
204. Bosshardt DD, Salvi GE, Huynh-Ba G, et al. The role of bone debris in early healing adjacent to hydrophilic and hydrophobic implant surfaces in man. *Clin Oral Impl Res* 2011; 22: 357–364. Tar 47
205. Alayan J, Vaquette C, Saifzadeh S, et al. Comparison of early osseointegration of SLA" and SLActive" implants in maxillary sinus augmentation: a pilot study. *Clin Oral Impl Res* 2016; 00:1–9. Tar 48

206. Abdel-Haq J, Karabuda CZ, Arisan V, et al. Osseointegration and stability of a modified sand- blasted acid-etched implant: an experimental pilot study in sheep. *Clin. Oral Impl. Res* 2011; 22: 265–274. Tar 49
207. Choi AH, Ben-Nissan B, Matinlinna JP, et al. Current perspectives: calcium phosphate nanocoatings and nanocomposite coatings in dentistry. *Journal of Dental Research* 2013; 92: 853–859. Tar 50
208. Eom TG, Jeon GR, Jeong CM, et al. Experimental study of bone response to hydroxyapatite coating implants: bone-implant contact and removal torque test . *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2012; 114: 411-418. Tar 51
209. Wang CY, Zhao BH, Ai HJ, et al. Comparison of biological characteristics of mesenchymal stem cells grown on two different titanium implant surfaces. *Wang. Biomed. Mater* 2008; 3. Tar 52
210. Carreira AC, Lojudice FH, Halcsik E, et al. Bone morphogenetic proteins: facts, challenges, and future perspectives. *Journal of Dental Research* 2014; 93: 335–345. Tar 53
211. Jiang QH, Liu L, Peel S, et al. Bone response to the multilayer BMP-2 gene coated porous titanium implant surface. *Clin Oral Implants Res* 2013; 24(8): 853-61. tar 54
212. Kim SE, Kim CS, Yun YP, et al. Improving osteoblast functions and bone formation upon BMP-2 immobilization on titanium modified with heparin. *Carbohydr Polym* 2014; 19: 123-32. Tar 55
213. Albrektsson T, Sennerby L, Wennerberg A. State of the art of oral implants *Periodontology* 2000, 2008; 47: 15–26. Tar 2
214. Schliephake H, Scharnweber D, Dard M, et al. Effect of RGD peptide coating of titanium implants on periimplant bone formation in the alveolar crest *Clin Oral Impl Res* 2002; 13: 312–319. Tar 56
215. Sul YT, Johansson CB, Jeong Y, et al. Resonance frequency and removal torque analysis of implants with turned and anodized surface oxides. *Clin Oral Implants Res* 2002; 13: 252–259.
216. Park JY, Davies JE. Red blood cell and platelet interactions with titanium implant surfaces. *Clin Oral Implants Res* 2000; 11:530–539.
217. Dimakis RA, Thoneick M, Jansen JA. Effectsof implant surface coatings and composition on bone integration: a systematic review. *Clinical Oral Implants Research* 2009; 20:185–206. TAR 6
218. Balshi SF, Allen FD, Wolfinger GJ, Balshi TJ. A resonance frequency analysis assessment of maxillary and mandibular immediately loaded implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005; 20: 584–594.
219. Barewal RM, Oates TW, Meredith N, Cochran DL. Resonance frequency measurement of implant stability in vivo on implants with a sandblasted and acid-etched surface. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003;18: 641–651.
220. Ramp LC, Jeffcoal RL. Dynamic Behavior of Implants as a Measure of Osseointegration. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2001; 16: 637-645.

ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Zonguldak'ta dünyaya geldim. İlköğretim ve lise hayatımı Zonguldak'ta tamamladım. 2004 yılında Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde başladığım lisans eğitimimi 2010 yılında tamamladım. Mezun olduktan sonra kısa süreliğine özel bir hastanede diş hekimi olarak çalıştım. Daha sonra bir yıl kadar Bezmialem Vakıf Üniversitesi'nde görev aldım. 2011 yılı Kasım ayından itibaren atandığım İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde 6 yıldır görev yapmaktayım. 2012 yılı Eylül ayından itibaren de Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi AD'da doktora eğitimi almaktayım. İyi derecede İngilizce bilmekteyim. 2012 yılında evlendim. Karşıyaka / İzmir'de ikamet etmekteyim.

İletişim bilgilerim;

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi AD

Aydınlıkevler Mahallesi

Cemil Meriç Bulvarı, No: 48

Çiğli/ İzmir

Mail: kelebek_67n@hotmail.com