

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**CERRAHİ OLARAK OLUŞTURULAN KEMİK DEFEKTLERİNDE SIĞIR
KAYNAKLI ANORGANİK KEMİK GREFTİ VE KANAMA DURDURUCU
BİTKİ EKSTRESİNİN KOMBİNE KULLANIMININ KEMİK
REJENERASYONUNA ETKİSİ**

Dt. Mert SANRI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMANI
Prof. Dr. Mehmet KÜRKCÜ

ADANA- 2013

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**CERRAHİ OLARAK OLUŞTURULAN KEMİK DEFEKTLERİNDE SIĞIR
KAYNAKLI ANORGANİK KEMİK GREFTİ VE KANAMA DURDURUCU
BİTKİ EKSTRESİNİN KOMBİNE KULLANIMININ KEMİK
REJENERASYONUNA ETKİSİ**

Dt. Mert SANRI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMANI

Prof. Dr. Mehmet KÜRKCÜ

Bu proje, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi tarafından
DHF2011D2 No' lu proje olarak desteklenmiştir.

Tez No:.....

ADANA- 2013

KABUL VE ONAY

Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş olan “**Cerrahi Olarak Oluşturulan Kemik Defektlerinde Sığır Kaynaklı Anorganik Kemik Grefti Ve Kanama Durdurucu Bitki Ekstresinin Kombine Kullanımının Kemik Rejenerasyonuna Etkisi**” adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 19/04/2013

TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof. Dr. Mehmet KÜRKCÜ
Çukurova Üniversitesi
Başkan

Prof. Dr. Derviş YILMAZ
Gazi Üniversitesi
Üye

Prof. Dr. M. Cenk HAYTAÇ
Çukurova Üniversitesi
Üye

Doç. Dr. Haluk ÖZTUNÇ
Çukurova Üniversitesi
Üye

Yrd. Doç. Dr. M. Emre BENLİDAYI
Çukurova Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Tez, Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Şeref ERDOĞAN
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tezimin başlangıcından bitim aşamasına kadar beni destekleyen, değerli bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mehmet KÜRKCÜ başta olmak üzere,

Doktora eğitimim süresince değerli bilgilerini benden hiçbir zaman esirgemeyen ve üzerimde önemli emeği bulunan sayın hocalarım Prof. Dr. Emin ESEN' e ve Doç. Dr. Yakup ÜSTÜN' e,

Eğitimimde katkıları olan, kendilerinden çok şey öğrendiğim Doç. Dr. Özgür ERDOĞAN' a, Yrd. Doç. Dr. M. Emre BENİDAYI' ya ve Öğr. Gör. Dr. Ufuk TATLI' ya,

Lisans ve lisansüstü eğitimim sırasında büyük bir yol gösterici olarak gördüğüm Prof. Dr. M. Cenk HAYTAÇ' a,

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde önemli katkıları olan başta Vet. Hek. Dr. Kenan DAĞLIOĞLU olmak üzere tüm TIBDAM personeline,

Tezimin istatistiksel değerlendirmesini yapan Dr. Yaşar SERTDEMİR' e,
Laboratuvar aşamasındaki önemli katkılarından dolayı Hatice ULUSOY' a,
Başta Selda EKER olmak üzere bölümümüzün tüm hemşirelerine,

Bu çalışmanın başından sonuna kadar tüm aşamalarındaki yardımlarından dolayı değerli asistan arkadaşım Dt. Uygur BAKŞI' ye ve ihtiyacım olduğunda desteklerini esirgemeyen arkadaşlarım Dr. Burcu EVLİCE, Dr. Şule Nur KURT, Dt. Onur Evren KAHRAMAN, Dt. Halide NAMLI, Dt. M. Fatih KUYUMCU, Dt. H. İbrahim KISA, Dt. Onur KEÇELİ, Dt. Erkan ARSLAN ve Dt. Mehmet ÇALIŞKAN' a,

Manevi desteğini her zaman hissettiren, çalışmamın sonuçlanmasında önemli bir motivasyon kaynağı olan sevgili arkadaşım Dt. İffet YAZICIOĞLU' na,

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

Sevgi, saygı ve tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kemiğin Yapısı	3
2.2. Kemik İyileşmesi	4
2.2.1. İnflamatuar Safha	5
2.2.2. Proliferatif Safha	5
2.2.3. Maturasyon Safhası	5
2.3. Kemik Greftleri	6
2.3.1. Otojen Greftler	6
2.3.1.1. Ağız İçi Otojen Greft Kaynakları	6
2.3.1.2. Ağız Dışı Otojen Greft Kaynakları	7
2.3.2. Allogreftler	8
2.3.3. Ksenogreftler	9
2.3.4. Alloplastlar	10
2.3.4.1. Seramikler	10
2.3.4.1.1. Sentetik Hidroksiapatit	10
2.3.4.1.2. Trikalsiyum Fosfat	10
2.3.4.1.3. Bioaktif Cam	11
2.3.4.2. Kalsiyum Karbonat	11
2.3.4.3. Kompozit Kopolimerler	11
2.3.4.4. Kalsiyum Sülfat	12
2.4. Kemik Greftinin İyileşme Mekanizması	13
2.4.1. Serbest Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi	15

2.4.1.1. Kansellöz Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi	15
2.4.1.2. Kortikal Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi	16
2.4.2. Vasküler Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi	16
2.4.3. Allogreftlerin ve Alloplastik Kemik Greftlerinin İyileşmesi	16
2.5. Ksenogreftlerin Çene-Yüz Cerrahisinde Kullanımı	17
2.6. Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonunda Kullanılan Bariyerler	18
2.6.1. Rezorbe Olmayan Rejeneratif Bariyerler	19
2.6.1.1. Genişletilmiş Politetrafloroetilen	19
2.6.1.2. Nanopolitetrafloroetilen	20
2.6.1.3. Titanyumla Güçlendirilmiş PTFE	20
2.6.2. Rezorbe Olan Rejeneratif Bariyerler	20
2.6.2.1. Doğal Rejeneratif Bariyerler	20
2.6.2.2. Sentetik Rejeneratif Bariyerler	21
2.7. Bitkisel Kaynaklı Hemostatik Ajanın İçeriği	21
2.7.1. Etki Mekanizması	22
2.7.2. Cerrahi Girişimlerde Kullanımı	22
2.7.3. ABS' nin Diş Hekimliğinde Kullanımı	23
2.7.4. ABS' nin Diğer Etkileri	24
2.7.5. ABS' nin Kemik İyileşmesiyle İlişkisi	26
2.8. Cerrahi Olarak Oluşturulan Kemik Defektleri	26
2.9. Kemik Defektlerinin İyileşmesinde Kullanılan Kontrollü Salınım Yöntemleri	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM	33
3.1. ABS Yüklenmiş Jelatin Mikrokürelerin Hazırlanması	33
3.2. Cerrahi Yöntem	33
3.3. Histolojik Değerlendirme Ve Histomorfometri İçin Kesitlerin Hazırlanması	38
3.4. Verilerin İstatistiksel Analizi	43
4. BULGULAR	45
4.1. Histomorfometrik Analiz	47
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	61
KAYNAKLAR	62
ÖZGEÇMİŞ	72

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1:	Operasyon sahasının hazırlanması.	34
Şekil 3.2:	Tam kalınlık flep ve subkutan dokuların diseksiyonu sonucu mandibuler bazisin açığa çıkarılması.	34
Şekil 3.3:	Sığır kaynaklı anorganik kemik grefti ve kanama durdurucu bitki ekstresinin godede karıştırılması.	35
Şekil 3.4:	Steril koşullarda hazırlanmış ABS yüklü mikroküreciklerin görüntüsü.	36
Şekil 3.5:	Tam kalınlık flep kaldırıldıktan sonra mandibulanın lateralinde operasyon sahasının hazırlanması (A). 10 mm çaplı trefan frez ile eş boyutlu defektlerin oluşturulması (B). Solda ABS yüklenmiş mikroküre ve ksenogreft karışımıyla, ortada ABS solüsyonu ve ksenogreft karışımıyla doldurulan ve sağda boş bırakılan defektler (C). Tüm defektlerin üzerlerinin kollajen membranla örtülmesi (D).	37
Şekil 3.6:	Vakumlu dehidratasyon ve infiltrasyon ünitesi.	39
Şekil 3.7:	Vakumlu infiltrasyon ünitesi (A), Işıklı polimerizasyon ünitesi (B).	39
Şekil 3.8:	Pleksiglas yapıştırma ünitesi.	40
Şekil 3.9:	Exakt 300 CP Hassas Kesme Sistemi.	41
Şekil 3.10:	Exakt 400 CS Mikroaşındırma Sistemi.	42
Şekil 3.11:	Histomorfometrik analiz istasyonu.	43
Şekil 4.1:	10 haftalık iyileşme sonunda kontrol grubunu gösteren bir kesit. Toluidin mavisi, 4x.	45
Şekil 4.2:	10 haftalık iyileşme sonunda geleneksel grubu gösteren bir kesit. G: rezidüel greft, YK: yeni oluşan kemik. Toluidin mavisi, 10x.	46
Şekil 4.3:	10 haftalık iyileşme sonunda mikroküre grubunu gösteren bir kesit. G: rezidüel greft, YK: yeni oluşan kemik. Toluidin mavisi, 10x.	47
Şekil 4.4:	Total sert doku yüzdesi; kontrol grubu ile diğer iki grup arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$).	48
Şekil 4.5:	Defekt içinde rezorbe olmadan kalan (rezidüel) greft yüzdesi; geleneksel ve mikroküre grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,730$).	49
Şekil 4.6:	Yeni oluşan kemik yüzdesi; kontrol grubu ile geleneksel grup arasındaki ($p=0,047$) ve kontrol grubu ile mikroküre grubu arasındaki ($p=0,001$) farklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu.	50

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1: 2 ml. ampul formundaki Ankaferd BloodStopper® içeriği. * kurutulmuş kök ekstresi, † kurutulmuş yaprak ekstresi, § kurutulmuş ot ekstresi.	22
Çizelge 4.1: Tüm gruplardaki rezidüel greft, yeni olu Őan kemik ve total sert doku yüzdeleri.	50

KISALTMALAR DİZİNİ

ABB	: Anorganik sığır kaynaklı greft
ABS	: Ankaferd BloodStopper
β -TCP	: Beta trikalsiyum Fosfat
bFGF	: Temel fibroblast büyüme faktörü
BMP	: Kemik Morfojenik Protein
Caco-2	: İnsan kolon adenokarsinoma
cc	: Santimetre küp
cm	: Santimetre
DBM	: Demineralize Kemik Matriksi
DFDB	: Demineralize dondurulmuş - kurutulmuş kemik
DFDBA	: Demineralize dondurulmuş - kurutulmuş kemik allogrefti
DHEA-S	: Dehidroepiandrosteron-sülfat
EGF	: Epitelyal büyüme faktörü
ePTFE	: Genişletilmiş politetrafloroetilen
FB	: Dondurulmuş kemik
FDA	: U.S. Food and Drug Administration / Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FDB	: Dondurulmuş - kurutulmuş kemik
HA	: Hidroksiapatit
HIV	: Human Immunodeficiency Virus / İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü
im	: İntramuskuler
iv	: İntravenöz
LPS	: Lipopolisakkarid
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
μ m	: Mikrometre
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
MRSA	: Metisiline dirençli Stafilococcus aureus
MSC	: Mezenşimal kök hücre
nm	: Nanometre

NO	: Nitrik oksit
PDGF	: Platelet derive büyüme faktörü
PGA	: Poliglikolik asit
pH	: Hidrojen konsantrasyonunun eksi logaritması
PHBV	: Poli(3-hidroksibütirat-ko-3-hidroksivalerat
PHEMA	: Polihidroksietil metakrilat
PLA	: Polilaktik asit
PLGA	: Poli(laktik-ko-glikolik asit)
PMMA	: Polimetil metakrilat
PRP	: Trombositten zengin plazma
PTFE	: Politetrafloroetilen
PTH	: Paratiroid hormon
rhBMP-2	: Rekombinant insan kemik morfojenik protein-2
Saos-2	: İnsan osteosarkoma
sn	: Saniye
T.C.	: Türkiye Cumhuriyeti
TCP	: Trikalsiyum Fosfat
TGF	: Değişiklik yapan büyüme faktörü
TIBDAM	: Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi
W	: Watt
w/v	: Ağırlık/hacim
YKR	: Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu

ÖZET

Cerrahi Olarak Oluşturulan Kemik Defektlerinde Sığır Kaynaklı Anorganik Kemik Grefti ve Hemostatik Bitki Ekstresinin Kombine Kullanımının Kemik Rejenerasyonuna Etkisi

Diş kayıplarına bağlı oluşan dişsiz alveoler kretlerin protetik rehabilitasyonu diş hekimliğinde sıklıkla uygulanan bir işlemdir. Konvansiyonel veya implant destekli bir protezin yerleşeceği yeterli bir alveoler kret bulunmadığı durumlarda, diş çekim işlemleri, periapikal cerrahi işlemler, kist operasyonları ve kemik fraktürü tedavileri sonrası greftleme işlemleri uygulanabilmektedir. Tüm bu uygulamalar mevcut kemik miktarında artış hedeflemektedir. Çeşitli deneysel ve klinik çalışmalar kemik greftleri, bariyer membranlar ve kemik fizyolojisi üzerinde yoğunlaşmış ve kemik rejenerasyonunu hızlandırmayı amaçlamışlardır.

Bu çalışmanın amacı, yumuşak doku ve erken dönem kemik doku iyileşmesine olumlu etkileri bildirilen kanama durdurucu bitki ekstresinin (Ankaferd BloodStopper[®], Ankaferd İlaç Kozmetik A.Ş., İstanbul ,Türkiye) (ABS) ve sığır kaynaklı anorganik kemik greftinin (Integros Boneplus-xs[®], Integros Sağlık Ürünleri Ar-Ge İmalat, İthalat, İhracat, San. ve Tic. Ltd. Şti., Adana, Türkiye) (ABB) birlikte kullanımının cerrahi olarak oluşturulan defektlerde kemik iyileşmesi üzerine etkisinin incelenmesidir.

Deneysel çalışmamızda 9 adet evcil domuz kullanılmıştır. Ağız dışı girişimle her hayvanın mandibulasında 3 adet kemik defekti oluşturulmuştur. Defektler, 10 mm çapında ve 5 mm derinliğindedir. Birinci defektlerde, ABS solüsyonu (0,3 ml/defekt), taşıyıcı olarak ABB (0,3 cc/defekt) içerisinde ve ikinci defektlerde, ABS kontrollü ilaç salınımına yönelik mikroküreler içerisinde (0,3 ml/defekt) yine ABB (0,3 cc/defekt) ile kombine uygulanmıştır. Her hayvanda üçüncü defekt boş bırakılmıştır. Tüm defektler rezorbe olabilen kollajen membranla örtülmüştür. Tüm hayvanlar 10 haftalık iyileşme periyodu sonunda sakrifiye edilmiştir. Histomorfometrik analiz için dekalsifiye edilmemiş kesitler hazırlanmıştır. Veriler istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

Sonuç olarak, ABS ile ABB' nin her iki farklı şekilde kombine kullanımı, boş defekt grubuna kıyasla kemik rejenerasyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırmıştır. Ancak, mikroküre içerisine yerleştirilmiş ABS' nin ABB ile karışımı ve ABS solüsyonunun doğrudan ABB ile karışımı arasında yeni kemik oluşumu açısından anlamlı fark bulunamamıştır.

Anahtar Sözcükler: Hemostatik Bitki Ekstresi, Sığır Kaynaklı Anorganik Greft, Ksenogreft, Kemik İyileşmesi, Kontrollü Salınım, Histomorfometri

ABSTRACT

The Effect of Application of Combined Bovine Derived Anorganic Bone Graft and Haemostatic Plant Extract on Bone Regeneration in Surgically Created Bone Defects

Prosthetic rehabilitation of edentulous alveolar ridges caused by loss of teeth is a commonly used procedure in dental practice. In such circumstances when there is absence of convenient alveolar ridge to applicate a conventional or implant supported prosthesis, after tooth extractions, periapical surgery, cyst operations and bone fracture treatments; grafting procedures can be applied. All of these procedures aim an increase in existing bone volume. Various experimental and clinical trials concentrate on bone grafts, barrier membranes and bone physiology and aim to accelerate bone regeneration.

The aim of this study is to evaluate the effects of combined usage of haemostatic plant extract (Ankaferd BloodStopper[®], Ankaferd İlaç Kozmetik A.Ş., İstanbul ,Turkey) (ABS) which is known with positive effects on soft tissue healing and early stage bone healing, and bovine derived anorganic bone graft (Integros Boneplus-xs[®], Integros Sağlık Ürünleri Ar-Ge İmalat, İthalat, İhracat, San. ve Tic. Ltd. Şti., Adana, Turkey) (ABB) on bone healing.

In our experimental study, nine domestic pigs are used. Three bone defects were created via extraoral approach on the mandibles of all pigs. The defects were 10 mm in diameter and 5 mm in depth. In the first defects, ABS solution (0,3 ml/defect) was applicated in transporting agent of ABB (0,3 cc/defect) and in the second defects, ABS (0,3 ml/defect) is applicated in microcapsules for controlled drug release combined with ABB (0,3 cc/defect) again. The third defects in each animal were left empty. All defects were covered with resorbable collagen membranes. All animals were sacrificed at the end of a 10-week healing period. Undecalcified sections were prepared for histomorphometric analysis. The data were analyzed statistically.

In conclusion, the combined usage of ABS and ABB in both different ways, increased bone regeneration statistically compared to the empty defect group. However, there was no significant difference between the mixture of ABS, which is encapsuled in microspheres, with ABB and the mixture of ABS solution added directly to ABB in terms of new bone regeneration.

Keywords: Haemostatic Plant Extract, Bovine Derived Anorganic Bone Graft, Xenograft, Bone Healing, Controlled Release, Histomorphometry

1. GİRİŞ

Diş kayıplarına bağlı oluşan dişsiz alveoler kretlerin protetik rehabilitasyonu diş hekimliğinde sıklıkla uygulanan bir işlemdir. Konvansiyonel veya implant destekli bir protezin yerleşeceği bölgede yeterli bir alveoler kret bulunmadığı durumlarda uygun bir protetik rehabilitasyon planlamasında güçlükler yaşanmaktadır. Eksiksiz bir tedavi, uygun bir proteze ve bu da protezin üzerine oturacağı yeterli bir alveoler kemiğe bağlıdır. Bu nedenle alveoler yetersizlik durumlarında protetik işlemler öncesinde kemik augmentasyon prosedürlerinin planlanması yoluna gidilmiştir.

Bunun dışında; diş çekim işlemleri, periapikal cerrahi işlemler, periodontal hastalıklar, kist operasyonları ve travmaya bağlı kemik fraktürü tedavileri sırasında ve sonrasında yine kemik greftleme işlemleri uygulanabilmektedir. Tüm bu uygulamalar mevcut kemik miktarında artışı hedeflemektedir. Bu alanda başarı oranını arttırmak amacıyla yapılan çeşitli deneysel ve klinik çalışmalar kemik fizyolojisi, kemik greft tipleri, koruyucu bariyer membranlar ve kemik metabolizmasına etki eden büyüme faktörleri üzerinde yoğunlaşmış ve kemik rejenerasyonunu hızlandırmayı amaçlanmıştır.

Kemik içi defektlerin tedavisinde, kemik rejenerasyon hızını arttırabilmek için farklı cerrahi teknikler, yeni greft materyalleri, biyouyarıcı sistemler, sistemik olarak uygulanan vitamin, hormon ve mineral destekleri, elektriksel uyarıcılar ve büyüme faktörleri gibi anabolik ajanlara başvurulduğu bilinmektedir^{1,2}. Bu çalışmalarda defektin, çevresindeki kemikle aynı yoğunlukta ve sağlıklı yeni kemikle en kısa zamanda doldurulması amaçlanmıştır.

Greft materyalleri içinde altın standart olarak tabir edilen otojen kemik greftleri ilk seçenektir^{3,4}. Ancak otojen greftlerin donör alan morbiditesine yol açma, ikinci cerrahi sahaya ihtiyaç duyulması gibi dezavantajları mevcuttur^{5,6}. Bu dezavantajları nedeniyle kemik defektlerinin tedavisinde kemik oluşumunu stimüle eden bazı materyaller ve büyüme faktörleri önem kazanmaya başlamıştır.

Sığır kaynaklı hidroksiapatit (HA), osteokondüktif özelliği olan, güvenli ve biyouyumlu bir çeşit ksenogreft materyalidir⁷. Doğal yapısı sayesinde sentetik HA' ya nazaran daha geniş bir yüzey alanı sunar⁸. Bu greftin, rezorbe olabilen veya olmayan membranlar ile kullanıldığında daha iyi sonuçlar verdiği bilinir. Materyal yüksek

biyoyumluluğa sahip olup deneysel hayvan çalışmaları materyalin ideal bir yapı iskeletine sahip olduğunu göstermektedir⁹.

Kohal et al.¹⁰ ve Geurs et al.¹¹ demineralize dondurulmuş kurutulmuş allogreft ve ksenogreftlerin bariyer membran ile birlikte kullanıldığında daha yüksek yeni kemik oluşumu değerleri verdiğini rapor etmişlerdir. Bu görüşü destekleyen birçok çalışma mevcuttur. Buna dayanarak, çalışmamızda yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu amacıyla rezorbe olabilen kollajen membran kullanılması gerekli görülmüştür.

Çalışmamızda kullanılan kanama durdurucu bitki ekstresinin (Ankaferd Blood Stopper[®], Ankaferd İlaç Kozmetik A.Ş., İstanbul, Türkiye) (ABS) kanama durdurucu amaçla kullanımı T.C. Sağlık Bakanlığı onaylıdır ve birçok çalışma bu etkisini desteklemektedir. Ayrıca ABS'nin deneysel olarak sekonder yara iyileşmesini hızlandırdığını gösteren çalışma da mevcuttur¹². Bunun yanında ABS'nin erken dönem kemik dokusu iyileşmesi üzerine etkilerini değerlendiren sadece bir adet öncül deneysel bir çalışma mevcuttur¹².

Bu tez çalışması, bir sert doku greftleme materyali olan anorganik sığır kaynaklı greftin (ABB) ve esas olarak hemostaz sağlamak amacıyla kullanımı bilinen ABS'nin kombine kullanımının kemik rejenerasyonuna etkisini incelemeyi amaçlamıştır.

Araştırmamızda kullanılan deney hayvanlarının cerrahi öncesi hazırlık, cerrahi ve cerrahi sonrası beslenme ve bakım dönemleri Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi' nde (TIBDAM) gerçekleştirilmiştir. Kanama durdurucu bitki ekstresinin kontrollü yavaş salınım metodu için jelatin mikrokürelere yükleme işlemi Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü' nde, dekalsifiye edilmemiş histolojik örneklerin hazırlanması ve analiz işlemi Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Sert Doku Araştırma Laboratuvarı' nda yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemiğin Yapısı

Kemik dokusu, kalsiyum ve fosfat tuzlarıyla mineralize olmuş düzgün, aynı doğrultuda kollajen matriksten oluşan özelleşmiş bir bağ dokudur^{13,14}. Kemik dokusu organik ve inorganik kısımlardan oluşur. Organik kısımda primer olarak Tip I olmak üzere kollajen, proteoglikan, proteinler (osteopontin, osteokalsin, osteonektin, kemik sialoprotein), büyüme faktörleri ve sitokinler bulunur. İnorganik kısmı ise çoğu hidroksiapatit formunda olmak üzere kristal tuzları (Kalsiyum Hidroksiapatit, Kalsiyum Fosfat) içerir¹⁴.

Kemik doku 4 farklı türde hücreden oluşur; osteoblast, osteosit, osteoklast ve kemik örtü hücreleri. Osteoblastlar küp şekilli hücrelerdir ve protein yapımın histolojik belirteci olan iyi gelişmiş, pürüzlü endoplazmik retikuluma sahiptirler. Bu hücreler hem Tip I kollajeni hem de kemiğin organik matriksinin kollajen olmayan proteinlerini salgırlar. Ayrıca bu matriksin mineralizasyonunu da regüle ederler. Osteositler kemik matriks içine hapsolmuş olgun osteoblastlardır. Öncelikli görevleri kemiğin idamesini sağlamak olsa da kemik sentezi ve rezorbsiyonunda da rol oynadıkları bilinmektedir¹⁴. Kemik örtü hücreleri inaktif kemik yüzeylerini örten düz, iğ şeklinde hücrelerdir. Bu hücrelerin görevlerine ilişkin yeterli bilgi yoktur. Osteoblastların prekürsör hücreleri olabilecekleri düşünülmektedir. Osteoklastlar diğer kemik hücrelerinden farklı olarak hematopoetik dokulardaki tek çekirdekli prekürsör hücrelerin birleşmesi sonucu oluşur. Kemik rezorbsiyonundan sorumludurlar².

Kemiğin mimari yapısına bakıldığında en dış kısımda kortikal kemik veya kompakt kemik denilen kısmı görülür. Bu kısım mekanik destek sağlayan kısımdır ve lameller kemik formunda ince kollajen fibrillerden oluşmuştur. Kemiğin metabolik faaliyetlerinden sorumlu kısmı, merkezinde yer alan kansellöz, trabeküler ya da spongioz kemik denilen kısımdır. Bu kısımda düzgün sıralanmış fibriller bulunmaz, matriksi gevşek yapıdadır. Makroskopik olarak balpeteği veya kafes görüntüsündedir ve üzerinde hematopoetik elemanları bulundurur¹⁴.

Kortikal kemik tüm kemik kütleinin %80' ini oluşturur. Spongioz kemiğe göre en büyük farkı haversian sisteme (osteon) sahip olmasıdır. Haversian sistemde havers kanalı (Volkmann kanalı) adı verilen kanallar bulunur ve bu kanalların içinde vasküler

yapılar, sinirler ve lenf damarları bulunur. Havers kanalı etrafında osteoblastlar tarafından örülmüş elipsoid oryantasyona sahip ekstraselüler kemik matriksi - kemik lamelleri bulunur. Bu lameller mikroskopik olarak seçilebilen, bir osteonun bitip diğerinin başladığı sınır olan çimento çizgisi denilen yere kadar devam ederler. Lameller arasında lakünalar bulunur. Bu küçük lakünalar kanaliküliler vasıtasıyla birbirlerine veya havers kanalına açılabilir, ancak hiçbir kanalikül çimento çizgisini geçmez. Kortikal kemiğin spongioz kemiğe göre diğer özellikleri; daha sert ve rijit oluşu (yüksek Young modülü), torsiyon ve bükülmeye karşı daha dayanıklı oluşu, daha az kanlanması ve daha düşük kemik döngüsüne sahip olması olarak sayılabilir.

Spongioz kemikte ise süngerimsi bir görünüm hakimdir. Buna ek olarak yoğunluğu düşüktür, elastiktir ve daha düşük bir Young modulusuna sahiptir. Daha fazla kanlanması, daha hızlı kemik döngüsüne sahip olmasını sağlar ve bunlara bağlı olarak daha fazla yeniden şekillenme kabiliyeti bulunur¹⁵.

Normal kemikte, yapım ve yıkım mekanizmaları karşılıklı bir dengede devam eder. Kemikteki yıkımdan osteoklastlar, yapımdan osteoblastlar sorumludurlar. Bu iki mekanizma sürekli olarak devam eder ve yeniden şekillenme denilen döngüyü oluştururlar. Yeniden şekillenme olayında; travma veya cerrahi operasyon gibi nedenlerle iskemik ya da devital hale gelen kemikte ilk olarak vasküler akım artar. Damarlarda dolaşım halinde bulunan preosteoklastlar damar duvarından geçerek osteoklastlara farklılaşırlar ve kemik yıkımına başlarlar. Bu sırada perivasküler osteojenik hücreler (perisit) osteoblastları üretirler. Osteoblastlar da yeni oluşan rezorbsiyon kavitesini lameller kemik yapımıyla doldururlar¹. Bu dengenin bozulması kemik metabolizmasını etkileyecektir. Normal kabul edilen fizyolojik sınırdan fazla artmış osteoklastik aktivite osteoporoz gibi hastalıklara yol açabilirken, osteoblastik aktivitenin artışı kemik büyümesini, iyileşmeyi ve patolojik cevabı olumsuz etkileyecektir².

2.2. Kemik İyileşmesi

Kemik iyileşmesi orjinal iskeletsel yapı ve fonksiyonu oluşturmak için meydana gelen bir dizi kompleks süreçten oluşur. Kemik iyileşmesinde 3 önemli safha yer alır. Bunlar; inflamatuvar, proliferatif ve maturasyon safhalarıdır.

2.2.1. İnflamatuvar Safha

Bu safhada dokudaki debris uzaklaştırılır, vasküler destek sağlanır ve yeni iskeletsel matriks oluşturma amaçlanır. Burada doku yaralanmasında da karşılaşılan inflamatuvar elemanlar salınır. Bunlar adenozin difosfat, serotonin, prostoglandin ve tromboksan A₂' dir. Bu elemanlar platelet agregasyonunu sağlar ve hemostatik tıkaç oluşur¹⁶.

Akut iyileşmede hücrel inflamatuvar cevap gözlenir ve bunda da nötrofiller başrolde. Nötrofillerin bölgeye göçü yaralanmanın 3 veya 4. gününde en yüksek seviyededir. Esas görevleri fagositoz yapmak, debris ve hasarlı dokuyu yok etmektir.

5. günde makrofajlar baskın hale gelir ve reperatif süreç boyunca ortamda bulunmaya devam ederler. Bu hücreler dolaşımdaki monositlerden derive olurlar. Makrofajlar inflamatuvar debris fagositoz yoluyla ve hidrolitik enzimler salarak uzaklaştırılır¹⁶.

2.2.2. Proliferatif Safha

Bu safhada çevre kemik dokulardan bölgeye doğru mikrovasküler büyüme gerçekleşir. Bu olaya neovaskülarizasyon adı verilir. Hücrel farklılaşma, çoğalma ve aktivasyon sonucu sonradan remodele olacak immatür bir matriks üretilir. Fibroblastlar, osteoblastlar ve progenitör hücreler çoğalırlar ve yara bölgesinde kollajen dizmeye başlarlar. Böylece kollajen ve zengin kapiller kaynağa sahip granülasyon dokusu oluşur. Bu arada temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ve platelet derive büyüme faktörü (PDGF) anjiogenezi stimule ederler.

Lokal mezenşimal hücreler fibroblast, osteoblast ve kondroblastlara farklılaşp kollajen, glikozaminoglikan, glikoprotein ve glikolipid içeren bir ekstraselüler matriks oluştururlar. Baştaki zemin maddesi ve fibröz doku sonunda fibrokartilaj kallusa dönüşür. İlk oluşan kemik örgü kemiktir. İyileşmenin 4 - 6. haftasına kadar baskın halde gözlenir¹⁶.

2.2.3. Maturasyon Safhası

Kemik iyileşmesinin en uzun süren safhasıdır. İmmatür bağ doku oluştuktan sonra osteogenez, osteoblastik hücrelerin çoğalması, yenilenmesi ve farklılaşmasıyla devam eder. Farklılaşan osteoblastlar matriksin mineralizasyonuna yardım ederler. Hücreden zengin ve organize olmayan örgü kemik zamanla yük taşıma stimulusuyla

uyarılarak lameller kemiğe dönüşür. Lameller kemik iyi organize bir kemiktir ve lamellalarının arasında osteonlar bulunur¹⁶.

2.3. Kemik Greftleri

Dişsizlik durumu çoğunlukla çeşitli seviyelerde kemik rezorbsiyonuyla birlikte görülür. Diş çekimini ya da kaybını takiben kemikte başlayan yeniden şekillenme süreci sonucunda alveoler kemikte çeşitli seviyelerde atrofi oluşacaktır. Bu bölgelere kimi durumlarda yerleştirilmesi gereken greftlerin amacı alıcı sahadaki dokuları sağlamlaştırmak ve/veya alıcı sahada bulunan defekti onarmaktır.

Kemik dokusu, vücutta en sık transplante edilen dokudur. Atrofi, yaralanma, konjenital malformasyonlar ya da tümör cerrahileri sonrası oluşan defektlerin tedavi ve tamirinde kullanılırlar¹⁷.

Kemik greftleri 4 gruba ayrılır:

2.3.1. Otojen Greftler:

Donörün de alıcının da aynı birey olduğu greft tipidir. Osteojenik etkiye sahip tek greft malzemesidir. Bu etkisiyle altın standart olarak kabul edilir. Bunun yanında zaman içerisinde osteojenik etkisinin kaybolmasıyla osteoindüktif ve osteokondüktif etki gösterir. Otojen greftlerde aynı bireyde transplantasyon yapıldığı için doku uyumluluğu sorunu bu greftlerde mevcut değildir. Yapısındaki canlı hücreler sayesinde osteojenik etki gösterir. osteojenik hücreler bulundurması ve immünolojik reaksiyona sebep olmamasıyla en avantajlı greft materyali olarak gösterilmektedirler. Ancak verici bölgede ikinci bir operasyona ihtiyaç olması, uzun süreli postoperatif ağrı ve hareket kısıtlılığı görülebilmesi ve bakım süresinin uzaması bu grubun dezavantajlarıdır^{2,14}.

2.3.1.1. Ağız İçi Otojen Greft Kaynakları

Otojen kemik grefti sağlama amacıyla ağız içinde donör alan olarak faydalanılabilecek bölgeler tercih edilme sıklığına göre; simfiz, yükselen ramus, korpus (gövde), koronoid proses, maksiller tüber bölgesi, sinüs duvarı ve zigomatik butress olarak sayılabilir. Bunların yanında normal bir anatomik bir yapı olmamasına rağmen torus çıkıntıları da uygun alanlar arasında sayılabilir^{14,17}.

Ağız içinde partikül halindeki greftler sıklıkla kullanılır. Bu greftler ağız içinde kemik toplamaya yarayan özel tasarlanmış aletlerle veya drilleme sırasında ortaya çıkan

kemiği toplayan aspiratör uçlarıyla kolaylıkla elde edilebilirler. Bu yöntemle elde edilen greft hasta tarafından kabul edilebilirdir, morbiditesi azdır. Greftlenecek alanın hacminin küçük olduğu durumlarda daha komplike ekstraoral girişimlere gerek duyulmadan kolay uygulanan bir yöntemdir. Cerrahi sahaya yakın bölgelerden elde edilebilmesi, yapısında osteojenik hücrelerin bulunması avantajlarıdır.

Bunun yanında mikrobiyolojik kontaminasyon riski bulundurması, ikinci bir cerrahi sahaya ihtiyaç duyulması, donör alanda enfeksiyon ve morbidite riski taşıyan başka bir defekt oluşturma, sınırlı miktarda greft almanın mümkün olması, çene ucundan alınan greftlerde diş köklerinin yaralanma riski ve duyuşal sinir yaralanmaları riski açılarından ağız içi otojen greftlerin dezavantajları bulunmaktadır.

2.3.1.2. Ağız Dışı Otojen Greft Kaynakları

Daha komplike vakalarda ya da intraoral alanlardan yeterli miktarda greft sağlamak mümkün olmayacaksa insan vücudunda kalvaryum, iliak krest, tibia ve kostalar ekstraoral donör sahalar olarak kullanılabilir¹⁷.

Vaskülarize olmayan serbest otojen kemik greftleri kortikal ve kansellöz tipte alınabilirler. Kortikal greftler dayanıklı, sert bir yapı oluşturur, formun devamlılığını sağlar. Horizontal veya vertikal olarak alveoler sırta kaybın mevcut olduğu durumlarda onlay greftlemede, ya da kemik tabakalarının arasına inlay yerleştirilerek fasiyal konturün düzeltilmesinde kullanılabilirler¹⁴.

Kansellöz greftler ise hem osteoblastlara dönüşebilen canlı hücrelere sahiptirler, hem de osteojeniteyi indükleme kapasitesine sahiptirler. Kortikal greftlere göre daha çabuk revaskülarize olurlar ve daha geniş kullanım alanına sahiptirler. Daha çok diş çekim soketi greftlemede, sinüs tabanı elevasyonu sonrası greftlemede ve alveoler yarıkların onarımı sırasında greftlemede kullanılırlar. Bu greftlerin dezavantajı; mekanik desteği sağlayamamalarıdır¹⁶. Bilinen en verimli kansellöz kemik grefti kaynağı anterior veya posterior iliak kresttir. Bunun yanında kortikokansellöz kemik greftleri de kullanım alanına sahiptirler. Kortikokansellöz greftlerin avantajı; kortikal greftler gibi mekanik sağlamlık ve form kazandırmak, bir miktar da osteogenezise fayda sağlamaktır. Bu tip greft genel olarak, kosta veya ilium kaynaklıdır. Ancak, bu iki kaynaktan elde edilen kortikokansellöz greftler arasında da farklılıklar vardır. Örneğin; kosta, iliumdan daha az kansellöz kemik içermektedir².

2.3.2. Allogreftler

Allojenik greftler ya da diğerk adıyla allogreftler, aynı türden fakat farklı genotipe sahip farklı bireylerden elde edilen greft materyalleridir. Graftlerin elde edildiği donörler yaşıyan kişiler veya kadavralar olabilir. Graftler tamamen steril şartlarda muamele edilerek kemik bankalarında depolanarak saklanır.

İnsanda kullanılan kemik allogreftleri farklı bir insandan elde edilen osseöz, transplante dokulardır. Allogreft kullanımının en önemli avantajı donör alan gereksinimini ortadan kaldırmasıdır. Allogreftler, kadavralardan elde edilir, işlenir, çeşitli şekillerde ve boyutlarda hazırlanır ve ileride kullanılmak üzere uygun şartlarda kemik bankalarında saklanır^{18,19}. Üç tipte allogreft vardır;

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

FB, oral cerrahide nadiren kullanılır, çünkü alıcı dokuda antijenik cevap oluşturma ve hastalık taşınma riski vardır. Literatürde DFDB' nin HIV içirme riski oranı 1,2 milyonda 1 olarak belirtilmiştir. Ayrıca, literatürde bu geçişi kanıtlayan herhangi bir rapor bulunmamaktadır^{14,20}. Önceleri DFDB' nin Kemik Morfojenik Protein (BMP) içerdiği ve osteoindüktif olarak nitelendirilmesi gerektiği savunulsa da son dönemlerde yapılan çalışmalar DFDB' nin osteoindüktif bir greft materyali olmadığını ileri sürmektedir. Bunu da işleminden geçirilmiş allogreftlerde protein miktarının çok düşük olmasıyla açıklamışlardır^{18,19}.

FDB allogreftinde greft, tüm süreç boyunca sıvı faz olmaksızın düşük sıcaklıkta liofilizasyonla kurutulur. FDB allogrefti olarak kortikal kemik cipsleri, düşük antijenik aktivitesi ve yüksek kollajen miktarından dolayı tercih edilebilir^{21,22}.

DFDB allogreftleri, konağın farklılaşmamış mezenşimal hücreleri üzerinde etki göstererek osteoindüksiyon ile kemik rejenerasyonu sağlama özelliğine sahiptirler. Ayrıca konak kemik için matriks fonksiyonu görerek osteokondüksiyon ile de kemik rejenerasyonu sağlarlar. DFDBA için diş hekimliğinde ve oral ve maksillofasiyal cerrahide “Demineralize dondurulmuş - kurutulmuş kemik allogrefti” terimi daha çok kullanılırken ortopedi ve nörocerrahi alanlarında daha çok “Demineralize Kemik Matriksi (DBM)” terimi tercih edilmektedir²¹.

Allogreftlerin otojen greftlere göre avantajları şunlardır:

1. Otojen kemik alımı sırasında ortaya çıkan morbidite önlenir.

2. Otojen greftin yeterli olmadığı ve vaskülarize flep düşünülmediği büyük kemik kayıplarında yeterli miktarda greft sağlanır.

3. Otojen kortikal greftlere göre daha büyük miktar ve değişik formlarda allojen kortikal kemik sağlanabilir.

4. Blok, öğütülmüş granül, macun ve enjekte edilebilen olarak birçok şekilde allogreftler işlenebilir. Bu da amaca yönelik kullanım kolaylığı sağlar^{1,23,24}.

2.3.3. Ksenogreftler

Ksenogreftler heterojen greft sınıfına dahildirler. Heterojen terimi değişik türlerden alınan dokular için kullanılır. Ksenogreftler, alıcı canlıdan farklı bir türde canlıdan elde edilen greft materyalleridir. Oral ve maksillofasiyal cerrahide kemik defektlerinde, greft gerektiren çeşitli osteotomilerde ve kimi zaman da kemik greftleriyle karıştırılarak kullanılmaktadır. Otojen greftlerle kombine kullanımı önerilmesi, konak immün cevap oluşturma riski ve greft rezorbsiyon hızının yavaş olması gibi dezavantajları vardır.

Ksenojenik kemik greftleri memeli kemiklerinden veya mercan dış iskeletinden elde edilebilmektedir^{14,25}. Domuz ve fare kaynaklı ksenogreftler de bulunsa da sığır kaynaklı kemik en sık kullanılan heterojen greft kaynağıdır. Ksenogreftler 1960' larda popüler hale gelmiş, ancak sığır kaynaklı kemik transplantasyonu sonrası rapor edilen bazı otoimmün hastalıklar greftin kullanımını azaltmıştır¹⁴. 1990' larda kemik partiküllerinin deproteinize edilmesinin gerçekleştirilmesiyle birlikte antijenik özellikleri azaltılmış ve tekrar kullanılmaya başlanmıştır^{14,26}. Sonuç olarak kemiğin organik komponentinin tamamen uzaklaştırılması amaçlanmıştır. Bunun sonucu olarak da organik kısmın osteoindüktif kabiliyeti kaybedilmiş olur ve greft osteokondüktif özellik gösterir.

Sığır kemiği organik komponentlerinden ayrıldıktan sonra kalsiyum matriks sterilize edilerek greft kullanıma hazır hale getirilir. Bu greft, alıcıda herhangi bir immün reaksiyona sebep olmayacak şekilde hazırlanır²⁷. Ksenogreftlerle yapılan çalışmalar greftin osteotomi alanlarında başarılı sonuçlar verdiğini, ancak posttravmatik deformite ve hipoplastik alan düzeltmelerinde yetersiz kaldığını göstermiştir².

Greft genellikle granül halinde kullanıldığından, malzemeyi istenilen bölgede tutabilmek için kimi zaman bariyer membrana gereksinim duyulacaktır. Sığır kaynaklı ksenogreftler hayvan çalışmalarında değişen oranlarda rezorbsiyon göstermiştir. Klinik

çalışmalarda saptanan rezorbsiyon oranları ile hayvan çalışmalarında saptanan rezorbsiyon oranları arasında farklılıklar olabilmektedir^{28,29}. Rezorbsiyon süresindeki bu farklılıklar ürünün imal yöntemindeki değişikliklerden kaynaklanmaktadır.

2.3.4. Alloplastlar

Tamamen sentetik olarak üretilen kemik rejenerasyon materyallerine alloplastik kemik greftleri denir. Biyouyumlu olan bu materyaller belli oranda osteokondüktif özelliğe sahiptirler.

2.3.4.1. Seramikler

2.3.4.1.1. Sentetik Hidroksiapatit

HA bir seramiktir. Birkaç farklı tipte bulunabilir. Bunun belirlenmesinde internal gözenek çapı referans kabul edilmiştir¹⁴. Pöröz formdaki HA hızlı bir şekilde greft içine doğru fibrovasküler doku büyümesine izin verir. Bunun sonucunda da greft stabilize olur ve mikrohareket engellenmiş olur. HA çeşitli kıvam ve şekilde üretilmektedir. Kemik defekti onarımı, diş çekimi sonrasında alveoler sırt korunması, alveoler sırt augmentasyonu ve sinüs greftleme gibi işlemlerde otojen greftle kombine kullanımı gibi klinik kullanım alanları bulunmaktadır. HA kullanımı donör saha morbiditesini ortadan kaldırırsa da granüler migrasyon ve tamamlanmayan rezorbsiyon gibi uzun dönem problemlere yol açtığı bilinmektedir³⁰.

2.3.4.1.2. Trikalsiyum Fosfat

Hidroksiapatit gibi Trikalsiyum Fosfat (TCP) da biyoabsorbe olabilen ve biyouyumlu bir materyaldir. Ancak, uygun olmayan pörözitesi, göreceli olarak daha küçük gren büyüklüğü ve 6 hafta gibi bir süre içerisinde hızlı çözünmesi gibi nedenlerden dolayı zayıf bir kemik grefti alternatifidir. TCP, bir kalsiyum fosfat formudur ve genellikle β -TCP şeklinde kullanılır. TCP ticari olarak macun, partikül ve blok formlarında satışa sunulmuş ve bu materyalin biyouyumlu ve biyoçözünür olduğu kanıtlanmıştır¹⁴. Bu materyallerin kemik fraktürü halinde de augmentasyon amacıyla kullanılabilmesi öne sürülmektedir. Materyal, kimyasal kompozisyonu ve kristal yapısıyla kemiğin mineral yapısına benzerlik göstermektedir. Diğer greft materyalleriyle benzer iyileşme aşamalarını takip eder. Ancak kemiğin mikromimari

yapısını göstermekte yetersiz kalır³¹. Materyalin bilinen dezavantajları tahmin edilemeyen ve hızlı rezorbsiyon oranı olarak belirtilir¹⁴.

Bu grupta uygun absorpsiyon ve kolay intra-operatif uygulama karakteristiğine sahip, oda sıcaklığında yumuşak formda, ancak fizyolojik vücut sıcaklığında 20 dakikada sertleşen ticari formlar bulunmaktadır³².

2.3.4.1.3. Bioaktif Cam

Diş hekimliğinde restoratif amaçlı cam iyonmer simanlarda da kullanılan siliko-fosfat zincirleridir. Bu materyalin kemikle kimyasal bağ oluşturma özelliği bulunmaktadır¹⁴. Kalsiyum tuzu, sodyum tuzu ve silikondan oluşurlar. Yapısal destek bakımından hidroksiapatit implantlardan daha dayanıklıdırlar. Uygulandığı zaman kollajen, büyüme faktörleri ve fibrine bağlanarak osteojenik hücrelerin ilerlemesini sağlayan pöröz bir matriks oluşturur¹. Hayvan çalışmaları sonucunda bioaktif camın osteoindüktif özellik gösterebileceği rapor edilmiştir³³. Piyasada kullanılmak üzere granül, blok ve çubuk şeklinde tipleri vardır. Bioaktif cam rezorbe olabilen ve olamayan şekillerde bulunabilir³⁴.

Klinikte periodontal defekt onarımında kullanımı önerilmiştir. Diş kaybı sonrası alveoler sırt korunması amacıyla diş kökü formuna sahip bioaktif camlar kullanıma sunulmuştur. Alveoler genişlik ve yüksekliği muhafaza etmedeki faydalarının yanında daha sonra yerleştirilecek dental implantı, tamamlanmayan rezorbsiyonları nedeniyle riske atabilirler³⁵. Ayrıca bu malzemenin antibiyotikler ile ve kemik yapımını arttıran maddeler ile karıştırılarak kullanılmaları önerilmez^{8,24}.

2.3.4.2. Kalsiyum Karbonat

Mercan kaynaklıdır. Bu materyalin rezorpsiyonu yavaştır. Ayrıca kemik formasyonu için yüzey transformasyonuna ihtiyaç duymaz böylece daha hızlı kemik formasyonu sağlar. Kalsiyum karbonat greftler, iyi derecede hemostatik özelliğe sahiptir ve ilgili alandan kolay uzaklaşmaz. Diğer yandan bu materyal hassas yapıdadır ve iyileşme periyodu sırasında stres altında migrasyona uğrayabilir¹⁴.

2.3.4.3. Kompozit Kopolimerler

Polimerler doğaları gereği sayısız konfigürasyonda şekillendirilebilirler. Poliglikolik asit (PGA) ve polilaktik asit (PLA) kombinasyonları yıllardır rezorbe

olabilen sütür üretiminde kullanılmaktadır. Ayrıca son zamanlarda rezorbe olabilen fiksasyon malzemelerinde de yine bu kombinasyonlar kullanılmaya başlanmıştır^{14,36}. Bioaktif camda olduğu gibi bu materyalin de kök formuna sahip, PLA' dan yapılan çekim soketi koruma amaçlı ürünü bulunmaktadır. Yine bioaktif camda karşılaşıldığı gibi, materyalin krestal genişlik ve yüksekliği koruma özelliklerinin yanında, sonradan yerleştirilecek implantı, tamamlanmayan rezorbsiyonu nedeniyle, riske atma dezavantajı bulunmaktadır¹⁴.

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

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

Rezorbe olmayan kopolimerlere örnek verilebilecek alloplastik materyal polimetil metakrilat (PMMA) ve polihidroksietil metakrilat (PHEMA) karışımıdır. Radyoopasite sağlaması için az miktarda baryum sülfat eklenmiştir. Mevcut kemik greft materyallerinin çoğunluğu uygun sonuçların elde edilebilmesi için yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu (YKR) membranlarının kullanılmasını gerektirir. Fakat bu materyalin kullanılması ile membran gereksinimi elimine edilebilir, çünkü materyalin kendisinin membran görevi gördüğü belirtilmektedir^{32,33}.

2.3.4.4. Kalsiyum Sülfat

Paris alçısı veya Gypsum adlarıyla da anılır. İlk olarak 17. yüzyılda sert bandaj olarak harici kullanımı olmuş, daha sonra kemik içi defekt onarımı amacıyla ilk kez kullanımı 1892' de Dressmann tarafından rapor edilmiştir. Medikal tipteki kalsiyum sülfat kristalize yapıdadır ve yavaş çözünürlüğe sahiptir. Bu materyal yerleştirildiği konuma ve hacmine bağlı olarak 30-60 gün arasında rezorbe olabilmektedir. nemli avantajları enfeksiyon varlığında kullanılabilmesi ve ucuz olmasıdır. Biyoabsorbe

olabildiği için polimetilmetakrilat gibi diğer taşıyıcılara kıyasla avantajlıdır. Buna karşın, nadir de olsa bu materyalin kullanımına bağlı allerjik reaksiyon ve inflamatuvar cevap rapor edilmiştir³¹.

2.4. Kemik Greftinin İyileşme Mekanizması

Kemiğin ve kemik greftinin iyileşmesinde öncelikle kemik rejenerasyonunun bilinmesi gereklidir. Rejenerasyon 3 farklı şekilde gerçekleşir. Bunlar; osteogenez, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyondur. Osteogenezde greft materyali içerisindeki canlı osteoblastik hücrelerden direk olarak yeni kemik formasyonu sağlanır. Osteojenik özelliğe sahip tek greft materyali otojen kemiktir³⁷. Bunun yanında, vasküler desteğe sahip olmayan serbest otojen greftlerin 5 gün içinde osteojenik özelliklerini kaybettiklerini, bu sürenin sonunda osteoindüktif ve osteokondüktif etkilerini devam ettirdiklerini belirten çalışmalar da mevcuttur. Dolayısıyla serbest otojen kemik greftlerinin de sadece birkaç gün osteojenik özelliğe sahip olduğu söylenebilir³⁸.

Osteogenetik açıdan en etkili tipi yüksek konsantrasyonda kemik hücreleri taşımamasından dolayı kansellöz kemiktir. Bu formunun kemik hücrelerinin bulunmadığı ciltaltı dokusu gibi bir bölgeye yerleştirildiğinde kemik formasyonu oluşturduğu gösterilmiştir. Osteogenetik özelliğin korunabilmesi için greft, alındıktan sonra hemen kullanılmalı veya steril salin içerisinde bekletilmelidir. Distile su kullanımı, hipotonisitesi nedeni ile hücre ölümüne yol açacağından dolayı kontrendikedir²⁰.

Osteoindüksiyon öncül, farklılaşmamış, pluripotent hücrelerin uyarılması sonucu kemik üreten hücrelerin oluşması anlamına gelir. Osteoindüksiyon, canlı kemikte bulunan büyüme faktörleri aracılığıyla farklılaşmamış immatür hücrelerin osteoblastlara veya kondroblastlara dönüşerek osteogenezin gerçekleştirilmesi şeklinde gerçekleşir. Bu olay, kemik matriksinden çıkan bir veya daha fazla indüksiyon ajanının etkisi sonucu oluşur. Kemik fraktürü gibi bir durumda iyileşme büyük oranda osteoindüksiyon yoluyla gerçekleşir. Farklılaşmamış hücreler kemik iyileşmesinin düzgün şekilde gerçekleşebilmesi için çok önemlidirler. Uygun stimulusla bu hücreler preosteoblastlara dönüşebilmektedir. Geçmişte yapılan çalışmalarda, osteoindüktif etkiyi göstermek için kas dokusu gibi heterotopik bir alanda stimulus sonucu kemik oluşumu gözlenerek indüktif potansiyel belirlenmiştir. Kemik dokusu gibi ortotopik bir alandaysa gerçekleşen olayın osteokondüksiyon veya osteoindüksiyondan hangisi olduğunun ayrımını yapmak güçtür³⁹.

Osteoindüksiyona dair yapılan sonraki çalışmalarda Urist et al.³⁹ çözümler bir glikoprotein olan BMP' yi izole etmişlerdir. BMP' nin Değişiklik yapan büyüme faktörü (Transforming growth factor, TGF) - β ailesine ait bir büyüme faktörü olduğunu ve induktif bir ajan olduğunu tanımlamışlardır. Ayrıca BMP' nin en az 15 farklı tipinin bulunduğunu ve bunlardan BMP-2 ve BMP-7' nin önemli olduğunu göstermişlerdir³⁹. Günümüzde BMP' nin osteoinduktif etkili bir materyal olduğu ve kırıldık formasyonu ve sonrasında enkontral kemikleşme oluşumu ile yeni kemik formasyonunu indüklediği kabul edilmiştir. BMP, travmayı takiben veya yeniden şekillenme süreci sırasında doğal olarak salınır ve osteoinduktif ajan olarak görev yapar⁴⁰.

Osteokondüksiyon terimi kemiğin bir yüzey üzerine büyümesi şeklinde açıklanır. Osteokonduktif materyaller biyoyumludur. Osteokonduktif bir yüzey; üzerine, porlarına, kanallarına veya tüplerine kemiğin büyümesine izin verecek yapıdadır. Osteokonduktif özelliğe sahip materyaller matriks oluşturarak osteogeneze rehberlik ederler³⁹. Yerleştirilen greft, direk olarak kemik oluşumuna katkı sağlamaz ancak rehberlik görevi üstlenir. Osteokondüksiyon, kemik veya farklılaşmamış mezenşimal hücrelerin varlığında meydana gelir. Osteokonduktif materyaller cilt altı gibi ektopik alanlara yerleştirilir ise osteoindüksiyondakinden farklı bir durum gelişir. Kemik oluşumu gerçekleşmez ve materyal ya değişmeden kalır ya da rezorbe olur²⁰. Osteokonduktif iyileşmeye yol açan greftlere örnek olarak alloplastik greftler gösterilebilir⁴¹. Hayvan kemiklerinin inorganik kısmından üretilen ksenogreftler de osteokonduktif özellikteki materyallere örnek olarak sayılabilirler. Ksenogreftler tek başlarına veya otojen greft ile karıştırılarak kullanılabilirler. Ksenogreftlerdeki, organik olmayan kemik matriksi orijinaline göre bir değişiklik olmadığı için doğal insan kemiğine benzerlik gösterir⁴².

Tüm greft materyalleri rezorbsiyonları sırasında, doğal kemiğin yeniden şekillenmesinde olduğu gibi yer değiştirme işlemi ile yeni kemik oluştururlar²⁰. Osteokonduktif materyaller arasında kalsiyum fosfat seramiklerinin pöröz ve/veya amorf formları sayılabilir. Genelde hidroksiapatit, β -TCP veya bunların çeşitli kombinasyonlarından üretilirler.

Kemik grefti yerleştirildikten hemen sonra iyileşmenin ilk aşamasında yeniden şekillenme ve rezorbsiyon başlar. Greft hacminde oluşacak bu kayıp kemik greftinin boyutuna, kalitesine, alıcı sahadaki kemik kalitesine, biyomekanik özelliklere ve greftin çevre kemiğe fiksasyon derecesine bağlıdır¹⁷.

Greft materyalinin iyileşmesi, süre ve içerik bakımından greft tipine göre farklılık gösterir. Alıcı yataktaki vasküler destek ve greftteki hücrelerin sağ kalım oranı greft iyileşmesine doğrudan etki eder. Morfolojik olarak kortikal kemik Haversian ve Volkmann kanallarının etrafındaki sıkı yapıda sirküler, paralel ve interstisyel kemik lamellalarından oluşur. Kansellöz kemik ise pöröz yapıdadır ve çubuk, plaka ve yay görünümlü trabekül denilen bir kafesle çevrili olarak izlenir. Bu yapının içinde de kemik iliği bulunur. Kansellöz kemikte alıcı yataktan hücre ve damarların ulaşabilmesi için kortikal kemiğe göre daha geniş bir yüzey alanı vardır. Vasküler desteğin greft içinde organize olması kortikal kemiğe göre % 30 daha hızlı şekilde gerçekleşir⁴³. Dolayısıyla implante edilen kemiğin tipine göre iyileşme farklılık gösterecektir.

2.4.1. Serbest Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi

Kemik rejenerasyonunun ilk fazı sırasında birkaç hafta boyunca greft içerisindeki transplante edilen hücreler proliferasyon gösterir ve yeni osteoid oluştururlar. Greft içerisindeki hücrelerin beslenmesi ilk 3-5 gün boyunca plazmatik difüzyon ile gerçekleşir. Beşinci günden itibaren çevreleyen yumuşak doku ve kemikten, greft içine kapiller büyüme gerçekleşir. Serbest kemik greftleri kansellöz, kotikokansellöz veya kortikal olabilir. Greftlerin iyileşmesi de bu greft türüne göre farklılık göstermektedir.

Schlegel et al.²⁷ yerleştirilen greftlerin mineralizasyonlarını inceledikleri bir çalışmada, çene ucundan alınan greftlerin kalın kortikal tabaka ve az spongios kemik içerdiğini bu yüzden iliak bölgeden alınan greftlere göre daha yavaş rejenerasyon gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca pelvik kemik greftlerinin (anterior, posterior) encondral olmasına rağmen rejeneratif paternlerinin farklı olduğunu bildirmişlerdir. Anterior iliak kretin yüksek kortikal kemik içerikli olduğunu ve daha az osteoindüktif özellik gösterdiğini bildirmişlerdir. Posterior pelvis bölgesinde ise spongios kısmın daha fazla olduğunu ve daha yüksek derecede osteoindüktif özellik gösterdiğini belirtmişlerdir⁴⁴.

2.4.1.1. Kansellöz Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi

Cerrahi travmayı takiben greft içerisinde ve çevresinde hemoraji oluşur. Dokudan ve kanın hücresel komponentlerinden çeşitli mediatörler salınır. Bu mediatörler inflamatuvar hücrelerin, fagositlerin ve mezenşimal pluripotent hücrelerin kemotaksis yoluyla migrasyonunu stimüle ederler. Uyarının tipine göre mezenşimal

hücreler; endotelial hücrelere, fibroblastlara ve osteoblastlara farklılaşarak ve proliferasyon olarak yeni kan damarlarının ve konnektif dokuların oluşmasını sağlar. Greftteki ve alıcı yataktaki damarların uç uca anastomozu sonucu, greftlemeden sonraki birkaç saat içinde revaskülarizasyon oluşabilir. Kansellöz kemik greftinin revaskülarizasyonunun tamamlanması birkaç hafta içinde gerçekleşir. Kortikal kemik greftinden farklı olarak osteoklastların neden olduğu rezorbsiyon olmaksızın kemik formasyonu oluşur. Osteoblastlar eski trabekül yüzeyinde sıralanarak osteoid oluşumunu başlatırlar. Daha sonra bu doku mineralize olur ve immatür kemik oluşur. Son yeniden şekillenme aşamasında yeni oluşan immatür kemik ve nekrotik kemik osteoklastlar tarafından rezorbe edilir ve olgun lameller kemik ile yer değiştirir.

2.4.1.2. Kortikal Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi

Kortikal kemik avaskülerdir ve üzerinde çok az sayıda yaşayan hücre barındırır. Greftin başlangıç iyileşme fazı, kansellöz kemik grefti ile aynıdır. En önemli fark revaskülarizasyon derecesindedir. Kortikal kemik greftlerinde revaskülarizasyon süresi iki kat daha uzun sürer. Revaskülarizasyon yaklaşık 2 ayda tamamlanır. Bu fark 2 greft arasındaki yapısal farktan kaynaklanmaktadır. Kortikal kemikte ilk aşamada vasküler penetrasyon osteoklastik aktiviteyi takiben, önceden varolan Haversian ve Volkmann kanallarına doğru olur. Haversian kanalları rezorbsiyonla birlikte genişlerken yeni kemik apozisyonu başlar. Kortikal kemik grefti zamanla rezorbe olarak yerini yeni oluşan kemiğe bırakır⁴³.

2.4.2. Vasküler Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi

Greft, serbest vaskülarize ve pediküllü greftler gibi internal vasküler desteğe sahip ise, beslenememe sonucu nekrotik kemik oluşmaz ve greftin alıcı sahaya birleşmesi çok daha kısa sürede gerçekleşir. Greftin iyileşmesi kemik fraktür iyileşmesindeki benzer şekilde gerçekleşecektir⁴³.

2.4.3. Allogreftlerin ve Alloplastik Kemik Greftlerinin İyileşmesi

Allogreftler immünolojik reaksiyonlara neden olmamak ve greftin reddedilmesini önlemek için birtakım işlemlerden geçirilirler. Bu işlemler; derin dondurma, dondurup kurutma yoluyla ya da kloroform-metanol, parasetik asit veya hidrojen peroksit gibi kimyasallarla yapılan işlemlerdir. Günümüzde oral cerrahide en

sık kullanılan allojenik greftler; demineralize veya mineralize dondurulmuş kurutulmuş greftlerdir. Bu materyaller zayıf biyomekanik özelliklere sahiptirler ancak defekt ve kavitelemlerin doldurulması için uygun malzemelerdir. Allojenik ve alloplastik greftlerin iyileşme süreci, otojen greftlerin iyileşme süreciyle aynı prensipte gerçekleşir. Fakat greft içerisinde yaşayan hücrelerin bulunmamasından dolayı, kemik formasyonu gecikir. Sonuçta otojen greftlere oranla alıcı sahayla daha az birleşme gerçekleşir⁴³.

Greftlerin rezorbsiyonunu etkileyen birçok faktör vardır. Çevre ortamın pH'ı, yerleştirilen greftin porözitesi, hacmi, partikül büyüklüğü ve kompozisyonu rezorbsiyon süresine etki edecektir. Örneğin; HA ile greftlenen büyük defektlerin kemik ile yer değiştirmesi küçük defektlere kıyasla diğer tüm faktörler eşit olduğunda daha uzun zaman alır. Dens, kristalize HA partikülleri, stabil pH varlığında ömür boyu rezorbe olmadan kalabilir. HA'ın amorf formu küçük hacim ve boyutta ise birkaç ay içerisinde rezorbe olabilir. Ksenogreftler gibi mikropöröz özellikteki materyaller rezorbsiyon zamanına göre orta sırada yer alırlar. Ancak, sinüs greftlemesi gibi bir işlemde yüksek hacimlerde kullanıldıkları durumlarda rezorbe olmaları 1 yıldan fazla zaman alır^{20,42}.

2.5. Ksenogreftlerin Çene-Yüz Cerrahisinde Kullanımı

Kemik desteği sağlama, iskeletsel defekt onarımı ve çekim kavitesi doldurma gibi amaçlarla Oral ve maksillofasiyal cerrahide olduğu gibi Ortopedi, Nörocerrahi ve Periodontolojide kemik greftlerinin kullanım alanı bulunmaktadır. Oral ve maksillofasiyal cerrahide ksenogreftlerin kemik içi defektlerde başarıyla kullanıldığı çalışmalar literatürde mevcuttur⁴⁵⁻⁴⁸. Greftleme durumu söz konusuysa tüm mevcut greft tipleri göz önünde bulundurulmalıdır. Osteoindüktif etkisi kesinleşmiş, altın standart olarak kabul edilen otojen kemik greftleri greft materyalleri içinde genellikle ilk seçenektir^{3,4}. Ancak otojen greftlerin donör alan morbiditesine yol açma gibi dezavantajları mevcuttur^{5,6}. Bu dezavantajları nedeniyle özellikle implant çevresi defektlerin rejeneratif tedavisinde kemik oluşumunu stimüle eden bazı büyüme faktörleri ve materyaller önem kazanmaya başlamıştır. Kohal et al.¹⁰ demineralize dondurulmuş kurutulmuş allogreft ve ksenogreftlerin bariyer membran ile birlikte kullanıldığında daha yüksek yeni kemik oluşumu değerleri verdiğini rapor etmişlerdir. Bu görüşü destekleyen birçok çalışma mevcuttur¹¹.

Bir çeşit ksenogreft olan sığır kaynaklı hidroksiapatit, osteokondüktif özellikleri ile güvenli ve biyouyumlu bir greft materyalidir. Doğal yapısı sayesinde sentetik HA'ya

kıyasla daha geniş bir yüzey alanı sunar⁴². Materyalin rezorbe olabilen veya olmayan membranlar ile kullanılması daha iyi sonuçlar vermektedir⁴⁹. Materyal yüksek biyouyumluluğa sahip olup ksenogreftlerin kullanıldığı deneysel hayvan çalışmaları materyalin ideal bir yapı iskeletine sahip olduğunu göstermektedir⁹.

Ksenogreftlerle ilgili tartışılan önemli bir konu rezorpsiyon süresidir. Osteokondüktif özelliğe sahip olan materyalin zamanla rezorbe olarak yerini yeni oluşan kemiğe bırakması beklenir. Biodegradasyon süresi ile ilgili çelişkili raporlar mevcuttur. Wheeler et al.'ın⁵⁰ göre ksenogreftler hızlı bir şekilde konakçı kemiği ile yer değiştirir. Buna karşın ksenogreftlerin çok yavaş rezorbe olduğu veya hiç rezorbe olmadan uzun süre varlığını koruyabileceği görüşünü savunan çalışmalar daha baskındır⁵¹⁻⁵³. Rezorpsiyon sürelerindeki farklılık sığır kaynaklı HA'nın farklı işlemlerle elde edilmesinden kaynaklanır. Schlegel ve Donath'ın mandibuladaki kemik defektlerini sığır kaynaklı HA ile doldurarak yaptıkları klinik çalışmada operasyondan 6 yıl sonra bile greftlenen bölgede materyalin tespit edilebildiği gösterilmiştir⁴⁹. Sartori et al. ise yine sığır kaynaklı HA ile maksiller sinüs tabanı greftlemesi yapılan ve 10 yıllık takip süresi bulunan 1 hastanın vaka sunumunda 10. yılda greftin, rezorpsiyonun devam etmesiyle birlikte, halen operasyon sahasında var olduğunu göstermişlerdir⁵⁴.

Ksenogreftler hayvan kaynaklı kemik materyalleridir. Hazırlanma aşamasında organik kısmının tamamen uzaklaştırılarak yalnızca inorganik kısmın kalması esasına göre işlemlerden geçerler. Genellikle bu inorganik kısımda baskın olan HA' dır, ancak imalat aşamalarına göre başka inorganik materyaller de bulundurulabilir^{55,56}. Greftte HA içeriğine ek olarak karbonat ve TCP bulunması ve normal kemiğe benzer pörözite göstermesi nedeniyle osteoklastik bir aktivite gerçekleşmesi beklenir. Bu rezorptif süreç yavaşır ve düzgün bir yeniden şekillenme ve kemik yapımı cevabıyla birlikte uzun süre devam eder. Ksenogreftin rezorpsiyonu ve yeniden şekillenmenin olduğu bu süreç boyunca alveoler sırtın idamesi sağlanır. Buna göre; kendi başına osteoindüktif etkisi olmayan ksenogreft ile otojen greftin kullanıldığı kombinasyon alveoler sırtı koruma amacıyla günümüzde en uygun greft olarak kabul görmüştür²⁰.

2.6. Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonunda Kullanılan Bariyerler

Periodontolojide, geleneksel tedavi yöntemleriyle periodontal dokuların rejenerasyonunun sağlanamayacağı, iyileşmenin uzun bağlantı epiteliyle sonuçlanacağı bilinmektedir. Rejenerasyonu önleyen olayın, epitel hücrelerinin hızla proliferasyon olarak

bağ dokusu ve alveol kemiğinin kök yüzeyiyle ilişkisini kesmesi olduğu düşünülmüştür. Bu durum oral cerrahide de izlenir. İntraoral bir kemik defekti varlığında defektin uzun dönem takibinde kemik doku yerine yumuşak dokuyla dolduğu izlenmiştir⁵⁷.

Karring et al.⁵⁸ epitelin yara bölgesine proliferasyonu engellendiğinde, periodontal dokuların rejenere olup olamayacağını saptamaya yönelik bir araştırma yapmışlardır. Maymunlar üzerinde yapılan ve 3 aylık takibi bulunan çalışma sonucundaki mikroskopik incelemeler epitelyum ile diş kökleri arasında herhangi bir ilişki bırakılmadığında, kök yüzeyleri üzerinde bir miktar yeni sement, bağ dokusu ataşmanı ve alveol kemiği oluştuğunu göstermiştir.

Başarılı bir kemik iyileşmesi veya yeni kemik oluşumu sürecinin önündeki en önemli engel, kemik dokudan daha hızlı büyüyen yumuşak dokulardır. Yara bölgesine ya da defekt içine hızla büyüyen yumuşak dokular osteogenezisi tamamen veya kısmen engelleyebilir⁵⁹. Çeşitli hayvan ve insan modellerinde yapılan çalışmalar mekanik bariyer kullanımının kemik rejenerasyonunu arttırdığını göstermektedir⁶⁰. Bu durum; bariyer membran kullanıldığında yumuşak dokunun defekt içine büyümesinin engellendiği anlamına gelmektedir.

2.6.1. Rezorbe Olmayan Rejeneratif Bariyerler

Rezorbe olmayan bariyerler, uygulandıkları yerden çıkarılmaları için ikinci bir cerrahi işlem gerektirirler. Bu işlemin dezavantajları hastanın uygulamayı kabulünü güçleştirir, toplam tedavi süresini ve maliyetini arttırır. Aynı zamanda bariyerin çıkarılması sırasında iyileşmekte olan dokunun zarar görme riski bulunur⁶¹.

2.6.1.1. Genişletilmiş Politetrafloroetilen

Genişletilmiş politetrafloroetilen (ePTFE); yapısında teflon olan pöröz bir bariyerdir (Gore-Tex®). Farklı periodontal defektler için farklı şekillerde üretilebilirler ve yaka ve gövde kısımları farklı yapısal özellikte hazırlanabilir. Por çapları 0,2 – 5µm arasında bulunabilir. İlk olarak 1984 yılında kullanılan bu materyal oral kaviteye ekspoz olması durumunda bile intakt halde kalmaya devam eder⁶². Bu materyalin kısıtlılıklarını ortadan kaldırmak için rezorbe olan bariyerlerin geliştirilmesine odaklanılmıştır.

2.6.1.2. Nanopolitetrafloroetilen

Nanopolitetrafloroetilende sinterleme işlemi yapılmaz; bu da materyali daha esnek, manüplasyonu ve adaptasyonu daha kolay hale getirir. 0,2 – 0,3µm' lik porlara sahiptir. Bu daha küçük porların epiteliyal büyüme ve bakteriyel infiltrasyonu limitlediği düşünülmektedir⁶³.

2.6.1.3. Titanyumla Güçlendirilmiş PTFE

İki tabaka PTFE arasına yerleştirilen titanyumdan oluşur. Yüzey yapısı ve porları bakteri geçişini ve tutunmasını engelleyecek şekilde tasarlanmıştır. Yumuşak dokunun defekt bölgesine migrasyonunu azaltarak bölgede kemik oluşumu ve neovaskülarizasyona elverişli ortam sağlar. Bükülmeyecek kadar sıkı, ancak yumuşak dokuyu perfore etmeyecek kadar da esnek yapıda bulunurlar. Yumuşak dokunun çökmesini ve greft üzerine kuvvet gelmesini engellerler⁶¹.

2.6.2. Rezorbe Olan Rejeneratif Bariyerler

Rezorbe olabilen bariyerler ya hayvan kaynaklı ya da sentetik polimerler olarak bulunurlar. Yavaş yavaş hidrolize olurlar ya da enzimatik reaksiyonla çözünürler. Bu nedenle ikinci cerrahiye uzaklaştırılmaları gerekmez. Geçmişten günümüze kadar sıçan ve sığır kollajeni, öküz peritonu, polilaktik asit, poliglikolid, vikril, yapay deri ve dondurulmuş kurutulmuş dura mater gibi değişik kaynaklardan elde edilmişlerdir.

2.6.2.1. Doğal Rejeneratif Bariyerler

Sığır ve domuzların Tip I veya Tip II kollajeninden hazırlanırlar. Tip I kollajen periodontal bağ dokuda bulunan temel komponenttir. Kollajen membranlar çapraz bağlı yapıdadırlar ve hazırlanma şekline göre 4 - 40 hafta arasında rezorbsiyon süreleri vardır. Epitelyal hücrelerin migrasyonuna izin vermezler. Hemostaza katkıları vardır. Bağ dokunun atışmanına ve platelet agregasyonuna izin vererek erken bir pıhtı formasyonu oluşumuna yardım ederler. Zayıf immünojenite gösterirler, ePTFE membranlara kıyasla daha az ekspozite oldukları görülür ve buna bağlı olarak enfeksiyon riskleri daha düşüktür⁶⁴⁻⁶⁶.

2.6.2.2. Sentetik Rejeneratif Bariyerler

Laktik asit ve glikolik asidin polimerleri şeklinde bulunurlar. Bunların ester bağları 30 – 60 gün arasında çözünürler ve inflamatuvar reaksiyon oluşturabilme potansiyeli olan serbest asitler ortaya çıkar. Sentetik bariyerler de kollajen ve ePTFE bariyerler gibi başarılı klinik sonuçlar vermektedir^{67,68}.

2.7. Bitkisel Kaynaklı Hemostatik Ajanın İçeriği

ABS Türkiye’ de tıp ve diş hekimliği alanında hemostatik ajan olarak kullanılan bir bitki ekstresidir. Belli oranlardaki 5 adet bitkinin karışımından oluşur. Bu bitkiler *Thymus vulgaris*, *Glycyrrhiza glabra*, *Vitis vinifera*, *Alpinia officinarum* ve *Urtica dioica*’dır (Çizelge 2.1). Bu bitkilerin her biri endotel hücreleri, kan hücreleri, anjiogenez, hücre proliferasyonu, vasküler dinamik ve mediatörler üzerine etkilidirler.

Thymus vulgaris yapraklarının, bilinen antioksidanlar olan alfa-tokoferol ve bütil hidrokstoluenle kıyaslanabilir düzeyde antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir⁶⁹.

Glycyrrhiza glabra köklerinden elde edilen ekstraktın in vitro hücre dizilerinde antianjiyojenik aktivite gösterdiği bildirilmiştir⁷⁰. Bu bitki kökünün antiinflamatuvar, antitrombotik, antioksidan ve antiaterosklerotik etkileri çeşitli araştırmalarla gösterilmiştir⁷¹. Öte yandan meyan kökünün, olasılıkla mineralokortikoid etki nedeniyle kan basıncını yükselttiği bildirilmiştir⁷².

Vitis vinifera ekstresi, periferel venöz yetmezliğe karşı, antioksidan olarak, variköz venlerde, kapiller incelmeye, diyabetik retinopatinin de dahil olduğu retina hastalıkları, ödem, okuler stres ve premenstrüel sendromda pozitif etkiler göstermektedir. In vitro ve hayvan deneylerinde antioksidan, vasküler, sitotoksik, kemopreventif ve sitoprotektif etkileri gösterilmiştir. Ayrıca ekstrenin çok iyi olan antioksidan etkileri aterosklerozis ve kanser gibi diğer kronik dejeneratif hastalıklara karşı koruyucu olarak önerilebilir. Ekstre kollajen stabilizasyonunu da destekleyebilir⁷³.

Alpinia officinarum, lipopolisakkarid (LPS) aktive edilmiş fare peritoneal makrofajında nitrik oksit (NO) üretimini inhibe eder⁷⁴.

Urtica dioica’ın sığanda endotel kaynaklı hipotansif yanıt oluşturduğu, bunun endotelden NO salınması ve potasyum kanallarının açılması sonucu oluşan vazodilatasyona ve negatif inotropik etkiye bağlı olabileceği bildirilmiştir⁷⁵.

Kanama durdurucu amaçla kullanılan ABS’ nin tampon, sprey ve ampul formları ticari olarak bulunmaktadır.

Çizelge 2.1. 2 ml. ampul formundaki Ankaferd BloodStopper® içeriği. * kurutulmuş kök ekstresi, † kurutulmuş yaprak ekstresi, § kurutulmuş ot ekstresi.

Etken madde adı	Etken madde miktarı (mg)
Urtica dioica*	0,12
Vitis vinifera†	0,16
Glycyrrhiza glabra†	0,18
Alpinia officinarum†	0,14
Thymus vulgaris§	0,10

2.7.1. Etki Mekanizması:

Doku bütünlüğünün bozulduğu alana uygulandığında bölgede fibrinojen ve diğer protein moleküllerinin aglütinasyonunu sağlayarak bir protein ağı oluşturur. Bu ağ üzerinde eritrositler ve trombositler kümeleşirler ve özellikle eritrosit agregasyonu gerçekleşir. Böylece hemostaz sağlanır. Bu süreç sırasında pıhtılaşma faktörleri etkilenmez. Fizyolojik hemostatik süreç izlenir.

2.7.2. Cerrahi Girişimlerde Kullanımı:

Etki mekanizması kanıtlandıktan ve gerekli sterilite, iritabilite, stabilite ve toksisite testlerinin tamamlanmasının ardından insanlarda çeşitli cerrahi alanlarda ABS' nin kullanımına başlanmıştır. Ürün, eksternal kanamaların kontrolünde kullanılmak üzere ara ürün olarak T.C. Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü tarafından Mayıs 2007' de ruhsatlandırılmıştır.

Al ve ark.¹², in çalışmasında ABS' nin cilt ve cilt altı kesilerinde meydana gelen kanamanın kontrolü üzerine etkinliği araştırılmıştır. 69 hastada, tıbbi girişimler nedeniyle hemitoraksta yapılan standart insizyonlarda ABS ile, aynı boyuttaki steril tamponun etkinliği karşılaştırılmış, steril tampon kullanılan grupta kanama durana kadar geçen zaman 4 kat daha uzun bulunmuştur.

ABS' nin kalıtsal kan hastalıklarında kullanımı da ilgi konusu olmuştur. ABS' nin kanama diyatezi bakımından riskli bireylerde cerrahi girişimlerde kullanımına ait birçok çalışma bulunmaktadır. Hemofili A hastalığı bulunan vakalarda kullanımının diğer tedavi yöntemlerinin yetersiz kaldığı durumlarda başarılı sonuçlar verdiğini gösteren olgu sunumları bulunmaktadır¹². Bunun yanında Turgut ve ark. ve Alanoğlu ve ark.'in çalışmalarında von Willebrand hastalığı bulunan olgularda kullanımının başarılı

sonuçları mevcuttur. Ayrıca, afibrinojenemisi, kalıtsal trombositopenisi ve Glanzmann trombastenisi bulunan hastalarda kullanımının kanama durdurmada başarısını gösteren olgu bildirimleri bulunmaktadır¹².

ABS' nin kulak-burun-böğaz alanında da kullanımı mevcuttur. Karabulut ve ark.¹²'in çalışmasında ABS' nin nazal cerrahi sırasında ve sonrasında kanama kontrolü üzerine etkinliği araştırılmıştır. Randomize kontrollü olarak yapılan çalışmaya bilateral parsiyel alt konka rezeksiyonu uygulanan 20 hasta dahil edilmiştir.

Sağ veya sol taraf nazal pasaja ABS emdirilmiş polivinil asetal (Merocel) tampon uygulanırken diğer tarafa sadece Merocel tampon uygulanmıştır. ABS emdirilmiş Merocel tamponlar perioperatif ve postoperatif kanama üzerine Merocel tampondan daha etkili bulunmuştur. Tamponlar alındıktan sonraki kanama miktarı ve sıklığı ABS emdirilmiş tamponların kullanıldığı hastalarda Merocel tampona kıyasla istatistiksel olarak anlamlı oranda ($p<0,001$) daha düşük bulunmuştur. Ayrıca ABS kullanılan hastalarda 7. günde yara iyileşmesinin daha iyi olduğu gözlenmiştir¹².

2.7.3. ABS' nin Diş Hekimliğinde Kullanımı

Diş hekimliği uygulamalarında da sıklıkla karşılaşılan kanama problemine karşılık çeşitli kanama durdurucu uygulamalar bilinmekte ve halihazırda uygulanmaktadır. Bu amaçla kullanılan topikal durdurucular kollajen esaslı (Avitene®, D-Stat, Instat, CoStasis, Helistat), jelatin esaslı (Surgifoam, FloSeal, Gelfoam), selüloz esaslı (Surgicel, ActCel, BloodSTOP), albümin derive (BioGlue), polisakkarit esaslı (SyvekPatch, HemCon, Clo-Sur PAD, ChitoSeal, TraumaDex) ve fibrin esaslı (Tisseel, Evicel, Vivostat) olmak üzere birçok formda ve birçok ticari preparat halinde bulunabilir⁷⁶.

Hemostaz sağlama amacıyla ABS kullanımı da hem sağlıklı hastalarda hem de hematolojik açıdan problemlili hastalarda son yıllarda başvurulan bir yöntemdir. T.C. Sağlık Bakanlığı tarafından da dental girişimlerdeki kanama durdurucu etkisi kabul edilen ABS, protein ağ oluşturarak hemostaza katkı sağlamakta ve bu etkisini normal hemostatik sürece müdahale etmeden göstermektedir.

ABS' nin diş hekimliğinde kanama kontrolü amaçlı kullanımı son 10 yıl içinde rutin bir uygulama haline gelmiştir. Erçetin ve ark.'ın yaptıkları, medikal veya dental açıdan intraoral kanamaya elverişli hastalığı bulunan 25 hastanın dahil edildiği çalışmada, diş çekimi, subgingival küretaj ve gingivektomi gibi dental girişimler

uygulanmış, kanama durdurucu olarak ABS sprey şeklinde kullanılmıştır. Çalışma sonucunda topikal olarak 1-2 ml arasındaki dozda ABS uygulamasının çoğu hasta için yeterli olduğunu ve kanamanın uygulamayı takiben 1-3 sn arasında durduğunu bildirmişlerdir⁷⁷. Buna göre postoperatif dönemde uzun sürebilecek kanama riski taşıyan hastalarda uygulanan bu yöntem hemostaz sağlamada başarılı olmuştur.

Ak ve ark.'ın diş çekimi endikasyonu olan 30 hemofili hastasını içeren çalışmalarında; hastalar 2 gruba ayrılmış, gruplardan birine preoperatif ve postoperatif faktör replasman terapisi uygulanmış, 2. gruba ise yalnızca preoperatif faktör terapisi verilmiş, diş çekimini takiben ABS uygulamasının etkinliği değerlendirilmiştir. Ciddi düzeydeki hemofili hastalarının haricinde ABS kanama kontrolü sağlamada yeterli olmuştur. Çalışmanın sonucunda ABS' nin, hafif ve orta seviyedeki hemofili hastalarında kanama kontrolü için postoperatif replasman terapisine bir alternatif oluşturabileceği bildirilmiştir⁷⁸.

Aktaş ve ark.¹²'in bildirisinde etiyojisi bilinmeyen kronik karaciğer yetmezliği ve hipersplenizmi bulunan ve pansitopenisi olan hastada taze donmuş plazma ve vitamin K ile trombosit sayısı istenen seviyeye getirilememiştir. Üç farklı zamanda diş çekimi gerçekleştirilen hastada işlemler ABS varlığında yapılmıştır. Postoperatif kanama ve enfeksiyon görülmemiştir. Aktaş ve arkadaşlarının sunduğu, derin ven yetmezliği, protein C direnci ve trombosit fonksiyon bozukluğu gibi hemorajik ve trombotik yönde hemostaz bozuklukları bulunan diğer hastada ise hastanın diş çekim bölgesine yapılan topikal ABS uygulaması sonrası kanama problemi veya trombotik komplikasyon gelişmemiştir. Yara iyileşmesi üst düzeyde sağlanmıştır¹².

2.7.4. ABS' nin Diğer Etkileri

Kanama durdurucu primer etkisinin yanında ABS' nin antibakteriyel etkinliğinin üzerinde durulan çalışmalar da mevcuttur. ABS' nin in vitro olarak antimikrobiyal etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışmada ABS' nin gram (-) ve gram (+) mikroorganizmalara karşı etkin olduğu gösterilmiştir.

Berkaş ve ark.'ın yaptıkları başka bir in vitro çalışmada bakteri süspansiyonlarına eklenen ABS' nin etkinliği incelenmiş, takip süresinde hazırlanan suşların hiçbirisinde üreme gözlenmemiş, tam bir bakteriyolitik etki olduğu ortaya konulmuştur. Yine benzer bir çalışmada hastane enfeksiyonlarına karşı ABS' nin etkinliği kontrol antibiyotiği de kullanılarak ve bununla kıyaslanarak

değerlendirilmiştir. Çalışmada hastane enfeksiyonlarına en sık neden olan bakterilerden olan Metisilin Dirençli Staphylococcus aureus (MRSA), Enterococcus spp., Eschericia coli, Klebsiella spp., Acinetobacter spp. ve Pseudomonas spp. suşları kullanılmıştır. Sonuç olarak ABS' nin hastane enfeksiyonlarına karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu söylenmiştir. Buna ek olarak bu in vitro etkinin in vivo karşılıklarının test edilmesi gerektiği önerilmiştir⁷⁹.

Akkoç ve ark. çalışmalarında ABS' nin insan ve gıda patojenleri, gram pozitif ve gram negatif bakterilerden oluşan 26 indikatör suşa karşı antagonistik aktivitesini in vitro ortamda değerlendirmişler ve ABS' nin tüm suşlara karşı yüksek inhibisyon etkisinin bulunduğunu göstermişlerdir. Buna ek olarak ABS' nin bilinen hemostatik etkisine ek olarak antimikrobiyal özelliğinin de olabileceği söylenmiş ve farklı tipte gıda patojenlerinden korunma maksadıyla gıda koruyucu kullanım potansiyeline dikkat çekilmiştir⁷⁹.

ABS' nin antifungal etkinliğinin in vitro değerlendirildiği bir çalışmada Zygosaccharomyces bailii, Candida albicans, Mucor rouxii, Mucor brunnea, Aspergillus flavus ve Aspergillus parasiticus türü mantarlara karşı yüksek düzeyde antifungal etki gösterilmiştir^{12,79}.

ABS' nin kanser hücreleri üzerine etkisi de araştırılmaya başlanmıştır. İnsan kolon kanser hücrelerini temsil eden Caco-2 hücreleri çoğalması üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada, ilave edilen ABS oranına göre agregasyonun arttığı ve hücrelerin çoğalmasında doza bağlı inhibisyon ve insan kolon kanseri Caco-2 hücrelerinin in vitro ortamda canlılıklarında belirgin azalma olduğu gözlenmiştir. Benzer bir çalışmada in vitro ortamda osteosarkom (Saos-2) hücre dizilerine olan antikanser aktivitesi de benzer öncül sonuçlar vermiştir. Buna göre ABS' ye maruz bırakılan Caco-2 ve Saos-2 hücrelerinin in vitro ortamda adezyon özelliğini kaybettiği ve canlılık oranlarında belirgin azalma olduğu da tespit edilmiştir. ABS' nin antineoplastik etkilerinin hangi mekanizma ile geliştiği ileri in vitro ve in vivo çalışmalar ile ortaya konulması gerektiği sonucuna varılmıştır⁷⁹.

ABS' nin doku iyileşmesi üzerindeki etkileri de çalışma konusu olmuştur. Flep sağ kalımına ve sekonder yara iyileşmesi üzerine ABS' nin etkisinin değerlendirildiği, Yeşilada ve arkadaşlarının yürüttükleri deneysel bir sıçan çalışmasında ABS' nin flep nekroz oranını azalttığı ve flep sağ kalımını artırdığı, diğer bir çalışmada ise sırt ciltlerinde yara oluşturulan sıçanlarda sekonder yara iyileşmesini hızlandırdığı

gözlenmiştir^{12,79}. Yine Erçetin ve ark.'ın yaptıkları intraoral dental girişim içeren ve ABS sprey uygulanan çalışmada hastaların % 45' inde yara iyileşmesinin post-operatif 48. saatte beklenenden daha iyi olduğu sonucuna varılmıştır⁷⁷. Ayrıca ABS' nin hücrel ve vasküler proliferasyonu etkilemekte olduğu ve bu kombine etki ile doku beslenmesini arttırdığı bildirilmiştir^{12,79}.

2.7.5. ABS' nin Kemik İyileşmesiyle İlişkisi

Şu ana kadar yapılan çalışmalar arasında ABS' nin kemik iyileşmesine etkisini kesin olarak gösterebilen çalışma bulunmamaktadır. Literatürde bu yönde yapılan ilk çalışma Demircan ve ark.'ın^{12,73} erken dönem kemik dokusu iyileşmesine olan etkisini bir sıçan modeli üzerinde araştırdıkları çalışmadır. Bu çalışmada 16 adet Wistar Albino cinsi sıçan kullanılmış, deneklerin bilateral tibialarında 5 mm derinliğinde ve 3 mm genişliğinde standart defektler oluşturulmuştur. Bir taraftaki tibiaya ABS uygulanmış, diğer taraf kontrol grubu olarak kullanılmış ve defektlerin üzeri suture edilmiştir. 7 günlük takip sonucunda sakrifiye edilen deneklerde yapılan histopatolojik incelemeye göre; yeni kemik yapımı ABS kullanılan grupta anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu bulgulara göre ise ABS uygulamasının erken dönem kemik dokusu iyileşmesini olumlu yönde etkilediği görüşü savunulmuştur.

2.8. Cerrahi Olarak Oluşturulan Kemik Defektleri

Klinik çalışmalar kimi durumlarda kemik defektlerinin kendiliğinden iyileşebildiğini göstermişlerdir. Taze çekim soketi gibi bir defekt varlığında yerleştirilen implantlarda da başarılı sonuç gösteren çalışmalar mevcuttur^{46,80}. Buna göre boyun bölgesinde çevresel defekt varlığında dahi implantların sorunsuz osseointegrasyonundan söz edilebilir. Ancak bu durum defektin boyutuyla doğrudan ilişkilidir. Defekt boyutu arttıkça, herhangi bir ek girişim yapılmadığı takdirde, yeni oluşacak kemik miktarı azalacaktır.

Kritik boyutlu defekt, bir hayvanda herhangi bir osteopromotif materyal kullanılmadan yaşam boyu spontan olarak kemik yapımı ile iyileşme gösteremeyen en küçük boyutlu kemik yarası olarak tanımlanmaktadır. Bu tip defektlerde kemik iyileşmesinden çok, bağ dokusuyla dolun ve iyileşme eğilimi görülmektedir⁸¹.

Taga et al.'ın domuz kalvariyasında yaptıkları çalışmalarında trefan frezle 9 mm çapında kritik boyutta kemik defekti oluşturulmuştur. Kontrol grubunda spontan

iyileşme beklenmiş, deney grubunda ise defekt üzerine rezorbe olabilen membran yerleştirilmiştir. Hayvanlar 1, 3, 6 ve 9. aylarda sakrifiye edilmiş ve 6. ve 9. aylarda deney grubunda yeni oluşan örgü ve lameller kemik miktarı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde fazla bulunmuştur. Buna ek olarak deney grubuna ait bazı hayvanlardaki defektte tam kemik rejenerasyonu gözlenmiştir⁸².

Dental implantların etrafındaki dar defektlerde kemik grefti kullanımının gereksiz olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Ancak defekt boyutunun 1 mm' yi geçtiği durumlarda kemik-implant kontağı miktarı azalmaktadır⁴⁶. 1 mm' nin altındaki marjinal defektlerde greft kullanımının kemik implant kontağı değerinde anlamlı bir artışa yol açmadığı belirtilmiştir⁸⁰. Botticelli et al. köpeklerde yaptıkları deneysel çalışmada 1-1,25 mm' lik marjinal defektlerde kemik grefti kullanımının kemik oluşumunu arttırmadığını bildirmişlerdir⁴⁸. Polyzois et al.'ın yaptıkları deneysel çalışmada da 2,37 mm' lik geniş çevresel marjinal defektlerde kemik grefti kullanılarak yeni kemik oluşumunun artırılabilceği bildirilmiştir⁴⁶.

Abushahba et al.'ın köpeklerde yaptıkları deneysel çalışmalarında implant çevrelerinde oluşturulan standart 1,35 mm genişliğinde ve 5 mm derinliğinde defektler otojen greft veya sığır kaynaklı kemik mineral greftiyle (Bio-Oss®) augmented edilmiş, her iki greft materyalinin de sert doku oluşturma ve osseointegrasyonu artırıcı etkisi gösterilmiştir. Ayrıca kemik-implant kontağı da her iki grupta kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur⁴⁶.

Berglundh ve Lindhe 1997 yılında yaptıkları çalışmada, dişsiz köpek mandibulalarında oluşturdukları 5 mm. bukkolingual genişlik, 8 mm derinlik ve 40 mm mesiodistal uzunluğa sahip defektlere Bio-Oss yerleştirmişler, 3 ve 7. aylarda ksenogreftin iyileşmeye olumlu katkısı olduğunu göstermişlerdir⁸³.

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu bağ doku ve kemik defekti arasında fiziksel bir bariyer oluşturan cerrahi bir girişimdir. Osseöz defektlerde, implant yerleştirme öncesi alveoler sırt genişletmede, ekspoze olmuş implant yivleri varlığında bölgede kemik kazanımı amacıyla ve taze çekim soketlerine yerleştirilen implantların çevresindeki boşlukları doldurmada başvurulan bir yöntemdir. Bu teknikte kemik greftlerinin yanında veya tek başına bariyer membranlar kullanılmaktadır. Membranlar osteojenik özelliği olmayan yumuşak doku hücrelerinin defekt rejenerasyonuna katılmasını inhibe ederek ve bitişik kemik iliğindeki anjiojenik ve osteojenik hücrelerin defekti kemikle doldurmasına izin vererek faaliyet gösterirler.

Buser et. al.'ın domuz mandibulasında yaptıkları çalışmada otojen kemik grefti; kollajen sponge, DFDBA, TCP granül ve mercan kaynaklı HA greftlerle karşılaştırılmıştır. Angulus bölgesinde standardize eşkenar dörtgen şeklinde kemik defektleri oluşturulmuştur. Defekt boyutları, 10 mm yükseklik, 5-6 mm derinlik ve tabanda 12 mm, tepede 10 mm genişlik şeklinde belirlenmiştir. 4, 12 ve 24. haftalarda sakrifikasyonlar gerçekleştirilmiş, erken dönem iyileşmede en iyi sonuçları otojen greftler vermiştir. Degredasyon ve yeni kemikle yer değiştirme bakımından en iyi grubun ise TCP grubu olduğu gözlenmiştir⁸⁴.

Imbronito et al.'ın çalışmalarında rezorbe olabilen PLA membran ile rezorbe olmayan PTFE membranlar deneysel olarak karşılaştırılmıştır. Deney hayvanları olarak kullanılan köpeklerde bilateral olarak diş çekimleri yapılmış, 3 ay iyileşme beklendikten sonra 8 mm apiko-koronal, 12 mm mesio-distal boyutta defektler oluşturulup defektlerde farklı membranların kemik rejenerasyonuna etkisi değerlendirilmiştir. Sonuçta kontrol grubu olan tedavi edilmeyen defektlere göre PLA ve PTFE gruplarının her ikisinin de kemik iyileşmesinde üstünlüğü gösterilmiştir. Membranlar birbirleriyle kıyaslandığında benzer sonuçlara ulaşılmış, ikinci cerrahiden kaçınmak için rezorbe olabilen membranların kullanımının uygun olacağı savunulmuştur⁸⁵.

Nevins et al. geniş alveoler kemik defektlerinde bariyer membran kullanılmasının iyi sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir. Bu durum bariyer membran kullanıldığında yumuşak dokunun defekt içine büyümesinin engellenmesinden kaynaklanır. Defekt iyileşmesinde kullanılan membranın fiziksel özellikleri önemlidir. Kemik rejenerasyonu amacıyla defekt üzerine yerleştirilen membranlar bilindiği üzere rezorbe olan veya olmayan olarak iki tiptedirler. Rezorbe olan membranların zamanla inflamatuvar süreçle mekanik özelliklerini kaybetmeleri ve defekt üzerinde yeterli dayanıklılığı sağlayamamaları söz konusudur. Buna bağlı olarak defekti koruyamama ve istenmeyen çökmeler sonucu uygun kemik konturlarının sağlanamaması ortaya çıkabilecektir⁸⁶. Bu nedenle yumuşak olan rezorbe olan membranların defekt içine yerleştirilen kemik grefti ile desteklenmesi gerektiği söylenir. Öte yandan rezorbe olmayan membranların da dezavantajları bulunmaktadır. Membranlar aşırı rijit olduklarında operasyon sırasında manipülasyon problemlerini beraberlerinde getirirler. Buna ek olarak çıkarılmaları için ikinci cerrahi işlem gerektirmeleri hasta uyumunu azaltmaktadır⁴⁷.

2.9. Kemik Defektlerinin İyileşmesinde Kullanılan Kontrollü Salınım Yöntemleri

Doku mühendisliğindeki gelişmeler, travma veya patoloji nedeniyle kaybedilen dokuların yerine konulması amacıyla, sentetik ya da biyolojik matriks içine yerleştirilen büyüme faktörlerinin kemik rejenerasyonu amacıyla kullanılmasını gündeme getirmiştir. Bu yöntemle proteinlerin, makromoleküllerin, büyüme faktörlerinin, hormonların ve benzer materyallerin doku içine dağıtımını sağlanabilmektedir. Büyüme faktörlerinin yara ve kemik iyileşmesine olumlu etkilerini gösteren birçok çalışma mevcuttur⁸⁷⁻⁸⁹. Çalışmalar sonucu; uygulanan bu maddelerin ortamda mümkün olduğunca uzun süre bulundurulması tedavi edici etkilerinin en üst seviyeye çıkarılması amaçlanmıştır. Böylece sonraki dönemde yapılan çalışmalarla kontrollü yavaş salınım modelleri denenmiştir. Kontrollü yavaş salınım metodunda amaç fiziksel ve kimyasal engel oluşturarak etken maddenin ortama yayılımını geciktirmek ve böylece katabolizma ve karaciğer tutulumu nedeniyle ortaya çıkacak kısa serum yarılanma zamanının önüne geçmektir⁹⁰.

Taşıyıcı matriksler organik ve inorganik yapıda bulunabilirler. Organik yapıdaki taşıyıcı matriksler;

1. Demineralize kemik matriksi
2. Kollajen
3. Polimerler
4. Kollajen olmayan proteinler
5. Hidrojeller
6. Diğer organik matriksler olarak sayılabilir.

İnorganik taşıyıcı matriksler ise;

1. Hidroksiapatit
2. Trikalsiyum fosfat
3. Titanyum
4. Diğer inorganik matrikslerdir⁹⁰.

Geiger et al. kemik rejenerasyonu amacıyla kollajen sünger taşıyıcısı içerisinde rekombinant insan kemik morfojenik protein-2 (rhBMP-2) 'yi kullanırları

çalışmalarında ideal ilaç taşıyıcısının sahip olması gereken özellikleri sıralamışlardır. Buna göre taşıyıcı sistemde aranan özellikler;

- Biyouyumlu olması, düşük immünojenite ve antijenite göstermesi
- Biyoçözünür olması. (Kemik gelişimine izin verecek şekilde tahmin edilebilir süre içerisinde)
- Baskı ve gerilme stresine dayanıklılık
- Hücre invazyonu ve vaskülarizasyon için yeterli porözite (kollajen süngerler için geçerli)
- Steril halde bulunabilmesi
- Osteojenik aktiviteye katkı sağlayacak efektif dozdaki ilacın zaman içinde kontrollü salınması
- Operasyon bölgesine yerleştirilebilmesi
- Kolay hazırlanabilir olması olarak sayılmıştır⁹⁰⁻⁹².

Kontrollü salınım tıp ve diş hekimliği alanlarında yaygın şekilde kullanılmaktadır. Hori et al.'ın çalışmasında tavşanlarda korneal epitelyal defekt modelinde jelatin hidrojel taşıyıcı içerisine epitelyal büyüme faktörü (EGF) yüklenerek yara iyileşmesi değerlendirilmiştir. EGF' nin jelatin hidrojel içinde uygulanmasıyla uzun süren bir salınımın ortaya çıktığı ve yara iyileşmesinin hızlandığı rapor edilmiştir. EGF' nin günde 4-5 kez göz damlalayla topikal olarak uygulandığı durumdaki biyokonsantrasyonunun kontrollü salınımına göre daha düşük olduğu da belirtilmiştir^{93,94}.

Eczacılık, tıp ve gıda endüstrisi gibi alanlarda biyogüvenilir özelliği nedeniyle biodegrade olabilen jelatin taşıyıcı olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bir başka avantaj olarak da jelatinin ticari olarak bulunabilir olması sayılabilir^{95,96}. Yavaş salınım amacıyla birçok dağılım stratejisi geçmişte denenmiştir. Sentetik materyallerden, doğal polimerlerden ve hidroksiapatit bazlı partiküllerden oluşan nano veya mikro boyuttaki dağıtım araçları rapor edilen yöntemlerdendir^{97,98}. Bugüne kadar birçok farklı materyalin kontrollü salınımla etkinliği değerlendirilmiş, BMP-2, TGF- β , FGF gibi büyüme faktörlerinin kontrollü ilaç salınım metoduyla kullanımının osteojenik hücre farklılaşması ve kemik rejenerasyonunu artırıcı etkileri kanıtlanmıştır^{80,99,100}.

Kontrollü salınım metoduyla en sık çalışılan materyallerden birisi BMP' dir¹⁰¹. Farklılaşmamış kök hücrelerin osteoprogenitör hücrelere dönüşmesini sağlayan ve bu

etkisiyle kemik formasyonunu arttıran BMP, kemik fraktürlerinde rejenerasyon hızını arttırmaya gibi amaçlarla kullanılmaktadır. BMP' nin etkisini gösterebilmesi için doğrudan verilmesi uygun bir yol değildir. Kemik formasyon miktarı ve hızını arttırabilmek için BMP' nin kontrollü salınım metoduyla verilmesi gerekmektedir. Bu amaçla BMP' nin birçok taşıyıcı içerisinde uygulandığı bilinmektedir. BMP' nin, kollajen,β-TCP, laktid glikolid kopolimerler, etilen glikol laktik asid kopolimer gibi biyorezorbe olabilen taşıyıcılar ile kombine kullanımını gösteren çalışmalar literatürde mevcuttur⁸⁰.

BMP-2' nin kontrollü salınım metoduyla kullanılarak segmental kemik defektlerinde kemik kazanımı açısından etkinliğinin değerlendirildiği Yamamoto et al.'in çalışmasında 20 mm' lik kritik boyuttaki kemik defektlerine BMP-2 taşıyan biyoçözünür jelatin hidrojeller yerleştirilmiş, histolojik inceleme sonucunda BMP-2 yüklü jelatin grubunda serbest BMP-2 grubuna göre daha yüksek osteoindüksiyon aktivitesi gözlemlendiği rapor edilmiştir^{80,102}.

Wang et al.'in çalışmalarında osteonekrozdaki etkilerini değerlendirmek için rhBMP-2 kontrollü salınım metoduyla uygulanmıştır. Çalışmada; optimal dozu (20ng/ml) in vitro ortamda önceden kanıtlanan rhBMP-2 3 farklı şekilde [Poli(laktik-ko-glikolik asit)] PLGA/HA mikroküreciklere yüklenmiş, osteonekrotik fare modelinde uygulanmıştır. Sonuçta, 3 taşıyıcı grubun her birinden salınan rhBMP-2 biyoaktivite göstermiş ve in vivo ortamda yeni kemik formasyonu ve nekrotik kemiğin iyileşmesi gözlemlenmiştir. Nekrotik kemiğin yeni kallusla sarıldığı ve içerisine doğru yeni damarların oluştuğu bildirilmiştir. Çalışmada, yüksek dozdaki rhBMP-2 greftinin (INFUSE; Medtronic Sofamor Danek, Minneapolis, MN) tek seferde verilmesi sonucu yüksek klinik komplikasyon oranı rapor edildiği söylenmiş¹⁰³, bu nedenle doğru dozun uygun zaman aralığında verilmesiyle komplikasyon oranının azaltılması amaçlanmıştır¹⁰⁴.

Polimerler sentetik taşıyıcılardır. Biyoemilebilir özellikte ve granül, pelet, mum, küre, sıvı gibi çok çeşitli şekillerde hazırlanabilmektedirler. Poliglikolik asit, poli(D,L-laktid), poli(D,L-laktik asit), poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA), poli-D,L-laktik asit-poli-etilen glikol, polifosfat gibi birçok farklı polimer ve bunların jelatin süngerlerle, kollajen olmayan proteinlerle kombinasyonu çeşitli çalışmalarda denenmiştir^{90,105}.

Polilaktidin emici stabilitesini ve poliglikolidin mekanik direncini birleştiren PLGA bir taşıyıcı olarak yüksek kabul görmüştür. Klinik performansını değiştirebilecek çeşitli şekillerde hazırlanabilir. Örneğin; PLGA' nın rezorbsiyon oranı kristalliğinden, laktik ve glikolik asit oranından, asitlerin kütle oranlarından, moleküler ağırlık

dağılımından ve malzemenin pöröz, partiküllü ya da blok gibi fiziksel özelliklerde bulunmasından etkilenmektedir⁹⁰. PLGA'ın rezorbsiyonu hidrolitik degradasyonla olur. In situ değerlendirmede zaman içerisinde ortamın pH değerinde düşüş ve asidik degradasyon ürünlerinin oluşumu görülür. pH'ın bu düşüşün ilk üç gün daha hızlı olduğu, bunun da PLGA'ın hızlı degradasyon karakterinden kaynaklandığı bildirilmiştir^{97,106}.

PLGA kontrollü ilaç salınımı amacıyla sık kullanılan bir materyaldir. Shim et al.'ın, bir adrenal androjen olan Dehidroepiandrosteron-sülfatı (DHEA-S) yavaş salınımla uyguladıkları ve artiküler kartilaj defektlerinin iyileşmesi üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında PLGA taşıyıcı olarak kullanılmıştır. Çalışmada, PLGA gibi polimerlerin, biyouyumlulukları, biyoçözünürlükleri ve mikrokapsül, pöröz iskelet, kalıp veya film tabakaları gibi çok çeşitli formlarda kolaylıkla üretilebilmeleri gibi özelliklerinden dolayı son derece kullanışlı oldukları belirtilmiştir. Çalışma sonucunda; kontrollü salınım yöntemiyle uygulanan DHEA-S' nin kartilaj defektlerinin iyileşmesinde olumlu katkısının olduğu, yöntemin kullanılabilir ve etkili olduğu sonucuna varmışlardır. Ayrıca defektlerde 8. hafta sonunda yerleştirilen polimerik implanta rastlanmadığı söylenmiş, bu durum degradasyon sayesinde polimerin bölgede tamamen çözünmesiyle açıklanmış ve bunun da artan polimerin bölgede inflamasyona yol açma riskinin ortadan kalkması anlamına geldiği belirtilmiştir¹⁰⁷.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ABS Yüklennmiş Jelatin Mikrokürelerin Hazırlanması

Mikrokürelerin laboratuvar ortamında hazırlanması amacıyla solventin buharlaştırıldığı çift emülsiyon yöntemi kullanıldı^{97,108}. İlk olarak 0,6 ml Diklorometan (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Almanya) ve 60 mg PLGA (50:50) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Almanya) içeren polimer çözeltisi içerisinde (%10, w/v) biyoaktif ajan olarak 0,4 ml ABS eklenip oluşan karışım 50 W güçte 15 sn ultrasonikasyon yapıldı. Bu ilk emülsiyon 2 ml Polivinil alkole (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Almanya) (%4, w/v) eklenip sonikasyon tekrarlandı. Daha sonra, elde edilen bu çift emülsiyon, düşük derişimde polivinil alkole (50 ml, %0,3 [w/v]) eklenip bir gecelik sürekli karıştırma yoluyla organik solvent uzaklaştırıldı. Elde edilen küreler 2 defa Tris-HCl (10 mM, pH: 7.4) çözeltisiyle yıkandıktan sonra liyofilize edildi.

3.2. Cerrahi Yöntem

Bu çalışmada kullanılan deney hayvanları için Ç.Ü. Tıbbi Etik ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi'nden onay alındı. Çalışmada 20±5 kg ağırlığında, 4,5 ay büyüklüğünde 9 adet erkek Suiss cinsi domuz kullanıldı.

Deneklere intramuskuler (im) olarak 20 mg/kg ketamin (Alfamine[®], Egevet, İzmir, Türkiye) ve 2 mg/kg ksilazin (Alfazyne[®], Egevet, İzmir, Türkiye) kombinasyon anestezi uygulandı. Sedasyon sağlandıktan sonra 5 mg/kg tiyopentol sodyum (Pental Sodyum[®], İbrahim Etem, İstanbul, Türkiye) intravenöz (iv) uygulanıp sedasyon derinleştirilerek kontrollü infüzyon ile devam ettirildi. Hayvanlara yara ve ağrı profilaksisi amacıyla profilaktik perioperatif 500 mg sefalasporin (Iespor[®], İ.E. Ulagay, İstanbul, Türkiye) ve 500 mg metamizol sodyum (Novalgin[®], Aventis, İstanbul, Türkiye) im yoldan verildi.

Operasyon bölgesi olarak belirlenen mandibuler kemiğin gövde (korpus) ve ramus bölümündeki tüyler tıraş edildi. Cerrahi saha merkezden periferde doğru povidon-iyodin (Biokadin[®], Biokan, İstanbul, Türkiye) ile boyanıp mandibuler kemiğin alt sınırı palpe edildikten sonra bu referans noktasının 2 cm medialinden 4 cm uzunluğunda

horizontal insizyon yapıldı (Şekil 3.1). İnsizyon dikkatle tamamlandıktan sonra mukoperiosteal tam kalınlıktaki flep nazıkçe eleve edildi (Şekil 3.2).



Şekil 3.1 Operasyon sahasının hazırlanması.



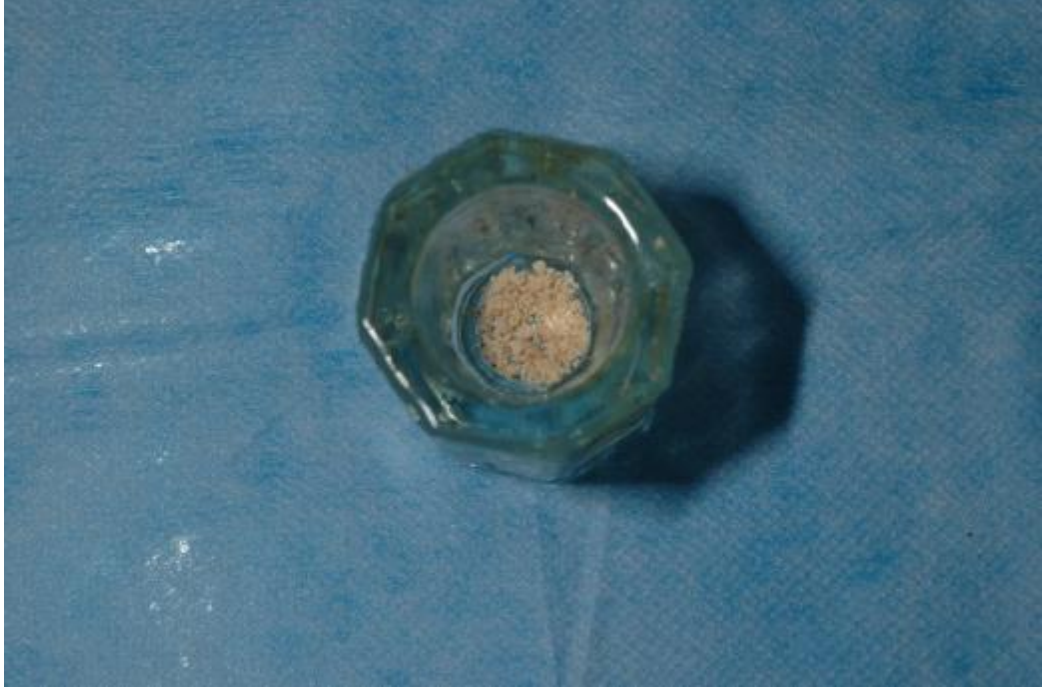
Şekil 3.2 Tam kalınlık flep ve subkutan dokuların diseksiyonu sonucu mandibuler bazisin açığa çıkarılması.

Mandibuler kemiğinin gövde bölgesinde, lateralden yaklaşılarak, her hayvanda 3' er adet olacak şekilde 5 mm derinliğinde ve 10 mm çapında silindirik defektler oluşturuldu. Defektler arasında 4 mm mesafe bırakıldı. Tüm eş boyutlu defektler bu amaç için tasarlanmış tek bir boyuttaki trefan frez ile açıldı. Deney hayvanlarının her birinde defektlerden biri boş bırakıldı. 2. sıradaki defektlere gödede geleneksel olarak karıştırılmış ABS (0,3 ml/defekt) ve sığır kaynaklı anorganik kemik grefti (Integros Boneplus-xs[®], Integros Sağlık Ürünleri Ar-Ge İmalat, İthalat, İhracat, San. ve Tic. Ltd. Şti., Adana, Türkiye) (0,3 cc/defekt) yerleştirilerek defekt dolduruldu (Şekil 3.3). Yerleştirilen greft granül formundadır, partikül boyutu 0,25 – 0,5 mm aralığındadır.



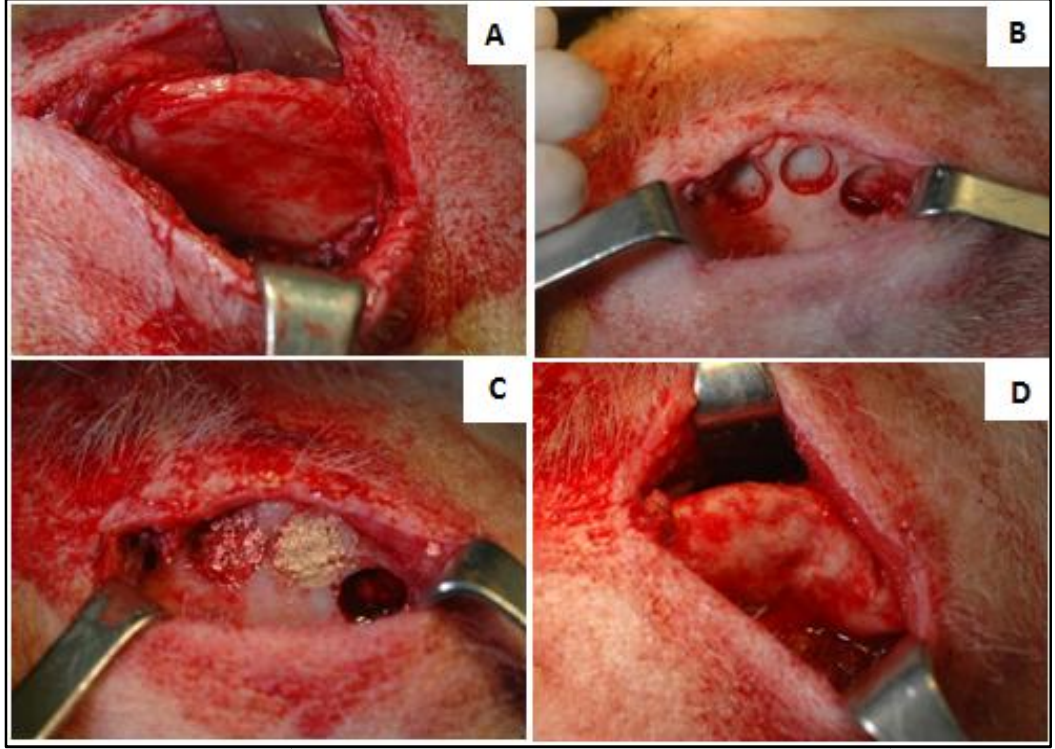
Şekil 3.3 Sığır kaynaklı anorganik kemik grefti ve kanama durdurucu bitki ekstresinin gödede karıştırılması.

Geriye kalan 3. defektler ise daha önce steril koşullarda hazırlanmış ABS (0,3 ml/defekt) yüklü mikrokürecikler ve sığır kaynaklı anorganik greft (0,3 cc/defekt) karışımı ile dolduruldu (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 Steril koşullarda hazırlanmış ABS yüklü mikroküreciklerin görüntüsü.

Her 3 defektin de üzerine 30x40x0,5 mm boyutlarında domuz kaynaklı, rezorbe olabilen kollajen membran (Theraform[®], Sewon Cellontech Co., Ltd., Kore) örtüldü (Şekil 3.5).



Şekil 3.5 Tam kalınlık flep kaldırıldıktan sonra mandibulanın lateralinde operasyon sahasının hazırlanması (A). 10 mm çaplı trefan frez ile eş boyutlu defektlerin oluşturulması (B). Solda ABS yüklenmiş mikroküre ve ksenogreft karışımıyla, ortada ABS solüsyonu ve ksenogreft karışımıyla doldurulan ve sağda boş bırakılan defektler (C). Tüm defektlerin üzerlerinin kollajen membranla örtülmesi (D).

İşlemler bitirildikten sonra flepler rezorbe olabilen 3.0 suture ile primer kapatılarak suture edildi. Bu işlemler sonucunda çalışmada 3 grup ortaya çıkmıştır:

1. Grup: Cerrahi olarak oluşturulan kemik defekti boş bırakılarak kollajen membranla örtülmüştür. (Kontrol grubu)
2. Grup: Cerrahi olarak oluşturulan kemik defekti ABS ve ABB karıştırılarak doldurulmuş ve üzerine bariyer olarak kollajen membranın örtülmüştür. (Geleneksel grup)
3. Grup: Cerrahi olarak oluşturulan kemik defekti ABS içeren mikrokürecikler ve sığır kaynaklı anorganik kemik grefti ile doldurulduktan sonra kollajen membran ile örtülmüştür. (Mikroküre grubu)

Buna göre; geleneksel grupta her defekte 0,3 cc sığır kaynaklı kemik grefti bulunmaktadır. Graft 0,3 ml ABS ile ıslatılarak hazırlandı. Mikroküre grubunda her defekte 0,3 cc kemik grefti ve 0,3 ml ABS yüklenmiş mikroküre bulunmaktadır.

Operasyon sonrası olası enfeksiyonu engellemek için tüm hayvanlara 500 mg sefalosporin (Iespor[®], İ.E. Ulagay, İstanbul, Türkiye) 1x1, ağrı proflaksisi için 1x1 500 mg metamizol sodyum (Novalgine[®], Aventis, İstanbul, Türkiye) 3 gün boyunca im yolla uygulandı. Deney hayvanları daha önce hazırlanan uygun ortam koşullarının sağlandığı barınaklarda 10 haftalık iyileşme periyotlarını geçirmişlerdir. Hayvanların tümünde iyileşme sorunsuz olmuştur.

Hayvanlar operasyondan sonraki 10. haftada, ketamin-ksilazin kombinasyonu ile sedasyon sağlandıktan sonra yüksek dozda tiyopental sodyum ile sakrifiye edildi. Bu aşamada hayvanların mandibulalarının greftlenen ilgili kısımları cerrahi olarak kesilip çıkarıldı.

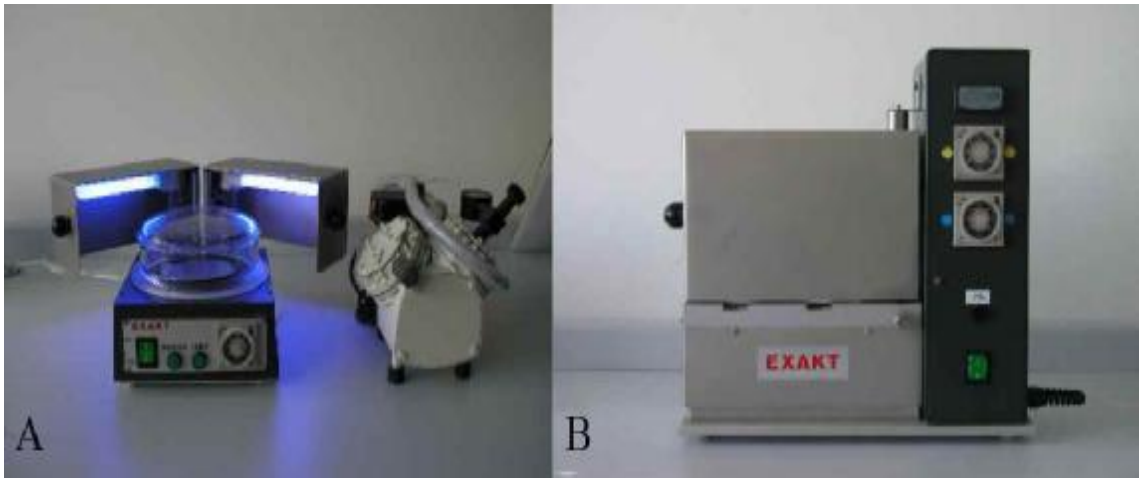
3.3. Histolojik Değerlendirme Ve Histomorfometri İçin Kesitlerin Hazırlanması

Hayvanların sakrifikasyonunu takiben çıkarılan mandibulalarından alınan örnekler dekalsifiye edilmemiş kesit hazırlama metoduna göre histolojik değerlendirme için hazırlandı¹⁰⁹. Greftlenen defektler çevresinde bir miktar ana kemiği de içerecek şekilde blok halinde çıkarıldıktan sonra % 4 ' lük tamponlanmış formalin solüsyonunda en az 24 saat süreyle bekletildi. Bu fiksasyon işleminden sonra tüm örnekler sırasıyla % 70, % 80, % 90, % 96 ve % 99 derişimindeki alkol havuzlarında birer gün süreyle bekletilerek dehidratasyon işlemi gerçekleştirildi¹¹⁰ (Şekil 3.6).



Şekil 3.6 Vakumlu dehidratasyon ve infiltrasyon ünitesi.

Örnekler dehidrate edildikten sonra metil metakrilat rezin (Technovit 7200 VLC, Kulzer & Co, Wehrheim, Almanya) içerisinde 24 saat bekletilerek vakum altında infiltre edildi. İnfiltrasyonu tamamlanmış örnekler metil metakrilat (Technovit 7200 VLC, Kulzer & Co, Wehrheim, Almanya) ile doldurulmuş şeffaf plastik kalıplara hava kabarcığı kalmayacak şekilde teker teker gömüldü. Her birinde bir örnek bulunan kalıplar 40°C’ da 450 nm dalga boyundaki ışık altında 8 saat süreyle polimerize edildi (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Vakumlu infiltrasyon ünitesi (A), Işıklı polimerizasyon ünitesi (B).

Polimerizasyon işlemi tamamlandıktan sonra örnekler şeffaf kutucuklardan çıkartıldı. Örnekleri içeren şeffaf metil metakrilat rezin blokların düz olan alt yüzeyleri pleksiglas lam üzerine Technovit 7210 VLC (Kulzer & CO. GmbH, Friedrichsdorf, Almanya) kullanılarak vakum altında yapıştırıldı (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Pleksiglas yapıştırma ünitesi.

Pleksiglas lam üzerindeki örnekler hassas kesme cihazına bağlı elmas testere (Exakt 300 CL, Exakt Apparaturbau, Norderstad, Almanya) ile 300 µm kalınlığında kesildi (Şekil 3.9).



Şekil 3.9 Exakt 300 CP Hassas Kesme Sistemi.

Bu ilk kesme işlemleri longitudinal doğrultuda yapıldı. Bu kesitler mikro aşındırma sisteminde (Exakt 400 CS, Exakt Apparabau, Norderstad, Almanya) sırasıyla 1000, 1200 ve 2500 gridlik zımparalar kullanılarak 100 μm ' ye kadar inceltildi (Şekil 3.10). Bu yöntemle her bir örnekten ikişer adet histolojik kesit elde edildi. Bu kesitler Donath ve Breuner' in¹⁰⁹ önerdiği yöneme bağlı kalınarak toluidin mavisi ile boyandı. Boyanan histolojik preparatlar bir gece kuruma için bekletildikten sonra örnek yüzeyleri metil metakrilat kullanılarak lamel ile örtüldü.



Şekil 3.10 Exakt 400 CS Mikroaşındırma Sistemi.

Işık mikroskobuna (Olympus® BX50, Tokyo, Japan) bağlı dijital kamera (Olympus® DP 70, Tokyo, Japan) ile tüm örneklerin 4x büyütmede dijital görüntüleri alındı. WinTAS görüntü analiz programından (WinTAS Trabecular Analyze System, version 1.2.9) yararlanılarak total sert doku yüzdesi, yeni oluşan kemik yüzdesi, rezidüel greft yüzdesi ölçümleri ve histolojik analiz yapıldı (Şekil 3.11).



Şekil 3.11 Histomorfometrik analiz istasyonu.

Analiz aşamasında aşağıdaki parametreler değerlendirildi:

1. Defekt içindeki total kemik yüzdesi (defekt içindeki rezidüel greft ve yeni oluşan kemiğin oluşturduğu toplam sert doku alanının tüm defekt alanına oranı) (Total sert doku)
2. Defekt içindeki yeni oluşan kemik yüzdesi (defekt içindeki yeni oluşan kemik alanının tüm defekt alanına oranı) (Yeni oluşan kemik)
3. Defekt içindeki rezidüel (rezorbe olmadan kalan) greft yüzdesi (defekt içindeki greft alanının tüm defekt alanına oranı) (Rezidüel greft)

3.4. Verilerin İstatistiksel Analizi

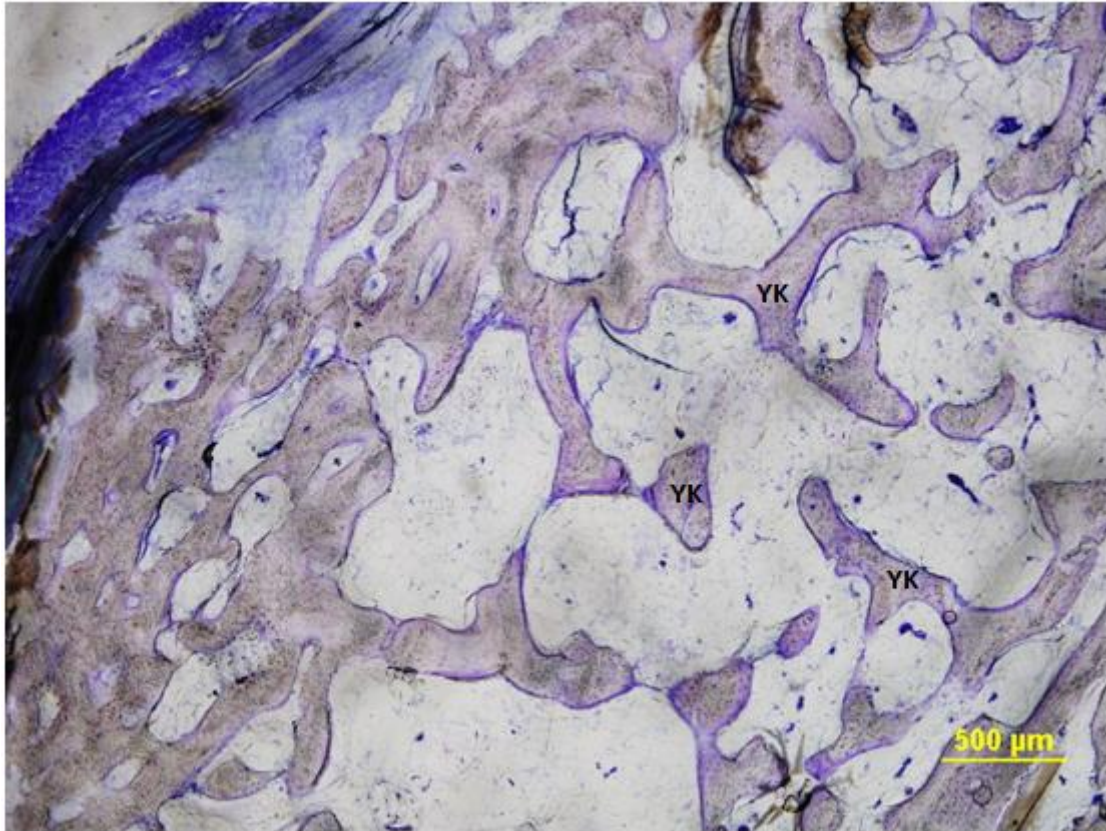
Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 19.0 paket programı kullanıldı. Total sert doku, yeni oluşan kemik ve rezidüel greft yüzdeleri değerleri; ortalama, standart sapma, ortanca, minimum ve maksimum olarak özetlendi. Normal dağılım göstermeyen sayısal ölçümlerin iki grup arasında karşılaştırmasında Mann Whitney U testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen sayısal ölçümlerin ikiden fazla grup arasında genel karşılaştırmasında Kruskal Wallis testi kullanıldı. Çoklu karşılaştırma düzeltmesi olarak

Bonferroni düzeltmesi uygulandı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0,05 olarak alındı.

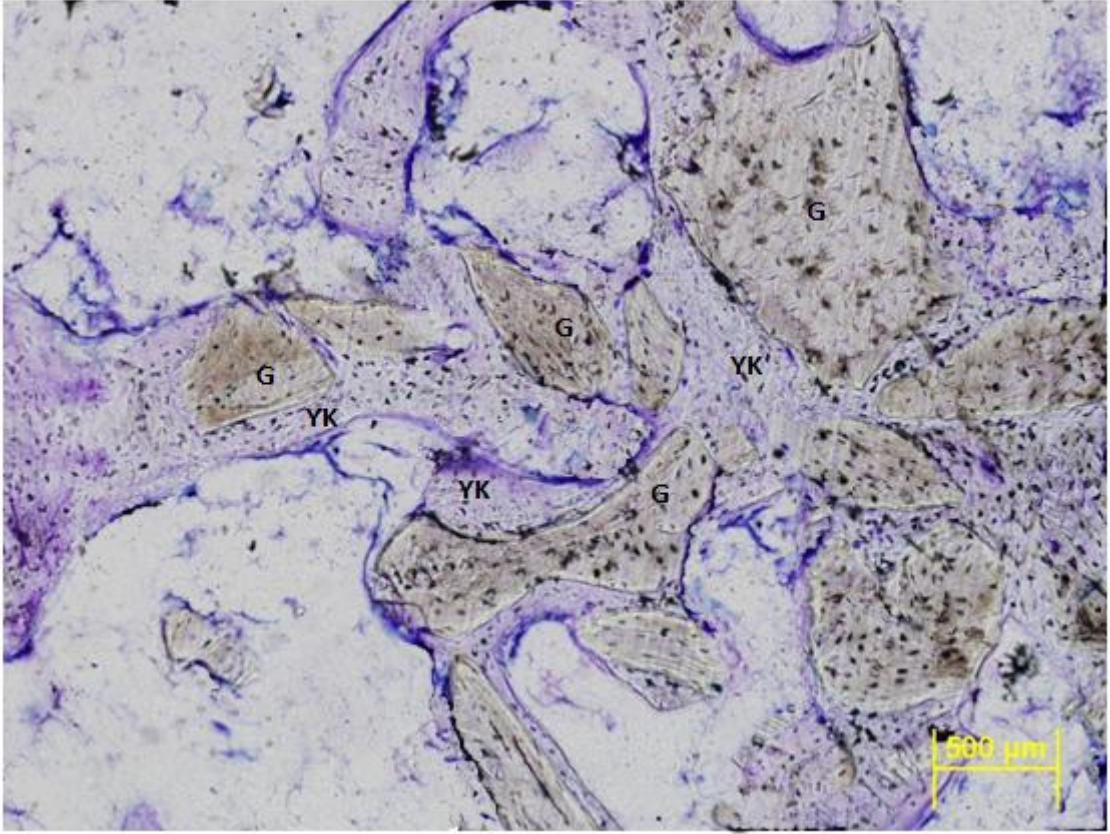
4. BULGULAR

Hayvanlar 10 hafta boyunca takip edildi, iyileşme tüm hayvanlarda sorunsuz gerçekleşti. İyileşme süresi boyunca yara dehisensi veya membran ekspozuna rastlanmadı. Sakrifikasyon aşamasında operasyon sahalarında makroskopik olarak kemik oluşumu izlendi, ayrıca kollajen membranın tamamen rezorbe olduğu görüldü. Daha önce belirtilen yöntemlerle histolojik kesitler hazırlanarak histomorfometrik analizler yapıldı.

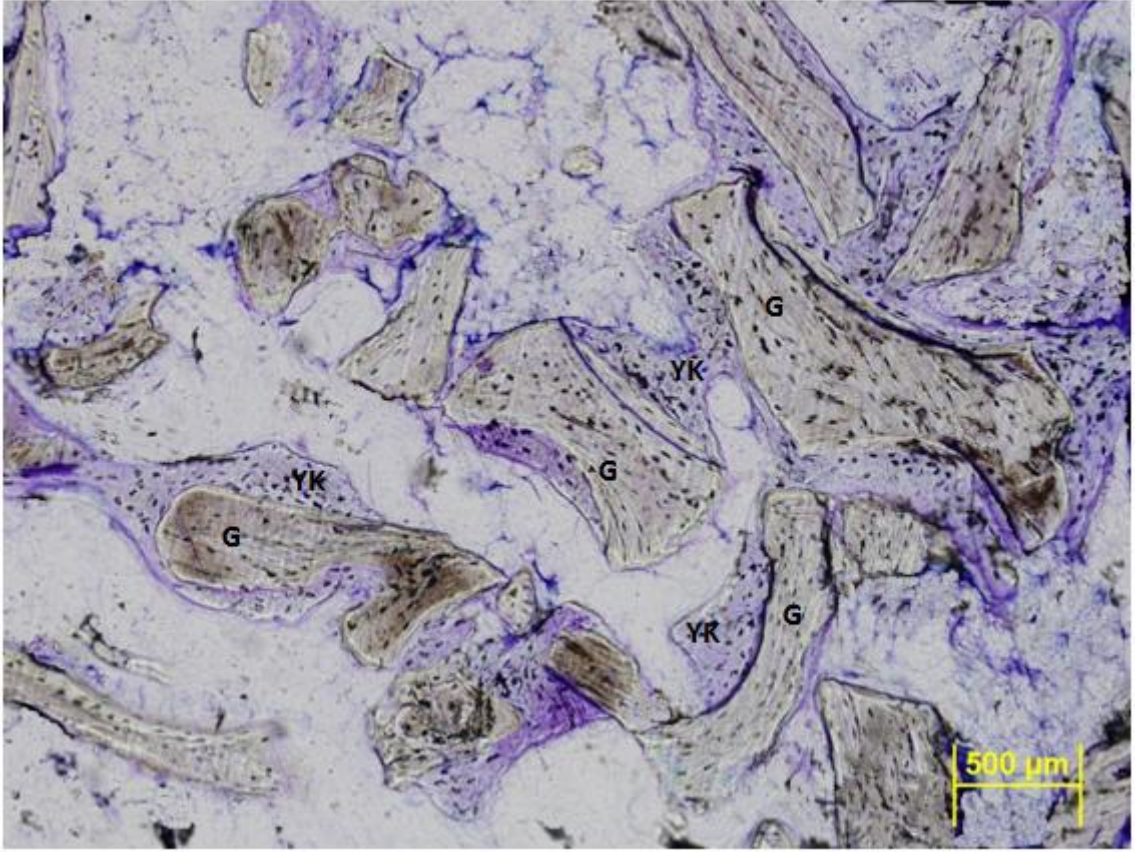
Histolojik olarak, 10 haftalık iyileşme sonunda geleneksel grup ile mikroküre grubunda rezidüel sığır kaynaklı ksenogreft partiküllerine rastlandı. 10. hafta sonunda kontrol, geleneksel ve mikroküre gruplarının her birinde yeni kemik oluşumu saptandı (Şekil 4.1, 4.2, 4.3).



Şekil 4.1 10 haftalık iyileşme sonunda kontrol grubunu gösteren bir kesit. YK: yeni oluşan kemik. Toluidin mavisi, 4x.



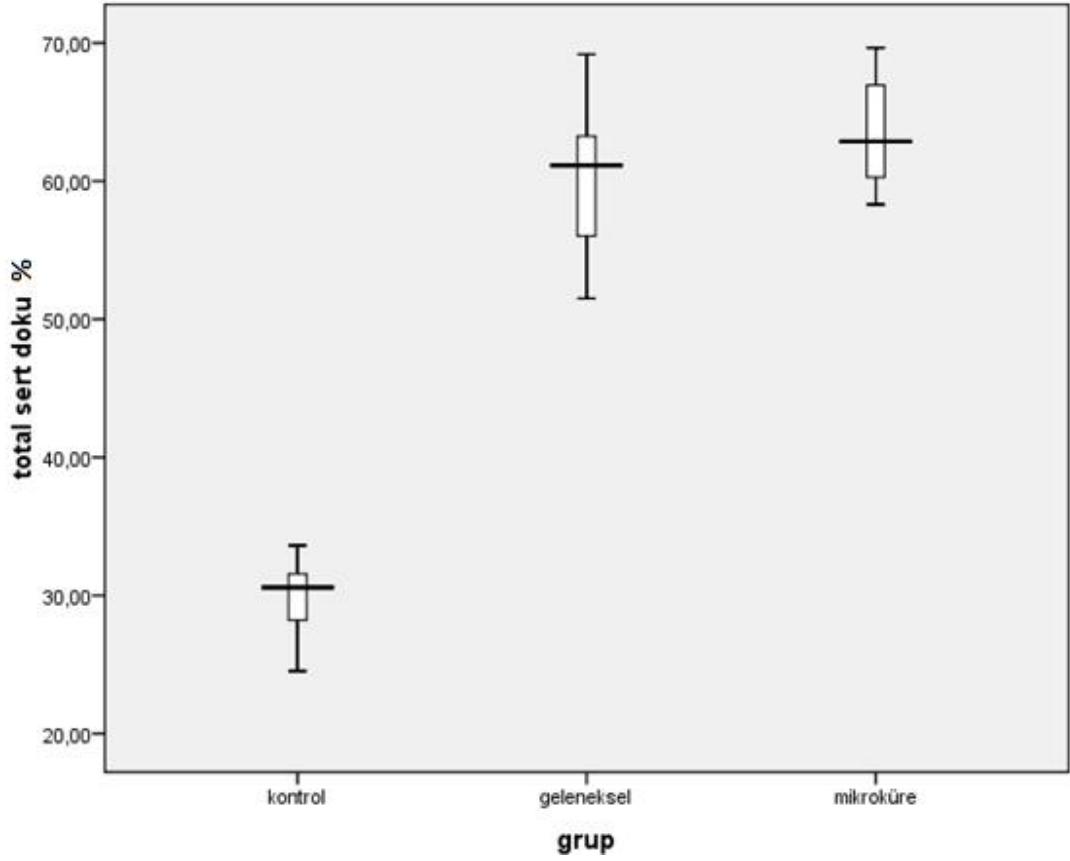
Şekil 4.2 10 haftalık iyileşme sonunda geleneksel grubu gösteren bir kesit. G: rezidüel greft, YK: yeni oluşan kemik. Toluidin mavisi, 10x.



Şekil 4.3 10 haftalık iyileşme sonunda mikroküre grubunu gösteren bir kesit. G: rezidüel greft, YK: yeni oluşan kemik. Toluidin mavisi, 10x.

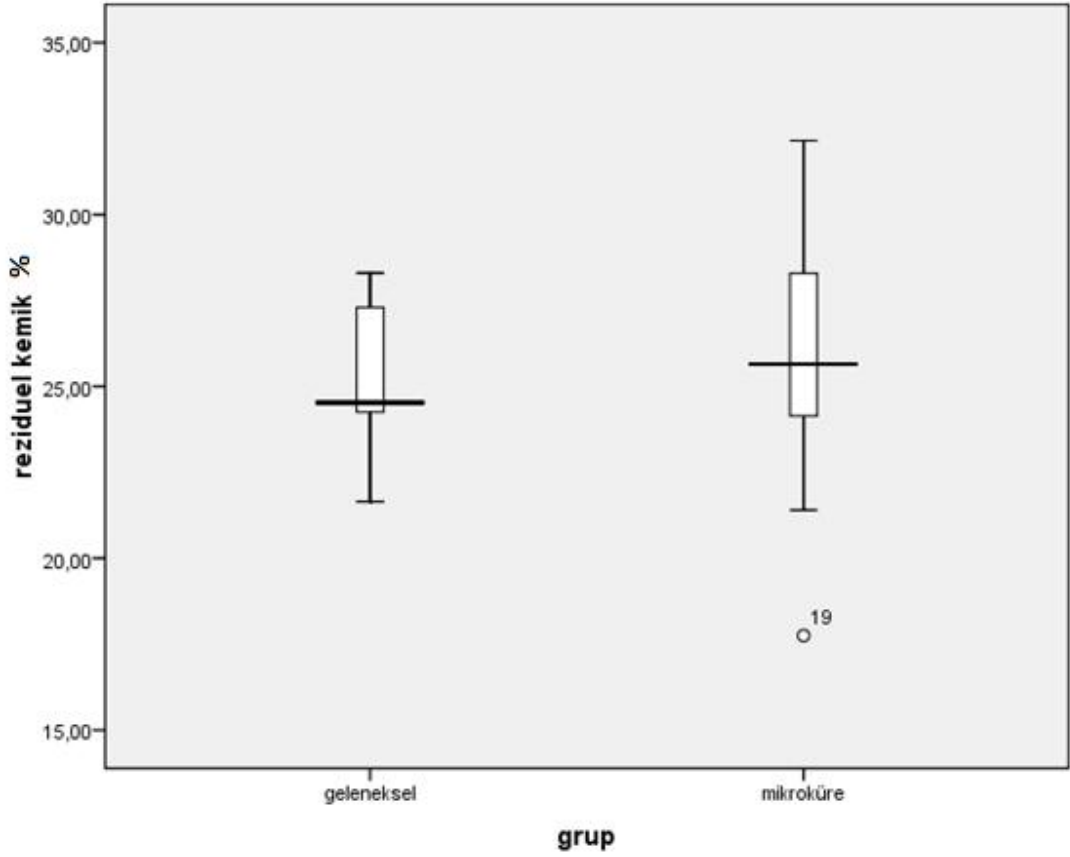
4.1. Histomorfometrik Analiz

Kemik defektlerinin her birinde total sert doku yüzdeleri ölçüldü. Kontrol grubunda ortalama total sert doku yüzdesi % $29,54 \pm 3,2$ iken geleneksel grupta bu değer % $59,78 \pm 5,4$ ve mikroküre grubunda % $63,67 \pm 4,2$ olarak hesaplandı. Kontrol grubu ile geleneksel grup arasında ($p < 0,001$) ve kontrol grubu ile mikroküre grubu arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$). Geleneksel grup ile mikroküre grubu arasında total sert doku yüzdesi bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (Şekil 4.4) ($p = 0,217$). Total sert doku yüzdelerinin tüm gruplar arasında karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi uygulandı, bu teste göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0,001$).



Şekil 4.4. Total sert doku yüzdesi; kontrol grubu ile diğer iki grup arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$).

Geleneksel ve mikroküre grupları için defektler içerisindeki rezidüel anorganik sığır kaynaklı greft yüzdesi ortalamaları hesaplandı. Geleneksel grupta rezidüel greft oranı $\% 24,99 \pm 2,4$ iken mikroküre grubunda bu oran $\% 25,71 \pm 4,4$ olarak ölçüldü. Geleneksel grup ile mikroküre grubu arasında rezidüel greft yüzdeleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (Şekil 4.5) ($p = 0,730$)

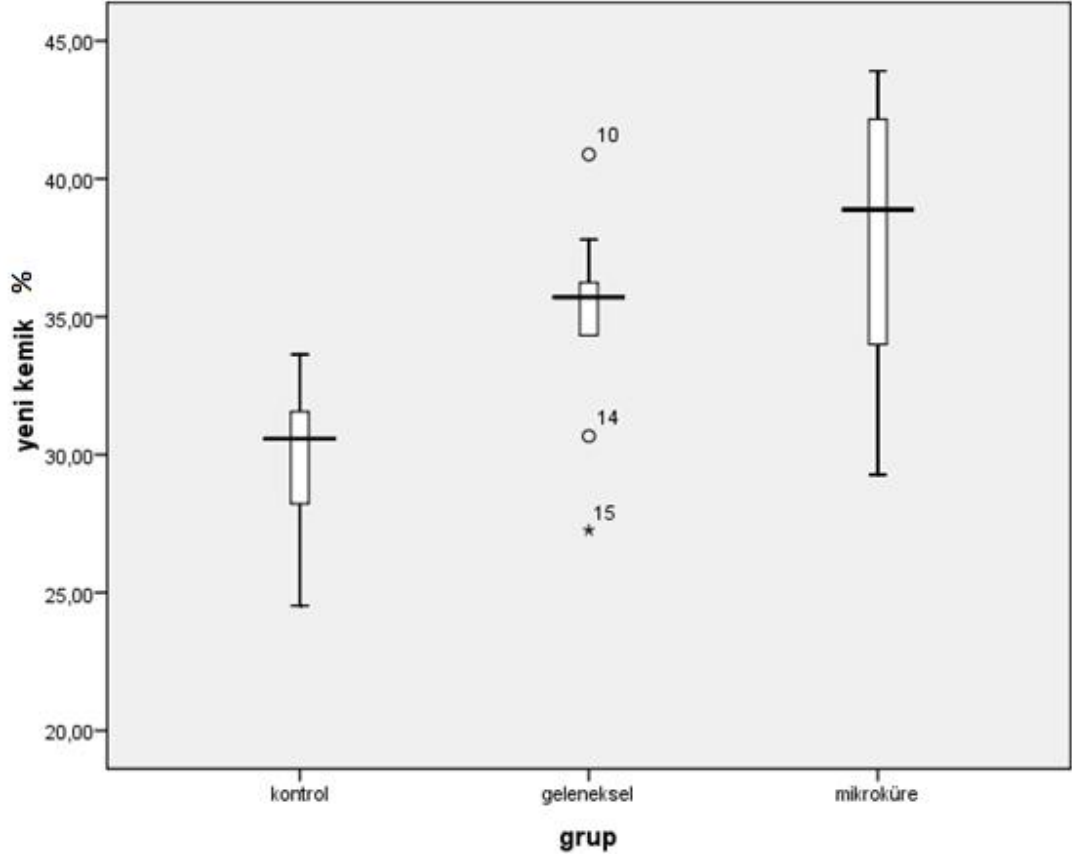


Şekil 4.5. Defekt içinde rezorbe olmadan kalan (rezidüel) greft yüzdesi; geleneksel ve mikroküre grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0,730).

Her üç grup için yeni oluşan kemik değerleri, kontrol grubu için % $29,54 \pm 3,2$; geleneksel grupta % $34,79 \pm 3,9$ ve mikroküre grubunda % $37,95 \pm 5,3$ olarak hesaplandı (Çizelge 4.1). Yeni oluşan kemik yüzdeleri bakımından kontrol ile geleneksel gruplar arasında ($p=0,047$) ve kontrol ile mikroküre grupları arasında ($p=0,001$) istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Şekil 4.6). Yeni oluşan kemik yüzdelerinin tüm gruplar arasında karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi uygulandı, bu teste göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,003$).

Çizelge 4.1. Tüm gruplardaki rezidüel greft, yeni oluşan kemik ve total sert doku yüzdeleri.

	Gruplar			P	PKG	PKM	PGM
	Kontrol Ort.±SS Median(min/max)	Geleneksel Ort.±SS Median(min/max)	Mikroküre Ort.±SS Median(min/max)				
Rezidüel greft %		24,99±2,40 24,53(21,65/28,30)	25,71±4,45 25,65(17,75/32,15)				0,730
Yeni oluşan kemik %	29,54±3,22 30,58(24,53/33,63)	34,79±3,93 35,71(27,26/40,88)	37,95±5,39 38,88(29,27/43,91)	0,003	0,047	0,001	0,389
Total sert doku %	29,54±3,22 30,58(24,53/33,63)	59,78±5,45 61,13(51,51/69,18)	63,67±4,20 62,88(58,31/69,64)	<0,001	<0,001	<0,001	0,217



Şekil 4.6. Yeni oluşan kemik yüzdesi; kontrol grubu ile geleneksel grup arasındaki ($p=0,047$) ve kontrol grubu ile mikroküre grubu arasındaki ($p=0,001$) farklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda cerrahi olarak oluşturulan defektlerde sığır kaynaklı anorganik kemik grefti ve polimer esaslı mikroküreler içine yerleştirilmiş kanama durdurucu bitki ekstresinin birlikte kullanımının kemik iyileşmesi üzerine etkisi incelenmiştir. Araştırmamız; sıçan modelinde, 7 günlük takip sonuçlarına göre erken dönem kemik iyileşmesini olumlu yönde etkilediği savunulan^{12,73} ABS' nin kontrollü yavaş salınım metodu yoluyla ve sığır kaynaklı anorganik kemik greftiyle kombine kullanıldığı ilk çalışmadır.

İleri derecede rezorbsiyon gösteren dişsiz alveoler kretlerin varlığında, açık veya kapalı diş çekimlerini takiben, periapikal cerrahi işlemler sonrasında, kemik fraktürü tedavileri sırasında ve kist operasyonları sırasında ve sonrasında yeni kemik oluşumunu arttırarak sonradan yapılması planlanan konvansiyonel veya implant destekli proteze kolaylık sağlamak amacıyla çeşitli tipteki kemik greftleri, bunların kombinasyonları, bariyer membranlar gibi biyomateryaller kullanılmaya başlanmıştır^{26,29,84,86,111}. Osteoindüktif etkisi kesinleşmiş, altın standart olarak kabul edilen otojen kemik greftleri greft materyalleri içinde genellikle ilk seçenektir^{3,4,112}. Otojen greftlerin önemli bir dezavantajı donör alan morbiditesine yol açmalarıdır^{5,6,80,113,114}. Bu dezavantajları nedeniyle kemik defektlerinin rejeneratif tedavisinde otojen greftlerin yerine allogreftler, ksenogreftler, alloplastik materyaller, rejeneratif bariyer membranlar, kemik yapımını stimule edici bazı materyaller ve büyüme faktörleri önem kazanmıştır. Bunların içinde BMP^{1,2,49} ve rhBMP-2^{92,103,104,115} en çok kullanılan materyallerdendir. Wang et al.'ın çalışmalarında osteonekrozdaki etkilerini değerlendirmek için rhBMP-2 kontrollü salınım metoduyla uygulanmıştır. Sonuçta rhBMP-2 biyoaktivite göstermiş ve in vivo ortamda yeni kemik formasyonu ve nekrotik kemiğin iyileşmesi gözlenmiştir. Nekrotik kemiğin yeni kallusla sarıldığı ve içerisine doğru yeni damarların oluştuğu bildirilmiştir^{116,117}. Bunların dışında MSC^{118,119}, PTH¹²⁰, PRP¹¹⁸, TGF-β1^{95,121,122} ve Laktoferrin¹²³⁻¹²⁵ de kemik rejenerasyonu amacıyla kullanılan materyallere örnek gösterilebilir.

Histolojik, histomorfometrik ve biyomekanik açıdan kemik dokuyu inceleme amaçlı yapılan bütün çalışmalarda deney hayvanlarından yararlanılır. Bu deney hayvanlarından sıçan ve fareler, haversian sisteme sahip olmamaları, boyutsal olarak

küçük olmaları ve tespit güçlüğü nedenleriyle dezavantajı bulunan laboratuvar hayvanlarıdır. Bu tip hayvanlarda kemiğin histomorfometrik değerlendirilmesi zordur. Filojenik açıdan üst sınıflara yükseldikçe, tavşan ve kedi gibi türlerde haversian sistem oluşmaktadır^{15,126}. Boyutları nedeniyle tavşan, domuz gibi hayvanlar tespitte daha uygun modeller oluşturabilmektedir. Ek olarak, periferik venöz giriş mümkün olduğundan sistemik ilaç çalışmalarında kullanılabilir¹²⁷. Yetişkin evcil domuz özellikle kemik iyileşmesi ve kemiğin yeniden yapılandırılması çalışmaları için uygundur. Dokunun kan akımı, dolaşım sistemi, kırık iyileşmesi ve özellikle yeni kemik formasyonu hızı (domuzda 1,2-1,5 µm/gün, insanda 1,0-1,5 µm/gün) yetişkin evcil domuzlar ve insanlar arasında benzerlik göstermektedir¹²⁸. Bu nedenlerle, çalışmamızda mandibula anatomisi ve fizyolojisi açısından insana benzerlik göstermesi açısından domuz, uygun bir hayvan modeli olarak görülmüştür.

Aynı hayvan modelinin kullanıldığı ve aynı boyutta standardize edilmiş defektlerin hazırlandığı önceki çalışmamızda defektlerin bir tanesi kontrol amaçlı olarak boş bırakılmış, ikinci defekte ABB greft yerleştirilmiştir. 10 haftalık takip süresi sonunda histomorfometrik olarak rezidüel greft yüzdesi, yeni oluşan kemik yüzdesi ve total sert doku yüzdesi hesaplanmıştır⁸⁰. Bu çalışmanın sonucunda greftlenmeden boş bırakılan grupta yeni oluşan kemik miktarı % 26,9±6,0 olarak bildirilmiştir. Bu değer bizim çalışmamızdaki kontrol grubunda % 29,5±3,2 olarak hesaplanan yeni oluşan kemik oranıyla uyumludur. Önceki çalışmamızda da greft grubunda her defekte 0,3 cc ABB greft yerleştirilmiştir. Çalışmada 10 hafta sonunda greftlenen grupta, yeni oluşan kemik % 22,4±8,2 ve total sert doku % 31,8±8,4 olarak rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızda 10. haftadaki yeni oluşan kemik yüzdeleri geleneksel grupta % 34,7±3,9 ve mikroküre grubunda % 37,9±5,3, total sert doku yüzdeleri ise geleneksel grupta % 59,7±5,4 ve mikroküre grubunda % 63,6±4,2'dir. Bu iki çalışmanın sonuçları kıyaslandığında ABS ile birlikte ABB kullanımının, tek başına ABB kullanımına oranla kemik rejenerasyonunu daha çok artırdığı söylenebilir. Bu artışın da ABS' nin kemik rejenerasyonuna olumlu etkisinden kaynaklandığı sonucu çıkarılabilir. Daha önce yaptığımız çalışmada aynı hayvan modelinin kullanılması, materyal ve metod yönünden de aynı boyuttaki defektlere aynı miktar ABB yerleştirilmesi, öte yandan iki çalışmanın da aynı takip sürelerine sahip olması nedeniyle çalışmamızda ABB' nin defekte tek başına yerleştirildiği gruba gerek duyulmamıştır. Ayrıca deneysel çalışmamızda, sonuca

en az hayvan kullanımıyla varılması prensibi göz önünde bulundurulduğunda defekt ve dolayısıyla hayvan sayısının bu şekilde minimumda tutulması uygun görülmüştür.

ABS' nin kanama durdurucu amaçla kullanımı 2007 yılından bu yana bilinen bir uygulamadır. Çeşitli tıbbi girişimlerde ve diş hekimliği uygulamalarında kullanılmak üzere tampon, sprey ve ampul şeklindeki ticari preparatları mevcuttur. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ABS' nin yumşak ve sert doku iyileşmesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Yeşilada ve ark. 32 sıçanın kullanıldığı deneysel çalışmalarında ABS' nin flep nekroz oranını azalttığını ve flep sağ kalımını artırdığını göstermişler, aynı çalışmacıların diğer bir çalışmasında ise ABS' nin kçanlarda ciltteki sekonder yara iyileşmesini hızlandırdığı sonucuna varmışlardır. Çalışmacılar ABS' nin hücrel ve vasküler proliferasyonu etkilemekte olduğunu ve bu kombine etki ile doku beslenmesini arttırdığı görüşünü savunmuşlardır¹². Erçetin ve ark.'ın intraoral dental girişim içeren ve ABS sprey uygulanan çalışmalarda; post-operatif 48 saatlik gözlem sonucunda, yara iyileşmesinin erken döneminde ABS' nin hastalığın % 45' inde yara iyileşmesini hızlandırdığını belirtmişlerdir⁷⁷.

Literatürde ABS' nin kemik iyileşmesine etkisini kesin olarak gösterebilen çalışma henüz bulunmamaktadır. Bu yönde yapılan, Demircan ve ark.'ın^{12,73} sıçan modeli üzerinde sert doku iyileşmesini inceledikleri öncül çalışma bulunmaktadır. Çalışmada; 16 adet sıçanın tibialarında 5 mm derinliğinde, 3 mm çapında standardize defektler oluşturulmuş, deneklerin yarısında defektlere ABS uygulanmış, diğer yarısı kontrol grubu olarak değerlendirmeye alınmıştır. 7 günlük takip sonucu yapılan histopatolojik incelemelerde, ABS uygulanan grupta anlamlı derecede yüksek oranda kemik yapımı izlenmiştir. Buna göre ABS' nin erken dönem kemik iyileşmesine olumlu etkisi savunulmuştur. Çalışmamızda her defekte 0,3 ml ABS, doğrudan ABB greft ile karıştırılarak ve diğer çalışma grubunda ise jelatin mikrokürelere yüklenmiş olarak kontrollü yavaş salınım metoduyla ABB greft içerisinde uygulanmıştır. 10 haftalık iyileşme süresi sonunda yapılan histomorfometrik analizlerde, kontrol, geleneksel ve mikroküre grupları karşılaştırıldığında ABS ve ABB' nin kombine kullanımının kemik oluşumunu anlamlı şekilde arttırdığı saptanmıştır.

Çalışmamızda kemik rejenerasyonu için beklenen 10 haftalık sürede kontrol grubuna göre her iki deney grubunda da yeni kemik oluşumunun daha fazla olduğu görülmüştür. Ancak 10. haftada kemikleşmenin tamamlanmadığı gözlenmiştir. Bu durum Schenk et al.'ın¹²⁹ bariyer membran kullanarak kemik rejenerasyonunu

değerlendirdiği çalışmasındaki 4. ay bulgularıyla ve Hocker et al.'ın¹³⁰ köpek mandibulalarında kemik rejenerasyonunu rezorbe olabilen membran ve ksenogreft ya da otojen greft kombinasyonlarıyla değerlendirdiği çalışmalarındaki 4. ay bulgularıyla uyumlu bulunmuştur.

Çalışmamızda, domuz mandibulalarında oluşturulan kemik defektleri tabanda kortikal kemikle, lateral duvarlarda ise kansellöz kemikle komşuluktadır. Bu kansellöz kısımlarda kemik iliği duvarı ekspozite haldedir ve bu yönleriyle yeni kemik oluşumunda önemli rolü olan anjiyojenik ve osteojenik hücrelerin kaynağı olarak hazır bulunurlar. Bu nedenlerle, çalışmamızda kullanılan kemik defekti modeli kemik rejenerasyonunu değerlendirmede uygun bir modeldir. Klinik ve deneysel çalışmalar sınırlı boyuttaki bazı kemik defektlerinin kendiliğinden iyileşebildiğini göstermiştir. Fakat bu durumun gerçekleşebilmesi defektin boyutuyla doğrudan ilişkilidir. Artan defekt boyutuyla birlikte herhangi bir ek müdahale yapılmaksızın tam kemik iyileşmesinin gerçekleşmeyeceği bilinir. Benzer hayvan modeli ve benzer çalışma metodunun kullanıldığı önceki çalışmamızda kritik boyutta hazırlanan defektlerinin greftlenmeden bırakıldığı durumda kemik rejenerasyonu bakımından istatistiksel olarak anlamlı şekilde geri kaldığı izlenmiştir⁸⁰. Taga et al. trefan frezle domuz kalvaryasında 9 mm çaplı kritik boyutlu standardize defektler oluşturdukları çalışmalarında, 6. ve 9. ay ölçümlerinde, membran kullanılan grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla kemik rejenerasyonu izlenmiştir⁸². Buser et al.'ın domuz mandibulasında 10 mm yüksekliğinde, 5-6 mm derinliğinde, tabanda 12 mm, tepede 10 mm genişliğinde standardize eşkenar dörtgen şeklinde defektler oluşturdukları benzer çalışmasında, otojen greft ve TCP kullanılan gruplarda kemik rejenerasyonu anlamlı şekilde yüksek değerlerde ölçülmüştür⁸⁴. Çalışmamızda, bahsedilen bu çalışmalara benzer metodla trefan frez yardımıyla 5 mm derinlikte ve 10 mm çapta silindirik defektler oluşturulmuştur. Geleneksel ve mikroküre gruplarına uygulanan rejeneratif yöntemlerin kontrol grubuna kıyasla yeni kemik oluşumuna anlamlı katkısı gözlenmiştir.

Hem kemik içi defektlerde hem de implant çevresi defektlerde bariyer membranların greft materyali olmaksızın tek başlarına kullanımının kemik rejenerasyonunu arttırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur^{48,51,62}. Taga et al. deneysel çalışmalarında membran kullanılan ve kullanılmayan kemik içi defektleri karşılaştırmışlar, kollajen membran kullanılan grupta 9. ayda istatistiksel olarak anlamlı

şekilde fazla kemik rejenerasyonu saptamışlardır⁸². Becker et al.¹³¹ deneysel çalışmalarında Gore-Tex membranın tek başına ve otojen greft ya da DFDBA greftle birlikte kullanımını değerlendirmişlerdir. 12 haftalık takip sonucunda Gore-Tex membranların tek başına veya otojen greft ile kombine kullanımı arasında istatistiksel olarak fark gözlenmemiş, her iki tekniğin de en iyi histolojik ve klinik sonuçlara imkan sağladığı belirtilmiştir. Buna göre yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu amacıyla kullanılan membranlar mineral apozisyonunda greftlerden daha önemli bir rol oynayabilmektedir¹³². Hockers et al.'ın köpeklerde yaptıkları çalışmalarında rezorbe olabilen membran ile kombine ksenogreft ve otojen greft kullanımı değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda rezorbe olabilen kollajen membranın kemik rejenerasyonunu arttırdığını, ayrıca destekleyici bir greft materyaliyle beraber kullanıldığında bu etkisinin daha belirgin olduğunu belirtmişlerdir¹³⁰. Imbronito et al. köpek mandibulalarında oluşturdukları kemik defekti modelinde rezorbe olmayan PTFE membran ile rezorbe olabilen PLA membranı kemik rejenerasyonu bakımından karşılaştırmışlar, 2. ve 4. ay ölçümlerinin her ikisinde de bu iki tip membran arasında yeni oluşan kemik miktarları açısından farklılık gösterememişlerdir⁸⁵. Çalışmamızda tüm defektler 30x40x0,5 mm boyutlarında rezorbe olabilen kollajen membran ile örtülmüştür. Tüm membranlar cerrahi olarak oluşturulan defektlerin üzerini tamamen örtecek şekilde yerleştirilmiştir. Rezorbe olmayan membranların ikinci bir cerrahi girişim gerektirmesi önemli bir dezavantajdır. Çalışmamızda yeni kemik oluşumu bakımından bir fark yaratmayacağı için rezorbe olabilen kollajen membran kullanılmıştır.

Çalışmamızda defekt bölgesinde yapılan total sert doku alanı ölçümü kontrol grubunda ortalama % 29,5±3,2 olarak bulunmuştur. Benzer modelin kullanıldığı Carmagnola et al.'ın çalışmasında 3. ay sonunda greft uygulanmayan grupta % 41,9 total sert doku oranı hesaplanmıştır¹³³. Qiu et al. ise kalvaryum defektlerinde yaptıkları çalışmalarında DBM ve otojen greftlerin yeni kemik formasyonundaki etkisini değerlendirmişler ve 8 hafta sonunda tedavi uygulanmayan defekt bölgelerinde total sert doku miktarını % 33 olarak bildirmişlerdir¹³⁴. Van der Pol et al.'ın yaptıkları deneysel çalışmada koyun femurlarında oluşturulan kemik defektlerine uygulanan PLA/TCP ile β-TCP' nin kemik rejenerasyonuna etkisi değerlendirilmiş. Bu çalışmada boş bırakılan kemik defektlerinde total kemik yüzdeleri 2. ayda % 12,9 ve 4. ayda % 26,9 olarak hesaplanmıştır¹³⁵. Çalışmalar arasındaki takip süresi farkları da göz önüne alındığında;

bizim çalışmamızdaki boş defekt grubunda ölçülen total kemik alanı yüzdesi literatürle karşılaştırıldığında normal seviyelerdedir.

Çalışmamızda geleneksel gruptaki ortalama total kemik alanı % 59,7±5,4 olarak hesaplanmıştır. 10 hafta sonundaki ortalama total kemik alanı yüzdeleri karşılaştırıldığında kontrol grubu ile geleneksel grup arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Mikroküre grubunda ise 10. haftada ölçülen total sert doku alanı % 63,6±4,2' dir. Kontrol grubu ve mikroküre grubu yüzdeleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Total sert doku yüzdeleri karşılaştırıldığında geleneksel ve mikroküre grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,217$). Carmagnola et al. çekim soketlerine ksenogreft ve rezorbe olabilen kollajen membran uyguladıkları klinik çalışmalarında yaklaşık 7 ay sonra implant yerleştirme seansında trefan frezle greftlenen bölgeden örnekler almışlardır. Bu örneklerin histomorfometrik incelemesi sonucu total sert doku alanı % 62,1 olarak rapor edilmiştir¹³⁶. Simunek et al. farklı greft materyallerini karşılaştırdıkları klinik çalışmalarında, 9. ay ölçümlerinde β -TCP greft kullanılan grupta % 60,4, deproteinize sığır kaynaklı greft kullanılan grupta ise % 75 total kemik alanı değerlerine ulaşmışlardır¹³⁷. Elde ettiğimiz bulgular, benzer model uygulanan literatürdeki bu çalışmaların sonuçlarıyla uyumlu görülmüştür.

10 haftalık iyileşme periyodu sonunda her üç gruptaki defektlerde yeni oluşan kemik yüzdeleri ölçülmüştür. Kontrol grubunda ortalama yeni oluşan kemik % 29,5±3,2, geleneksel grupta % 34,7±3,9, mikroküre grubunda ise % 37,9±5,3 olarak hesaplanmıştır. Kontrol grubuyla geleneksel grup arasındaki fark ($p=0,047$) ve kontrol grubuyla mikroküre grupları arasındaki fark ($p=0,001$) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Tüm grupların birbiriyle kıyaslanmasında, Kruskal Wallis testine göre fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,003$). Literatürde benzer diğer çalışmalara bakıldığında; yeni oluşan kemik miktarını Jensen et al.¹³⁸ 8. haftada % 42, Carmagnola et al.¹³³ 4. ayda % 44, Taga et al.⁸² 3. ayda % 60, Carmagnola et al.¹³⁶ 7. ayda % 22,3 ve Simunek et al.¹³⁹ 9. ayda % 34,2 olarak rapor etmişlerdir. Çalışmalardaki greftlerin kollajen içeriklerinin ve çalışmaların takip sürelerinin birbirinden farklı olmalarına rağmen bulgular çalışmamızdaki sonuçlarla uyumludur. Geleneksel ve mikroküre gruplarındaki defektlerin her birinde kullanılan ABB greft miktarları eşittir (0,3 cc/defekt). Ayrıca bu iki grupta jelatin mikroküreler içine yerleştirilen ABS' nin ve direkt olarak greftle karıştırılan ABS' nin miktarlar da eşittir

(0,3 ml/defekt). Buna göre çalışmamızda ABS' nin jelatin mikroküreler içerisine emdirilmiş olarak kontrollü salınım metoduyla uygulanması, doğrudan ABB ile karıştırılarak verilmesiyle kıyaslandığında kemik rejenerasyonuna istatistiksel olarak anlamlı katkısı görülmemiştir.

Yumuşak doku ve kemik dokusu arasında yara iyileşme mekanizmaları ve bu biyokimyasal olaylar sırasında rol alan elemanlar bakımından farklılıklar bulunmaktadır^{16,140}. Yeşilada ve ark.¹² ile Erçetin ve ark.¹²,ın yumuşak dokuda ABS uyguladıkları çalışmalar sonucunda bildirdikleri; ABS' nin flep nekrozuna ve sekonder yara iyileşmesine olumlu katkılarının, bizim çalışmamız sonucunda kemik iyileşmesine olan katkılarıyla direkt olarak karşılaştırılabilmesi kemik ve yumuşak dokunun iyileşme mekanizmaları arasındaki farktan dolayı zordur.

Çalışmamızda 10 haftalık iyileşme periyodu sonunda ortalama rezidüel greft yüzdeleri geleneksel grupta % 24,9±2,4, mikroküre grubunda ise % 25,7±4,4 olarak hesaplanmıştır. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0,730). ABS' nin ksenogreft içerisinde 2 farklı yolla uygulanması ksenogreftin rezorbsiyon mekanizmasına etki etmemiştir. Kemik defekti içerisine yerleştirilen ksenogreft, ABS' nin dokulardaki etkisinden bağımsız olarak zamanla yeni oluşan kemikle yer değiştirmesine devam etmiştir. Çalışmamızda kullanılan ABB greft çevresinde, hem geleneksel hem de mikroküre gruplarında yeni kemik oluşumu ve greftin dış sınırında osteoklastik aktiviteyle greft partikülünün rezorbsiyonu izlenmiştir. Literatürde benzer cerrahi yöntemin uygulandığı çalışmalarda farklı rezidüel greft yüzdeleri rapor edilmiştir. Hockers et al.¹³⁰ 4. ayda % 38,6, Carmagnola et al.¹³³ 3. ayda % 26,4, Stavropoulos et al.⁶⁷ 3. ayda % 4,6-13,4 arası, Cabbar et al.¹¹¹ 7. ayda % 21,9 ve Jensen et al.¹³⁸ 8. haftada % 29 ortalama rezidüel greft miktarı rapor etmişlerdir. Farklı çalışmalardaki ortalama rezidüel greft yüzdelerinin farklı sonuçlar göstermesinin çeşitli nedenleri vardır. Çalışmamızın ve yukarıda bahsedilen çalışmaların takip süreleri birbirinden farklıdır. Ayrıca çalışmaların bir kısmı klinik, kalanıysa deneysel çalışmalardır. Bu deneysel çalışmalarda da köpek ve domuz gibi deney hayvanlarından yararlanılmıştır. Domuzlardaki kemik turn-over'ı köpek mandibulasından daha hızlıdır ve söz konusu çalışmalardaki sakrifikasyon zamanları da farklılık göstermektedir¹²⁸. Çalışma yapısından bağımsız olarak ksenogreftlerin önemli özelliklerinden biri de greftin, çevresinde yeni oluşan kemik ile olan ilişkisidir. Çalışmamızda 10 hafta sonunda rezidüel greft partiküllerinin yeni oluşan kemik ile temas halinde olduğu

gözlenmiştir. Yeni oluşan kemikle rezidüel greft partiküllerinin entegre olması daha önce yapılmış çalışmaların sonuçları ile uyumludur^{48,133}.

Dental implant tedavisiyle birlikte greft kullanımı yaygınlaştıkça birçok greftleme tekniği ortaya atılmıştır. Bu durumda doğru greft materyalinin seçilmesi de önem kazanmıştır. Yıllar içerisinde greft materyallerinin kombine kullanılması fikri daha çok kabul görmeye başlamıştır. Uygun cerrahi teknik veya uygun greft materyali seçilmezse defektin orijinal morfolojisini elde etmek mümkün olamaz ve kaybedilen dokunun kemik yerine fibröz dokuyla dolduğu gözlenir¹¹². Ksenogreftlerle yapılan çok sayıda klinik ve deneysel çalışmada başarılı sonuçlar rapor edilmiştir. Kemik rejenerasyonunda osteokondüktif özellikleri birçok çalışmada gösterilebilmiştir^{14,26,42,45,46,111}. Ksenogreftlerin günümüzde halen tartışma konusu olan bir özelliği rezorbsiyon süreleridir. Greftin zamanla rezorbe olarak yeniden şekillenme süreciyle yerini konakçı kemiğe bırakması beklenir⁴⁸. Ksenogreftlerin biodegradasyon süresi ile çeşitli raporlar mevcuttur. Greftin hızlı bir şekilde yeni konakçı kemikle yer değiştirdiğini gösteren çalışmalar olsa da⁵⁰ greft uygulamasını takiben Nevins et al.¹⁴¹ 6. ayda, Barone et al.¹⁴² 7. ayda greftlenen alanda ksenogreft partiküllerinin bulunduğunu bildirmişler, Artzi et al.¹⁴³ ise deneysel çalışmalarında greftin 6. aydan itibaren belirgin rezorbsiyon göstermediğini ve 24. ayda greft partiküllerinin greftlenen alanda var olduğunu göstermiştir. Hallman et al.²⁹ benzer klinik çalışmalarında rezidüel ksenogreft oranlarını 6. ay için % 14,5, 3. yıl için ise % 12,4 olarak bildirmişler, 6. aydan sonraki rezorbsiyonun istatistiksel olarak anlamlı olmadığını belirtmişlerdir. Sartori et al.⁵⁴ ksenogreft kullanarak sinüs greftlemesi uyguladıkları bir vaka raporunda 8. ayda rezidüel greft oranını % 70,2 olarak bildirmişler, 2. yıl sonunda greftin % 56,8' inin daha yeni kemikle yer değiştirdiğini fakat 10. yıl takiplerinde alınan kesitte halen greft partiküllerinin varlığını göstermişlerdir. Rezorpsiyon sürelerindeki değişiklikler sığır kaynaklı HA' lı farklı işlemlerle elde edilmesinden kaynaklanır¹⁴⁴. Çalışmamızda kullanılan ksenogreft Integros Boneplus-xs[®] tir. Bu materyalin tercih edilme sebebi kimyasal içerik ve yapısal olarak insanın doğal kemik dokusuna benzerlik göstermesi ve osteokondüktif olmasıdır. Materyal, insan spongiöz kemik yapısına benzer gözenekli yapıya sahiptir. Ayrıca Integros Boneplus-xs[®] in ticari olarak bulunabilen çeşitli formları vardır ve bunlardan granül formunda ve 0,25 – 0,5 mm partikül boyut aralığında olanlar kullanılmıştır. Integros Boneplus-xs[®] in maksiller sinüs augmentasyonu amacıyla kullanıldığı klinik çalışmada 6,5 aylık takip sonucunda

rezidüel greft % 31,8 olarak rapor edilmiştir ve ayrıca greftlenen alanda 8. ayda hala greft partiküllerinin var olduğu belirtilmiştir¹⁴⁵. Çalışmamızda elde edilen histolojik kesitler yakından incelendiğinde rezidüel greft partiküllerinin var olduğu tespit edilmiş ve bu partiküllerin dış sınırında osteoklast aktivitesine bağlı rezorpsiyon görülmüştür. Bu sonuçlar, 10 haftalık takip süresinde tahmin edilebilir sonuçlardır ve literatürdeki yukarıda bahsedilen diğer çalışmalarla uyumludur.

Kaybedilen kemik dokunun yerine konulması için; hormonlar, büyüme faktörleri, proteinler gibi materyallerin çeşitli taşıyıcı matrisler içine konularak kemik doku içine dağıtımını doku mühendisliğindeki gelişmeler sonucu mümkün kılınmıştır. Bu aşamada ortaya çıkan kontrollü yavaş salınım metodunda amaç, etken maddenin ortamda mümkün olduğunca uzun süre bulunup terapötik etkisinin arttırılabilmesidir. Bu amaçla, yöntem etken maddenin ortama yayılımını geciktirmek için fiziksel ve kimyasal engel oluşturmayı içerir^{90,91}. Kontrollü salınımda birçok organik ve inorganik matris taşıyıcı olarak kullanılır⁹⁰. Sentetik materyallerden¹⁴⁶⁻¹⁴⁹, doğal polimerlerden^{99,150-154} ve hidroksiapatit bazlı partiküllerden^{155,156} oluşan hem nano hem de mikroyutlu taşıyıcı sistemler rapor edilmiştir.

Kontrollü ilaç salınımı için kullanılan taşıyıcı araçlardan biri de polimerlerdir. Polimerler granül, pelet, mum, küre ve sıvı gibi birçok şekilde kontrollü ilaç salımı amacıyla kullanılmaktadır⁹⁰. PLGA' m, in vivo ortamda hızlı degradasyon özelliği gösterdiği bilinir. 6 ayda % 99' u degradasyona uğrar. % 5, 10 ve 20 polimer solüsyonlarının karşılaştırıldığı Yilgor et al.'ın çalışmasında % 5' lik konsantrasyonda hazırlanan PLGA solüsyonunun kumlu çökelti şeklinde oluştuğu, % 10' luk solüsyonun küresel kapsül oluşturabildiği ve % 20' lik konsantrasyonda ise bu kürelerin çaplarının 5 kat arttığı görülmüştür. % 10' luk PLGA ile hazırlanan kürelerin ortalama çapları 327 nm olarak bildirilmiştir. Polimer konsantrasyonundaki artış, küre boyutunda artışa yol açar. Bu da salınım oranlarında artış anlamına gelir. Bunun sebebi daha ince kapsül duvarlarının varlığı ve kapsül bütünlüğündeki bozulmada artıştır⁹⁷. % 10 polimer konsantrasyonunun PLGA için maksimum enkapsülasyon etkinliğini sağladığı gösterilmiştir. Çalışmada bu konsantrasyonun, diğer bir polimer olan poli(3-hidroksibütirat-ko-3-hidroksivalerat) (PHBV)'ın % 10' luk konsantrasyonuna göre 5 kat daha fazla enkapsülasyon etkinliği bulunduğu gösterilmiştir⁹⁷. Çalışmamızda kullanılan mikroküreler % 10' luk PLGA solüsyonu kullanılarak hazırlanmıştır. Mikrokürelerin partikül boyut aralığı 200 – 450 nm olarak hesaplanmıştır. Ayrıca çalışmamızdaki

mikroküreler içerisine yüklenmiş olan ABS içeriğinin % 90 kadarının 21 gün içerisinde salınacağı hesaplanmıştır.

PLGA gibi polimerik matrikslerin dezavantajı kemik yapımını olumsuz etkileyecek yabancı cisim reaksiyonu ve kronik inflamatuvar cevaba yol açabilmeleridir. Özellikle 3300 Dalton' dan büyük moleküler ağırlığa sahip olanların yavaş absorbe olduğu bilinmektedir. Bu nedenlerle düşük moleküler ağırlığa ve küçük partikül boyutlarına sahip polimerler tercih edilmektedir⁹⁰. Bizim çalışmamızda kullanılan 200 – 450 nm boyutundaki mikroküreler polimerlerin bilinen dezavantajlarından kaçınmak için yeterli ölçülerdedir.

Çalışmamızda kemik rejenerasyonu açısından pozitif etki almak için, dokuda belli bir dozda ABS' nin kemik turn-over boyunca ksenogreftle birlikte bulunması hedeflenmiştir. Bu noktada ajanın verilmiş yolu önem taşımaktadır. Serbest halde ve tek bir dozda uygulanan ABS ile düşük dozlarda yavaş salınan ABS' nin rejenerasyona etkisinin farklı olacağı düşünülmüştür. Bu düşünce doğrultusunda; dokuda daha uzun süre kalıp etkinliğin artması için, yöntemi daha önce açıklanan şekilde polimerik mikroküreler içerisine ABS yerleştirilmiştir. Kontrollü yavaş salınım yöntemi ile kemik defektine uygulanan ajanın optimum dozda daha uzun süre etkinliğini koruması hedeflenmiştir. Literatürde ABS' nin kemik rejenerasyonu amacıyla kullanıldığı, uzun takip süreli bir rapor bildirilmemiştir. Bu anlamda çalışmamızda kullanılan model ilk kez denenmiştir.

ABS' nin kemik rejenerasyonu üzerine etkisi konusunda yalnızca bir rapor bulunmaktadır^{12,73}. Çalışmamızda sığır kaynaklı anorganik kemik grefti ve ABS' nin kombine kullanımının kemik rejenerasyonuna 10 haftalık iyileşme periyodundaki etkinliği incelenmiştir. On haftalık iyileşme periyodu sonunda, ABB ile birlikte iki farklı yöntemle uygulanan ABS' nin cerrahi olarak oluşturulan defektlerde yeni kemik oluşumunu anlamlı şekilde arttırdığı görülmüştür. Ancak bu iki yöntem arasında yeni kemik oluşturma bakımından anlamlı fark görülmemiştir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- Kanama durdurucu bitki ekstresi ile sığır kaynaklı anorganik kemik greftinin birlikte kullanımı domuz mandibulasında oluşturulan defektlerde 10 haftalık dönemde kemik oluşumunu anlamlı şekilde arttırmaktadır.
- Polimerik mikroküre taşıyıcı içerisine yerleştirilmiş ABS' nin ABB ile karışımı ve ABS solüsyonunun doğrudan ABB ile karışımı arasında yeni kemik oluşumu açısından anlamlı fark bulunmamaktadır.
- ABB' nin tek başına kemik rejenerasyonu üzerine katkısıyla ABS ve ABB' nin kombine kullanımının kemik rejenerasyonu üzerine olan katkısı kıyaslandığında, ABS' nin rejenerasyonu artırıcı etkisinden söz edilebilir.
- 10 haftalık iyileşme periyodunda tamamen rezorbe olduğu görülen bariyer membranın ksenogreft ve ABS karışımıyla kullanımı, tek başına kullanımından daha üstün sonuçlar vermiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda kemik içi defektlerin onarımında, yeni kemik oluşumu açısından bariyer membranla birlikte bir greft kullanılması uygun olacaktır.
- Doğrudan ve kontrollü yavaş salınımla ksenogreftle kombine edilen ABS, 10 haftalık iyileşme döneminde greft rezorbsiyonu, yeni oluşan kemik alanı ve total sert doku alanı bakımından benzer sonuçlar vermiştir. Bu iki grup arasında anlamlı fark görülmemesi polimer esaslı mikrokürelerin iyileşme boyunca yabancı cisim reaksiyonu ve inflamatuvar cevaba yol açmadığını göstermektedir.
- Denek sayısı artırılarak farklı iyileşme dönemlerindeki histomorfometrik sonuçlar incelenebilir. Bununla beraber, ABS farklı dozlarda uygulanarak, kemik rejenerasyonuna etkisi açısından doz karşılaştırması yapılabilir.

KAYNAKLAR

1. **Şimşek A, Çakmak G, Cila E.** Kemik greftleri ve kemik greftlerinin yerini tutabilecek maddeler. *TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi*, **2004**; 3(3-4):21-34.
2. **Kökden A, Türker M.** Oral ve maksillofasial cerrahide kullanılan kemik greftleri ve biyomateryaller. *Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, **1999**; 2(2):134-140.
3. **Nkenke E, Schultze-Mosgau S, Radespiel-Tröger M, Kloss F, Neukam FW.** Morbidity of harvesting of chin grafts: a prospective study. *Clin. Oral Impl. Res*, **2001**; 12:495– 502.
4. **Schultze-Mosgau S, Keweloh M, Wiltfang J, Kessler P, Neukam FW.** Histomorphometric and densitometric changes in bone volume and structure following avascular bone grafting in the extremely atrophic maxilla. *Br J Oral Maxillofac Surg*, **2001**; 39(6):439-447.
5. **Wiltfang J, Merten HA, Schlegel KA, Schultze-Mosgau S, Kloss FR, Rupprecht S, Kessler P.** Degradation characteristics of α and β tri-calcium-phosphate (TCP) in minipigs. *J Biomed Mat Res*, **2002**; 63(2):115-121.
6. **Wiltfang J, Schultze-Mosgau S, Merten HA, Kessler P, Ludwig A, Engelke W.** Endoscopic and ultrasound evaluation of the maxillary sinus following after sinus floor augmentation and implant insertion. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, **2000**; Mar;89(3):288-91.
7. **Artzi, Z, Nemcovsky, CE, Tal H, Dayan D.** Histopathological morphometric evaluation of 2 different hydroxyapatite-bone derivatives in sinus augmentation procedures: A comparative study in humans. *J Periodontol*, **2001**; 72:911– 920.
8. **Moore WR, Graves SE, Bain GI.** Synthetic bone graft substitutes. *ANZ J. Surg*, **2001**;71:354-361.
9. **Klinge B, Alberius P, Isaksson S, Jönsson J.** Osseous response to implanted natural bone mineral and synthetic hydroxylapatite ceramic in the repair of experimental skull bone defects. *J Oral Maxillofac Surg*, **1992**; Mar;50(3):241-249.
10. **Kohal RJ, Hürzeler MB.** Bioresorbable barrier membranes for guided bone regeneration around dental implants. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, **2002**; 112:1222-1229.
11. **Geurs NC, Korostoff JM, Vassilopoulos PJ, Kang TH, Jeffcoat M, Kellar R, Reddy MS.** Clinical and histologic assessment of lateral alveolar ridge augmentation using a synthetic long-term bioabsorbable membrane and an allograft. *J Periodontol*, **2008**; 79:1133-1140.
12. **ANKAFERD BloodStopper araştırma etkinlikleri raporu - 2008. Bölüm 1.** Erişim: (www.ankaferd.com/pdf/ABSAR2008_1.pdf) 2008, Erişim tarihi: 08.02.2013.
13. **Roberts WE, Hartsfield JK Jr.** Bone development and function: genetic and environmental mechanisms. *Semin Orthod*, **2004**; 10:100– 122.
14. **Ashammakhi N, Ferretti P.** *Topics in tissue engineering. Volume I (Electronic book)*, **2003**; Chapter 7:1-46.
15. **Gemalmaz HC.** Kaviter kemik defektlerinin iyileşmesinde otojen periost ve seramik kompozit greftinin etkisi. Uzmanlık tezi, T.C. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim dalı, Ankara, **2007**.
16. **Miloro M, Ghali GE, Larsen PE, Waite PD.** *Peterson' s Principles of Oral and Maxillofacial Surgery. 2nd Ed.*, London: BC Decker Inc, **2004**.

17. **Alfaro FH.** *Bone grafting in oral implantology. Techniques and clinical applications*, Spain: Quintessence Books, **2006**.
18. **Buck BE, Malinin TI.** Human bone and tissue allografts. Preparation and safety. *Clin Orthop Relat Res*, **1994**; Jun;(303):8-17.
19. **Boyan BD, Ranly DM, McMillan J, Sunwoo M, Roche K, Schwartz Z.** Osteoinductive ability of human allograft formulations. *J Periodontol*, **2006**; Sep;77(9):1555-1563.
20. **Misch CE.** *Contemporary Implant Dentistry*, St. Louis: Mosby-Year Book, Inc, **1993**.
21. **Kaya Y, Şahin S.** Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftlerinin periodontal kemik defektlerinde uygulanımı ve son gelişmeler. *Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **2010**; 34(1-2):37-45.
22. **Kassolis JD, Rosen PS, Reynolds MA.** Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series. *J Periodontol*, **2000**; 71:1654-1661.
23. **Fleming JE Jr, Cornell CN, Muschler GF.** Bone cells and matrices in orthopedic tissue engineering. *Orthop Clin North Am*, **2000**; Jul;31(3):357-374.
24. **Hall EE, Meffert RM, Hermann JS, Mellonig JT, Cochran DL.** Comparison of bioactive glass to demineralised freeze-dried bone allograft in the treatment of intrabony defects around implants in the canine mandible. *J Periodontol*, **1999**;70:526-535.
25. **Jensen SS, Aaboe M, Pinholt EM, Hjørting-Hansen E, Melsen F, Ruyter IE.** Tissue reaction and material characteristics of four bone substitutes. *Int J Oral Maxillofac Implants*, **1997**; 11(1):55-66.
26. **Baslé MF, Grizon F, Pascaretti C, Lesourd M, Chappard D.** Shape and orientation of osteoblast-like cells (Saos-2) are influenced by collagen fibers in xenogenic bone biomaterial. *J Biomed Mater Res*, **1998**; 40:350-7.
27. **Kruger GO.** *Textbook of Oral and Maxillofacial Surgery*, 6th Ed., St. Louis: The C V Mosby Company, **1984**.
28. **Merkx MAW, Maltha J C, Stoeltinga PJW.** Assessment of the value of anorganic bone additives in sinus floor augmentation: a review of clinical reports. *Int J Oral Maxillofac Surg*, **2003**; 32:1-6.
29. **Hallman M, Lundgren S, Sennerby L.** Histologic analysis of clinical biopsies taken 6 months and 3 years after maxillary sinus floor augmentation with 80% bovine hydroxyapatite and 20% autogenous bone mixed with fibrin glue. *Clin Implant Dent Relat Res*, **2001**; 3(2):87-96.
30. **Proussaefs P, Lozada J, Valencia G, Rohrer MD.** Histologic evaluation of a hydroxyapatite onlay bone graft retrieved after 9 years: a clinical report. *J Prosthet Dent*, **2002**; 87:481-4.
31. **Parikh SN.** Bone graft substitutes: past, present, future. *J Postgrad Med*, **2002**; 48(2):142-148.
32. **Knaack D, Goad MEP, Aiolova M, Rey C, Tofighi A, Chakravarthy P, Lee DD.** Resorbable calcium phosphate bone substitute. *J Biomed Mater Res*, **1998**; 43:399-409.
33. **Turunen T, Peltola J, Helenius H, Yli-Urpo A, Happonen RP.** Bioactive glass and calcium carbonate granules as filler material around titanium and bioactive glass implants in the medullar space of the rabbit tibia. *Clin Oral Impl Res*, **1997**; 8:96-102.
34. **Schepers EJG, Ducheyne P, Barbier L, Schepers S.** Bioactive glass particles of narrow size range: A new material for the repair of bone defects . *Implant Dent*, **1993**; 2:151-156.

35. **Yılmaz S, Efeoglu Y, Kılıç AR.** Alveolar ridge reconstruction and/or preservation using root form bioglass cones. *J Clin Periodontol*, **1998**; 25:832-839.
36. **Haas R, Mailath G, Dörtbudak O, Watzek G.** Bovine hydroxyapatite for maxillary sinus augmentation: analysis of interfacial bond strength of dental implants using pull-out tests. *Clin Oral Impl Res*, **1998**; 9:117-122.
37. **Barboza E, Caula A, Machado F.** Potential of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in bone regeneration. *Implant Dent*, **1999**; 8(4):360-7.
38. **Probst A, Spiegel HU.** Cellular mechanisms of bone repair. *Journal of Investigative Surgery*, **1997**; 10:77-86.
39. **Albrektsson T, Johansson C.** Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J*, 2001;10:96-101.
40. **Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA.** The role of growth factors in the repair of bone. Biology and clinical applications. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, **2002**; 84:1032-1044.
41. **Seare WJ.** Alloplasts and biointegration. *Journal of endourology Endourological Society*, **2000**; 14:9-17.
42. **Boyne PJ, Peetz M.** *Osseous Reconstruction of the Maxilla and the Mandible Surgical Techniques Using Titanium Mesh & Bone Mineral*, Michigan: Quintessence Publishing, **1997**; 87-100.
43. **Greenberg AM, Prein J.** *Craniomaxillofacial Reconstructive and Corrective Bone Surgery: Principles of Internal Fixation Using the AO/ASIF Technique*, New York: Springer, **2002**.
44. **Bucknall TE, Ellis H.** *Wound Healing for Surgeons*, Eastbourne: Bailliere Tindall, Holt Saunders, **1984**.
45. **Becker W.** Treatment of small defects adjacent to oral implants with various biomaterials. *Periodontology 2000*, 33, 2003; 33:26-35.
46. **Abushahba F, Renvert S, Polyzois I, Claffey N.** Effect of grafting materials on osseointegration of dental implants surrounded by circumferential bone defects. An experimental study in the dog. *Clin Oral Impl Res*, 2008; 19:329-34.
47. **Cortellini P, Tonetti MS.** Focus on intrabony defects : guided tissue regeneration. *Periodontology 2000*, **2000**; 22:104-132.
48. **Botticelli D, Berglundh T, Lindhe J.** The influence of a biomaterial on the closure of a marginal hard tissue defect adjacent to implants. An experimental study in the dog. *Clin Oral Impl Res*, **2004**; 15:285-92.
49. **Benlidayı ME.** Sinüs tabanı greftlemesi ve eş zamanlı implant yerleştirme işlemlerinde sığır kaynaklı spongiöz hidroksiapatit blok ve granül hidroksiapatit greft materyallerinin deneysel olarak karşılaştırılması. Doktora Tezi, T.C. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, Adana, **2008**.
50. **Wheeler SL, Holmes RE, Calhoun CJ.** Six-year clinical and histologic study of sinus-lift grafts. *Int J Oral Maxillofac Implants*, **1996**; 11(1):26-34.
51. **Schliephake H, Dard M, Planck H, Hierlemann H, Jakob A.** Guided bone regeneration around endosseous implants using a resorbable membrane vs a PTFE membrane. *Clin Oral Implants Res*, **2000**; 11(3):230-241.
52. **Avera SP, Stampley WA, McAllister BS.** Histologic and clinical observations of resorbable and nonresorbable barrier membranes used in maxillary sinus graft containment. *Int J Oral Maxillofac Implants*, **1997**; 12(1):88-94.

53. **Hammerle CH, Bragger U, Bürgin W, Lang NP.** The effect of the subcrestal placement of the polished surface of ITI implants on the marginal soft and hard tissues. *Clin Oral Implants Res*, 1996; 7(2):111-119.
54. **Sartori S, Silvestri M, Forni F, Icaro Cornaglia A, Tesei P, Cattaneo V.** Ten-year follow-up in a maxillary sinus augmentation using anorganic bovine bone (Bio-Oss). A case report with histomorphometric evaluation. *Clin Oral Impl Res*, 2003; 14:369-72.
55. **Howell TH, Fiorellini JP, Jones A, Alder M, Nummikoski P, Lazaro E, Lilly LC, Cochran DL.** A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge device for local alveolar ridge preservation or augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 1997; 17:125-139.
56. **Boyne PJ, Marx RE, Nevins M, Triplett G, Lazaro E, Lilly LC, Alder M, Nummikoski P.** A feasibility study evaluating rhBMP-2/ absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 1997; 17:11-25.
57. **Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S.** Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg*, 1988; 81(5):672-6.
58. **Karring T, Isidor F, Nyman S, Lindhe J.** New attachment formation on teeth with a reduced but healthy periodontal ligament. *J Clin Periodontol*, 1985; 12:51-60.
59. **Kent JN, Zide MF.** Wound healing: bone and biomaterials. *Otolaryngol Clin North Am*, 1984; 17(2):273-319.
60. **Yaltırık M, Tuskan C.** *Oral ve Maksillofasial Cerrahide Kullanılan Biyomateriyaller*, İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayın No: 4308, 2002.
61. **Aukhil I, Pettersson E, Suggs C.** Guided tissue regeneration: an experimental procedure in beagle dogs. *J Periodontol*, 1986; 57:727-734.
62. **Miller N, Penaud J, Foliguet B, Membre H, Ambrosini P, Plombas M.** Resorption rates of 2 commercially available bioresorbable membranes. A histomorphometric study in a rabbit model. *J Clin Periodontol*, 1996; 23(12):1051-9.
63. **Becker W, Lynch SE, Lekholm U, Becker BE, Caffesse R, Donath K, Sanchez R.** A comparison of ePTFE membranes alone or in combination with platelet-derived growth factors and insulin-like growth factor-I or demineralized freeze-dried bone in promoting bone formation around immediate extraction socket implants. *J Periodontol*, 1992; 63(11):929-40.
64. **Hämmerle CHF, Lang NP.** Single stage surgery combining transmucosal implant placement with guided bone regeneration and bioresorbable materials. *Clin Oral Impl Res*, 2001; 12:9-18.
65. **Juodzbaly G, Raustia AM, Kubilius R.** 5-year follow-up study on one-stage implants inserted concomitantly with localized alveolar ridge augmentation. *Journal of oral rehabilitation*; 2007; 34:781-9.
66. **Wang HL, Boyapati L.** “PASS” principles for predictable bone regeneration *Implant Dent*, 2006; 15:8-17.
67. **Stavropoulos F, Dahlin C, Ruskin JD, Johansson C.** A comparative study of barrier membranes as graft protectors in the treatment of localized bone defects. An experimental study in a canine model. *Clin Oral Impl Res*, 2004; 15:435-42.
68. **Duskova M, Leamerova E, Sosna B, Gojis O.** Technical strategies. Guided tissue regeneration, barrier membranes and reconstruction of the cleft maxillary alveolus. *J Craniofac Surg*, 2006; 17(6):1153-1160.

69. **Lee SJ, Umamo K, Shibamoto T, Lee KG.** Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, **2005**; 91:131-137.
70. **Sheela ML, Ramakrishna MK, Salimath BP.** Angiogenic and proliferative effects of the cytokine VEGF in Ehrlich ascites tumor cells is inhibited by *Glycyrrhiza glabra*. *International Immunopharmacology*, **2006**; 6:494-8.
71. **Mauricio I, Francischetti B, Monteiro RQ, Guimarães JA.** Identification of glycyrrhizin as a thrombin inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun*, **1997**; 235:259-63.
72. **Van Rossum TGJ, Vulto AG, De Man RA, Brouwer JT, Schalm SW.** Review article: glycyrrhizin as a potential treatment for chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther*, **1998**; 12:199-205.
73. **ANKAFERD BloodStopper araştırma etkinlikleri raporu - 2008. Bölüm 2.** Erişim: (www.ankaferd.com/pdf/ABSAR2008_2.pdf) 2008, Erişim tarihi: 08.02.2013.
74. **Matsuda H, Ando S, Kato T, Morikawa T, Yoshikawa M.** Inhibitors from the rhizomes of *Alpinia officinarum* on production of nitric oxide in lipopolysaccharide-activated macrophages and the structural requirements of diarylheptanoids for the activity. *Bioorg Med Chem*, **2006**; 14(1):138-42.
75. **Testai L, Chericoni S, Calderone V, Nencioni G, Nieri P, Morelli I, Martinotti E.** Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) roots extracts: in vitro and in vivo pharmacological studies. *J Ethnopharmacol*, **2002**; 81:105-9.
76. **Seyednejad H, Imani M, Jamieson T, Seifalian AM.** Topical haemostatic agents. *Br J Surg*, **2008**; 95:1197-1225.
77. **Erçetin S, Haznedaroğlu IC, Kurt M, Önal IK, Aktaş A, Kurt ÖK, Göker H, Özdemir O, Kirazlı Ş, Fırat HC.** Safety and efficacy of ankaferd blood stopper in dental surgery. *Int J Hematol*, **2010**; 20(1):1-5.
78. **Koray M, Ergün S, Saruhanoglu A, Tanyeri H.** Use of a new local haemostatic agent Ankaferd blood stopper after surgical excision of eruption cyst: a case report. *Int J Oral Maxillofac Surg*, **2009**; 38:557-558.
79. **Fırat HC, Özdemir O, Koşar A, Göker H, Haznedaroğlu İC.** *Ankaferd BloodStopper. Annual Review of Ankaferd 08-09*, İstanbul: Naviga Scientific Publications, **2009**.
80. **Görmez U.** Dental implant çevresinde cerrahi olarak oluşturulan kemik defektlerinde sığır kaynaklı laktoferrinin kemik rejenerasyonuna etkisi. Doktora Tezi, T.C. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, Adana, **2008**.
81. **Develioğlu H.** Kritik boyutlu ve kritik boyutlu olmayan defektler. *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **2003**; 6(1):60-64.
82. **Taga ML, Granjeiro JM, Cestari TM, Taga R.** Healing of critical-size cranial defects in guinea pigs using a bovine bone-derived resorbable membrane. *Int J Oral Maxillofac Implants*, **2008**; 23(3): 427-436.
83. **Berglundh T, Lindhe J.** Healing around implants placed in bone defects treated with Bio-Oss®. *Clin Oral Impl Res*, **1997**; 8:117-124.
84. **Buser D, Hoffmann B, Bernard JP, Lussi A, Mettler D, Schenk RK.** Evaluation of filling materials in membrane-protected bone defects. *Clin Oral Impl Res*, **1998**; 9:137-150.

85. **Imbronito AV, Todescan JH, Carvalho CV, Arana-Chavez VE.** Healing of alveolar bone in resorbable and non-resorbable membrane-protected defects. A histologic pilot study in dogs. *Biomaterials*, **2002**; 23:4079-86.
86. **Pretorius JA, Melsen B, Nel JC, Germishuys PJ.** A histomorphometric evaluation of factors influencing the healing of bony defects surrounding implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*, **2005**; 20:387-398.
87. **Digenis GA, Gold TB, Shah VP.** Cross-linking of gelatin capsules and its relevance to their in vitro-in vivo performance. *J Pharm Sci*, **1994**; 83:915-921.
88. **Lou Y, Groves MJ.** The use of gelatin microparticles to delay the release of readily water-soluble materials. *J Pharm Pharmacol*, **1995**; 47:97-102.
89. **Li JK, Wang N, Wu XS.** Gelatin nanoencapsulation of protein/peptide drugs using an emulsifier-free emulsion method. *J Microencapsul*, **1998**; 15:163-172.
90. **Kirker-Head CA.** Potential applications and delivery strategies for bone morphogenetic proteins. *Adv Drug Deliv Rev*, **2000**; 43:65-92.
91. **Burg KJL, Porter S, Kellam JF.** Biomaterial developments for bone tissue engineering. *Biomaterials*, **2000**; 21:2347-59.
92. **Geiger M, Li RH, Friess W.** Collagen sponges for bone regeneration with rhBMP-2. *Adv Drug Deliv Rev*, **2003**; 55:1613-1629.
93. **Hori K, Sotozono C, Hamuro J, Yamasaki K, Kimura Y, Ozeki M, Tabata Y, Kinoshita S.** Controlled-release of epidermal growth factor from cationized gelatin hydrogel enhances corneal epithelial wound healing. *J Control Release*, **2007**; 118:169-76.
94. **Ulubayram K, Nur Cakar A, Korkusuz P, Ertan C, Hasirci N.** EGF containing gelatin-based wound dressings. *Biomaterials*, **2001**; 22:1345-1356.
95. **Yamamoto M, Tabata Y, Hong L, Miyamoto S, Hashimoto N, Ikada Y.** Bone regeneration by transforming growth factor β 1 released from a biodegradable hydrogel. *J Control Release*, **2000**; 64:133-142.
96. **Cortesi R, Nastruzzi C, Davis SS.** Sugar cross-linked gelatin for controlled release: microspheres and disks. *Biomaterials*, **1998**; 19:1641-1649.
97. **Yilgor P, Hasirci N, Hasirci V.** Sequential BMP-2/BMP-7 delivery from polyester nanocapsules. *J Biomed Mater Res A*, **2010**; 93(2):528-36.
98. **Hokugo A, Sawada Y, Hokugo R, Iwamura H, Kobuchi M, Kambara T, Morita S, Tabata Y.** Controlled release of platelet growth factors enhances bone regeneration at rabbit calvaria. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, **2007**; 104:44-48.
99. **Tabata Y, Yamada K, Miyamoto S, Nagata I, Kikuchi H, Aoyama I, Tamura M, Ikada Y.** Bone regeneration by basic fibroblast growth factor complexed with biodegradable hydrogels. *Biomaterials*, **1998**; 19:807-815.
100. **Narayani R, Rao KP.** Controlled release of anticancer drug methotrexate from biodegradable gelatin microspheres. *J Microencapsul*, **1994**; 11:69-77.
101. **Urist MR, Lietze A, Dawson E.** Beta-tricalcium phosphate delivery system for bone morphogenetic protein. *Clin Orthop Relat Res*, **1984**; 187:277-280.
102. **Yamamoto M., Takahashi Y, Tabata Y.** Enhanced bone regeneration at a segmental bone defect by controlled release of bone morphogenetic protein-2 from a biodegradable hydrogel. *Tissue Eng*, **2006**; 12:1305-1311.

103. Shields LBE, Raque GH, Glassman SD, Campbell M, Vitaz T, Harpring J, Shields CB. Adverse effects associated with high-dose recombinant human bone morphogenetic protein-2 use in anterior cervical spine fusion. *Spine*, **2006**; 31:542-7.
104. Wang CK, Ho ML, Wang GJ, Chang JK, Chen CH, Fu YC, Fu HH. Controlled-release of rhBMP-2 carriers in the regeneration of osteonecrotic bone. *Biomaterials*, **2009**; 30:4178-86.
105. Li Y, Nothnagel J, Kissel T. Biodegradable brush-like graft polymers from poly(D,L-lactide) or poly(D,L-lactide-co-glycolide) and charge-modified, hydrophilic dextrans as backbone-Synthesis, characterization and in-vitro degradation properties. *Polymer*, **1997**; 38(25):6197-6206.
106. Wheeler DL, Chamberland DL, Schmitt JM, Buck DC, Brekke JH, Hollinger JO, Joh SP, Suh KW. Radiomorphometry and biomechanical assessment of recombinant human bone morphogenetic protein 2 and polymer in rabbit radius osteotomy model. *J Biomed Mater Res*, **1998**; 43:365-373.
107. Shim IK, Yook YJ, Lee SY, Lee SH, Park KD, Lee MC, Lee SJ. Healing of articular cartilage defects treated with a novel drug-releasing rod-type implant after microfracture surgery. *J Control Release*, **2008**; 129:187-91.
108. Ulubayram K, Eroglu I, Hasirci N. Gelatin microspheres and sponges for delivery of macromolecules. *J Biomater Appl*, **2002**; 16:227-241.
109. Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Säge-Schliff (sawing and grinding) technique. *J Oral Pathol*, **1982**; 11:318-326.
110. Kürkcü M, Benlidayı ME. Biyomateryal içeren sert dokulardan histolojik kesit hazırlanmasına ilişkin yöntem. *Türk Oral Maksillofas Cer Derg*, **2008**; 2:31-34.
111. Cabbar F, Güler N, Kürkcü M, Işeri U, Sençift K. The effect of bovine bone graft with or without platelet-rich plasma on maxillary sinus floor augmentation. *J Oral Maxillofac Surg*, **2011**; 69:2537-47.
112. Smiler D, Soltan M. The bone-grafting decision tree: a systematic methodology for achieving new bone. *Implant Dent*, **2006**; 15(2):122-8.
113. Tatlı U, Üstün Y, Kürkcü M, Erdoğan Ö, Gürbüüz CC, Özgür H, Polat S. Effects of zoledronic acid on healing of mandibular fractures: an experimental study in rabbits. *J Oral Maxillofac Surg*, **2011**; 69:1726-35.
114. Kaveh K, Ibrahim R, Abu Bakar MZ, Ibrahim TA. Bone grafting and bone graft substitutes. *J Anim Vet Adv*, **2010**; 9(6):1055-1067.
115. Jung RE, Glauser R, Schärer P, Hämmerle CH, Sailer HF, Weber FE. Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans. *Clin Oral Implants Res*, **2003**; 14(5):556-68.
116. Terheyden H., Knak C, Jepsen S, Palmie S, Rueger DR. Mandibular reconstruction with a prefabricated vascularized bone graft using recombinant human osteogenic protein-1: an experimental study in miniature pigs. Part I: Prefabrication. *Int J Oral Maxillofac Surg*, **2001**; 30:461-463.
117. Nevins M, Kirker-Head C, Wozney JA, Palmer R, Graham D. Bone formation in the goat maxillary sinus induced by absorbable collagen sponge implants impregnated with recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Int J Periodontics Restorative Dent*, **1996**; 16:8-19.
118. Ito K, Yamada Y, Naiki T, Ueda M. Simultaneous implant placement and bone regeneration around dental implants using tissue-engineered bone with fibrin glue, mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma. *Clin Oral Implants Res*, **2006**; 17(5):579-86.

119. **Schliephake H, Bertram H, Lindenmaier W, Rohde M, Mayer H, Planck H.** In-vitro engineering of human bone marrow derived mesenchymal stem cells (MSC) for tissue engineered growth of bone. *Int J Oral Maxillofac Surg*, **1999**; 28(Suppl.):107.
120. **Jung RE, Cochran DL, Domken O, Seibl R, Jones AA, Buser D, Hammerle C.** The effect of matrix bound parathyroid hormone on bone regeneration. *Clin Oral Implants Res*, **2007**;18:319-25.
121. **Bottner M, Kriegelstein K, Unsicker K.** The transforming growth factor- β s. Structure, signalling, and roles in nervous system development and functions. *J Neurochem*, **2000**; 75:2227-2240.
122. **Duneas N, Crooks J, Ripamonti U.** Transforming growth factor-beta 1: induction of bone morphogenetic protein genes expression during endochondral bone formation in the baboon, and synergistic interaction with osteogenic protein-1 (BMP-7). *Growth Factors*, **1998**; 15:259-277.
123. **Cornish J.** Lactoferrin promotes bone growth. *Biometals*, **2004**; 17:331-335.
124. **Cornish J, Callon KE, Naot D, Palmano KP, Banovic T, Bava U, Watson M, Lin JM, Tong PC, Chen Q, Chan VA, Reid HE, Fazzalari N, Baker HM, Baker EN, Haggarty NW, Grey AB, Reid IR.** Lactoferrin is a potent regulator of bone cell activity and increases bone formation in vivo. *Endocrinology*, **2004**; 145:4366-4374.
125. **Naot D, Grey A, Reid IR, Cornish J.** Lactoferrin--a novel bone growth factor. *Clin Med Res*; **2005**; 3:93-101.
126. **Öztuna V.** Ortopedi ve travmatolojide kullanılan deneysel hayvan modelleri (Temel ilkeler, etik unsurlar ve modeller). *TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi*, **2007**; 6(1-2):47-55.
127. **Deniz G.** Supplement (Deneysel hayvan modelleri çalıştıy). *The Official Journal of the Turkish Society of Immunology*, **2012**; 2(18):1-126.
128. **Tudor C, Srouf S, Thorwarth M, Stockmann P, Neukam FW, Nkenke E, Schlegel KA, Felszeghy E.** Bone regeneration in osseous defects - application of particulated human and bovine materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, **2008**; 105:430-6.
129. **Schenk RK, Buser D, Hardwick WR, Dahlin C.** Healing pattern of bone regeneration in membrane-protected defects: a histologic study in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants*, **1997**; 9:13-29.
130. **Hockers T, Abensur D, Valentini P, Legrand R, Hammerle CHF.** The combined use of bioresorbable membranes and xenografts or autografts in the treatment of bone defects around implants. A study in beagle dogs. *Clin Oral Impl Res*, **1999**; 10:487-98.
131. **Becker W, Schenk R, Higuchi K, Lekholm U, Becker BE.** Variations in bone regeneration adjacent to implants augmented with barrier membranes alone or with demineralized freeze-dried bone or autologous grafts: a study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants*, **1995**; 10:143-154.
132. **Veis AA, Trisi P, Papadimitriou S, Tsirlis AT, Parissis NA, Desiris AK, Lazzara RJ.** Osseointegration of Osseotite[®] and machined titanium implants in autogenous bone graft. A histologic and histomorphometric study in dogs. *Clin Oral Impl Res*, **2004**; 15:54-61.
133. **Carmagnola D, Berglundh T, Lindhe J.** The effect of a fibrin glue on the integration of Bio-Oss[®] with bone tissue An experimental study in labrador dogs. *J Clin Periodontol*, **2002**; 29:377-383.
134. **Qiu QQ, Mendenhall HV, Garlick DS, Connor J.** Evaluation of bone regeneration at critical-sized calvarial defect by DBM/AM composite. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, **2007**; 81:516-523.

135. **van der Pol U, Mathieu L, Zeiter S, Bourban PE, Zambelli PY, Pearce SG, Bouré LP, Pioletti DP.** Augmentation of bone defect healing using a new biocomposite scaffold: an in vivo study in sheep. *Acta Biomater*, **2010**; 6:3755-62.
136. **Carmagnola D, Adriaens P, Berglundh T.** Healing of human extraction sockets filled with Bio-Oss®. *Clin Oral Impl Res*, **2003**; 14:137-143.
137. **Simunek A, Kopecka D, Somanathan RV, Pilathadka S, Brazda T.** Deproteinized bovine bone versus beta-tricalcium phosphate in sinus augmentation surgery: a comparative histologic and histomorphometric study. *Int J Oral Maxillofac Implants*, **2008**; 23:935-42.
138. **Jensen SS, Broggin N, Hjorting-Hansen E, Schenk R, Buser D.** Bone healing and graft resorption of autograft, anorganic bovine bone and β -tricalcium phosphate. A histologic and histomorphometric study in the mandibles of minipigs. *Clin Oral Impl Res*, **2006**; 17:237-243.
139. **Simunek A, Kopecka D, Somanathan RV, Pilathadka S, Brazda T.** Deproteinized bovine bone versus beta-tricalcium phosphate in sinus augmentation surgery: a comparative histologic and histomorphometric study. *Int J Oral Maxillofac Implants*, **2008**; 23: 935-42.
140. **Parsak CK, Sakman G, Çelik Ü.** Wound healing, wound care and its complications. *Archives Medical Review Journal*, **2007**; 16(2):145-159.
141. **Nevins M, Camelo M, De Angelis N, Hanratty JJ, Khang WG, Kwon JJ, Rasperini G, Rocchietta I, Schupbach P, Kim DM.** The clinical and histologic efficacy of xenograft granules for maxillary sinus floor augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent*, **2011**; 31(3):227-235.
142. **Barone A, Aldini NN, Fini M, Giardino R, Calvo Guirado JL, Covani U.** Xenograft versus extraction alone for ridge preservation after tooth removal: a clinical and histomorphometric study. *J Periodontol*, **2008**; 79:1370-1377.
143. **Artzi Z, Weinreb M, Givol N, Rohrer MD, Nemcovsky CE, Prasad HS, Tal H.** Biomaterial resorption rate and healing site morphology of inorganic bovine bone and beta-tricalcium phosphate in the canine: a 24-month longitudinal histologic study and morphometric analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants*, **2004**; 19:357-368.
144. **Schlegel AK, Donath K.** BIO-OSS--a resorbable bone substitute? *J Long Term Eff Med Implants*, **1998**; 8:201-209.
145. **Kurkcu M, Benlidayi ME, Cam B, Sertdemir Y.** Anorganic bovine-derived hydroxyapatite versus β -tricalcium phosphate in sinus augmentation. A comparative histomorphometric study. *J Oral Implantol*, **2012**; 38:519-526.
146. **Kempen DH, Lu L, Hefferan TE, Creemers LB, Maran A, Classic KL, Dhert WJ, Yaszemski MJ.** Retention of in vitro and in vivo BMP-2 bioactivities in sustained delivery vehicles for bone tissue engineering. *Biomaterials*, **2008**; 29:3245-3252.
147. **Jeon O, Song SJ, Yang HS, Bhang SH, Kang SW, Sung MA, Lee JH, Kim BS.** Long-term delivery enhances in vivo osteogenic efficacy of bone morphogenetic protein-2 compared to short-term delivery. *Biochem Biophys Res Commun*, **2008**; 369:774-780.
148. **Lee SC, Shea M, Battle MA, Kozitza K, Ron E, Turek T, Schaub RG, Hayes WC.** Healing of large segmental defects in rat femurs is aided by RhBMP-2 in PLGA matrix. *J Biomed Mater Res*, **1994**; 28:1149-1156.
149. **Schrier, JA, Fink BF, Rodgers JB, Vasconez HC, DeLuca PP.** Effect of a freeze-dried CMC/PLGA microsphere matrix of rhBMP-2 on bone healing. *AAPS PharmSciTech*, **2001**; 2:73-80.
150. **Bessa PC, Casal M, Reis RL.** Bone morphogenetic proteins in tissue engineering: the road from the laboratory to the clinic, part I (basic concepts). *J Tissue Eng Regen Med*, **2008**; 2:1-13.

151. Bessa PC, Casal M, Reis RL. Bone morphogenetic proteins in tissue engineering: the road from the laboratory to the clinic, part II (basic concepts). *J Tissue Eng Regen Med*, **2008**; 2:81-96.
152. Patel ZS, Yamamoto M, Ueda H, Tabata Y, Mikos AG. Biodegradable gelatin microparticles as delivery systems for the controlled release of bone morphogenetic protein-2. *Acta Biomater*, **2008**; 4:1126-1138.
153. Chen FM, Zhao YM, Zhang R, Jin T, Sun HH, Wu ZF, Jin Y. Periodontal regeneration using novel glycidyl methacrylated dextran (Dex-GMA)/gelatin scaffolds containing microspheres loaded with bone morphogenetic proteins. *J Control Release*, **2007**; 121:81-90.
154. Wang YJ, Lin FH, Sun JS, Huang YC, Chueh SC, Hsu FY. Collagen-hydroxyapatite microspheres as carriers for bone morphogenic protein-4. *Artif Organs*, **2003**; 27:162-168.
155. Matsumoto T, Okazaki M, Inoue M, Yamaguchi S, Kusunose T, Toyonaga T, Hamada Y, Takahashi J. Hydroxyapatite particles as a controlled release carrier of protein. *Biomaterials*, **2004**; 25:3807-3812.
156. Akazawa T, Murata M, Sasaki T, Tazaki J, Kobayashi M, Kanno T, Nakamura K, Arisue M. Biodegradation and bioabsorption innovation of the functionally graded bovine bone-originated apatite with blood permeability. *J Biomed Mater Res A*, **2006**; 76:44-51.

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Adana’ da doğdu. İlköğrenimini 1995 yılında Atatürk İlkokulu’ nda, orta ve lise öğrenimini 2002 yılında Adana Ticaret Odası Anadolu Lisesi’ nde tamamladı. 2007 yılında Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’ nden mezun oldu. 2008 yılında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı’ nda doktora eğitimine başladı. Doktora eğitimi süresince Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’ nde klinik ve akademik faaliyetlerde bulundu.