

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

**TAVŞAN KALVARYAL KEMİK  
DEFEKTLERİNDE TROMBOSİTTEN  
ZENGİN FİBRİNİN YENİ KEMİK  
OLUŞUMUNDAKİ ETKİNLİĞİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**DOKTORA TEZİ**

**Ahmet Hüseyin ACAR**

**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ VE GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM  
DALI ORTAK DOKTORA PROGRAMI**

**DANIŞMAN**

**Yrd.Doç.Dr.Ümit YOLCU**

**MALATYA-2014**

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

**TAVŞAN KALVARYAL KEMİK  
DEFEKTLERİNDE TROMBOSİTTEN  
ZENGİN FİBRİNİN YENİ KEMİK  
OLUŞUMUNDAKİ ETKİNLİĞİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Ahmet Hüseyin ACAR**

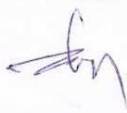

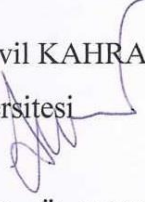
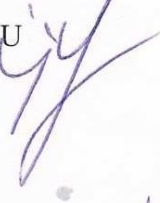
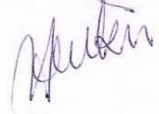
**Danışman Öğretim Üyesi: Yrd.Doç.Dr. Ümit Yolcu**

**Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi  
tarafından 2012/128 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**MALATYA-2014**

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

		İmza
Jüri Başkanı	Prof. Dr. Cengizhan KESKİN İstanbul Üniversitesi	
Üye	Prof.Dr. Serkan POLAT İnönü Üniversitesi	
Ortak Tez Danışmanı	Doç.Dr. Sevil KAHRAMAN Gazi Üniversitesi	
Danışman	Yrd. Doç. Dr. Ümit YOLCU İnönü Üniversitesi	
Üye:	Yrd. Doç. Dr. Hilal ALAN İnönü Üniversitesi	

ONAY :

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu ...../...../ 20.... tarih ve 20.....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yaşar BAYINDIR  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Bugünlere gelmemde büyük emekleri olan annem ve babama çok teşekkür ederim.

Desteğiyle beni her zaman motive eden sevgili eşim Yasemin Bahar ACAR'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında dünyaya gelen ve çalışmalarımı hızlandırmama sebep olan biricik oğluma teşekkür ederim.

Doktora eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca bana desteğini esirgemeyen danışman hocam Dr. Ümit YOLCU'ya teşekkür ederim.

Doktora eğitimi süresince bizlere desteklerini esirgemeyen Prof.Dr. Serkan POLAT'a ve Doç.Dr. Sevil KAHRAMAN'a teşekkür ederim.

Bu zorlu süreçte daima yanımda olan yakın dostlarım Fatih ASUTAY, Orhan GEÇÖR ve Bekir EŞER'e teşekkür ederim.

Mikro-BT analizlerinde yardımcı olan Dr.Ali KELEŞ' e teşekkür ederim.

Histolojik ve histomorfometrik incelemelerde yardımcı olan Doç.Dr. Mehmet GÜL'e teşekkür ederim.



## ÖZET

Bu çalışmanın amacı; trombositen zengin fibrinin (TZF) tek başına ve hidroksiapatit (HA)/beta-trikalsiyum fosfat ( $\beta$ TCP) ile birlikte kullanıldığında yeni kemik oluşumundaki etkisinin araştırılmasıdır.

Çalışmada toplam 20 adet Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Her tavşanın kalvaryumuna dört adet 6mm çapında standart defektler açıldı. Defektlerden birisi kontrol, diğer üçü ise deney grubu olarak planlandı. Deney gruplarına ise sırasıyla TZF, HA/ $\beta$ TCP ve TZF ile HA/ $\beta$ TCP karıştırılarak uygulandı. Hayvanların yarısı 4. hafta diğer yarısı ise 8. hafta sonunda sakrifiye edildi. Tavşanlardan elde edilen numunelerin mikro bilgisayarlı tomografi (mikro-BT) ile görüntüleri alındıktan sonra histolojik ve histomorfometrik analizleri yapıldı.

Histomorfometrik incelemelere göre kontrol grubu hariç tüm gruplarda 8. haftadaki yeni kemik oluşumundaki artış miktarı 4. haftadan istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Mikro-BT analizlerine göre tüm gruplarda 8.haftadaki yeni kemik oluşumundaki artış miktarı 4. haftadan istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Her iki inceleme metodunda sadece TZF ve sadece HA/ $\beta$ TCP kullanılan gruplarda 4. ve 8. haftalarda yeni kemik oluşumundaki artış miktarı kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulundu. TZF ile HA/ $\beta$ TCP'nin birlikte kullanıldığı grupta ise 4. ve 8. haftalarda yeni kemik oluşumundaki artış miktarı diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Sonuç olarak TZF tek başına ve HA/ $\beta$ TCP ile birlikte karıştırılarak kullanıldığında yeni kemik oluşumunu artırmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Trombositen zengin fibrin, hidroksiapatit/beta-trikalsiyum fosfat, kalvaryal defekt, mikro bilgisayarlı tomografi, tavşan.

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF THE EFFECTIVENESS OF PLATELET RICH FIBRIN ON NEW BONE FORMATION IN RABBIT CALVARIAL BONE DEFECTS

The present study aimed to investigate the effectiveness of platelet-rich fibrin (PRF) on bone regeneration when used alone or in combination with hydroxyapatite (HA)/beta-tricalcium phosphate ( $\beta$ TCP).

20 New Zealand rabbits were used in the study. On the calvarium of each rabbit, 4 standardized defects, 6-mm in diameter, were created. One of the defects was used as control and the other three were used as experimental groups. Experimental defects were filled with PRF, HA/ $\beta$ TCP and PRF mixed with HA/ $\beta$ TCP. Half of the rabbits were sacrificed at 4th week and other half sacrificed at 8th week. After micro-computed tomography (micro-CT) scanning, the samples were sent for histological and histomorphometric analysis.

Histomorphometric analysis showed that increase in new bone formation at 8th week was statistically significant in all groups except control group in comparison to the new bone formation at 4th week. Micro-CT analysis showed that increase in new bone formation at 8th week was statistically significant in all groups in comparison to the new bone formation at 4th week. Histomorphometric and micro-CT analysis showed that both PRF and HA/ $\beta$ TCP significantly increased new bone formation in comparison to the control group at 4th week and 8th week. When PRF was used in combination with HA/ $\beta$ TCP, a further significant increase in new bone formation was observed at 4th week and 8th week compared with that when PRF or HA/ $\beta$ TCP was used alone.

To conclude, PRF increases new bone formation either alone or in combination with HA/ $\beta$ TCP.

**Key Words:** Platelet rich fibrin, hydroxyapatite/ beta-tricalcium phosphate, calvarial defect, micro computed tomography, rabbit.

## İÇİNDEKİLER

<b>ONAY SAYFASI</b> .....	iii
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	iv
<b>ÖZET</b> .....	v
<b>ABSTRACT</b> .....	vi
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	vii
<b>SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	ix
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	x
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	xiii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	3
2.1 Kemik Dokusu .....	3
2.2 Kemik Hücreleri.....	5
2.2.1 Osteoprogenitör hücreler.....	5
2.2.2 Osteoblastlar.....	6
2.2.3 Osteositler .....	6
2.2.4 Kemiği Döşeyen Hücreler.....	7
2.2.5 Osteoklastlar.....	7
2.3 Periosteum ve Endosteum .....	8
2.4 Kemik Türleri.....	8
2.4.1 Birincil (Olgunlaşmamış) Kemik Dokusu .....	8
2.4.2 İkincil (Olgunlaşmış) Kemik Dokusu .....	9
2.5 Kemik Oluşumu (Osteogenez).....	10
2.5.1 İntramembranöz Kemikleşme .....	11
2.5.2 Endokondral Kemikleşme .....	11
2.6 Kemiğin İyileşmesi .....	12
2.7 Oral İmplantolojide Kemik Yoğunluğunun Önemi .....	14
2.8 Kemik Greftleri .....	15
2.8.1 Otojen Kemik Greftleri .....	16
2.8.2 Allogreft (Homojen Greft) .....	17

2.8.3 Ksenogreft (Heterojen Greft) .....	18
2.8.4 Sentetik Greftler (Alloplastik Greftler) .....	18
2.9 Trombositten Zengin Fibrin .....	19
2.9.1 Fibrin .....	21
2.9.2 Trombositler .....	22
2.9.3 Sitokinler .....	23
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b> .....	27
3.1 Trombositten Zengin Fibrinin Hazırlanması .....	27
3.2 Cerrahi İşlemler ve Çalışma Grupları .....	30
3.3 Radyolojik İnceleme .....	35
3.4 Histolojik ve Histomorfometrik İnceleme .....	38
3.5 İstatistiksel Değerlendirme .....	38
<b>4. BULGULAR</b> .....	39
4.1 Histolojik ve Histomorfometrik Bulgular .....	39
4.1.1 4.Haftaya Ait Histolojik Bulgular .....	39
4.1.2 8.Haftaya Ait Histolojik Bulgular .....	54
4.1.3 Histomorfometrik Bulgular .....	68
4.2 Radyolojik Bulgular .....	70
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	73
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER</b> .....	82
<b>KAYNAKLAR</b> .....	83
<b>EKLER</b> .....	100
<b>EK.1:</b> Deney Hayvanları Etik Kurulu Kararı .....	100
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	101

**SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ**

$\alpha$	: Alfa
$\beta$	: Beta
$^{\circ}\text{C}$	: Santigrat Derece
$\mu\text{M}$	: Mikro Metre
BMP	: Kemik Morfojenik Protein
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
FDÜ	: Fibrin Degranülasyon Ürünleri
HA	: Hidroksiapatit
HCV	: Hepatit C virüsü
HIV	: İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü
IGF	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IL-1	: İnterlökin 1
IL-4	: İnterlökin 4
IL-6	: İnterlökin 6
Mikro-BT:	Mikro Bilgisayarlı Tomografi
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
SBC	: Straumann <sup>®</sup> Bone Ceramic
TCP	: Trikalsiyum Fosfat
TGF	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü
TNF	: Tümör Nekroz Faktörü
TZF	: Trombositten Zengin Fibrin
TZP	: Trombositten Zengin Plazma
VEGF	: Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Tavşana intramusküler enjeksiyonla anestezi yapılması .....	28
Şekil 3.2 Tavşanın kulağından kan alınması.....	28
Şekil 3.3 TZF için kullanılan 10 ml'lik tüp.....	29
Şekil 3.4 Tüpün santrifüj cihazına yerleştirilmesi.....	29
Şekil 3.5 Santrifüj cihazının ayarlanması.....	30
Şekil 3.6 Elde edilen TZF .....	30
Şekil 3.7 Cerrahi aletler.....	31
Şekil 3.8 Tavşan kafa derisi traş edildikten sonra alınan görüntü.....	31
Şekil 3.9 Cerrahi sahanın steril olarak örtülmesi .....	32
Şekil 3.10 Kafa derisi insizyonu .....	32
Şekil 3.11 Tavşan parietal kemiğinin görüntüsü.....	32
Şekil 3.12 Trefin frezle bikortikal defektlerin hazırlanması .....	33
Şekil 3.13 Hazırlanan defektlerin görüntüsü.....	33
Şekil 3.14 TZF'nin tüpten çıkartılması .....	33
Şekil 3.15 TZF'nin görüntüsü .....	33
Şekil 3.16 TZF ile SBC'nin karıştırılması .....	34
Şekil 3.17 Kontrol ve deney gruplarının görüntüsü .....	35
Şekil 3.18 Skyscan 1172 mikro-BT cihazı.....	36
Şekil 3.19 Defektlerde 6 mm çapındaki inceleme bölgesinin oluşturulması .....	36
Şekil 3.20 Greft materyalinin üç boyutlu bilgisayar görüntüsü .....	37
Şekil 3.21 Yeni oluşan kemiğin üç boyutlu bilgisayar görüntüsü .....	37
Şekil 3.22 Mikro-BT analizinde 6mm çapında inceleme alanı oluşturduktan sonra greft materyali çıkartılarak yeni oluşan kemik hacminin hesaplanması .....	37
Şekil 4.1 4.hafta A grubuna ait defektin tamamının histolojik görüntüsü .....	39
Şekil 4.2 4.hafta A grubuna ait cerrahi sınıra yakın histolojik görüntü .....	40
Şekil 4.3 Cerrahi sınır ve fibröz bağ dokusu.....	40
Şekil 4.4 Fibröz bağ dokusu içinde vasküler yapıların görüntüsü .....	41
Şekil 4.5 Cerrahi sınıra yakın alanda kalsifiye kemik doku adacığı .....	41
Şekil 4.6 Cerrahi sınıra yakın osteojenik adacıklar.....	42

Şekil 4.7	4.hafta B grubuna ait defektin tamamının histolojik görüntüsü .....	43
Şekil 4.8	4.hafta B grubuna ait cerrahi sınıra yakın yerden alınan histolojik görüntü..	44
Şekil 4.9	4.hafta B grubunda cerrahi sınıra yakın alanda yeni kemik oluşumu.....	44
Şekil 4.10	Kemikleşme merkezi .....	45
Şekil 4.11	Kemikleşme merkezinde mezenkimal hücreler .....	45
Şekil 4.12	Osteoid doku ve osteoblastik aktivite .....	46
Şekil 4.13	4.hafta C grubuna ait defektin tamamının histolojik görüntüsü .....	47
Şekil 4.14	4. hafta C grubuna ait cerrahi sınıra yakın histolojik görüntü .....	48
Şekil 4.15	Cerrahi sınırdaki greft materyali çevresinde görülen yeni kemik oluşumu....	48
Şekil 4.16	4.hafta C grubuna ait cerrahi sınıra uzak histolojik görüntü.....	49
Şekil 4.17	Cerrahi sınıra uzak bölgedeki osteoindüktif alanlar .....	49
Şekil 4.18	Cerrahi sınıra uzak bölgede osteoklastik aktivite .....	50
Şekil 4.19	4.hafta D grubuna ait defektin tümünün histolojik görüntüsü .....	51
Şekil 4.20	4.hafta D grubuna ait cerrahi sınıra yakın histolojik görüntü .....	51
Şekil 4.21	4.hafta D grubuna ait cerrahi sınıra uzak histolojik görüntü .....	52
Şekil 4.22	Greft materyali alanlarında görülen yeni kemik oluşumu .....	52
Şekil 4.23	Greft materyali çevresinde yeni kemik oluşumu .....	53
Şekil 4.24	Greft materyali çevresinde osteoklastik ve osteoblastik aktivite.....	53
Şekil 4.25	8.hafta A grubuna ait defektin tamamının histolojik görüntüsü .....	54
Şekil 4.26	8.hafta A grubuna ait cerrahi sınıra yakın histolojik görüntü .....	55
Şekil 4.27	Cerrahi sınıra yakın bölgede osteoblastik aktivite.....	55
Şekil 4.28	Cerrahi sınırdaki fibröz bağ dokusu görüntüsü.....	56
Şekil 4.29	Cerrahi sınıra uzak alanda fibröz bağ dokusu görüntüsü.....	56
Şekil 4.30	Defektin ortasında görülen yoğun fibröz bağ dokusu.....	57
Şekil 4.31	8.hafta B grubuna ait defektin tamamının histolojik görüntüsü .....	58
Şekil 4.32	8.hafta B grubuna ait cerrahi sınıra yakın histolojik görüntü .....	58
Şekil 4.33	Cerrahi sınıra yakın bölgede oluşan yeni kemik dokuları .....	59
Şekil 4.34	8.hafta B grubunda görülen osteoindüktif odaklar .....	59
Şekil 4.35	8.hafta B grubunda cerrahi sınıra yakın bölgede osteoindüktif odaklar .....	60
Şekil 4.36	8.hafta B grubunda görülen osteoblastik aktivite .....	60
Şekil 4.37	8.hafta C grubuna ait defektin tamamının histolojik görüntüsü .....	61
Şekil 4.38	8.hafta C grubuna ait cerrahi sınıra yakın bölgenin histolojik görüntüsü...	61

Şekil 4.39 8.hafta C grubuna ait cerrahi sınıra uzak bölgenin histolojik görüntüsü .....	62
Şekil 4.40 Kemik doku lamelleri .....	62
Şekil 4.41 Greft materyali periferinde osteoklastik aktivite .....	63
Şekil 4.42 Sekizinci hafta D grubuna ait defektin tamamının histolojik görüntüsü .....	64
Şekil 4.43 8.hafta D grubuna ait cerrahi sınıra yakın histolojik görüntü .....	65
Şekil 4.44 8.hafta D grubuna ait cerrahi sınıra uzak histolojik görüntü .....	65
Şekil 4.45 8.hafta D grubuna ait yeni oluşan kemik görüntüsü .....	66
Şekil 4.46 Greft materyali periferinde görülen osteoklastlar .....	66
Şekil 4.47 Greft materyali ve yeni oluşan kemik dokusu çevresinde görülen osteoblastik aktivite.....	67
Şekil 4.48 Histomorfometrik inceleme sonuçlarına göre yeni oluşan kemik alanlarının yüzde cinsinden dağılımları (%) .....	69
Şekil 4.49 Mikro-BT ile hesaplanan yeni kemik hacminin yüzdesi (%) .....	71
Şekil 4.50 Gruplara ait Mikro-BT görüntüsü.....	72



**TABLÖLAR DİZİNİ**

Tablo 4.1: Histomorfometrik değerlendirme sonuçları.....	68
Tablo 4.2:Mikro-BT analizinde hesaplanan yeni kemik hacminin yüzdesi.....	70

## 1.GİRİŞ

Kemik defekti, normalde var olması gereken kemik dokunun eksikliği olarak tanımlanmaktadır (1). Maksillofasiyal bölgede travma, enfeksiyon, diş çekimleri, konjenital sebepler, kist ve tümör eksizyonları gibi birçok nedene bağlı olarak kemik defektleri gelişebilir. Küçük kemik defektleri doku tarafından kendiliğinden onarılrken, büyük çaplı kemik defeklerinin ise tedavi edilmesi gerekmektedir. Bu defektlerin onarımı çok eski zamanlardan beri yapılmaktadır. Tedavi için geçmişten günümüze kadar farklı materyaller kullanılmıştır. Eski çağlarda altın ve gümüş tabakaları kullanılırken günümüzde otogreftler, allogreftler, ksenogreftler ve sentetik malzemeler kullanılmaktadır (2).

Günümüzde kemik defektlerinin tedavileri için kullanılan greft materyallerinin elde edilişleri, yapısal özellikleri ve yeni kemik oluşturmadaki etkinlikleri farklılık göstermektedir. Yaygın olarak kullanılan otojen kemik greftleri sahip oldukları osteokondüktif ve osteoindüktif özellikler nedeniyle kemik defektlerinin tedavisinde altın standart olarak kabul edilmektedir. Bu greftleri elde etmek için ek bir cerrahiye gerek duyulması, alıcı bölge enfeksiyonları ve yeterli miktarda greft materyali alınamaması gibi sebepler otojen kemik greftlerin kullanımını sınırlamıştır (3). Allogreftler otojen kemik greftlerine iyi bir alternatif olarak kullanılmaktadır. Tartışmalı osteoindüktif kapasiteleri, alıcı dokuda immünolojik yanıt oluşturma potansiyelleri ve bulaşıcı hastalık riski allogreftlerin olumsuz özelliklerindedir (4). Ksenogreftler dentoalveolar cerrahide yaygın olarak kullanılmaktadır. Sığır kaynaklı ksenogreftler insan kemik yapısına benzemeleri, biyouyumlu olmaları ve osteokondüktif özellikleri nedeniyle sık tercih edilmektedirler (5). Ksenogreftlerin elde edilmelerindeki etik problemler ve zoonotik enfeksiyonlar bu greftlerin dezavantajlarından (6). Hidroksiapatit (HA) ve trikalsiyum fosfat (TCP) sentetik greft materyallerindedir. Bu greft materyalleri osteoindüktif etkiye sahip olmayıp defekt bölgesinde yeni kemik oluşumu için sadece iskelet görevi görmektedirler (7).

Greft materyallerindeki çeşitliliğe rağmen kemik defektlerinin tedavisinde her zaman başarılı olunamamaktadır. Ayrıca uzun süren iyileşme süreçleri de sorun

teşkil etmektedir. Bu sebepten dolayı kemik defektlerinin daha iyi ve hızlı iyileşmesi için çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalarda osteoporoz tedavisinde kullanılan ilaçlar, kemik morfojenik proteini (BMP), kök hücre, lazer ve ultrason uygulamaları gibi yöntemler kemik defektlerini tedavi etmek amacıyla kullanılmaktadır (8,9,10,11,12). Trombosit konsantrasyonları da çalışmalarda ve klinik uygulamalarda bu amaç için sık kullanılmaktadır (13,14) .

Günümüzde trombosit konsantrasyonlarıyla ilgili yapılmış birçok çalışma göze çarpmaktadır. Trombosit konsantrasyonları içerdikleri büyüme faktörleri sayesinde, yara bölgesinde iyileşmeye yardımcı olmaktadır. Trombositten zengin plazma (TZP) klinisyenler tarafından maksillofasial cerrahide yaygın olarak kullanılmaktadır (15,16). Son yıllarda ikinci nesil trombosit konsantrasyonu olarak da adlandırılan trombositten zengin fibrin (TZF) popüler olmaya başlamıştır. TZP'ye göre daha basit bir prosedure sahip olan TZF, 2000 yılında Choukroun ve ark. tarafından geliştirilmiştir (17). TZF canlıdan alınan kanın santrifüji ile fibrin ağı içerisine trombosit ve sitokinlerin toplanması ile elde edilir (18,19). İçerdiği yoğun miktardaki trombosit, lökosit ve büyüme faktörleri nedeniyle yumuşak doku ve kemik doku iyileşmesine olumlu katkıda bulunmaktadır (20,21). TZF'nin elde edilmesinde ek bir maliyet gerektirmemesi ve otolog olması nedeniyle yan etkisinin bulunmaması son dönemlerde klinisyenler tarafından yaygın olarak kullanılmasını sağlamıştır.

Bu çalışmada deneysel olarak oluşturulan tavşan kalvaryal kemik defektlerinde TZF'nin tek başına ve sentetik kemik greft materyali ile birlikte karıştırılarak uygulandığında yeni kemik oluşumundaki etkisinin histolojik, histomorfometrik ve radyolojik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1.Kemik Dokusu

İskelet sisteminin temelini oluşturan kemik dokusu organik ve inorganik komponentlerden oluşmuş özel bir bağ dokusudur. Kemiği diğer bağ dokularından ayıran özelliği ise sahip olduğu mineralize ekstrasellüler matriksidir (22). Diğer tüm bağ dokularında olduğu gibi kemik dokusu da yapısında hücre bulundurmaktadır. Fakat içerdiği inorganik maddeler sayesinde dış minesinden sonra vücuttaki en sert doku olma özelliğini taşımaktadır. Kemikler kalsiyum ve fosfat gibi elementlerin deposu olup gerektiğinde bu elementleri yapısından kana vererek vücudun ihtiyaçlarını karşılar (23,24).

Kemikler içerdiği kemik iliği sayesinde kırmızı ve beyaz kan hücrelerinin üretimini sağlayarak canlı için hayati bir görevi yerine getirirler. Bağ ve destek dokuları içinde sınıflandırılırlar ve organizmadaki yumuşak dokulara destek verirler. Vücudun en küçük kemikleri olan çekiç, örs ve üzengi kemikçikleri dış kulak ile iç kulağın bağlantısını sağlayarak işitmede önemli görev yaparlar. Ayrıca kafatası ve kaburgaları oluşturarak beyin, kalp ve akciğer gibi vücudun en hassas ve hayati organlarını korurlar (23,25). Organizmaya bir bütünlük ve biçim kazandıran kemikler kas dokusu ile birlikte hareket ederek organizmanın hareket etmesini sağlarlar (24).

Kemik dokusu makroskopik olarak incelendiğinde kompakt ve spongiöz olmak üzere ikiye ayrılır. Kompakt kemik içinde boşluk içermez ve daha serttir. Spongiöz kemik ise içinde gözenekli yapı içerir ve içindeki bu gözenekli boşluklarda kemik iliği bulunur (25). Uzun kemiklerin uç kısımlarında ince yapıda kompakt kemik vardır. Buradaki kompakt kemiğin altında spongiöz kemik bulunur. Bu bölge epifiz olarak adlandırılır. Uzun kemiklerin her iki ucunda bulunan epifiz bölgesinin arasında kalan bölgeye ise diyafiz denir. Diyafiz bölgesinin dışa bakan kısmı kompakt kemikten oluşur. İç kısmında ise spongiöz kemik bulunur. Kafatası gibi yassı kemiklerin dış ve iç yüzü kompakt yapıda olup, içinde spongiöz kemik bulunur. Kemiğin iç yüzeyini endosteum, dış yüzeyini ise periostium denen doku tabakaları örter. Bu iki yapıda kemiğin yapımına ve tamirine yardımcı olan hücreler bulunur (23,25,26,27). Kemikler aktif dokulardır. Gözenekli yapıları ve kollajen dokusu sayesinde üzerine uygulanan kuvvetlere karşı direnç gösterirler. Bu kuvvetler

karşısında şekillerini ve hacimlerini değiştirebilirler. Beslenme ve hormonal değişikliklere karşı tepki verirler. Yaralanma durumlarında kendilerini iyileştirebilme özellikleri vardır (25,28,29).

Kemik dokusunun büyük çoğunluğunu matriks adı verilen temel madde oluşturmaktadır. Diğer destek dokulardaki matriks sadece organik maddelerden meydana gelirken kemik matriksi organik ve inorganik maddelerden meydana gelmektedir. İnorganik maddelerin %85'i kalsiyum fosfat ve % 10'u ise kalsiyum karbonattır. Bu maddelerin dışında kalsiyum florid, magnezyum florid, hidroksit ve sülfat bileşikleri de bulunmaktadır (24).

Kemik matriksinin organik bölümünün temel proteini Tip I kollojen ve az miktarda bulunan Tip V kollojendir. Bunlardan daha az miktarda Tip III, XI ve XII gibi kollajenler de kemik matriksinde bulunmaktadır. Tüm bu kollajen proteinlerinin ağırlığı, kemik matriks protein ağırlığının %90'ını oluşturmaktadır. Kemik matriksi aynı zamanda nonkollajenöz proteinlerde içermektedir. Bu proteinler gelişim, büyüme, yeniden şekillenme ve tamir için önemli olmakla birlikte kemik matriks protein ağırlığının %10'unu oluşturmaktadır. Kemik matriksinde bulunan nonkollajenöz proteinler 4 ana grupta sınıflandırılmaktadır. Bunlar;

- **Proteoglikan makromolekülleri:** Çok sayıda kovalent bağlı glikozaminoglikan (hyaluronik asit, kondroitin sülfat ve keratin sülfat) yan zincirinden oluşurlar ve bir çekirdek proteine sahiptirler. Bunlar kemik dokusuna dayanıklılık sağlarlar. Büyüme faktörlerini bağlamaktan ve mineralizasyonu inhibe etmekten sorumludurlar.
- **Multiadeziv glikoproteinler:** Hücreleri ve kollojen lifleri birbirlerine bağlarlar. Bu önemli glikoproteinlerden olan osteonektin, kollajen ve hidroksiapatit kristallerini birbirine bağlar. Sialoproteinlerden osteopontin hücrelerin kemik matriksine bağlanmasına aracılık ederken, sialoprotein I ve II hem hücre bağlanmasına aracılık ederler, hem de mineralizasyon işlemleri sırasında kalsiyum fosfat oluşumunu başlatırlar.
- **K vitamini bağımlı proteinler:** Bu gruptakiler, osteokalsin (dolaşımdaki kalsiyumu yakalar ve kemik yeniden şekillenmesinde görev alan osteoklastları stimüle eder), protein S ve matriks Gla proteindir.

- **Büyüme faktörleri ve sitokinler:** Küçük düzenleyici proteinlerden olan, insülin benzeri büyüme faktör (IGF), tümör nekroz faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), dönüştürücü büyüme faktör- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), trombosit kaynaklı büyüme faktör (PDGF), BMP ve interlökinler (IL-1, IL-6) bu gruptandır. Bu grubun en önemli proteini BMP'lerdir. Çünkü bu proteinler mezenkimal hücrelerin osteoblastlara dönüşümünü uyarır. Osteojenik protein-1 olarak da bilinen BMP7 major kemik cerrahisinden sonra kemik büyümesini uyarmak amacıyla klinikte kullanılmaktadır (26).

Kemik dokusu, kemik matriksi dışında 5 farklı hücreden oluşur. Bu hücreler; osteoprogenitor hücreler, osteoblastlar, osteositler, kemiği döşeyen hücreler ve osteoklastlardır (23,26).

## **2.2.Kemik Hücreleri**

### **2.2.1. Osteoprogenitör Hücreler**

Öncül kemik hücreleri ya da osteojenik hücreler olarak da adlandırılan osteoprogenitör hücreler kemiğin ana hücrelerindendir (24). Osteoprogenitör hücreler kemik iliğindeki mezenkimal kök hücrelerden kaynak alırlar. Mitozla bölünüp çoğalan osteoprogenitör hücreler fibroblastlara, osteoblastlara, yağ dokusu hücresine, kıkırdak hücresine ve kas hücresine farklılaşabilirler. Bu farklılaşmada anahtar rolü oynayan çekirdek bağlayıcı faktör alfa-1 olarak isimlendirilen transkripsiyon faktörüdür. Bu protein osteoblast fenotipinin karakteristiği olan genlerin sentezlenmesini sağlar. Osteoprogenitör hücreler kemiklerin iç ve dış yüzeylerinde bulunurlar. Bu hücreler morfolofik olarak, periostiumun altında yer alan periostal hücreler ile kemik iliğini, osteonal kanalları (Haversan kanalları) ve Volkmann kanallarını döşeyen endosteal hücreleri kapsamaktadır (26). Mikroskop altında incelendiğinde hücre çekirdeğinin uzunca ve oval şekilli olduğu görülür. Elektron mikroskopunda ise serbest ribozomlar, iyi gelişmiş endoplazmik retikulum, küçük golgi kompleksi ve diğer organeller görülür. Kemikte büyüme ve kırık iyileşmesi döneminde bu hücrelerin kemik matriksini salgılayan osteoblastlara dönüştüğü görülür (26,30).

### 2.2.2.Osteoblastlar

Osteoblastlar kemiğin yapımından sorumlu olan hücrelerdir. Kemiğin yapısında bol miktarda bulunan bu hücreler mezenkimal kök hücrelerden köken alırlar (31). Yakın akrabaları fibroblastlar ve kondroblastlar gibi çok amaçlı salgı yapabilirler. Bölünme yeteneğine sahip olan bu hücreler aynı zamanda kemiğin kalsifikasyonundan sorumludurlar. Ayrıca kemik proteinlerinin %90'nı oluşturan Tip I kollojen ve kemik matriks proteinlerini salgılayarak mineralize olmamış kemik ya da osteoid dokuyu oluştururlar. Kemik matriks proteinleri olan osteonektin ve osteokalsin gibi kalsiyum bağlayıcı proteinler, kemik sialoproteinleri I ve II, osteopontin, trombospondin gibi multiadeziv sialoproteinler ve alkalin fosfataz osteoblastlar tarafından üretilirler. Alkalin fosfataz ve osteokalsin markırları klinik olarak osteoblastik aktiviteyi değerlendirmek için kullanılırlar (26,22).

Osteoblastlar büyümekte olan kemik dokusunun dış yüzeyinde sıralanarak epitel görüntüsü verirler (30). İri nukleuslara ve bazofilik stoplazmaya sahiptirler. Hücreler aktif olarak matriks sentezi yaparken kübik ya da prizmatik şekilli olabilirler. Sitoplazmalarında alkalin fosfataz bol miktarda bulunur. Aktif görevleri azalınca yassılaşırlar ve stoplazmalarındaki bazofilik özellik azalır. Osteoblastlar yeni meydana gelmiş matriks ile kuşatılarak osteosit haline gelirken lakuna adı verilen boşluklar oluşur. Bu boşlukların içinde osteosit, osteosit uzantıları ve az miktarda kireçlenmemiş matriks bulunur (23,25,27).

### 2.2.3.Osteositler

Osteoblastlar osteoid ve kemik matriksi tarafından tamamen çevrelendiğinde osteosit olarak tanımlanırlar. Bu hücrelere olgun kemik hücresi de denilmektedir. Gelişimleri tamamlandığından dolayı bölünemezler (22,25). Salgı faaliyetleri azaldığı için stoplazmalarında granüllü retikulum ve golgi aygıtı az miktarda bulunur (24). Kemik matriksinin devamlılığında sorumludurlar ve yeni kemik matriksi sentezleyebilirler. Ayrıca gerektiğinde kalsiyumun kemiklerden kana verilmesinde rol oynarlar ve bu sayede kalsiyum konsantrasyonunu düzenleyerek önemli metabolik bir görev yapmış olurlar (25,26).

Osteositlerin, travma (kırık vb), hücre yaşlanması ve apoptoza bağlı ölümü kemik matriksinin osteoklastik aktivite ile rezorbe olmasıyla sonuçlanır. Bu sürecin

devamında ise osteoblastik aktivite ile onarım ve yeniden şekillenme gerçekleşir. Bu hücreler fonksiyonel durumlarına göre 3 farklı morfolojiye sahip olurlar;

- İnaktif osteositler: Sitoplazmalarında yetersiz endoplazmik retikulum ve az sayıda golgi cisimciği bulunur.
- Biçimlendirici osteositler: Osteoblastlara benzerler, daha fazla miktarda endoplazmik retikulum ve golgi cisimciğine sahiptirler.
- Rezorptif osteositler: Biçimlendirici osteositler gibi inaktif osteositlere göre daha fazla miktarda endoplazmik retikulum ve golgi cisimciğine sahiptirler. Ayrıca sitoplazmalarında daha fazla bulunan lizozomlar göze çarpmaktadır (26).

#### **2.2.4.Kemiği Döşeyen Hücreler:**

Bu hücreler osteoblastlardan köken alırlar. Kemik yüzeyi üzerinde yeniden şekillenme olmadığı yerlerde bulunurlar. Sitoplazmaları azalmıştır ve çekirdek etrafında az miktarda organel bulunur. Kemiğin dış yüzeyinde bulunurlarsa periosteal hücreler, kemiğin iç yüzeyinde bulunurlarsa endosteal hücreler adını alırlar. Bu hücreler arasında birbirlerine bağlanmayı sağlayan gap junction adı verilen bir bağ mevcuttur. Kalsiyum ve fosfatın kemik içine giriş çıkışlarını regule ettikleri düşünülmektedir (26).

#### **2.2.5.Osteoklastlar:**

Osteoklastlar kemiğin yıkımından sorumlu olup çok çekirdekli, büyük ve hareket edebilen hücrelerdir. Kemik dokuda rezorpsiyonun olduğu yerde bulunurlar. Osteoklastik aktivite sonucunda kemikte Howship lakunası adı verilen çukurları oluştururlar ve bu çukurlara yerleşirler (23,26). Kemikte rezorpsiyonun arttığı durumlarda sayıca artış gösterirler (32).

Osteoklastlar, monositleri ve nötrofilik granülositleri oluşturan mononükleer hemopoetik progenitör hücrelerden köken alırlar (26). Hormonlara ve sitokinlere karşı duyarlıdırlar. Paratiroid hormon osteoklastların aktivitesini artırırken kalsitonin hormonu tam ters etki yapmaktadır. Osteoklast hücrelerinin sitoplazması genellikle asidofil ve vakuollüdür. Sitoplazmalarında çok sayıda lizozom, mitokondri ve gelişmiş bir golgi kompleksleri bulunmaktadır (25).

Osteoklastlar kollagenaz gibi proteolitik enzimlerle kemiğin mineral ve organik matriksini ve kollajenin rezorpsiyonunu gerçekleştirirler. Kemik yıkımı



kemiğin yeniden şekillenmesi için önemlidir. Osteoklastlar, kemik yıkımındaki görevleri sayesinde osteoblastlar ile birlikte kemiğin yeniden şekillenmesine yardımcı olurlar (23,25).

### **2.3.Periosteum ve Endosteum**

Kemik dokusunun iç ve dış yüzeyleri tabakalar halinde bulunan bir bağ dokusu ile kaplıdır. Kemiğin iç yüzeyindeki bu bağ dokusuna endosteum, dış yüzeyindeki bağ dokusuna ise periosteum denilmektedir .

Periosteum eklemler haricindeki tüm kemik yüzeylerini örten bir zardır. İç ve dış olmak üzere iki katmanlı bir yapıya sahiptir. Kemiğe yakın olan iç katman progenitör hücreler gibi bol sayıda hücre içermektedir. Dış katmanda kollajen lif ve fibroblastlar bulunur. Bu doku oldukça vaskülerizedir ve osteoblastlardan zengindir. Bu sebepten dolayı kemik tamirinde ve kemik yapımında çok önemli rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalara göre periosteum, kemik iliği ve diğer hücre kaynakları gibi yüksek rejenerasyon potansiyeline sahiptir (33,34,35).

Endosteum kemik içindeki tüm boşlukları kaplayan zardır. Endosteumda periosteum gibi kemiğin beslenmesi ve büyümesinde görevlidir. Ayrıca içerdiği hücreler sayesinde kemiğin onarımında da görev alır. Endosteum, hemopoetik kök hücreleri bol miktarda bünyesinde barındırır (35,36).

### **2.4.Kemik Türleri**

Kemik dokusunun kesitleri makroskopik olarak incelendiğinde, boşluk bulunmayan (kompakt kemik) ve süngerimsi görünümde boşluklar bulunan (spongioz) kemik yapıları görülür. Aslında bu iki farklı kemik görüntüsü mikroskobik olarak incelendiği temelde aynı histolojik yapıya sahiptir.

Kemik dokusu mikroskobik olarak incelendiğinde ise birincil (olgunlaşmamış) ve ikincil (olgunlaşmış) kemik olarak ikiye ayrılır (23).

#### **2.4.1. Birincil (Olgunlaşmamış) Kemik Dokusu**

Birincil kemik, canlının embriyolojik dönemdeki kemiğin gelişmesinde ve travma sonrası kemik iyileşme aşamalarında oluşan ilk kemiğe verilen addır. Birincil kemik dokusu gelişim ve onarım süreçlerinde görüldüğü için genellikle geçici olup. yetişkinlerin vücütlerinde az miktarda bulunurlar (23,26).

Olgun kemiğe göre şu farklılıkları vardır;

- Birincil kemik, olgun kemik dokusu gibi organize lamelli bir yapıya sahip değildir. Kollajen lifleri düzensiz olarak sıralanır.
- Birincil kemik, olgun kemiğe nazaran daha fazla hücre içerir. Olgun kemik dokusuna göre daha fazla osteoit içermektedir.
- Birincil kemikte hücreler düzensiz sıralanmışken olgun kemikte hücreler düzenli sıralanmıştır.
- Birincil kemiğin matriksinde olgun kemiğin matriksine göre daha fazla esas madde bulunur.

Birincil kemikler diş soketlerinde (alveol kemik) ve tendonların kemiğe girdiği yerlerde bulunurlar. Diş soketlerinde bu kemiğin bulunması sebebiyle ortodontik hareketler ile dişler hareket ettirilebilirler (26).

#### **2.4.2.İkincil (Olgunlaşmış) Kemik Dokusu**

İkincil kemik ya da diğer ismi ile olgunlaşmış (matür) kemik yetişkinlerde bulunur. Lamelli yapı gösterirler ve kollajen liflerin birbirlerine paralel olarak yerleştikleri görülür. Osteon ya da Havers sistemi adı verilen ve içerisinde kan damarlarını, sinirleri ve gevşek bağ dokusunu içeren dairesel kemik kanalcıklarından oluşurlar. Bu dairesel kemik kanalcıkları kan damarlarını, sinirleri ve gevşek bağ dokusunu içerirler. Havers sistemini mineralenmiş matriks çevrelemektedir. Matriks amorf madde çözeltisinden ve az miktarda da kollajen lifden oluşmaktadır. Bu matriks aynı zamanda yapıştırıcı madde (sement) olarak da isimlendirilmektedir.

Kompakt kemik lamelcikleri Havers sistemi, dış dairesel lamelcikler, iç dairesel lamelcikler ve intertisyel (ara) lamelciklerden oluşmaktadır. İç dairesel lameller kemik iliğinin etrafındaki boşluklarda bulunurken, dış lameller periosteumun altında bulunurlar. Dış lameller iç lamellerden daha fazla sayıdadır. Bu iki lameller arasında ise Havers sistemi ve ara lameller bulunmaktadır (23).

Havers sistemi genellikle diyafizin uzun eksenine paraleldir. Havers sisteminin ortasında merkez kanal bulunur. Bu merkezi kanalın etrafı 4-20 arasında dairesel lamelcik ile sarılıdır. Havers kanalları kemik iliği boşluğu ve Volkman kanalları ile bağlantılıdır. Volkman kanalları Havers kanallarını birbirine

bağlamaktadır. Volkman kanalları Havers kanallarında olduğu gibi dairesel lameller içermezler (23). Dairesel lameller içermemesi, histolojik incelemelerde Volkman kanallarının belirlenmesinde anahtar rol oynamaktadır (26).

Kemik dokuda yapım ve yıkım olayları sürekli birbirini takip ettiğinden sürekli olarak yeniden şekillenme meydana gelmektedir. Bu sebepten dolayı Havers kanallarının çapları da değişmektedir. Yeni Havers kanalları oluşurken çevreden içeriye doğru lameller tortulanır. Merkeze en yakın olan en yeni oluşmuş kanaldır. Ayrıca yeni oluşmuş kanalların çapları daha büyüktür (23).

Olgun kemiğin spongioz ve kompakt kemik olmak üzere iki ayrı türü vardır (24). Yapısal olarak incelendiğinde bu iki kemik türünde birbirine benzemektedir. Sadece spongioz kemikte doku trabeküler olup, dokular arasında çok sayıda ve çeşitli büyüklükte birbirleriyle bağlantılı kemik iliği boşlukları mevcuttur (26).

## **2.5.Kemik Oluşumu (Osteogenez)**

Kemiklerin oluşumu intramembranöz (zar içinde kemikleşme) ve endokondral (kıkırdak içinde kemikleşme) olmak üzere iki yolla gerçekleşir. Endokondral kemikleşmede önceden bulunan kıkırdak bir model üzerinde kemikleşme oluşur. İntramembranöz kemikleşme ise osteoblastların salgıladıkları matrikse mineral çökmesi ile oluşur. Her iki yolla gerçekleşen kemik yapımında ilk ortaya çıkan kemik birincil kemiktir. Birincil kemik daha sonra ikincil kemiğe dönüşür (23,26). Endokondral kemikleşme intramembranöz kemikleşmeye nazaran daha kompleks süreçler içermektedir. Her iki kemik yapımı sırasında da bir taraftan yapılan kemik yıkılır. Bu süreç içerisinde birincil kemik alanları, ikincil kemik alanları ve yıkım alanları yanyana bulunmaktadır (24).

Canlıların kemiklerinde kemik yapım ve kemik yıkım süreçleri hayat boyu devam etmektedir. Genç yaşlarda kemik yapımı kemik yıkımına göre daha fazla olmaktadır. Orta yaşlarda kemik yapımı ve kemik yıkımı denge halinde devam etmektedir. İleri yaşlarda ise canlının kemik dokusunda yıkım olayı yapım olayından fazladır (24).

### 2.5.1.İntramembranöz Kemikleşme

İntramembranöz kemikleşme insanlarda anne karnında 8. haftada başlamaktadır. İlk olarak mezenkim hücreleri kemik oluşacak bölgede toplanırlar. Hücrelerin bu bölgede toplanması intramembranöz kemikleşmeyi başlatmaktadır. Mezenkim hücreleri osteoprogenitör hücrelere farklılaşır. Osteoprogenitör hücrelerin sitoplazmaları asidofilikten bazofilik hale geçerken golgi aygıtı da daha belirgin olmaya başlar. Bu değişikliğin devamında osteoprogenitör hücreler osteoblastlara farklılaşırlar. Devamında kollajenler (ağırlıklı olarak Tip I kollajen molekülleri), kemik sialoproteinleri, osteokalsin ve kemik matriksinin diğer komponentleri salgılanmaya başlanır (26). Osteoblastların etrafını kemik matriksi sarmaya başlar ve osteoblastlar osteosite dönüşürler. Farklı kemikleşme merkezleri ortaya çıkar. Bu kemikleşme merkezleri birleşerek spongioz kemik oluşur. Bu kemikten daha sonra yeniden yapılanarak kompakt kemik de oluşabilir. Mezenkim hücreleri de kemik iliğini oluştururlar (23,24).

Kafatasının frontal, parietal, oksipital ve temporal kemiklerinde intramembranöz kemikleşme görülür. Mandibula ve maksillanın ise bir kısmında intramembranöz kemikleşme görülür. Kısa ve uzun kemiklerin büyümesi ve kalınlaşmasında da intramembranöz kemikleşme görülür. Kemikleşme merkezleri büyürken birbirleriyle kaynaşırlar ve asıl bağ dokusunun yerini alırlar. Bunun bir örneği yeni doğan bebeklerde bulunan bingıldaktaki bağ dokusudur (23).

### 2.5.2.Endokondral Kemikleşme

Endokondral kelimesi yunanca ‘endon’ içerde ve ‘chondros’ kıkırdak kelimelerinden meydana gelmektedir. Burada bir kıkırdak model üzerinden kemik yapılması söz konusudur. Endokondral kemikleşme uzun ve kısa kemiklerin oluşumunda görülür (23). Bu kemikleşme türü insanlarda anne karnında 12. haftada meydana gelmeye başlar (22).

Endokondral kemikleşmenin başlaması için öncelikle kıkırdak dokusu modeli oluşmalı ve sonrasında intramembranöz kemikleşmenin başlaması gerekmektedir. Mezenkim hücreleri kondrositleri oluşturur ve kondrositler de kıkırdak modelinin oluşmasını sağlarlar (30). Kıkırdak modelin ortasında kemik halkası adı verilen içi boş kemik silindiri görülür. Oluşan bu ilk kemik periokondriyumun içinde intramembranöz kemikleşme ile meydana gelir. Bu bölgedeki kıkırdak dokusu hücre

büyümesi ve matriks kireçlenmesi gibi hücre ölümleri sebebiyle yıkım sürecine girer. Bu sürecin sonunda kırıkta matriksinden oluşan üç boyutlu bir yapı ortaya çıkar. Devamında osteoblastlar kemik matriksine tutunurlar ve birincil kemik tabakalarını yaparken kırıkta kireçlenmiş matriksi sarmaya başlarlar. Oluşan birincil kemik eozinofilik, kireçlenmiş kırıkta ise bazofiliktir. Birincil kemik merkezi böylelikle ortaya çıkmış olur. Daha sonra kırıkta modelin uç kısımlarında yani epifizlerinde ikincil kemikleşme merkezleri ortaya çıkmaya başlar. Birincil ve ikincil kemikleşme merkezleri kemik iliği ile dolan boşlukları oluşturmaya başlarlar.

İkincil kemikleşme merkezlerinde iki bölgede kırıkta doku kalır. Bunlar; eklem kırıktağı ve her iki epifizi diyafize bağlayan epifiz kırıktağıdır. Eklem kırıktağı ömür boyu kalırken, epifiz kırıktağı kemiklerin uzunlamasına büyümesinden sorumlu olduğu için büyüme bittiğinde ortadan kalkar.

Epifize komşu olan epifiz plağındaki kondrositlerin çoğalması ile uzun kemiklerin boyunun büyümesi gerçekleşir. Plakanın diyafize bakan kısmında kondrositler irileşir ve matriksleri kireçlenir. Bunun sonucu olarak hücreler ölür. Kireçlenmiş matriks üzerine osteoblastlar tarafından birincil kemik döşenir. Kısaca hem hücre ölümü hem de hücre çoğalması gerçekleşmiş olur. Bu iki olay da birbirini dengeleyecek şekilde olduğundan epifiz plağın kalınlığı değişmemektedir. (23).

## 2.6. Kemik İyileşmesi

Kemik dokusu travmaya maruz kaldıktan sonra yaralanabilir veya kırılabilir. Kemik dokusunun iyileşmesi bağ dokusu iyileşmesine benzer. Fakat bu iyileşmedeki farklılık, kalsifiye kemik dokusunun oluşumudur (37).

Kemik dokunun iyileşmesi oldukça kompleks olaylar içerir. Kemik kırıldıktan itibaren iyileşmeye başlar ve iyileşme kırık uçları birbirine ulaşmaya kadar devam eder. Kemik dokusu diğer dokular gibi iyileşirken skar bırakmaz (38). Kırık iyileşmesi birbirini takip eden üç basamaktan oluşur.

- Birinci basamak; erken enflamasyon aşaması (yangı),
- İkinci basamak; rejenerasyon aşaması (yenileme),
- Üçüncü basamak; yeniden şekillenme aşamasıdır (39).

Kemik travma sonucunda kırıldığında bütünlüğünü kaybeder, periosteum ve endosteumda yırtıklar oluşur. Vasküler yapılarda da yırtıklar meydana gelir. Buna bağlı olarak hücre ölümleri meydana gelir. Bu aşamada ilk verilen yanıt

enflamasyondur. İlk basamak kırık ya da yaralanmanın gerçekleşmesinden hemen sonra başlar. Yaklaşık olarak 1-4 gün boyunca devam eder. Bu aşamada hematoma oluşur. Oluşan bu hematoma yara veya kırık bölgesini doldurarak stabilite sağlar. Ayrıca kemik oluşumunun başlatılması için gereken hücrelerin ortama gelmesini sağlar (37). Nötrofillerin, makrofajların ve diğer enflamatuar hücrelerinin katılmasıyla birlikte enflamatuar bir yanıt gerçekleşir (40). Yara bölgesine ulaşan enflamatuar hücreler ortama sitokinleri ve büyüme faktörlerini salgırlar (41). Makrofajlar yara bölgesindeki dokuyu fagositoz ile temizler. Ayrıca köprü kallusu oluştururlar (37). Monositler tarafından IL-1 sitokini salgılanır. IL-1 yaralanma bölgesinde lenfositlerin göçünü ve kemik rezorpsiyonunu sağlar. Ayrıca orta beyin aracılığıyla vucutta ısının yükselmesine sebep olur (38).

Enflamatuar yanıt kemikteki kırığın iyileşmesinde kritik bir rol oynar (40). Bazı çalışmalara göre enflamatuar yanıt aşamasında anti-enflamatuar ve sitotoksik ilaç kullanımı bu aşamayı bozabildiğinden kemik iyileşmesine zarar vermektedir (42,43,44).

İkinci basamak kemik dokunun yenilenme fazıdır. Yaklaşık olarak 2-40 gün süren bu aşamada kemiğin stabilizasyonu önemlidir. Burada rol oynayan hücreler mezenkimal kökenli çok yönlü gelişim gücüne sahip (pluripotent) hücrelerdir. İlk değişikliğe uğrayan hücreler fibroblastlardır. Periosteal ve endosteal osteojenik hücrelerle, fibroblastlar kırık bölgesinde granülasyon dokusu oluşturmaya başlar. Bu sebepten dolayı periosteumun kırık iyileşmesinde önemli rol oynar. Hasar görmesi durumunda kırık iyileşmesi yavaşlar (38). Periosteum kırık oluşmasından sonraki 24-48 saat içinde içerdiği hücrelerle periosteal reaksiyon verir (35).

Osteoblastlar osteoid üretirken, fibroblastlar kollajen, kondroblastlar kollajen ve glikozaminoglikan sentezler. Hücreler kondroblast ve kondrosite farklılaşarak kırık dokuyu oluşturur. Oluşan bu kırık dokusu daha sonra kallusu oluşturur. İlk başta oluşan kallus yumuşaktır. Hidroksiapatitlerin ortama çökmesiyle birlikte kallus şekillenmeye başlar. Bu yüzden kırık stabilizasyonu çok önemlidir. Oluşan kallusun sertleşmesiyle birlikte stabilite artar. Yaralanmadan sonra kallus oluşması ve mineralizasyonu 4-16 hafta içinde gerçekleşir (37,38).

Son aşama yeniden şekillenme aşamasıdır. Bu aşama aylarca hatta yıllarca sürebilir. Düzensiz yapıdaki kallus osteoklastlar tarafından yıkılır ve lameller yapıdaki normal kemik yapısına dönmeye başlar (37,38).

Kırığın boyutu, şekli ve kırılan kemiğin türü gibi birçok lokal faktör kırığın iyileşmesini etkiler. Ayrıca bireyin yaşı, sağlık durumu, kırığa doğru tıbbi müdahale gibi faktörlerde kırığın iyileşmesini etkilemektedir (38).

## **2.7.Oral İmplantolojide Kemik Yoğunluğunun Önemi**

Maksillofasiyal cerrahide kemik yoğunlukları özellikle implant uygulamalarında üstünde durulması gereken konulardan biridir. Çenelere yerleştirilecek olan titanyum implantların kemikle iyi bir osteointegrasyon sağlaması istenir. Alt ve üst çenelerde kemik yoğunlukları farklılık göstermektedir. Üst çene posterior gibi kemik yoğunluğu az olan bölgelerde implantların stabilitesi az olurken, alt çene gibi kemik yoğunluğunun fazla olduğu bölgelerde ise implantların stabilitesi istenilen düzeyde olmaktadır. (45).

Kemik yoğunluklarıyla ilgili olarak bazı araştırmacılar farklı sınıflamalar öne sürmüşlerdir. En yaygın olarak kullanılan sınıflamalardan biri Misch isimli araştırmacının 1988 yılında öne sürdüğü sınıflamadır. Bu sınıflama kemik dokusunu kortikal ve spongiöz özelliklerine göre 4 gruba ayırmaktadır (46).

- D1 kemiğin yapısı yoğun kortikal kemikten oluşmaktadır. Mandibula anterior bölgede bulunur.
- D2 kemiğin dış yüzeyinde kortikal kemik, iç yüzeyinde ise kalın trabeküler kemik bulunur. Spongiöz yapı da içeren bu kemik türü mandibula anterior, mandibula posterior ve maksilla anteriorda bulunur.
- D3 kemiğin yapısında poröz kortikal kemik ve ince trabeküler kemik bulunur. Maksilla anterior ve maksilla posteriorda bulunur.
- D4 spongiöz kemikten oluşur. Kortikal yapıya pek rastlanmaz. Bu kemik türü posterior maksillada görülür (46).

İmplant cerrahisinde kemiğe implant yerleştirilirken primer stabilitenin iyi olması beklenir. Kortikal yapısı yoğun olan kemiklerde bu istenilen düzeyde olur. Bununla birlikte kortikal yapısı yoğun olan D1 kemik türünde, kemiğe implant yuvası açılırken fazla miktarda ısınma olur ve bu kemiklerde iyileşme geç olabilir.

D2 gibi hem kortikal yapısı fazla hemde spongioz yapısı olan kemik implant cerrahisi için en idealidir. Bu kemik türünde hem ısınma az olur hemde istenilen primer stabilite sağlanmış olur. D3 ve D4 gibi spongioz yapının çok fazla olduğu kemikte istenilen primer stabilite elde edilemeyebilir. Bu kemik türünde implant için yuva hazırlanırken implant yuvasının çok fazla genişletilmemesine dikkat edilmelidir. (45).

## 2.8.Kemik Greftleri

Kemiklerde çeşitli nedenlere bağlı olarak kemik defektleri gelişebilir. Bu defektler kendiliğinden iyileşebildiği gibi bazen spontan olarak iyileşemezler ve kemik grefti olarak adlandırılan materyallerin kullanılması gerekebilir. Kemik greftleri maksillofasiyal cerrahide çenelerin rekonstrüksiyonunda ve implant cerrahisinde uzun zamandan beri yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu greftlerin elde edilişi ve özellikleri birbirlerinden farklıdır. Ayrıca kemik greftlerinin kemik oluşturmadaki mekanizmaları da farklıdır. Osteogenezis, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon olmak üzere üçe ayrılan bu mekanizmaların iyi anlaşılması ve kemik greftlerinin bu özelliklere göre seçilmesi gerekmektedir (47,48,49).

- **Osteogenezis:** Osteoblast adı verilen kemik yapıcı hücrelerin yeni kemik yapmasına osteogenezis denilmektedir (50). Kemikleşme ya da ossifikasyon da denilebilir. Bir kemik greftinin bu özelliğe sahip olabilmesi için sahip olduğu kemik yapıcı hücreler ile uygulandığı bölgede yeni kemik oluşturması gerekmektedir. Otojen greftler bu özelliğe sahiptirler (49,51).
- **Osteoindüksiyon:** Osteoindüksiyonun ilk tanımlarından biri Friedenstien tarafından şöyle yapılmıştır: henüz osteojenik döngüye katılmamış olan farklılaşmamış uyarılabilir osteoprogenitor hücrelerin osteoprogenitor hücreler oluşturmak üzere uyarılması (52). Bunun sonucunda kemik dokudaki osteoprogenitör hücrelerin osteoblastlara dönüşmesi sağlanarak kemik oluşumu sitümüle edilir. Bir kemik greftinin osteoindüktif etki gösterebilmesi için alıcı dokudaki mezenkimal hücreleri indükleyerek osteoblastlara dönüştürmesi ve kemik yapımını başlatması gerekmektedir. Osteoindüktif etki kemik yapımını hızlandırdığı için greftlerde istenilen özelliktir. Otojen greftler osteoindüktif etki göstermektedirler (53,54) .



- **Osteokondüksiyon:** Osteokondüksiyon, yeni oluşacak olan kemik dokusu için iskelet (çatı) oluşturulmasıdır. Defektin kenarlarında bulunan osteoblastlar bu iskeletsel yapıyı kullanarak kemik oluşumunu başlatırlar. Bu özelliğe sahip kemik greft materyalleri kemik oluşumu başlayınca rezorbe olmaya başlayarak ortamdan uzaklaşırken, bazı greft materyalleri ise rezorbe olmayıp ortamda kalmaya devam ederler. Osteokondüktif etkili greftler kemik oluşumunu aktive etmezler sadece iskelet görevi görürler. Sentetik greft materyallerinden hidroksiapatitler sadece osteokondüktif etki göstererek kemik oluşumuna yardımcı olurlar (48).

Kemik greftleri elde edildikleri kaynaklara göre şu şekilde sınıflandırılabilir: Otojen kemik greftleri, allogreftler, ksenogreftler ve sentetik greftler.

### 2.8.1.Otojen Kemik Greftleri

Aynı canlıdan alınıp canlının başka yerine uygulanan kemik greftlerine otojen kemik greftleri denilmektedir. Otojen kemik greftleri sahip oldukları osteojenik hücreler ile kemik iyileşmesini hızlandırır. Ayrıca canlı hücreler taşıdıkları için uygulandıkları bölgede kemik oluşumunu hemen başlatırlar. Verici bölgeden alınırken tüm yumuşak doku ve damar bağlantıları kesilip alınırlarsa serbest greft diye adlandırılırlar. Eğer greft verici bölgeden yumuşak dokular ve damar bağlantıları korunarak alınırsa pediküllü greft denir. Maksillofasiyal cerrahide defektlerin tamirinde kullanılan bu greftler, canlının kendi kemiği olduğu için immün reaksiyon oluşturmamaktadırlar. Alındıkları bölgeye bağlı olarak kansellöz veya kompakt yapıda olabilirler (48,55).

Kansellöz yapıdaki otojen kemik greftleri çok hızlı revaskularizasyon gösterirler. Fakat uygulandıkları yerde kolay rezorbe olduklarından hacimleri ve şekilleri değişir. Otojen kemik greftleri ağız içinden ya da ağız dışından bazı bölgelerden alınabilir. Ağız içinde tüber maksilla, mandibula ramus ve mandibula simfiz sık olarak otojen greft alınan yerlerdendir. Ağız dışından ise genellikle anterior iliak başta olmak üzere posterior iliak, tibia, fibula, kalvaryum ve kaburga greft kaynağı olarak kullanılabilir (48,55).

Otojen kemik greftleri osteoindüktif, osteokondüktif ve osteogenezis özelliği ile uygulandıkları bölgede kemik oluşumuna katkı sağlarlar. Bu yüzden tüm greftler içinde altın standart olarak kabul edilmektedirler. Tüm bu özelliklerine rağmen

otojen greftlerin kullanımını sınırlayan bazı durumlar mevcuttur. Bu greftlerin elde edilmesi için ek bir operasyona gerek duyulması, her zaman istenilen miktarda greft elde edilememesi, postoperatif ağrı ve greftin alındığı bölgede gelişebilecek olan enfeksiyon gibi sorunlar nedeniyle başka greft kaynaklarına yönelme ihtiyacı duyulabilir (48,55).

### **2.8.2.Allogreft (Homojen Greft)**

Aralarında genetik benzerlik bulunmayan fakat aynı türdeki bireyden alınan greftlere homojen greft ya da allogreftler denilmektedir. Eğer tek yumurta ikizleri arasında kemik grefti alınıp uygulanırsa buna izogreft denilmektedir. Otojen greftlere iyi bir alternatif olan allogreftler kadavradan elde edilirler (49).

Amerika Birleşik Devletleri başta olmak üzere tüm dünyada otojen greftlerden sonra maksillofasiyal cerrahlar tarafından sık tercih edilen greftlerin başında gelen allogreftler başka bireylerden elde edildiği için Hepatit C virüsü (HCV) ve insan bağışıklık yetmezliği virüsü (HIV) ile pirion ve bakteri kaynaklı hastalıkları bulaştırma riski taşırlar (4,56). Alınan tüm önlemlere ve laboratuvar incelemelerine rağmen allogreft alınan donörün HIV taşıma olasılığı yaklaşık 1:1.600.000 olarak bildirilmiştir. Ayrıca bu greftler immünolojik reaksiyona da sebep olabilirler. Hastalık riskini en aza indirmek için bu greftler bazı aşamalardan geçirildikten sonra kullanılmaktadır. Bu aşamalardan sonra allogreftlerin immünolojik etkileri ve hastalık bulaştırma riski azalır. Fakat bununla birlikte biyolojik ve mekanik özellikleri de olumsuz yönde etkilenir (4).

Allogreftler elde edilmeden önce donörün bulaşıcı hastalık taşıyıp taşımadığı tespit edilmelidir. Taze (fresh) allogreft hastalık riski taşıdığı için günümüzde artık tercih edilmemektedir. Bu yüzden dondurulmuş (frozen) ve dondurularak kurutulmuş (freeze drying) allogreftler tercih edilir. Dondurulmuş ve dondurularak kurutulmuş allogreftler geçirildikleri işlemler nedeniyle yapılarındaki canlı hücreleri kaybettikleri için osteojenik özelliklerini kaybederler. Ayrıca bu işlemlere tabi tutulan allogreftlerin taze allogreftlere göre osteoindüktif etkileri oldukça azalmıştır. Allogreftler ayrıca gamma irridasyonu ve etilen oksit ile de steril edilmektedir. Bu işlemler de osteoindüktif etkiyi azaltmaktadır (4,49).

### 2.8.3.Ksenogreft (Heterojen Greft)

Ksenogreft farklı türden alınan dokular için kullanılan bir terimdir. Bu greftler memeli hayvanların kemiklerinden veya mercan iskeletlerinden elde edilebilirler. Sığır kaynaklı ksenogreftlerin dentoalveolar cerrahide kullanımları yaygındır. Bu greftler sığır kemiklerinin deproteinize edilmesiyle elde edilirler. Sığır kemiğindeki organik komponentler uzaklaştırılarak geriye sadece inorganik kısmı bırakılır. Yeni kemik oluşturmada osteokondüktif etki gösterirler (48,57).

Dentoalveolar cerrahide yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu, alveol kret ogmentasyonu ve sinüs tabanı yükseltmesi gibi cerrahi işlemlerde ksenogreftler yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda sığır kaynaklı ksenogreftlerin kolay rezorbe olmadıkları ve yıllar sonra bile greft partiküllerinin %20'si ile %40'ının uygulandıkları alanda kaldıkları tespit edilmiştir (57,58,59).

Ksenogreftlerin immünolojik reaksiyona sebep olma ve hastalık bulaştırma riskleri vardır. Fakat günümüz teknolojisinde bu riskler oldukça azaltılmıştır. Sığır kaynaklı greftlerle ilgili olarak bir dönem hayvanlarda görülen ve prionlarla bulaşan deli dana hastalığının insanlara bulaşabileceği endişeleri ortaya çıkmıştır. Ancak Dünya Sağlık Örgütü prionların kemik dokuda bulunmaması sebebiyle kemik greftlerini güvenilir olarak kabul etmiştir (48).

### 2.8.4.Sentetik Greftler (Alloplastik Greftler)

Sentetik greft materyalleri diğer greft materyallerinden farklı olarak yapay olarak elde edilirler. Çeşitli boyut, form ve yapıda olabilirler. Yapısal olarak kemik dokunun inorganik yapısına benzerlik gösterirler. İdeal bir sentetik greft materyali biyoyumlu olmalı, minimal düzeyde fibrotik doku reaksiyonu göstermeli, mekanik basınçlara dayanıklı olmalı, yapısal olarak kemiğin inorganik yapısına benzemeli ve yeni oluşan kemiği desteklemelidir. Bu greftler HA ve TCP gibi seramiklerden, polimerlerden ve biyoaktif camdan üretilebilirler (4,48)

Sentetik greftlerin elde edilmesinde HA ve TCP yaygın olarak kullanılmaktadır. HA ve TCP yeni kemik oluşumda osteojenik ve osteoindüktif etki göstermezler. Kemik oluşması için sadece osteokondüktif etki gösterirler. Biyoyumlu olup, immünolojik reaksiyona sebebiyet vermezler. Uygulandıkları cerrahi sahada farklı biyolojik davranış sergilerler. TCP hızla rezorbe olurken HA yavaş rezorbe olur (4).

TCP ve HA genellikle birbirleriyle kombine edilerek kullanılırlar. Straumann® Bone Ceramic (SBC) sentetik bir greft materyalidir. İçeriği %60 HA ve %40  $\beta$ -TCP oluşmaktadır. SBC uygulandığı bölgede zamanla rezorbe olur ve yerini yeni oluşacak kemiğe bırakır. Sentetik olduğu için enfeksiyon bulaştırma riski taşımaz (60).

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

Trombosit konsantrasyonları, medüller apilazi, akut lösemi veya uzun süren cerrahi operasyonlardan sonra görülen şiddetli trombositopenilere bağlı kanamaların tedavilerinde kullanılmaktadırlar. Kanama problemleri dışında trombosit konsantrasyonlarının yara iyileşmesini stimüle etmek için kullanılması da yaygındır. Trombosit konsantrasyonları bol miktarda trombosit ve çeşitli büyüme faktörleri içermektedir. Trombositler ve büyüme faktörleri yara bölgesine uygulandığında iyileşmeyi hızlandırmaktadır (61). Yara iyileşmesinde trombosit konsantrasyonlarının kullanılmasından ilk olarak 1997 yılında Whitman ve ark. bahsetmiştir (62).

Trombosit konsantrasyonlarını hazırlamak için farklı protokoller ve ticari kitler mevcuttur. Bu protokollerle elde edilen trombosit konsantrasyonlarına genel olarak TZP denilmektedir. Mevcut TZP elde etme prosedürlerinin hepsinde ortak noktalar vardır. Tüm prosedürlerde cerrahi operasyondan hemen önce venöz kan alınıp antikoagülan ajan içeren tübe konular ve santrifüj edilir. Santrifüjde amaç kanın tüp içinde 3 tabakaya ayrılmasıdır. Kırmızı kan hücreleri tüpün en altına çöker. Hüresiz plazma (trombositten fakir plazma) tüpün üstüne toplanır. Ortada ise, beyaz kürelerden oluşan sarı renkli tabaka (buffy coat) bulunur. Bu tabaka trombosit zengin kısımdır. Elde edilen trombosit konsantrasyonu, trombosit aktivasyonunu ve fibrin polimerizasyonunu tetiklemek için trombin ve/veya kalsiyum klorit (veya benzer faktörler) ile beraber cerrahi bölgeye enjektör yardımıyla uygulanır (61).

Maksillofasiyal cerrahide yeni kemik oluşumunu hızlandırmak amacıyla TZP klinisyenler tarafından kullanılmaktadır. Özellikle sinüs tabanı yükseltme operasyonlarında greft materyallerine uygulanarak kullanılması yaygındır (63). Fakat bazı araştırmacılara göre TZP'nin kemik iyileşmesi üzerindeki etkisi tartışmalıdır (64,65,66). Son yıllarda trombosit konsantrasyonları için yeni bir teknik geliştirilmiştir. İkinci nesil trombosit konsantrasyonu olan TZF tekniği 2000 yılında Choukroun ve ark. tarafından Fransa'da geliştirilmiştir (17). TZP'ye göre avantajları

bulunan TZF'nin klinisyenler tarafından kullanımı son yıllarda giderek artmaktadır (67).

TZF'nin elde edilme protokolü TZP'den farklıdır. TZF elde etmek için öncelikle venöz dolaşımdaki kandan yaklaşık olarak 10 ml kan alınır. Alınan kan içinde antikoagülan ve benzeri hiçbir kimyasal içermeyen steril bir tüp içine konulur. Tüp içindeki kan 10 dakika boyunca 3000 rpm'de santrifüj edilir. Bu teknikte antikoagülan kullanılmadığı için tüpün duvarına temas eden kan içindeki trombositler aktive olur ve koagülasyon birkaç dakika içinde başlar. Fibrinojen dolaşımdaki trombin tarafından fibrine dönüştürülmeden önce tüpün üst kısmında toplanır. Daha sonra tüpün orta kısmında fibrin ağı toplanır. Fibrin ağının altında kırmızı kan hücreleri, üstünde ise hücresiz plazma toplanır. Böylelikle kan santrifüj sonunda tüpün içinde üç tabakaya ayrılır (18,61). Canlıdan alınan kana hiçbir kimyasal katılmadan santrifüj edildiği için doğal bir koagülasyon sağlanır (61).

Bu teknikte alınan kanın bekletilmeden santrifüj edilmesi gerekmektedir. Çünkü elde edilen kan antikoagülan içermeyen bir tüpe konulduğundan tüpün duvarına değer değmez koagülasyon süreci başlar ve fibrin polimerize olur. Bu teknik ile fibrin ağı içine trombositlerin ve lökositlerin toplanması sağlanmış olur (18,19). Trombositten zengin fibrinin yapısında trombositler ve trombositlerin içerdiği büyüme faktörleri, lökositler, sitokinler, fibrin ve kan dolaşımında var olan kök hücreler bulunur (18,19,68).

TZF'nin sağladığı faydalar:

- Trombosit ve fibrin içeriği sayesinde uygulandığı bölgede hemostaza yardımcı olur.
- Fibrin yapıştırıcılar gibi adeziv özellik gösterir.
- İçerdiği büyüme faktörleri ve sitokinler yumuşak ve kemik dokuda iyileşmeyi hızlandırır.
- Fibrin ağ içine hapsolmuş büyüme faktörleri ortama yavaşça salınır.
- Otolog olduğu için enfeksiyon ve immün yanıt riski oluşturmaz.
- Elde edilmesi kolay ve masrafsızdır.(TZP elde etmek için kullanılan pahalı kitlelere ve daha karmaşık olan prosedürlere gerek yoktur. Antikoagülan ya da başka bir kimyasal ajan kullanılmaz. Sadece steril bir tüp ve santrifüj cihazı yeterlidir. Ortalama 10-12 dk içinde TZF elde edilebilir.)

- Greft materyalleri ile birlikte kemik defektlerinin tedavisinde kullanılabilir.
- Dentoalveolar cerrahide kemik hacmini artırmaya yönelik operasyonlarda iyileşme sürecini kısaltır.
- Fibrin ağ içerisine hapsolan lökosit ve sitokin içeriği sayesinde enflamasyonu kontrol eder ve immün sistemi destekleyici özellik gösterir.
- TZP'den farklı olarak fibrin ağların oluşturduğu yapı sayesinde (jel kıvamlı yapı) membran olarak kullanılabilir.
- Kemik defektlerini tedavi etmek amacıyla tek başına kullanılabilir (18,19,68,69,70,71).

TZF'nin yapısının ve etki mekanizmasının daha iyi anlaşılması için içeriğinde bulunan fibrin, trombosit ve sitokinlerin görev ve yapılarının bilinmesi gerekmektedir.

### **2.9.1.Fibrin**

Fibrin ve fibrinojen kanın pıhtılaşması, fibrinoliz, enflamasyon ve yara iyileşmesinde önemli rol oynarlar (72). Ayrıca alyuvar, endotel hücreleri ve lökositler de dahil bir çok hücre için adeziv substrat olarak görev yaparlar (73). Fibrinojen (340 kilodalton) karaciğerde üretilen plazma proteinleri içinde en büyüğüdür. Fibrinojenin aktive edilmiş formu olan fibrin (323 kilodalton) plazmada ve trombositlerin  $\alpha$  granüllerinde yoğun miktarda bulunur (72,74) .

Fibrin hemostaz sırasında trombositlerin agregasyonunda belirleyici rol oynar. Koagülasyon sırasında bir çeşit biyolojik yapıştırıcıya döner ve damarsal yapılardaki yaralanmış bölgeleri bir duvar gibi örter. Çözülebilir bir protein olan fibrinojen, trombin tarafından çözülemeyen fibrine dönüşür. Polimerleşmiş fibrin jel kanamanın olduğu bölgede ilk sikatrisyel matriksi oluşturur (18).

Yara iyileşmesinde görülen yeni damar oluşumuna anjiogenez denilmektedir. Bu terim ilk olarak Hertig tarafından 1935'te plasental vaskülarizasyonu tanımlamak için kullanılmıştır. Yara iyileşmesi dışında embriyolojik gelişmede de anjiogenez görülmektedir. Anjiogenezin oluşması enflamatuar hücrelerin vasküler yapıdan sızmasına ve fibrin birikimine bağlıdır. Damarlarda oluşan yaralanmaların ardından fibrin geçici bir matriks oluşturur (75). Fibrin matriks yara bölgesini sadece geçici olarak kapatmakla kalmayıp, aynı zamanda yara bölgesine lökositlerin ve endotelial hücrelerin istilasını sağlar (76). Fibrin matriksin anjiogenez özelliği üç boyutlu yapısı

ve içinde bulunan sitokinlerin aktivitesine bağlanmaktadır. Ayrıca fibrin jelin içinde çözünebilir anjiogenez faktörleri olan, fibroblast büyüme faktörü (FGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), anjiopietin ve PDGF bulunur (69). Bazı çalışmalar FGF ve PDGF'nin fibrine yüksek afiniteyle bağlanabildiğini göstermiştir (75,77). Fibrinin çok sayıda büyüme faktörüne bağlanması anjiogenezdeki rolünü açıklamaktadır (69).

Fibrin ve fibrinojenin degranülasyon ürünleri (FDÜ) nötrofil göçünü sitümüle eder. Ayrıca nötrofillerin göçü ile endoteliuma ve fibrinojene adezyonunu sağlayan CD11c/CD18 reseptörünün membrandaki ekspresyonunu artırır (73). Nötrofillerin fagositoz ve enzimatik degranülasyon süreci yine FDÜ tarafından kontrol edilir (78).

Fibrin matriks, epitelyal hücreler ve fibroblastların metabolizmalarını etkileyerek yara bölgesinin kapatılmasını sağlar. Fibrin yapıştırıcıların yarayı kapatmak ve iyileşmeyi hızlandırmak için kullanılması yeni değildir. Otolog fibrin yapıştırıcılarının elde edilmesi karmaşık protokoller içerir. Ticari ürün olarak satılan fibrin yapıştırıcıları ise kontaminasyon riski taşımaktadır. Trombosit konsantrasyonlarının gelişmesiyle birlikte daha kolay bir prosedüre sahip olan TZF yeni bir alternatif olarak karşımıza çıkmaktadır (18,61).

### 2.9.2.Trombositler

Kanın şekilli elemanlarından olan trombositler kemik iliğindeki megakaryositlerde üretilirler ve nükleus içermezler. Kemik iliğinde üretildikten sonra kan dokuya geçerler. Kan doku içinde sirkülasyona katıldıklarında 2-3 µm boyutunda ve disk şeklindedirler. Sağlıklı bir insanda trombosit sayısı  $150-450 \times 10^9/L$  arasındadır. Yaşam süreleri ortalama 10 gündür. Kanın pıhtılaşmasında önemli görevleri vardır. Damardaki hasar görmüş yeri tıkaç gibi örtterek kanamayı durdururlar (74).

Trombositler elektron mikroskopunda incelendiğinde yapısal olarak dört farklı bölgeye ayrılırlar;

- **Periferel bölge;** kalın glikokaliksle kaplı hücre membranından oluşmaktadır. Glikokaliks glikoproteinlerden, glikozaminoglikanlardan ve çeşitli koagülasyon faktörlerinden oluşur. Glikoproteinler reseptör olarak görev yaparlar.

- **Yapısal bölge;** mikrotübülüslerden, aktin filamentlerden, myozin ve aktin-binding proteinden oluşur.
- **Organel bölgesi;** trombositlerin tam ortasında bulunur. Mitokondri, peroksizom, glikojen partiküllerinden ve sitoplazmaya dağılmış en az üç tip granülden oluşur (74). Bu granüller, damar hasar tamirinin başlatılmasında, kan koagülasyonunda ve trombosit agregasyonunda önemli rol oynarlar. Yoğun granüller kalsiyum ve serotonin içerirler (19,74) .
- **Membran bölgesi;** açık kanalikul sistem ve yoğun tübüler sistem olmak üzere iki tip membran kanalından oluşur (74).

Trombositler içerdikleri büyüme faktörleri sayesinde yara iyileşmesini hızlandırırlar. Bu büyüme faktörleri ve özellikleri sitokinler başlığı altında anlatılmıştır.

### 2.9.3.Sitokinler

Sitokinler çeşitli uyarılara karşı hücreler tarafından salgılanan proteinlerdir (79). İmmun sistemin düzenlenmesinde, enflamatuar olaylarda ve yara iyileşmesinde görev alırlar. Yabancı antijenlere ve ajanlara karşı organizmanın oluşturduğu reaksiyonları kontrol ederler. Ayrıca hücreler arası ilişkileri de düzenlerler. Bu sayede lokal ve sistemik enflamatuar cevapta rol oynarlar (80). En önemli etkilerinden birisi de hücre bölünmesidir. Sitokinler hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanarak sinyal iletimi olaylarını başlatırlar. Böylece hücre bölünmesini aktive veya inhibe ederler (79). Aktif moleküller olup az miktarlarda bile etkili olabilirler (79, 80). Aynı türdeki sitokinler farklı dokulardan salgılanmalarına rağmen yine aynı etkiyi gösterirler (79).

TZF içinde trombositlerden kaynaklı sitokinler ile enflamatuar ve iyileşme sitokinleri bulunmaktadır. Trombosit kaynaklı sitokinler şunlardır; TGFβ-1, PDGF ve IGF (19,68).

TGFβ, BMP'nin de içinde olduğu 30'dan fazla üyesi olan geniş bir ailedir. Bu sitokinler, enflamasyonun regüle edilmesinde, hücre proliferasyonunda, hücre dışı matriks birikiminde, farklılaşma ve büyüme gibi çok farklı hücre fonksiyonlarında görev alırlar. Hücre bölünmesini olumlu ya da olumsuz yönde etkilerler. Epitelyal, endotelyal ve hematopoetik hücrelerin bölünmesini inhibe ederken, mezenkim ve kas hücrelerinin bölünmesini stimüle ederler. TGFβ ailesinde yapısal olarak birbirlerine



benzeyen TGF $\beta$ -1, TGF $\beta$ -2, TGF $\beta$ -3 üç farklı gen tarafından kodlanmaktadır. TGF $\beta$ -1 ise en yaygın olan izoformu olup, trombositlerin  $\alpha$ -granüllerinde üretilirler (19,79,81,82).

İn vitro olarak incelendiğinde TGF $\beta$ -1'in etkisi uygulanan miktar, matriks çevresi ve uygulandıkları hücre tipine göre değişiklik gösterir. Örneğin osteoblastların proliferasyonlarını stimüle ettiği gibi onları inhibe de edebilir. Tüm sitokinler içerisindeki en güçlü fibrozis ajanıdır. TGF $\beta$ -1 kompleks mekanizmasına rağmen, fibröz iyileşmeyi tetiklediği için enflamatuvar düzenleyicisi olarak kabul edilir. (18,83).

PDGF, A ve B olmak üzere iki polipeptid zincirinin disülfid bağları ile birleşmesinden meydana gelen glikoprotein molekülüdür. Bağ dokusu hücreleri ve diğer hücre türleri için önemli bir mitojendir. En önemli kaynakları trombositlerdeki  $\alpha$ -granülleridir. Yapılan araştırmalarda başka hücreler tarafından da üretildiği rapor edilmiştir. Embriyolojik gelişimde ve yara iyileşmesinde görev alırlar (84).

PDGF yara iyileşmesi sırasında birçok hücre türüne etki eder. Düz kas hücrelerinin ve fibroblastların kemotaksisini ve çoğalmasını, nötrofil ve makrofajların kemotaksisini stimüle eder. Ayrıca makrofajları yara iyileşmesinde rol alan diğer büyüme faktörlerini salgılaması için stimüle ederler. Bunların dışında kollajen, proteoglikanlar, hyalüronik asit ve fibronektin gibi yara iyileşmesinde görev alan çeşitli matriks moleküllerinin de üretimini stimüle ederler (84).

IGF, Tek zincirli polipeptit bir hormondur. Genellikle lokal olarak etki gösterirler ve spesifik hücrelerde büyümeyi uyarırlar. Anabolik ve mitojenik etkileri vardır (85). Protein yapıda oldukları için hücre membranını geçemezler. Etkilerini hücre membranındaki reseptörlere bağlanarak gösterirler. IGF sistemi IGF-I, IGF II, IGF bağlayıcı proteinlerden ve IGF reseptörlerinden oluşmaktadır (86).

IGF-I ve IGF-II tümör hücresi dahil olmak üzere birçok hücrenin farklılaşmasında ve çoğalmasında pozitif olarak düzenleyici görev yapar (87). Bu sitokinler hücre çoğalma mediatörleri olmalarına rağmen, apoptotik uyarıdan koruyan sinyaller üreterek hücre apoptozunu düzenlerler. IGF trombositlerden degranülasyon sürecinde salgılanmasına rağmen, dolaşımdaki kanda yüksek miktarda bulunur (19).

TZF'nin yapısında bunların dışında enflamatuar ve iyileşme sitokinleri bulunmaktadır. Enflamasyonda görev alan sitokinlerin sayısı oldukça çoktur. Bunların arasında IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  enflamasyonda önemli rol oynar (68).

IL-1, enflamasyona karşı sistemik ve lokal yanıtı başlatan oldukça aktif ve polipeptit yapıda pro-inflamatuar sitokindir (88). IL-1, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL reseptör antagonisti olmak üzere üç proteinden oluşmuş bir ailedir (89). Yaygın olan  $\beta$  izoformudur. Endotel hücrelerin üzerindeki adezyon moleküllerinin ekspresyonunu başlatır. Kemokinlerin indüksiyonu ile beraber enflamasyon ve bağışıklık hücrelerini stimüle eder (90). IL-1 ayrıca ateşin yükselmesine, vasodilatasyona, hipotansiyona ve ağrı hassasiyetinin artmasına sebep olur. Bu özellikleri nedeniyle akut ve kronik enflamatuar hastalıklarda santral mediatör görevi görür (88). IL-1 aktive olmuş makrofajlar, nötrofiller, endotelial hücreler, fibroblastlar, keratinositler, Langerhans hücreleri tarafından üretilir. Enflamasyonun kontrolünde anahtar bir mediatördür. (91,92).

IL-6, İmmun yanıtı, akut faz reaksiyonlarını ve hematopoezi regüle eden pleiotropik sitokindir. Bu sitokin enfeksiyon, travma ya da immün sistemi harekete geçiren olaylarda monositler, fibroblastlar, makrofajlar, T ve B lenfositleri gibi birçok hücre tarafından üretilmektedir (93,94). IL-6 vasküler endotelial hücreleri aktive eder ve lökositlerin inflamasyon bölgesine toplanmasını kolaylaştırır. Kartilaj ve kemik yıkımına katkıda bulunmak için sinovial fibroblast farklılaşmasını ve osteoklast aktivasyonunu artırabilir (95). IL-6, B lenfositleri için bir farklılaşma faktörü, T lenfositleri için de bir aktivatör görevi görür. İmmün hücreleriyle olan iletişimi sebebiyle enflamasyon, yıkım ve yeniden yapım olaylarında önemli rol oynar (68).

TNF, 18 tane farklı türü olan bir ailedir. Aynı zamanda kaşektin olarak da bilinir. Enflamasyonda, viral replikasyonda, tümör metastazlarında, romatoid artiritte ve septik şokta ana mediatördür (96). Pleiotropik sitokin olan TNF- $\alpha$  proliferasyon, farklılaşma, inflamasyon ve hücre ölümü gibi hücresel yanıtları düzenler (97). TNF- $\alpha$  bakteriyel ajanların stimülasyonu sonrasında, monositler, nötrofiller ve T lenfositleri tarafından salgınır. Üretimleri IL-6 ve TGF- $\beta$  tarafından düzenlenir (96).

VEGF, iyileşme sitokinlerindedir. Anjiogenez ve vaskülogenez de anahtar regülatördür. Glikoprotein yapıda anjiogenez özelliği en güçlü olan büyüme faktörüdür. Endotelyal hücreler, makrofajlar, fibroblastlar ve düz kas hücreleri tarafından üretilir (98). Endotelyal hücre proliferasyonunu ve vasküler permabiliteyi artırır. Permabiliteyi artırmada histamine göre 50.000 kat daha etkilidir. Toplam 6 izoformu vardır. İlk önce VEGF206, VEGF189, VEGF165, ve VEGF121 olmak üzere 4 izoformu keşfedilmiş olup daha sonra santral sinir sisteminde 2 izoformu daha bulunmuştur (99). Bu sitokinin az miktarda bile bulunması anjiogenezisi başlatmak için yeterlidir (68).

IL-4, İyileşme sitokinlerinden olup, aktif T lenfositleri ve mast hücreleri tarafından sentezlenir (80). Bu sitokin aktive olmuş B hücrelerinin farklılaşmasını ve proliferasyonunu destekler. Fibroblastlar tarafından salgılanan kollajen fibrillerin sentezini artırır. Enflamasyonun şiddetini azaltarak iyileşmeye yardımcı olur (68,100).





Şekil 3.1 Tavşana intramüsküler enjeksiyonla anestezi yapılması



Şekil 3.2 Tavşanın kulağından kan alınması



Şekil 3.3 TZF için kullanılan 10 ml'lik tüp



Şekil 3.4. Tüpün santrifüj cihazına yerleştirilmesi



Şekil 3.5 Santrifüj cihazının ayarlanması



Şekil 3.6 Elde edilen TZF

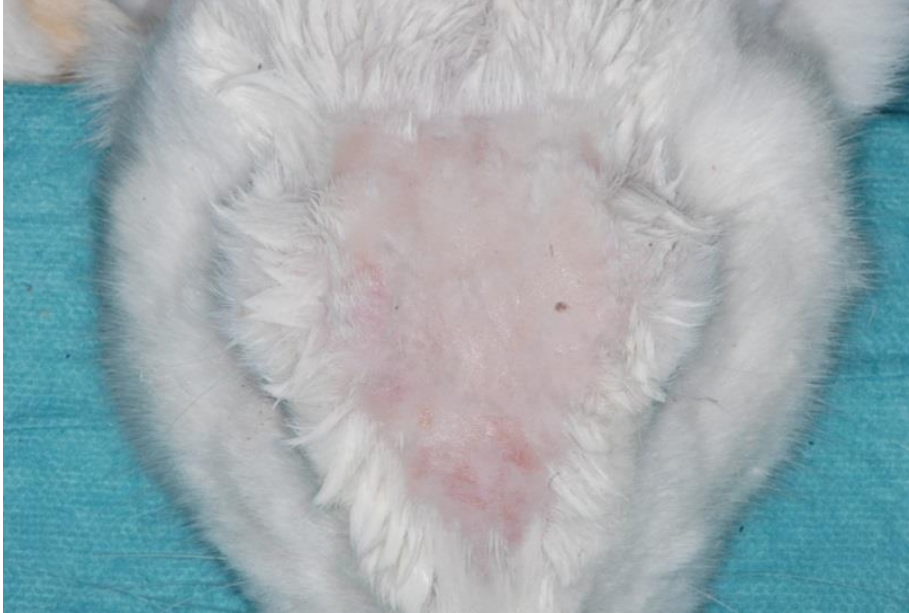
### 3.2.Cerrahi İşlemler ve Çalışma Grupları

Tavşanların kulaklarından TZF elde etmek için kan alındıktan sonra cerrahi işlemlere geçildi. Tavşanlara yapılacak cerrahi işlem öncesinde kullanılacak tüm cerrahi aletler sterilizasyon cihazında steril edildi (Şekil 3.7). Cerrahi işlem öncesinde tavşan kafa derisi traş edildi (Şekil 3.8). Kafa derisinde antisepsi sağlamak amacıyla %10'luk povidon iyodür kullanıldı. Steril örtü ile tavşanın kalvaryumu görülecek şekilde örtüldü (Şekil 3.9). Tavşanın kafa derisinde, orta hatta, antero-posterior yönde, 3-4 cm uzunluğunda insizyon yapıldı (Şekil 3.10). Sonrasında periost kaldırılarak parietal kemiğe ulaşıldı (Şekil 3.11). Trefin frez yardımıyla

serum ile soğutma yapılarak her iki parietal kemikte, toplam dört adet, 6mm çapında bikortikal defektler açıldı (Şekil 3.12 ve Şekil 3.13). Bu aşamada dura matere zarar verilmemesi için çok hassas çalışıldı. Çalışmamızda sentetik greft materyali olarak SBC (HA/ $\beta$ TCP) kullanılmıştır.



Şekil 3.7 Cerrahi aletler

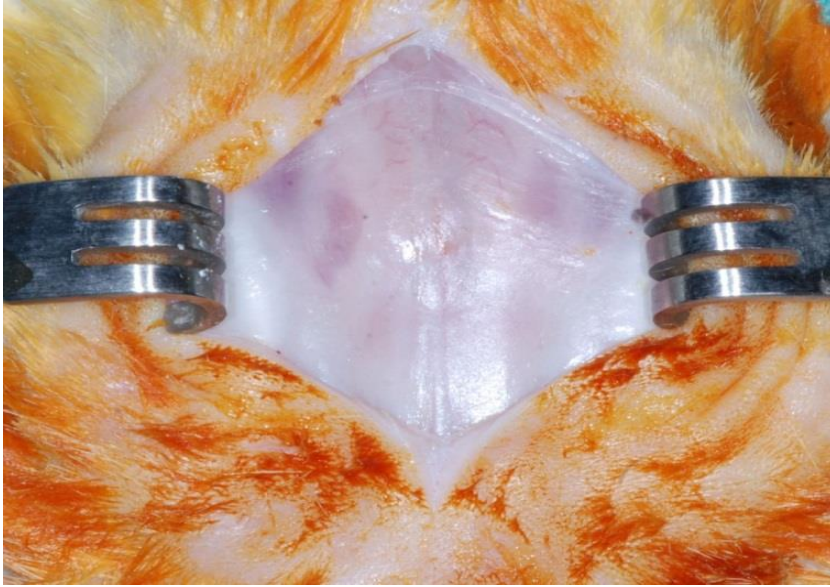


Şekil 3.8 Tavşan kafa derisi traş edildikten sonra alınan görüntü





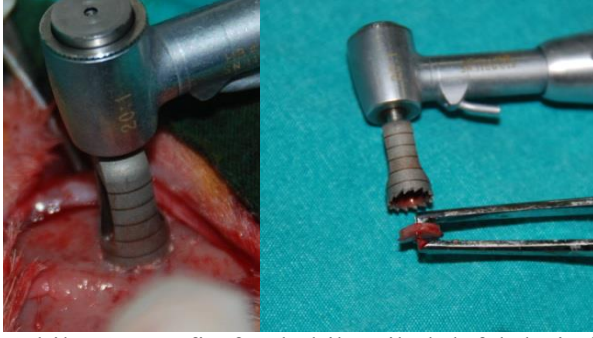
Şekil 3.9 Cerrahi sahanın steril olarak örtülmesi



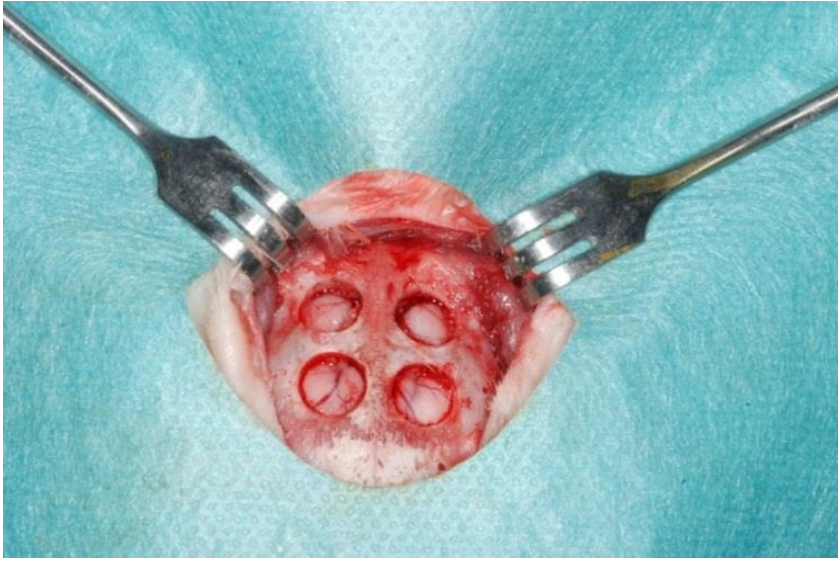
Şekil 3.10 Kafa derisi insizyonu



Şekil 3.11 Tavşan parietal kemiğinin görüntüsü



Şekil 3.12 Trefin frezle bikortikal defektlerin hazırlanması

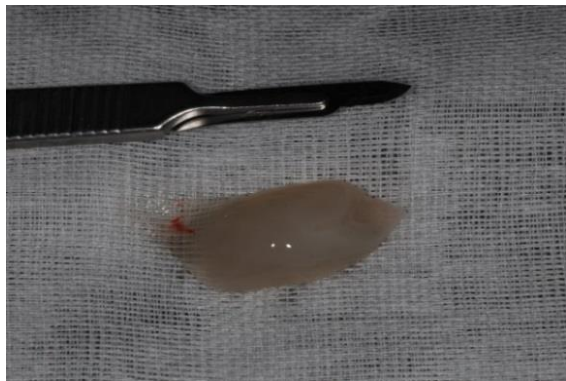


Şekil 3.13 Hazırlanan defektlerin görüntüsü

Defektler hazırlandıktan sonra elde edilen TZF tüpten çıkartılarak bir spanç üzerine konuldu (Şekil 3.14 ve Şekil 3.15). TZF'nin yaklaşık olarak yarısı makasla ufak parçalara ayrılarak SBC (Straumann, Malmö, İsveç) ile karıştırıldı (Şekil 3.16).



Şekil 3.14 TZF'nin tüpten çıkartılması



Şekil 3.15 TZF'nin görüntüsü



Şekil 3.16 TZF ile SBC'nin karıştırılması

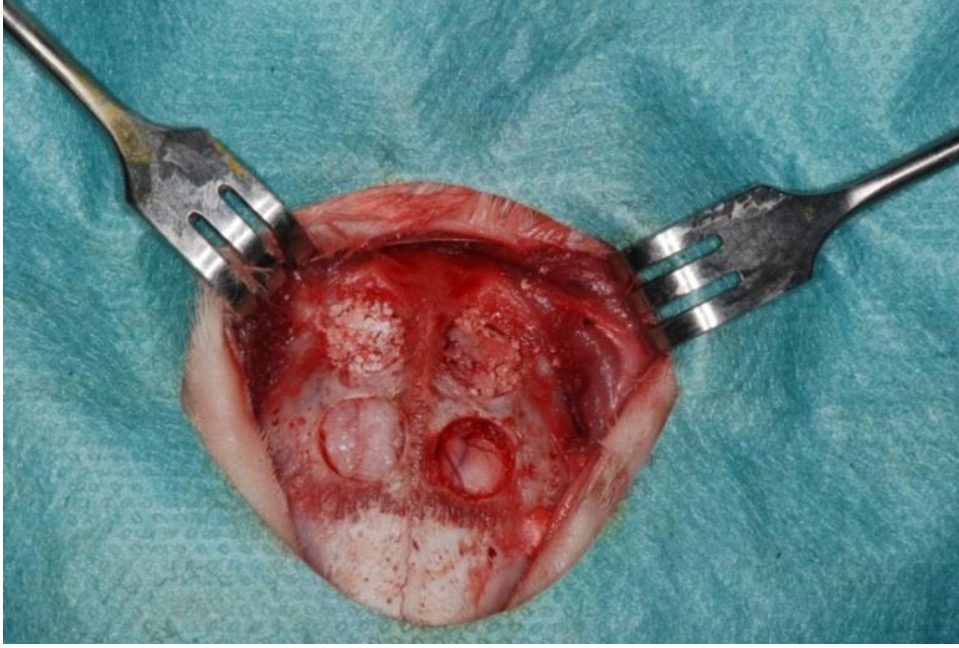
Defektler şu şekilde gruplara ayrıldı (Şekil 3.17). ;

- **A Grubu (Kontrol Grubu):** Bu gruptaki defektler boş bırakıldı.
- **B Grubu (Deney Grubu):** Bu gruptaki defektlere elde edilen TZF'nin yarısı defektleri dolduracak şekilde konuldu.
- **C Grubu (Deney Grubu):** Bu gruptaki defektlere SBC konuldu.
- **D Grubu (Deney Grubu):** Bu gruptaki defektlere SBC ile TZF karıştırılarak konuldu.

**Not:** C ve D grubunda standart hacimde SBC kullanılmıştır.

İşlem bitirildikten sonra kafatası üstündeki periost ve sonrasında cilt dokusu 4.0 poliglaktin (Vicryl, Ethicon, ABD) ile dikilerek cerrahi işlem tamamlandı. Hayvanların yarısı 4 hafta sonunda diğer yarısı 8 hafta sonunda intravenöz yolla verilen sodyum pentotal (Pentothal, Abbott, ABD) ile sakrifiye edildi. Hayvanlardan elde edilen örnekler %10'luk formaldehite konuldu.





Şekil 3.17 Kontrol ve deney gruplarının görüntüsü

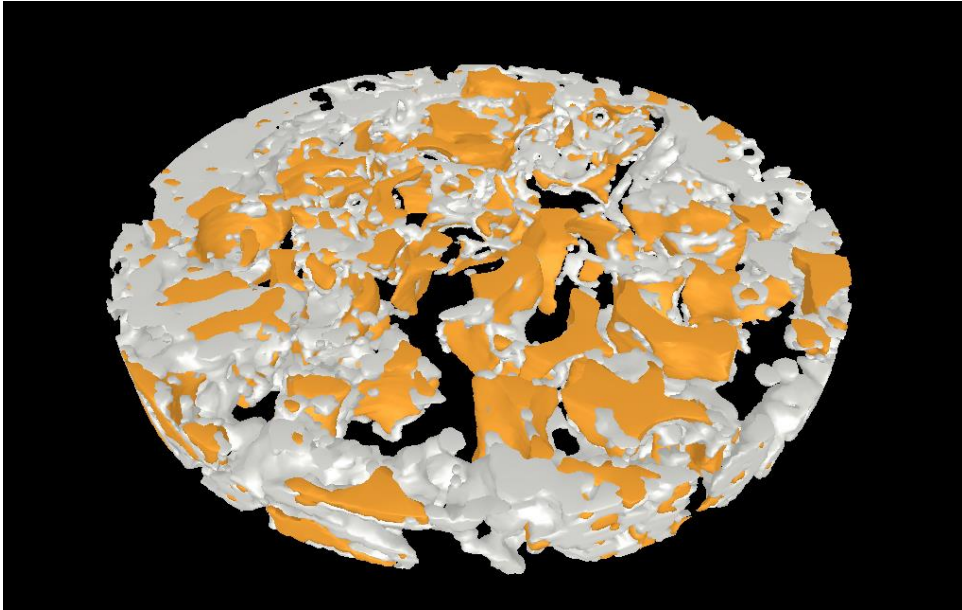
### 3.3.Radyolojik İnceleme

Tavşanlardan elde edilen örnekler %10'luk formaldehitte 5 gün bekletildi. Tespit işlemi yapıldıktan sonra örneklerde formaldehit kalmaması için yıkandı. Daha sonrasında örneklerin radyolojik incelenmesi SkyScan-1172 (Bruker-microCT, Kontich, Belgium) mikro-BT cihazı ile yapıldı (Şekil 3.18).

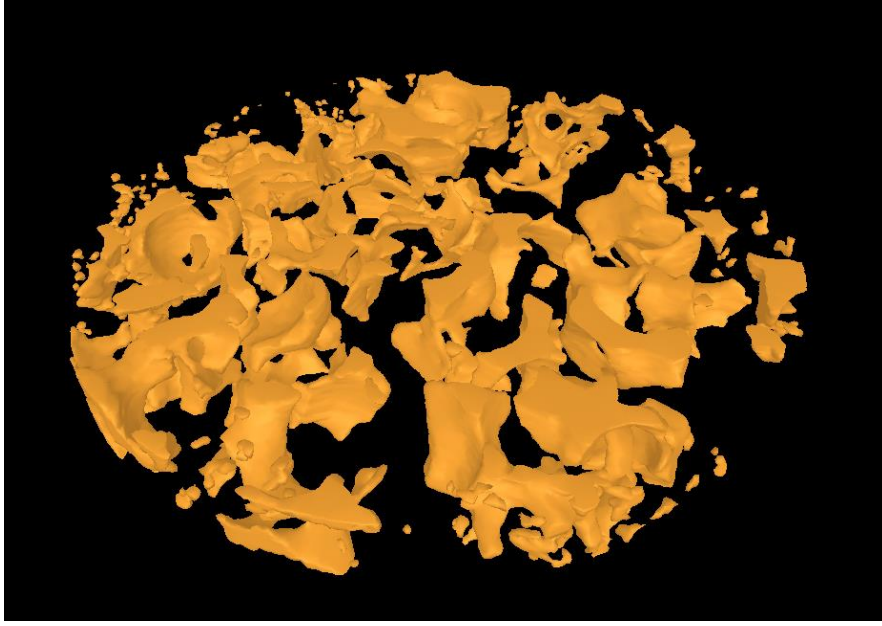
Micro-BT ile taranan numunelerden elde edilen dataların görüntüye dönüştürülmesinde NRecon v.1.6.3 software (Bruker-microCT), analizde CTAn v.1.12 software (Bruker-microCT) programları kullanıldı. 3 boyutlu görüntü eldesinde CTVol v.2.2.1 software (Bruker-microCT) kullanıldı. Defekt boyutları başlangıçta 6mm çapında hazırlandığı için mikro-BT analiz programında incelenecek alanın çapı 6mm olarak ayarlandı (Şekil 3. 19) (101,102). 6mm çapındaki inceleme bölgesinde total hacim, yeni oluşan kemik hacmi ve greft materyalinin hacmi (C ve D gruplarında) hesaplandı (Şekil 3.20, 3.21 ve Şekil 3.22). Yeni oluşan kemik hacmi toplam hacim ile oranlanarak yüzde cinsinden hesaplandı.



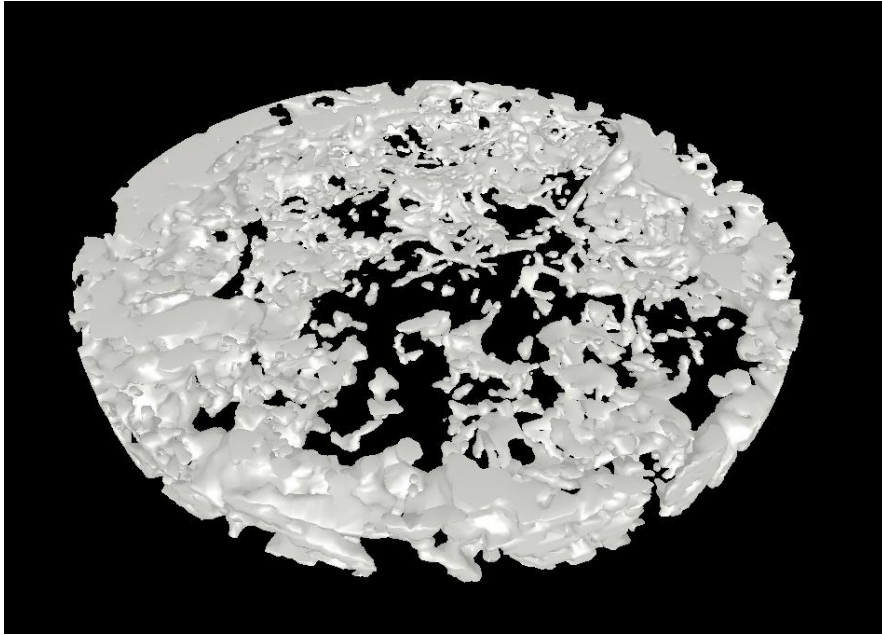
Şekil 3.18 Skyscan 1172 mikro-BT cihazı



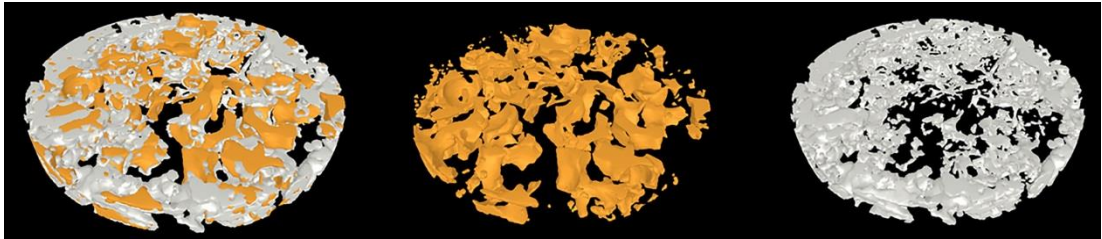
Şekil 3.19 Defektlerde 6mm çapında inceleme bölgesinin oluşturulması (beyaz: kemik dokusu, turuncu: greft materyali).



3.20 Greft materyalinin üç boyutlu bilgisayar görüntüsü



3.21 Yeni oluşan kemiğin üç boyutlu bilgisayar görüntüsü



Şekil 3.22: Mikro-BT analizinde 6mm çapında inceleme alanı oluşturduktan sonra greft materyali çıkartılarak yeni oluşan kemik hacminin hesaplanması

### **3.4.Histolojik ve Histomorfometrik İnceleme**

Tavşanlardan elde edilen örnekler 5 gün boyunca formaldehitte fikse edildi. Ayrıca gümüşü olarak formaldehit solüsyonları yenilendi. Daha sonra formik asit (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA) ile 12 gün boyunca dekalsifiye edildi. Dekalsifiye işlemi oda sıcaklığı altında gerçekleştirildi. Örneklerin dekalsifikasyonu sağlandıktan sonra rutin histolojik doku takip prosedürlerinden geçirilip parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom yardımı ile her örnekten koronal kesitte 2 adet 6 µm kalınlığında kesitler alındı. Elde edilen bu kesitler Hematoksilen-Eozin (H-E) ile boyandıktan sonra Leica DFC280 ışık mikroskopunda incelendi. Daha sonra Leica Q Win Plus V3 görüntü analiz sisteminde (Leica Microsystems Imaging Solutions, Cambridge, UK) fotoğraflar alınarak total doku alanı ve kemik doku alanlarının ölçümleri yapıldı. Yeni oluşan kemik doku alanı total alana oranlanarak yüzde cinsinden hesaplandı.

### **3.5.İstatistiksel Değerlendirme**

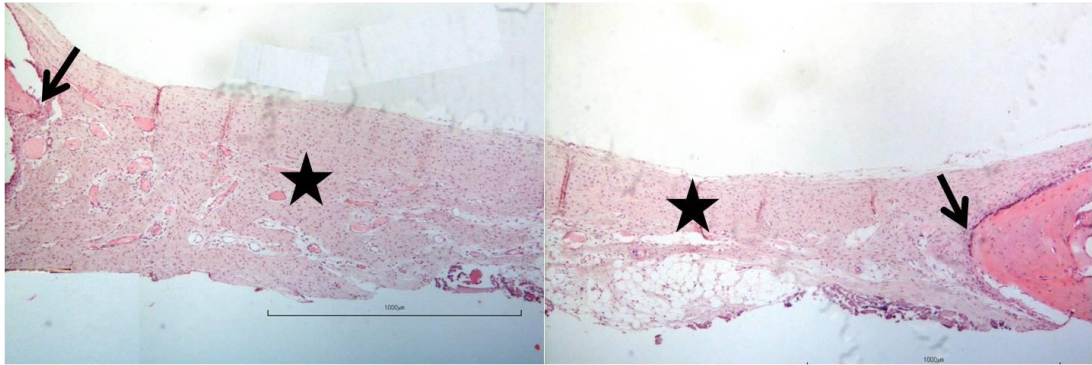
Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında tek yönlü ANOVA testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Tukey HSD testi kullanıldı. Normal dağılım gösteren parametrelerin iki grup arası karşılaştırmalarında da Student t test kullanıldı. Anlamlılık  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirildi.

## 4.BULGULAR

### 4.1. Histolojik ve Histomorfometrik Bulgular

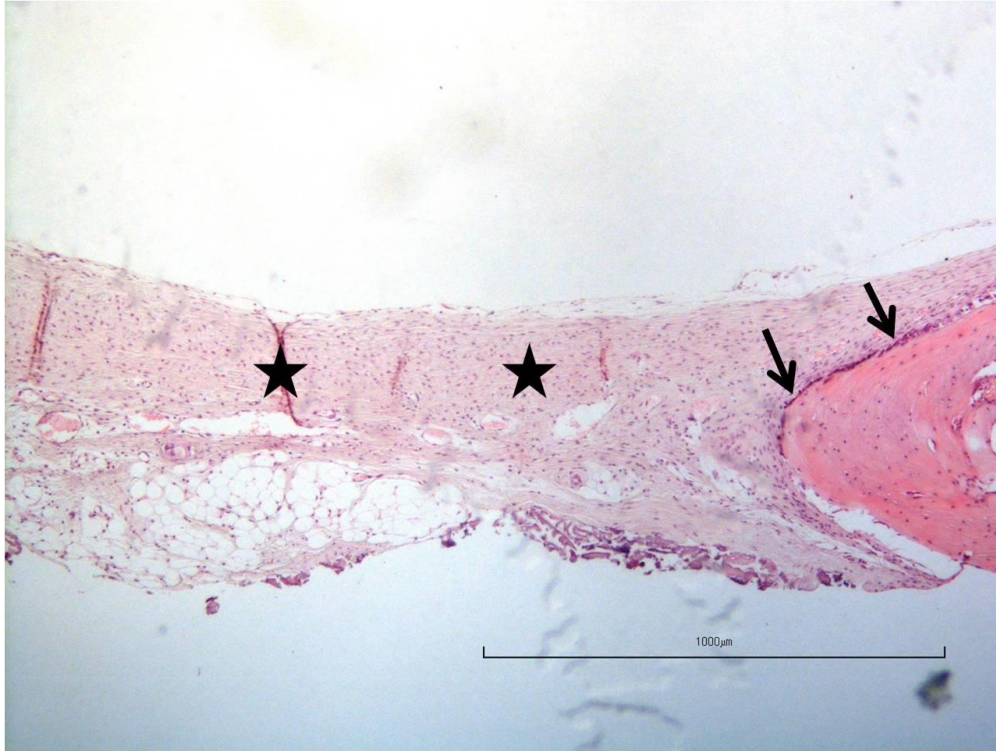
#### 4.1.1 4.Haftaya Ait Histolojik Bulgular

**4.Hafta A Grubu:** Bu gruba ait histolojik görüntü Şekil 4.1’de görülmektedir. İncelenen kesitlerde cerrahi sınırlar arasındaki alanın fibröz bağ dokusu ile doldurulmuş olduğu görüldü (Şekil 4.1-4.3). Fibröz bağ dokusu içinde değişik çaplarda çok sayıda vasküler yapı tespit edildi (Şekil 4.4). Tüm kesitlerde cerrahi sınırlarında bulunan kemik dokusunda bazofilik hücre proliferasyonu şeklinde osteokondüktif aktivite mevcuttu. Ayrıca yer yer cerrahi uçlara yakın bölgelerde bağ dokusu içinde küçük, kalsifiye kemik doku parçacıkları ile osteojenik hücre adacıkları izlendi (Şekil 4.5-4.6).

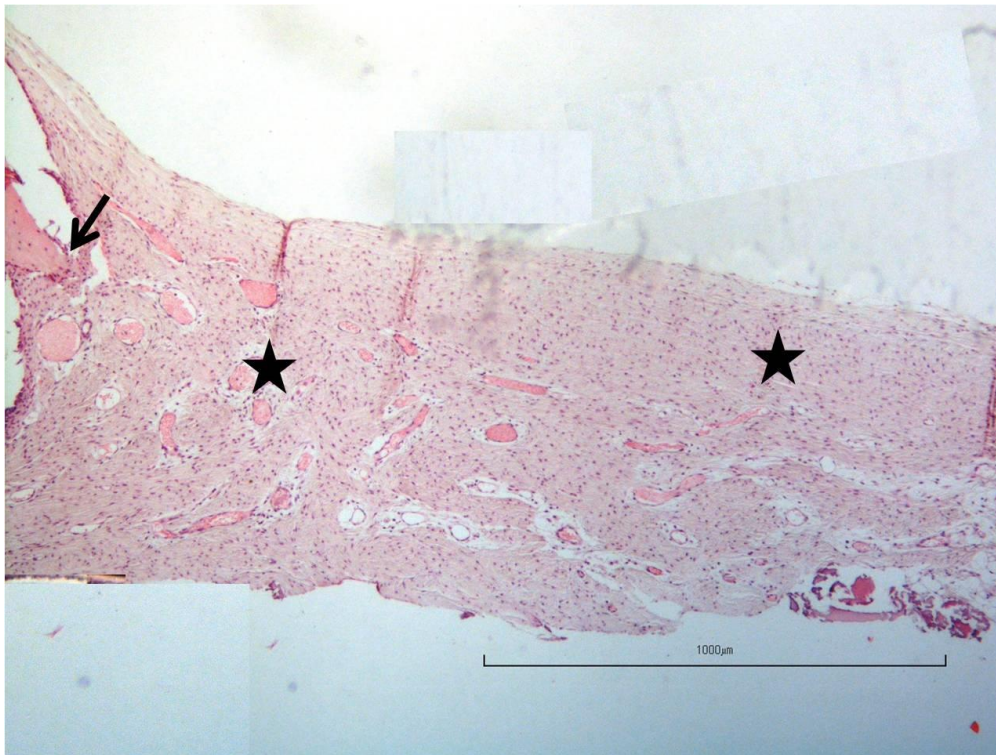


Şekil 4.1 4.hafta A grubuna ait defektin tamamının histolojik görüntüsü (oklar: cerrahi sınır, yıldızlar:fibröz bağ dokusu, H-E, Skala: 1000µm)



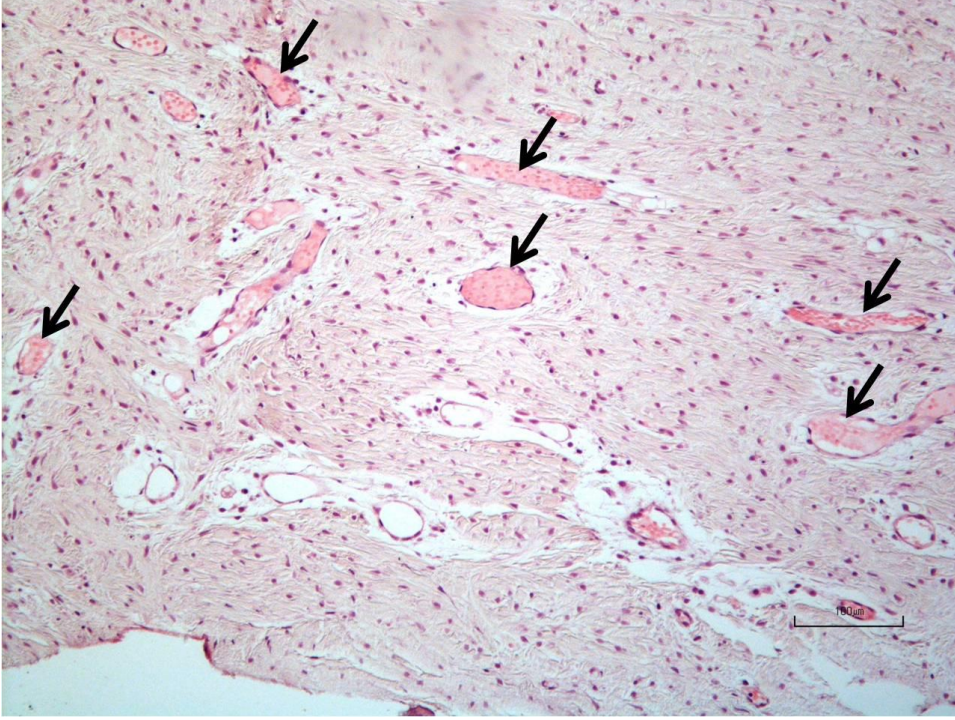


Şekil 4.2 4.hafta A grubuna ait cerrahi sınıra yakın histolojik görüntü (oklar: cerrahi sınırdaki osteokondüktif aktivite, yıldızlar: fibröz bağ dokusu, H-E, Skala: 1000µm)

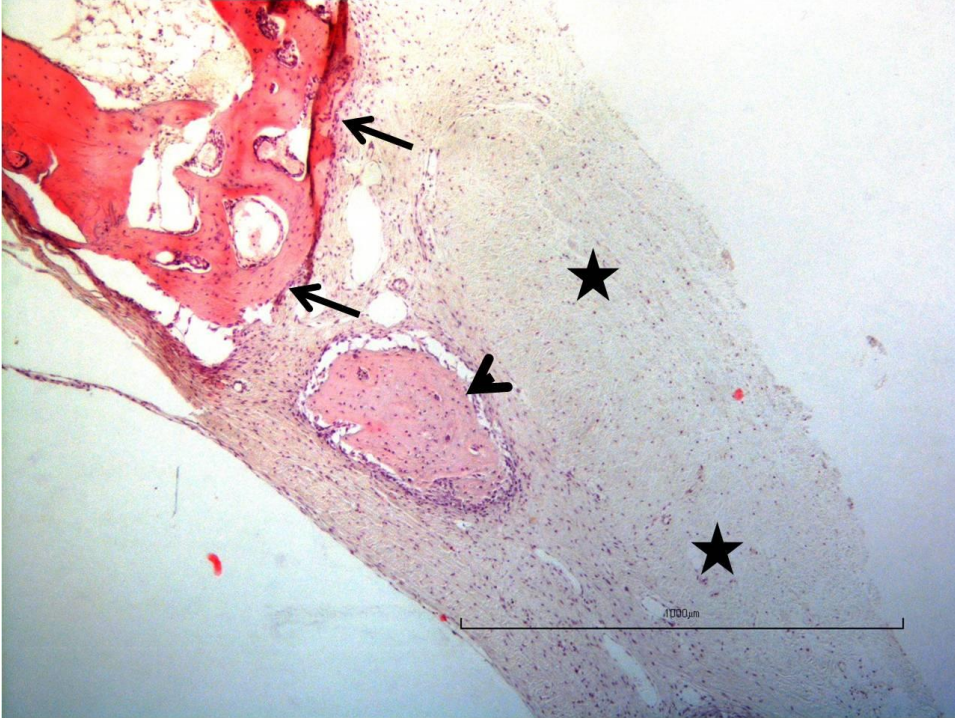


Şekil 4.3 Cerrahi sınır ve fibröz bağ dokusu (ok:cerrahi sınır, yıldızlar:fibröz bağ dokusu, H-E, Skala: 1000µm)

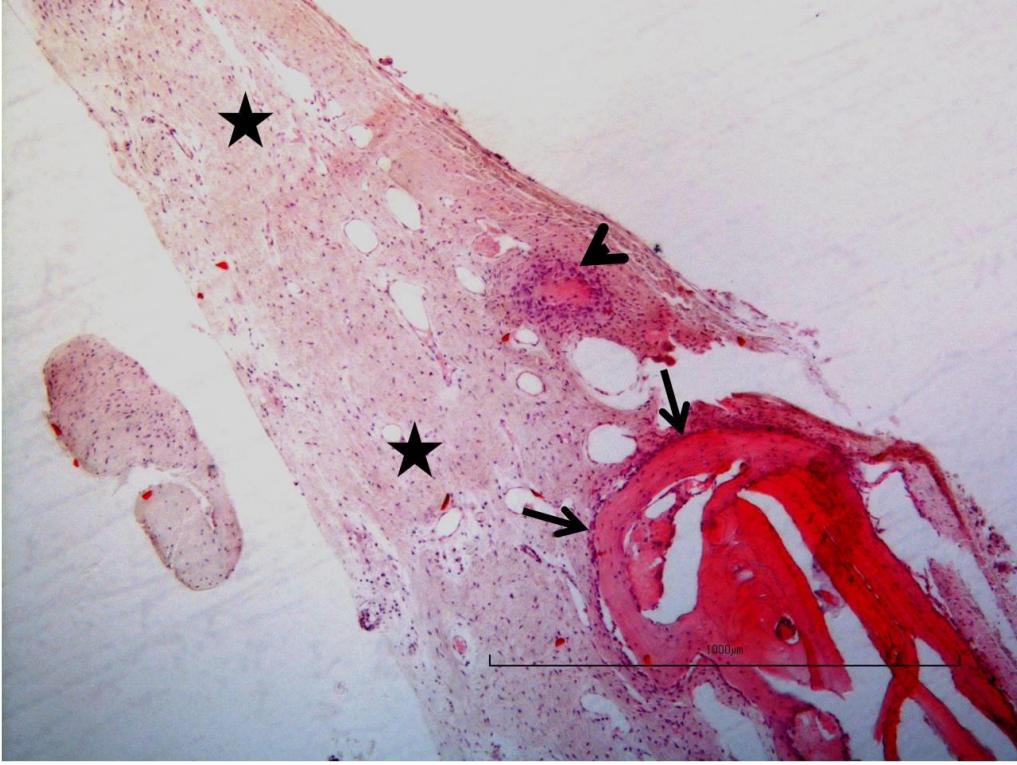




Şekil 4.4 Fibröz bağ dokusu içinde vasküler yapıların görüntüsü (oklar:vasküler yapılar, H-E, Skala:100 µm)



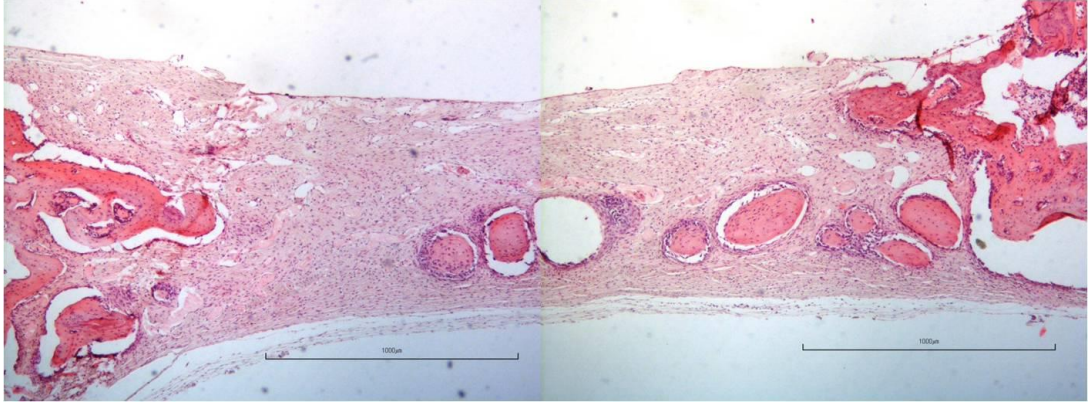
Şekil 4.5 Cerrahi sınıra yakın alanda kalsifiye kemik doku adacığı (oklar:cerrahi sınır, ok başı:kalsifiye kemik doku adacığı , yıldızlar: fibröz bağ dokusu, H-E, Skala: 1000µm)



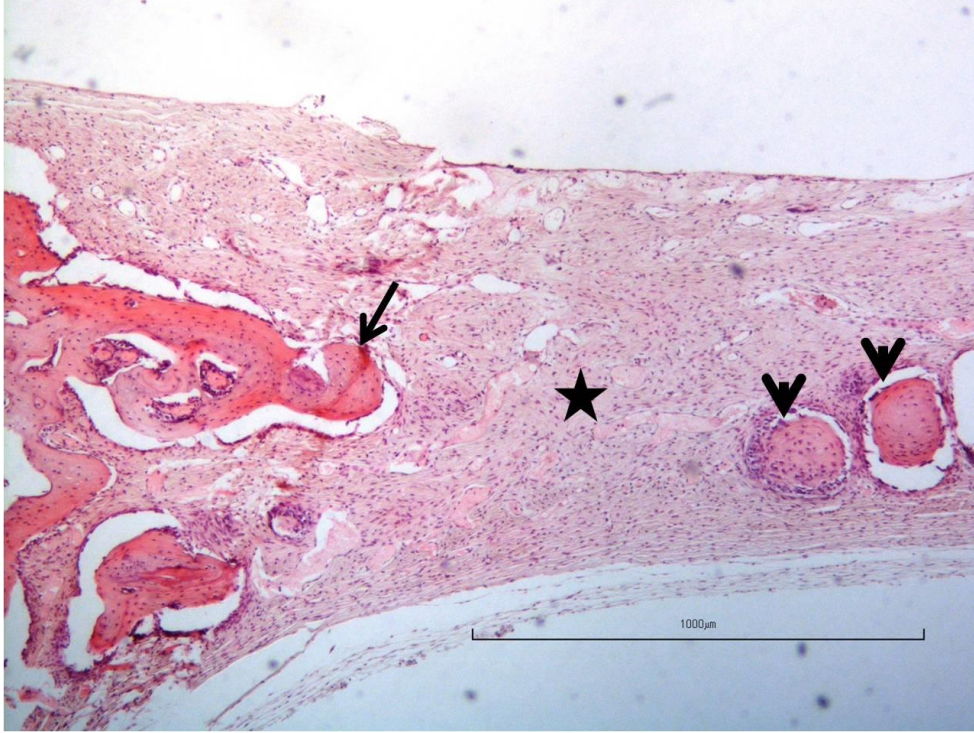
Şekil 4.6 Cerrahi sınıra yakın osteojenik adacıklar (oklar: cerrahi sınır, ok başı: osteojenik adacıklar, yıldızlar: fibröz bağ dokusu, H-E, Skala: 1000μm)



**4.Hafta B Grubu:** Bu gruba ait histolojik görüntü Şekil 4.7’de görülmektedir. Kesitlerde cerrahi sınırlar arasında bağ dokusu bağlantısı kurulduğu görüldü. Cerrahi sınırdaki kemik uçlarında osteokondüktif aktivite ve yakın bölgedeki bağ dokusu içinde osteojenik odaklar, osteoid doku alanları, kemikleşme merkezleri ve kalsifiye kemik doku parçacıkları saptandı (Şekil 4.8-4.11). Osteoid doku ve kalsifiye kemik doku alanları periferinde belirgin osteoblastik aktivite izlendi (Şekil 4.12).



Şekil 4.7 4.hafta B grubuna ait defektin tamamının histolojik görüntüsü (H-E, Skala: 1000µm)

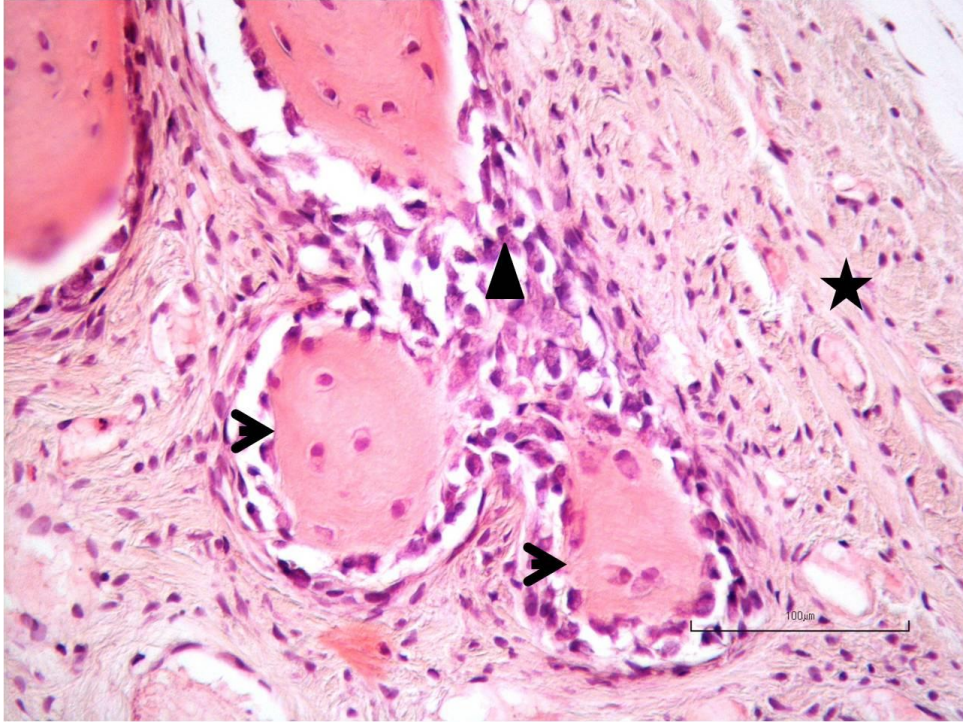


Şekil 4.8 4.hafta B grubuna ait cerrahi sınıra yakın yerden alınan histolojik görüntü (ok: cerrahi sınır, yıldız: fibröz bağ dokusu, ok başları: cerrahi sınıra uzak alanda kemik doku parçacıkları ve çevresinde osteoblastik aktivite, H-E, Skala: 1000µm)

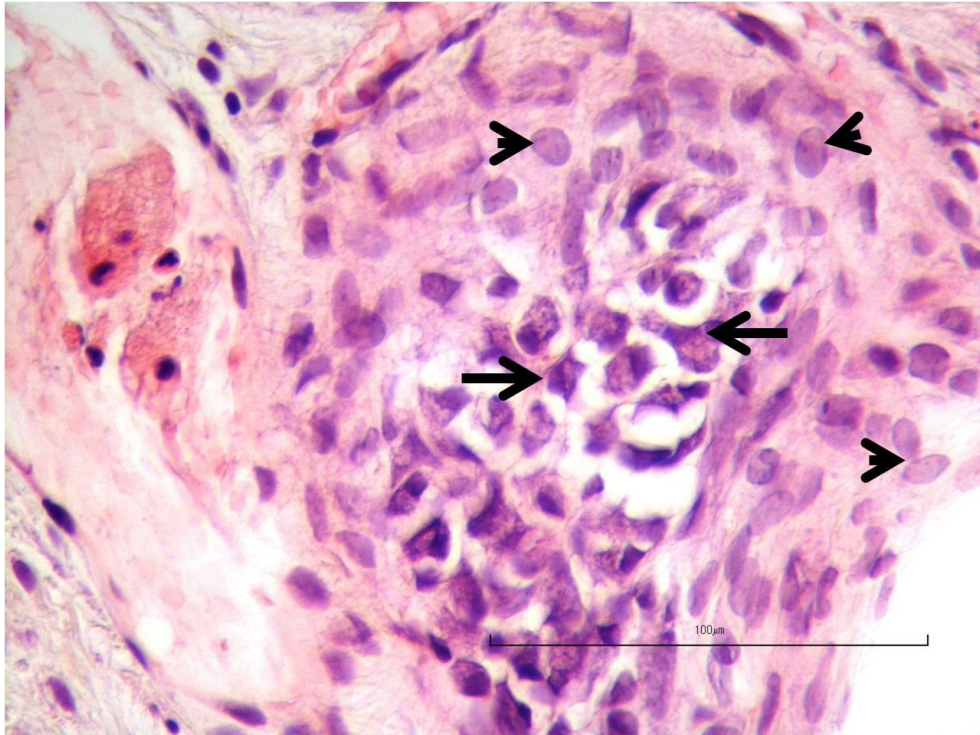


Şekil 4.9 4.hafta B grubunda cerrahi sınıra yakın alanda yeni kemik oluşumu (ok:cerrahi uçta kemik doku , ok başları: cerrahi uçlara yakın alanlarda oluşan yeni kemik dokusu ile çevre alanlarda osteoblastik aktivite, yıldız: fibröz bağ dokusu H-E, Skala: 1000µm)

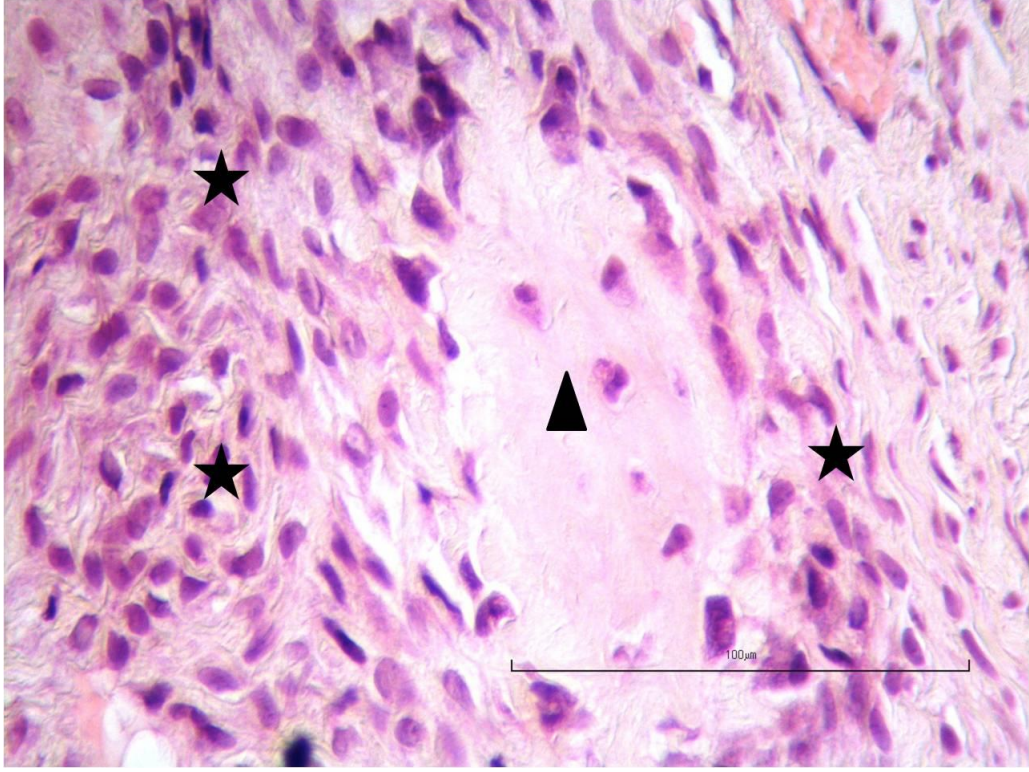




Şekil 4.10 Kemikleşme merkezi (üçgen: kemikleşme merkezi, ok başları: yeni oluşan kemik dokusu, yıldız: fibröz bağ dokusu,H-E, Skala: 100µm)



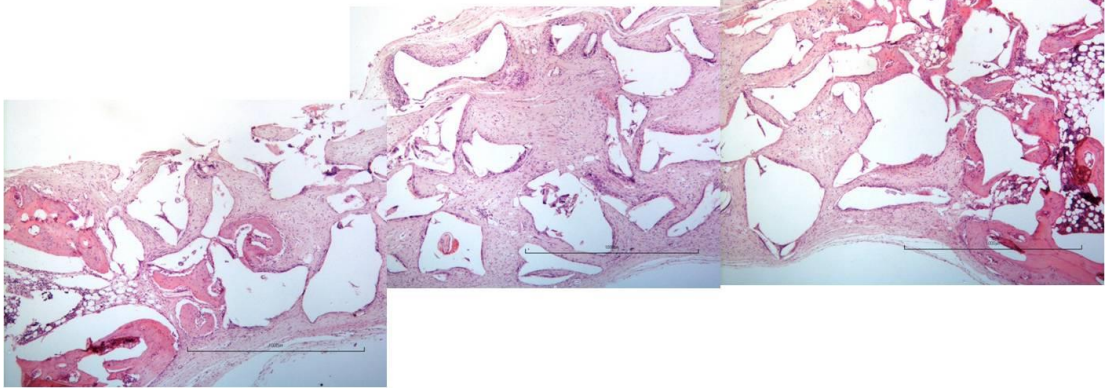
Şekil 4.11 Kemikleşme merkezinde mezenkimal hücreler (oklar:mezenkimal hücreler, ok başları:osteoblastlar, H-E, Skala: 100µm)



Şekil 4.12 Osteoid doku ve osteoblastik aktivite (üçgen:osteoid doku, yıldız: osteoblastik aktivite, H-E, Skala: 100µm)

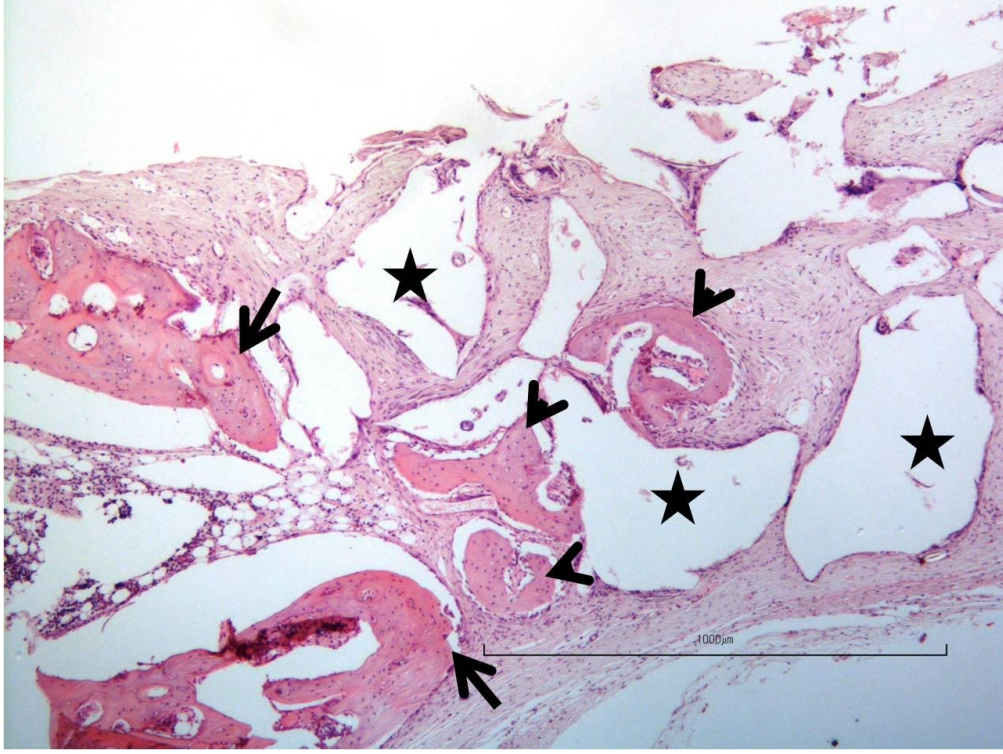


**4.Hafta C Grubu:** Bu gruba ait histolojik görüntü Şekil 4.13'de görülmektedir. İncelenen kesitlerde cerrahi sınırlar arasında düzensiz vakuoller şeklinde greft materyali alanları görüldü. Cerrahi sınırlarda osteokondüktif aktivite izlendi. Cerrahi sınırlara yakın alanlarda greft materyali alanları çevresinde yeni kemik oluşumu saptandı (Şekil 4.14-4.15). Cerrahi sınırlara uzak alanlarda kalsifiye kemik oluşumlar izlenmedi ancak yer yer bağ dokusu içinde osteoindüktif odaklara rastlandı (Şekil 4.16). Greft materyali vakulleri periferinde osteoklastlar ve ince hatlar şeklinde osteoblastlara rastlandı. Cerrahi sınıra uzak bölgede greft materyali çevresinde osteoindüktif alanlar ve osteoklastik aktivite görüldü (Şekil 4.17-4.18).

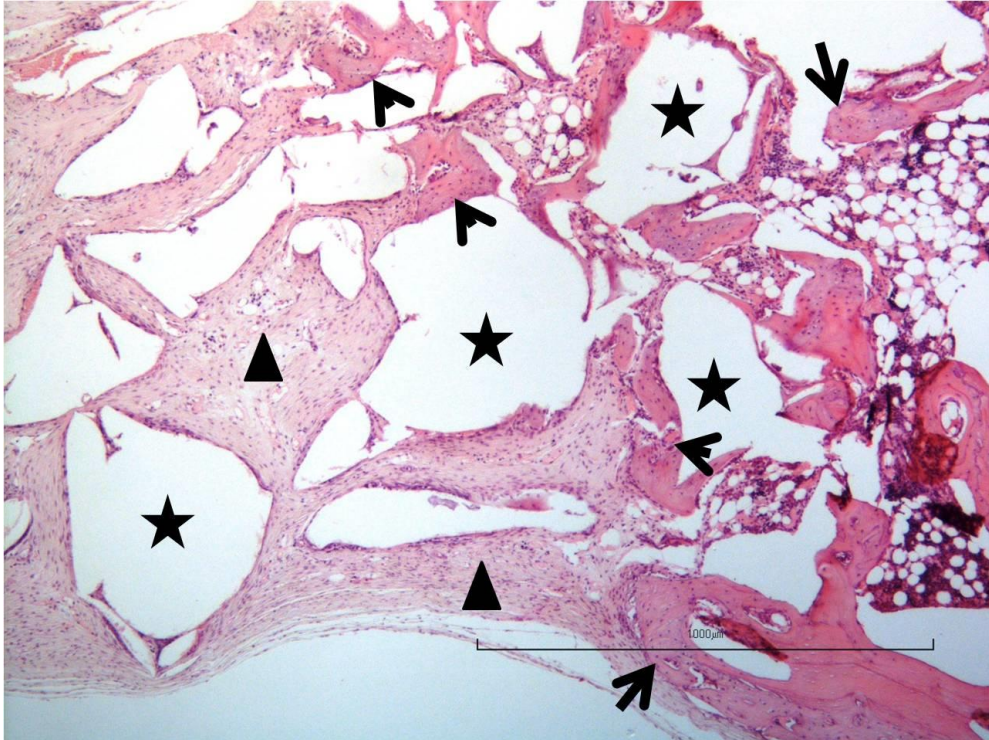


Şekil 4.13 4.hafta C grubuna ait defektin tamamının histolojik görüntüsü (H-E, Skala:1000 $\mu$ m)



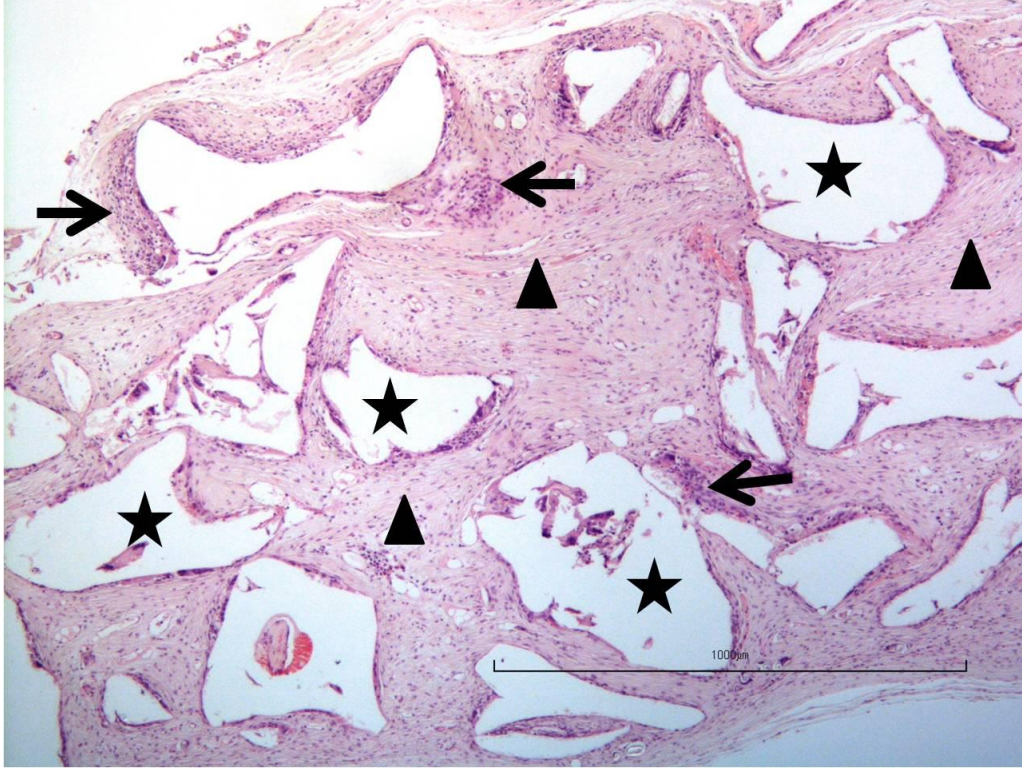


Şekil 4.14 4.hafta C grubuna ait cerrahi sınıra yakın histolojik görüntü (oklar: cerrahi sınır, yıldızlar: greft materyali, ok başları: greft materyali çevresinde yeni oluşan kemik dokusu, H-E, Skala:1000µm)

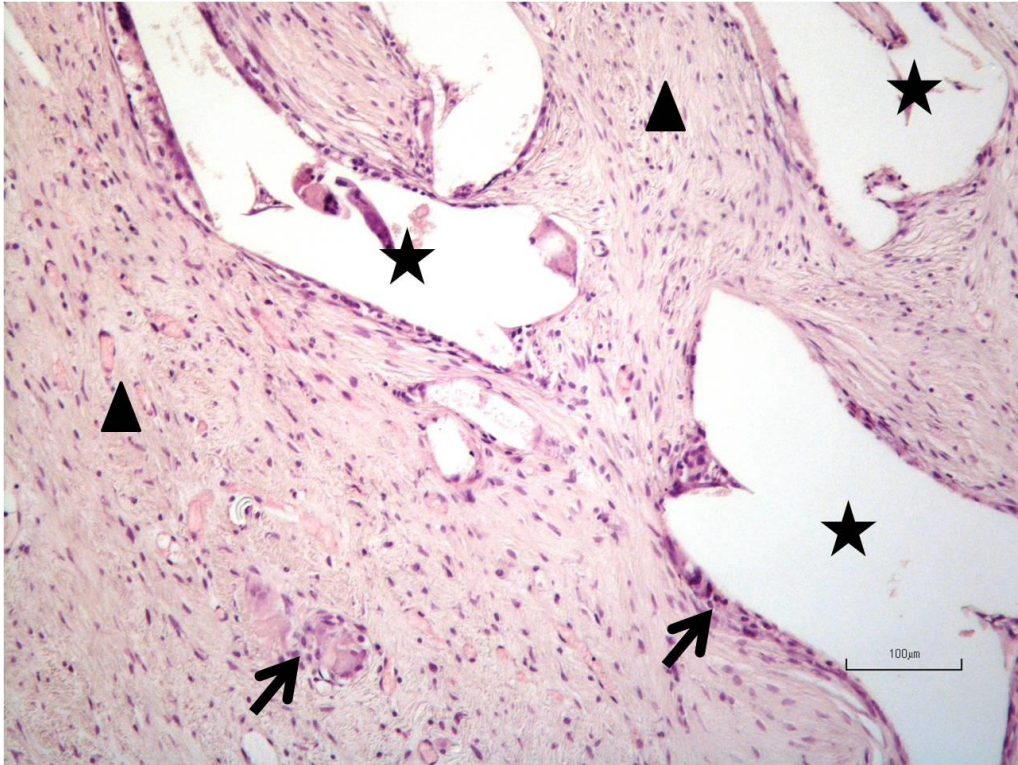


Şekil 4.15 Cerrahi sınırdaki greft materyali çevresinde görülen yeni kemik oluşumu (oklar: cerrahi sınır, yıldızlar: greft materyali, ok başları: greft çevresinde oluşan yeni kemik oluşumu, üçgenler: fibröz bağ dokusu, H-E, Skala: 1000µm)

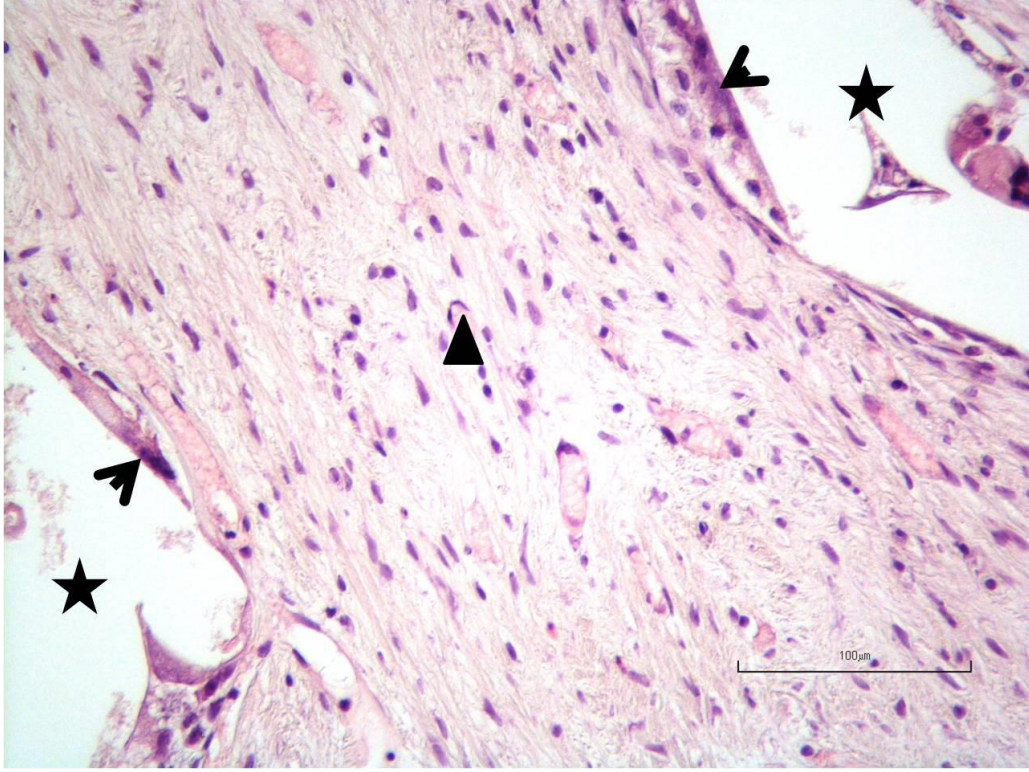




Şekil 4.16 4.hafta C grubuna ait cerrahi sınıra uzak histolojik görüntü (yıldızlar: greft materyali, oklar: greft çevresindeki osteoindüktif alanlar, üçgenler: fibröz bağ dokusu, H-E, Skala:1000µm)



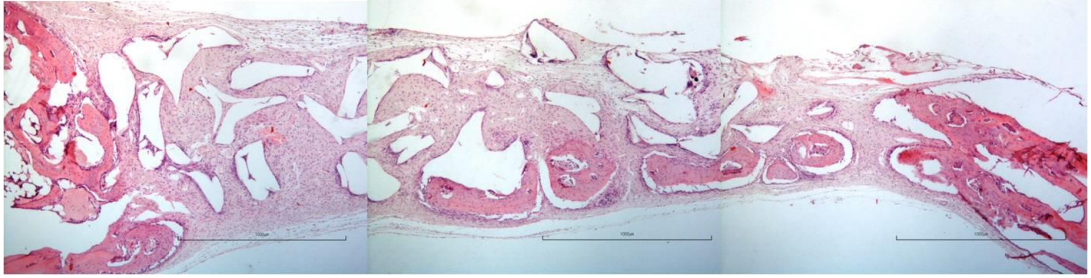
Şekil 4.17 Cerrahi sınıra uzak bölgedeki osteoindüktif alanlar (yıldızlar: greft materyali, oklar: osteoindüktif alanlar, üçgenler: fibröz bağ dokusu: H-E, Skala: 100µm)



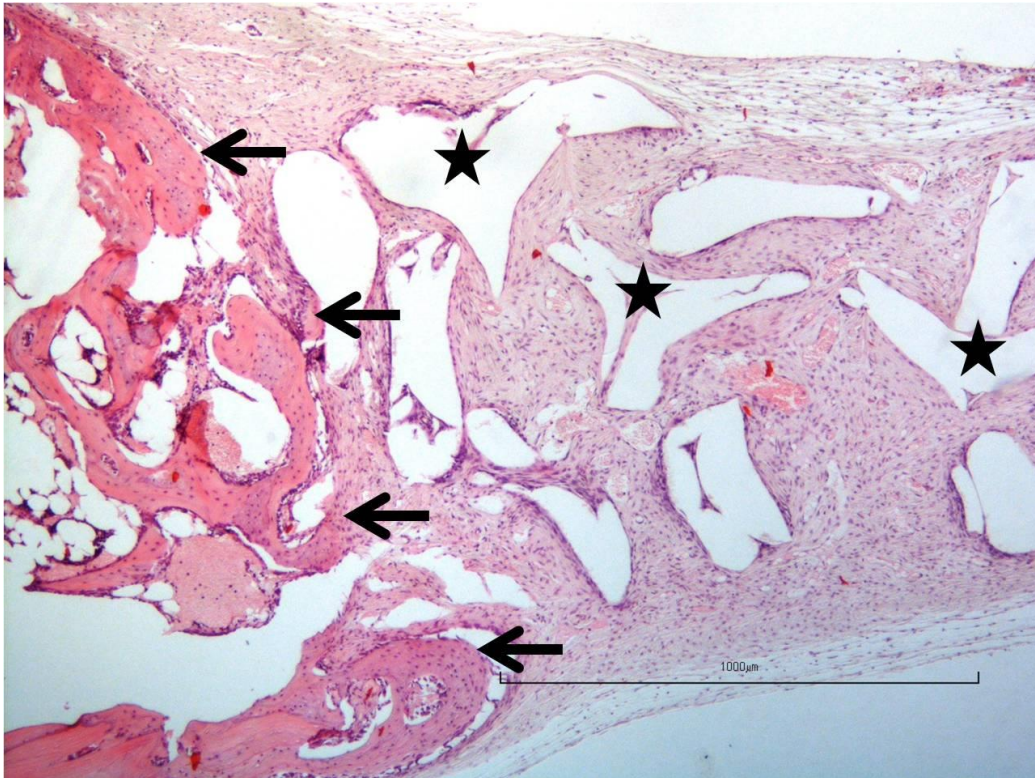
Şekil 4.18 Cerrahi sınıra uzak bölgede osteoklastik aktivite (yıldızlar: greft materyali, ok başları: osteoklastlar, üçgen: fibröz bağ dokusu, H-E, Skala: 100µm)



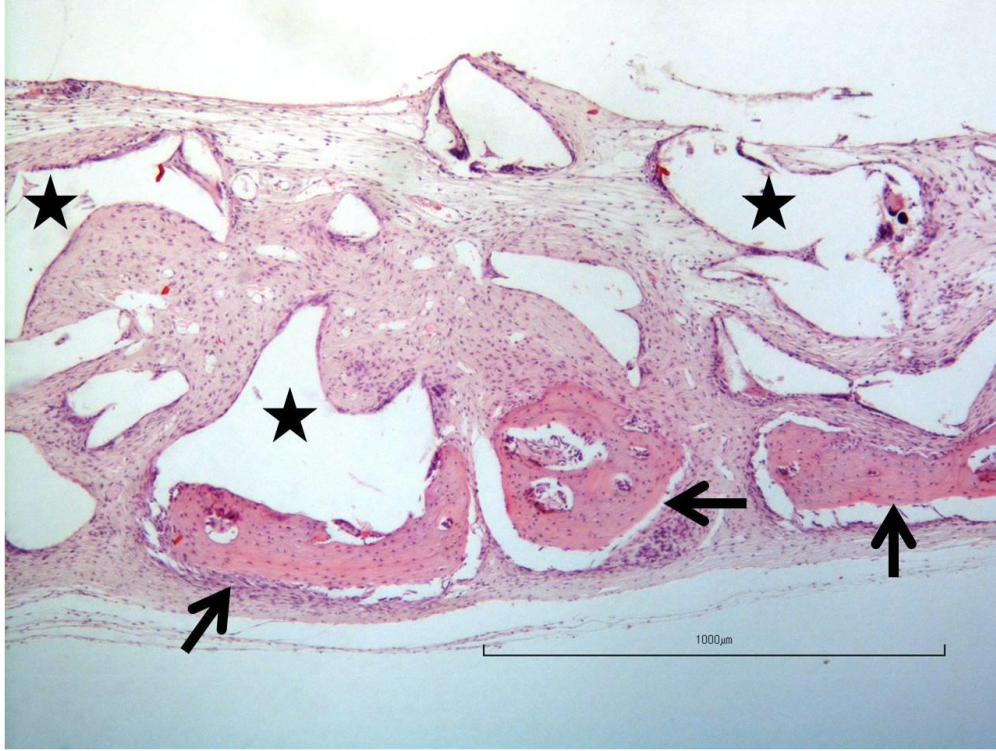
**4.Hafta D Grubu:** Bu gruba ait histolojik görüntü Şekil 4.19’da görülmektedir. İncelenen kesitlerde cerrahi sınırlar arasında düzensiz vakuoller şeklinde greft materyali alanları içeren fibröz bağ dokusu bağlantısı kurulduğu gözlemlendi. Cerrahi sınırda osteokondüktif aktivite izlendi (Şekil 4.20). Genellikle cerrahi sınıra yakın bölgede ve yer yer de daha uzak alanlarda greft materyali çevresinde ve içerisinde kalsifiye kemik doku oluşumları saptandı (Şekil 4.21-4.23). Ayrıca greft materyalleri periferinde yer yer osteoklastlara ve osteoblastik aktivite alanlarına rastlandı (Şekil 4.24).



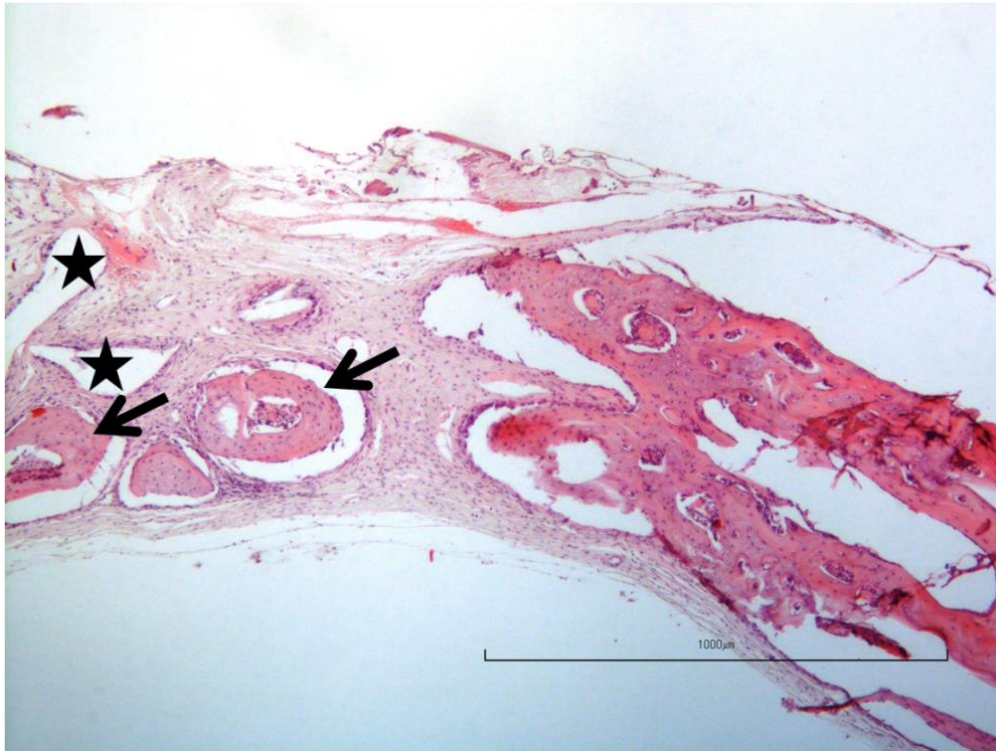
Şekil 4.19 4.hafta D grubuna ait defektin tamamının histolojik görüntüsü (H-E, Skala: 1000 $\mu$ m)



Şekil 4.20 4.hafta D grubuna ait cerrahi sınıra yakın histolojik görüntü (oklar: cerrahi sınırdaki görülen kemik doku ve osteokondüktif kemik oluşumu , yıldızlar: greft materyali ,H-E, Skala: 1000 $\mu$ m)

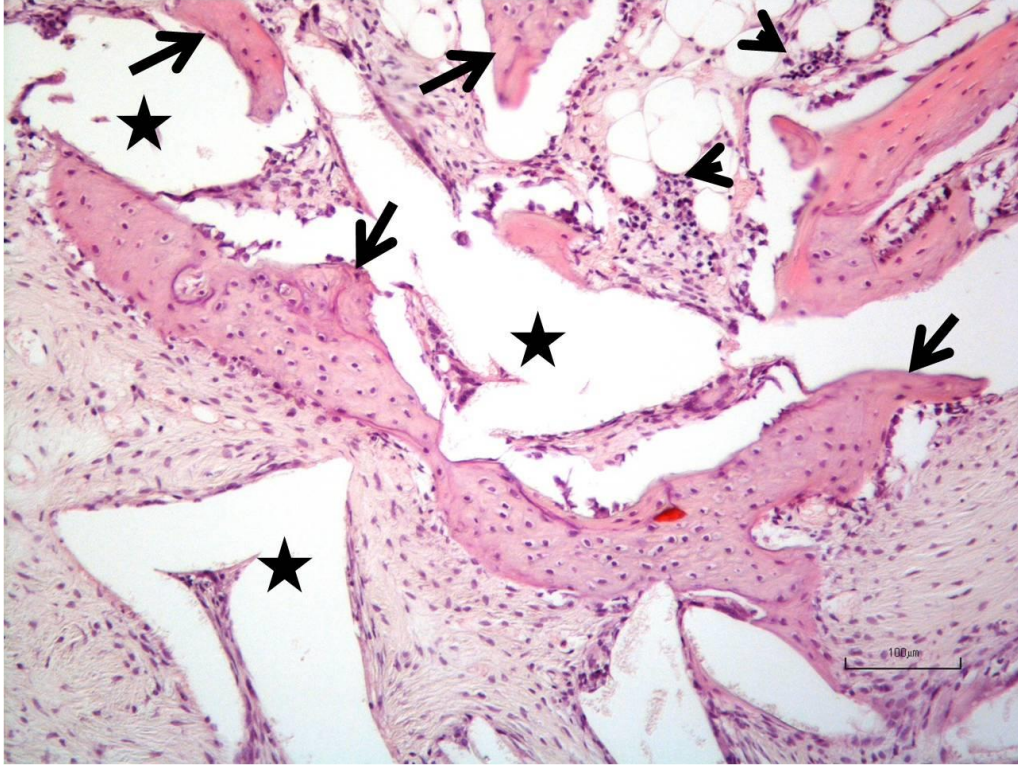


Şekil 4.21 4.hafta D grubuna ait cerrahi sınıra uzak histolojik görüntü (oklar: greft materyali çevresinde oluşan yeni kemik dokusu, yıldızlar: greft materyali, H-E, Skala: 1000 $\mu$ m)

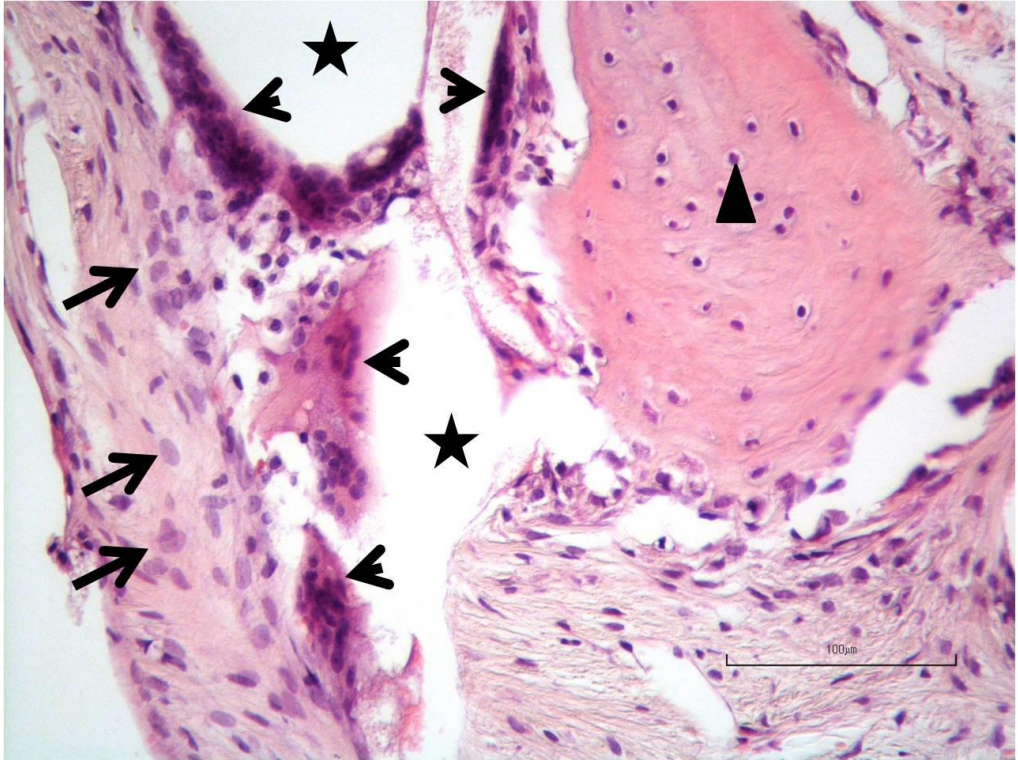


Şekil 4.22 Greft materyali alanlarında görülen yeni kemik oluşumu (oklar: yeni kemik oluşumu, yıldızlar: greft materyalleri, H-E, Skala:1000 $\mu$ m)





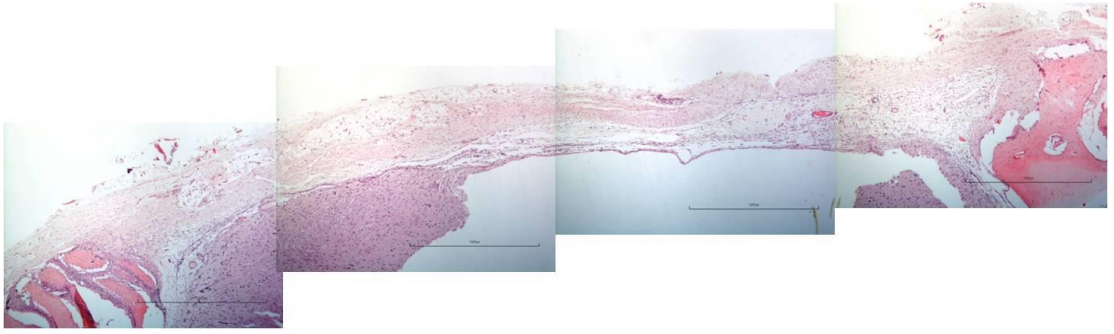
Şekil 4.23 Greft materyali çevresinde yeni kemik oluşumu (oklar: yeni kemik oluşumu, ok başları: myeloid doku, yıldızlar: greft materyali, H-E, Skala: 100µm)



Şekil 4.24 Greft materyali çevresinde osteoklastik ve osteoblastik aktivite (ok başları:osteoklastik aktivite, oklar: osteoblastik aktivite, üçgen: yeni oluşan kemik dokusu, H-E, Skala: 100µm)

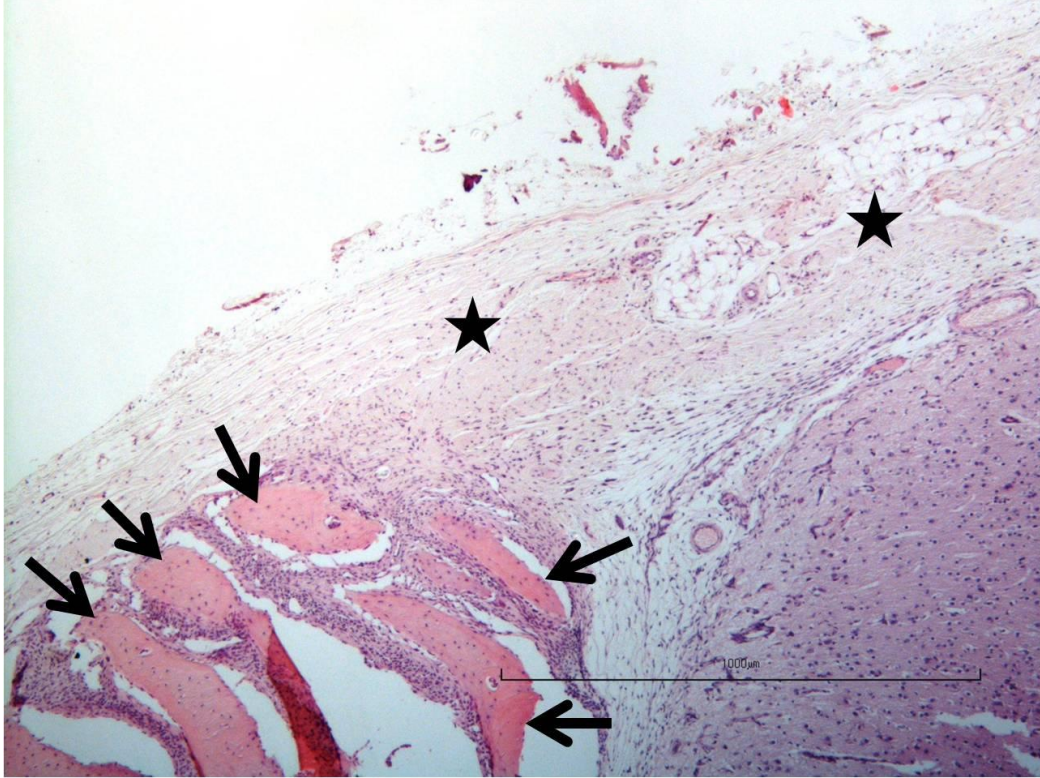
#### 4.1.2 8.Haftaya Ait Histolojik Bulgular

**8.Hafta A Grubu:** Bu gruba ait histolojik görüntü Şekil 4.25’de görülmektedir. İncelenen kesitlerde cerrahi sınır uçlarında yoğun osteokondüktif aktivite ve yeni kemik doku oluşum alanları izlendi (Şekil 4.26). Cerrahi sınıra yakın yerde gelişen kalsifiye kemik doku parçacıkları çevresinde belirgin osteoblastik aktivite tespit edildi (Şekil 4.27). İncelenen kesitlerde cerrahi sınırlara yakın ve uzak alanların fibröz bağ dokusu ile kapatılmış olduğu görüldü (Şekil 4.27-29) Cerrahi sınırlara uzak alanlarda kemik doku oluşumu görülmedi (Şekil 4.30).

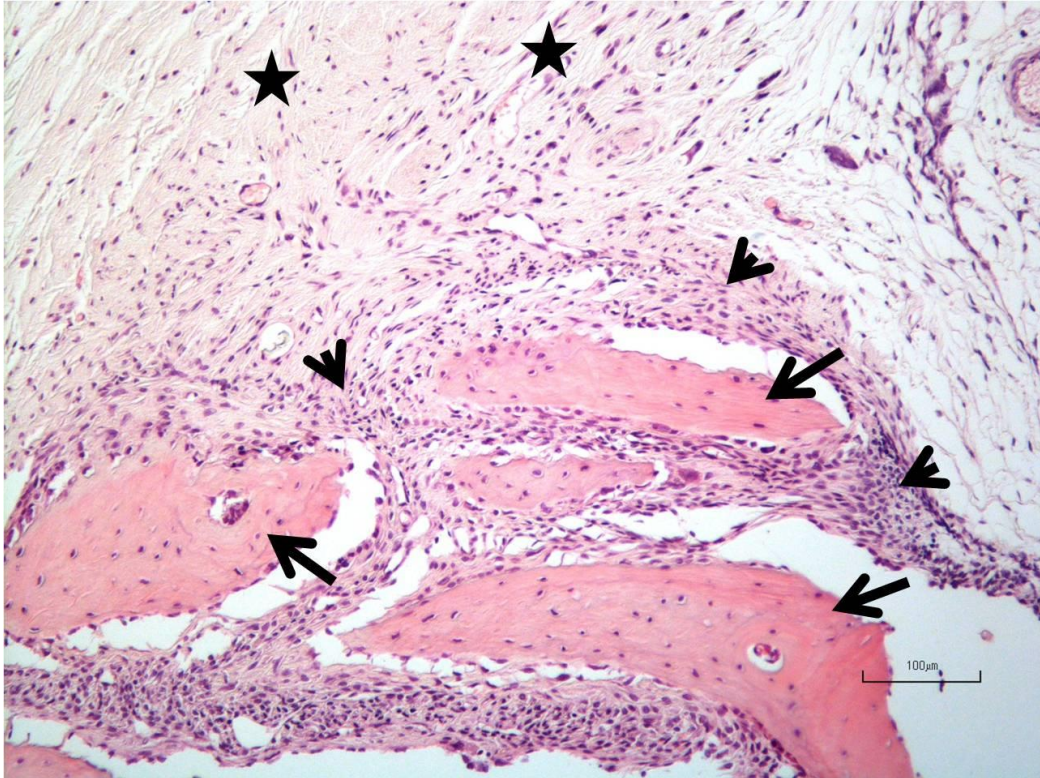


Şekil 4.25 8.hafta A grubuna ait defektin tamamının histolojik görüntüsü (H-E,Skala:1000 $\mu$ m)



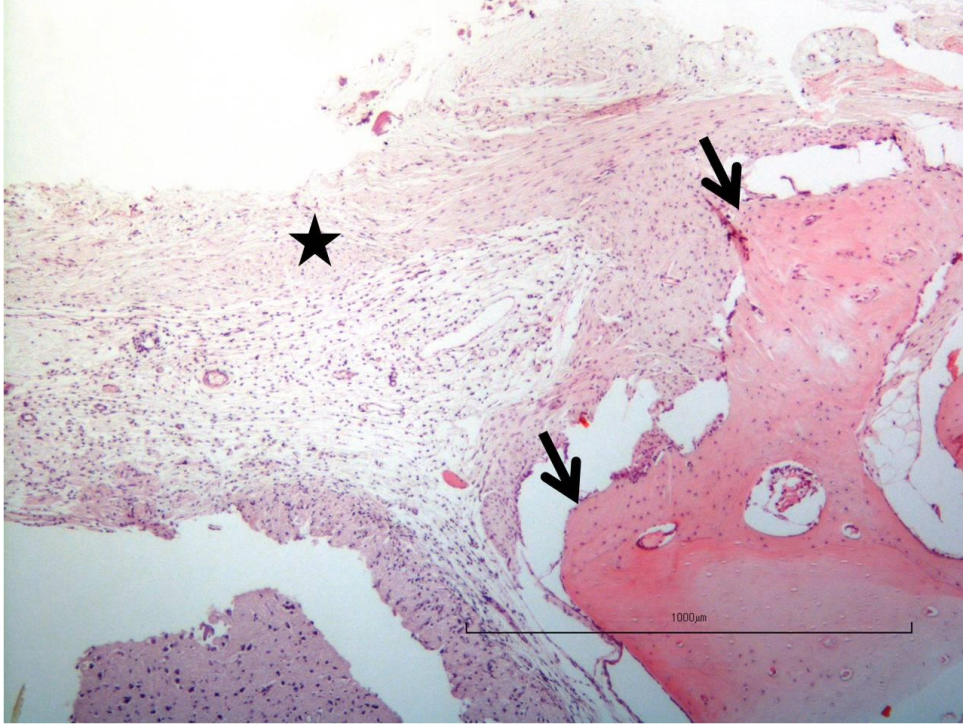


Şekil 4.26 8 hafta A grubuna ait cerrahi sınıra yakın histolojik görüntü (oklar: Cerrahi uçlarda kalsifiye kemik doku parçacıkları ve çevresinde yoğun osteoblastik aktivite (oklar), fibröz bağ dokusu (yıldızlar) (H-E,Skala: 1000µm)

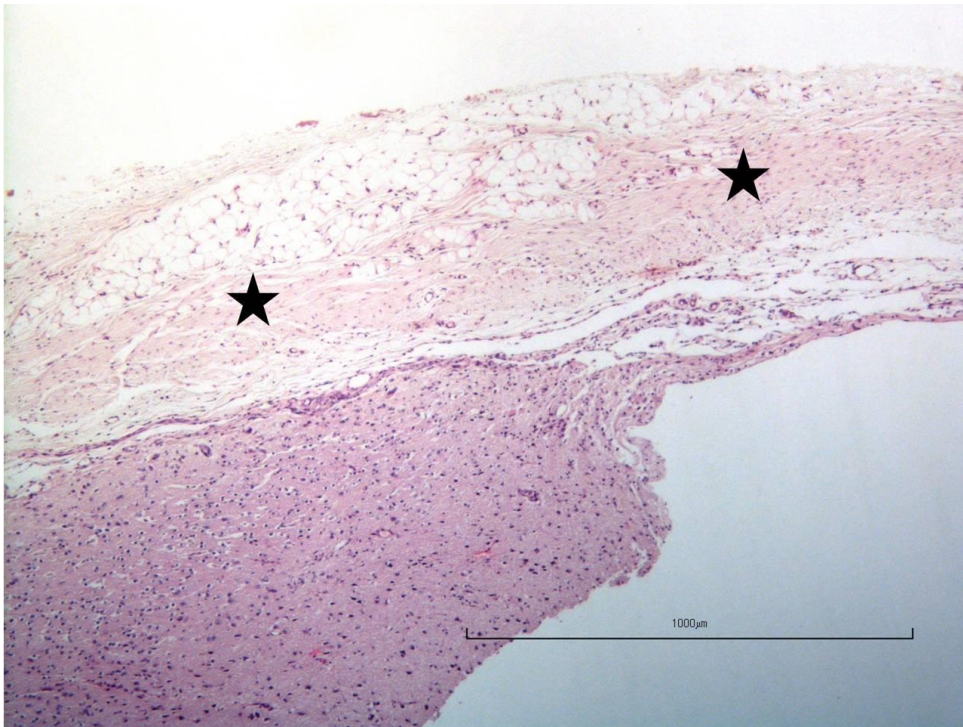


Şekil 4.27 Cerrahi sınıra yakın bölgede osteoblastik aktivite (oklar: yeni oluşan kemik doku, ok başları: yoğun osteoblastik aktivite, yıldızlar: fibröz bağ dokusu, H-E, Skala: 100µm)

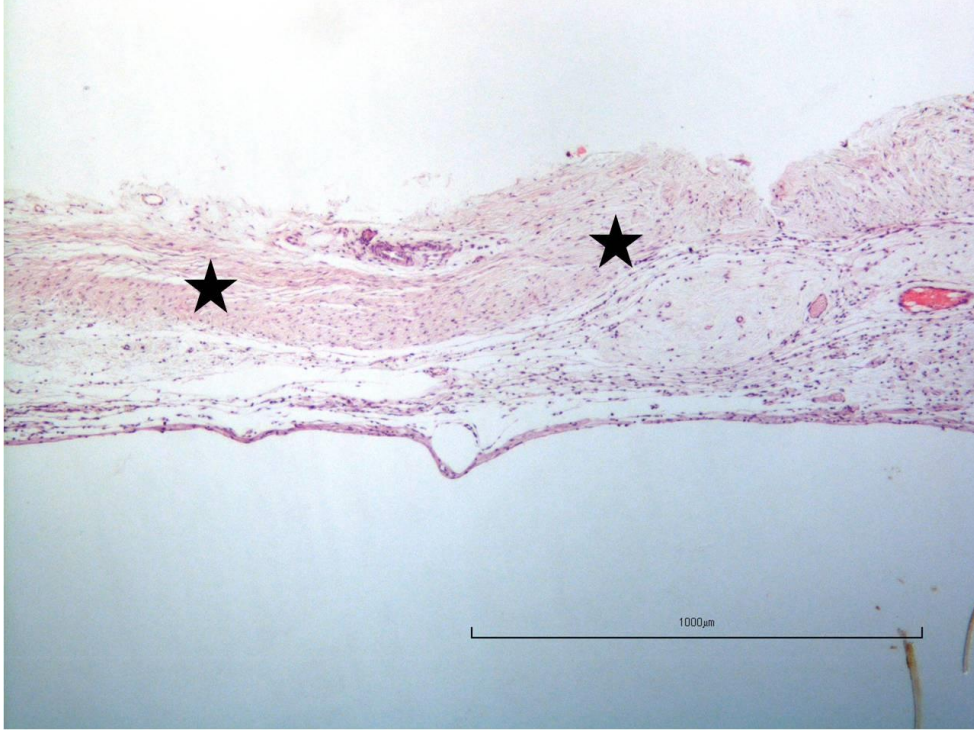




Şekil 4.28 Cerrahi sınırdaki fibröz bağ dokusu görüntüsü (oklar: cerrahi sınırdaki kemik dokusu, yıldız: fibröz bağ dokusu, H-E, Skala: 1000µm)



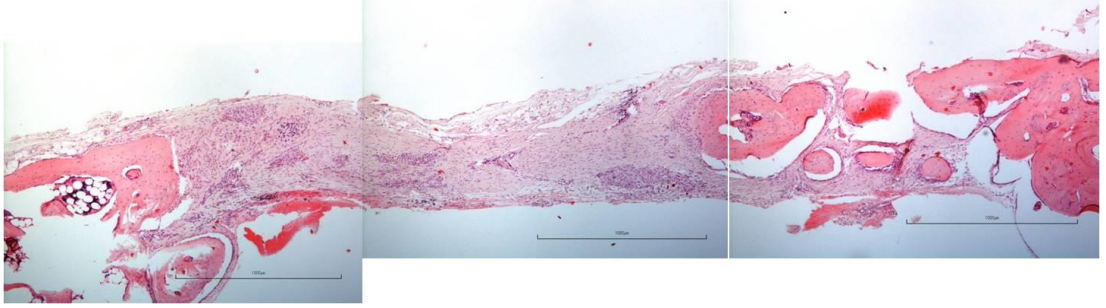
Şekil 4.29 Cerrahi sınıra uzak alanda fibröz bağ dokusu görüntüsü (yıldızlar: fibröz bağ dokusu, H-E, Skala: 1000µm)



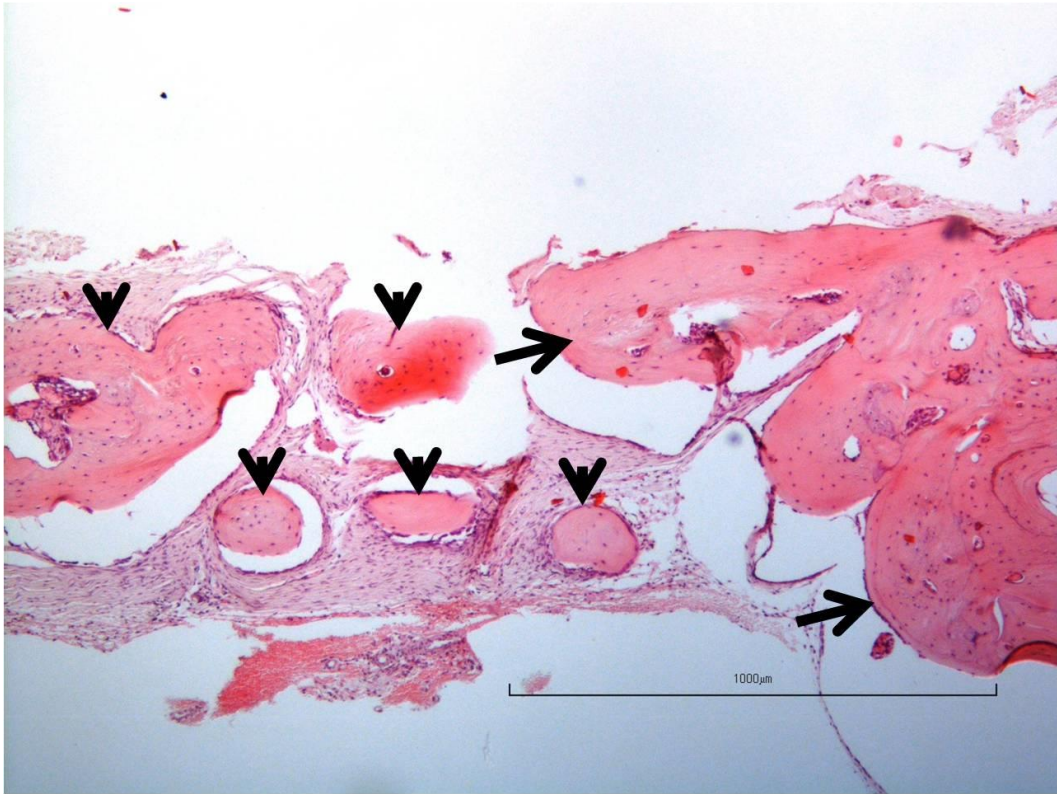
Şekil 4.30 Defektin ortasında görülen yoğun fibröz bağ dokusu (yıldızlar:fibröz bağ dokusu, H-E, Skala: 1000µm)



**8.Hafta B Grubu:** Bu gruba ait histolojik görüntü Şekil 4.31’de görülmektedir. Cerrahi sınırlarda osteokondüktif aktivite ve yer yer cerrahi sınıra yakın bölgede mevcut kemik doku ile bağlantı göstermeyen kalsifiye kemik doku parçacıkları tespit edildi (Şekil 4.32-4.33). Cerrahi sınıra yakın ve uzak bölgede osteoindüktif odaklar görüldü (Şekil 4.34-4.35). Cerrahi sınıra yakın bölgede oluşan yeni kemik dokusu çevresinde osteoblastik aktivite görüldü (Şekil 4.36)



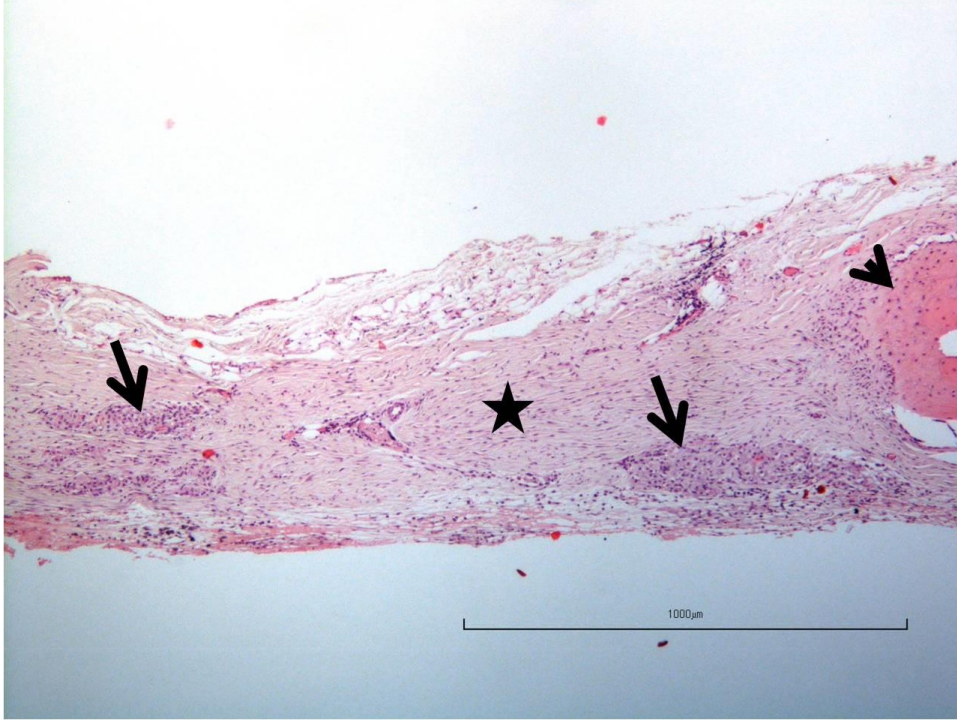
Şekil 4.31 8.hafta B grubuna ait defektin tamamının histolojik görüntüsü (H-E, Skala: 1000 $\mu$ m)



Şekil 4.32 8.hafta B grubuna ait cerrahi sınıra yakın histolojik görüntü (oklar: cerrahi sınırdaki kemik dokusu, ok başları: yeni oluşan kemik dokusu,H-E,Skala: 1000 $\mu$ m)

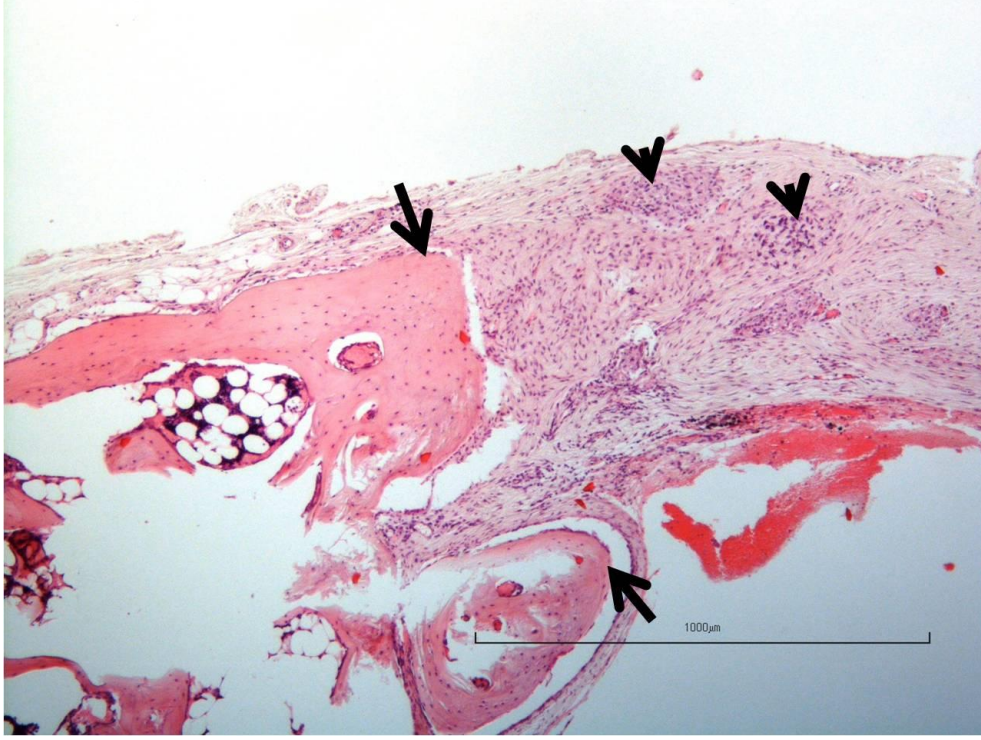


Şekil 4.33 Cerrahi sınıra yakın bölgede oluşan yeni kemik dokuları (oklar: cerrahi sınır , ok başları: yeni kemik dokuları, H-E,Skala: 1000µm)

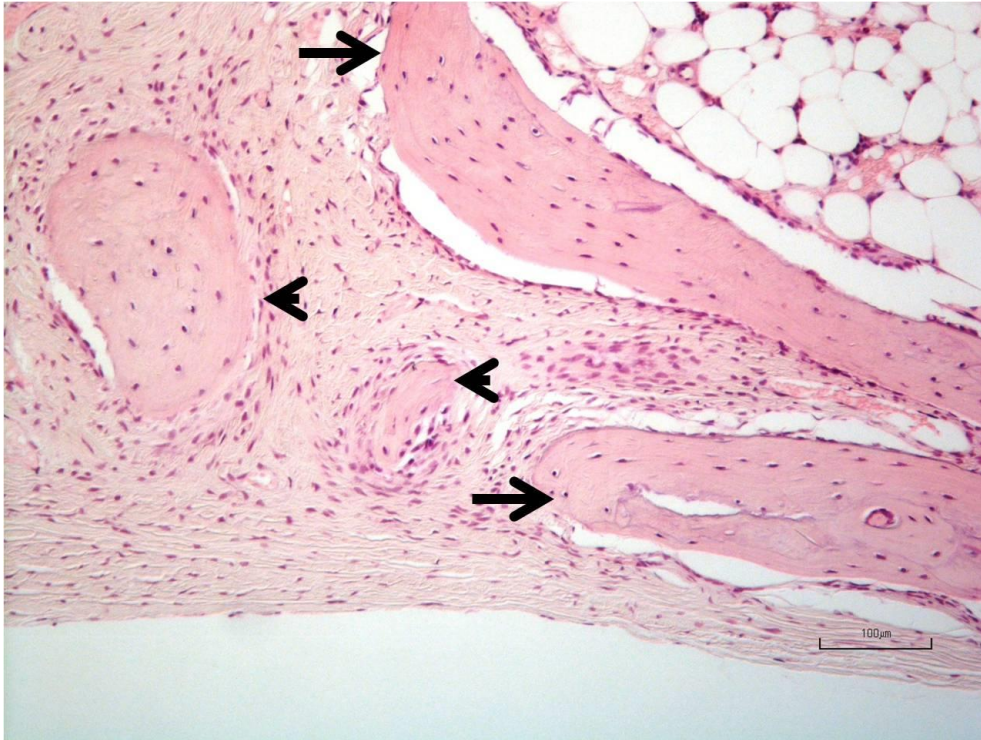


Şekil 4.34 8.hafta B grubunda görülen osteoindüktif odaklar (ok başı:yeni oluşan kemik dokusu çevresinde osteoblastik aktivite, yıldız:fibröz bağ dokusu,oklar: osteoindüktif odaklar,H-E, Skala: 1000µm)



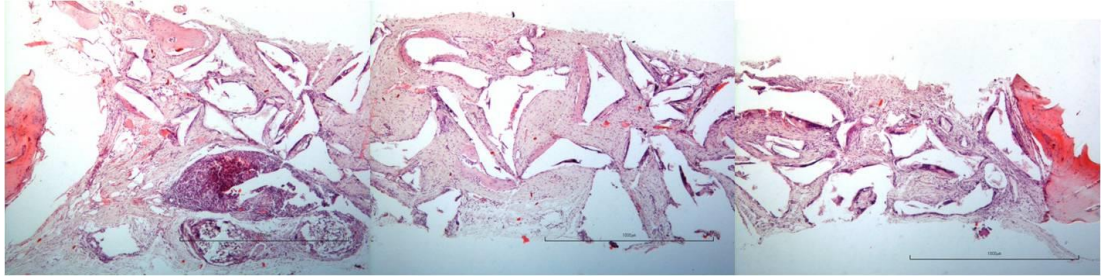


Şekil 4.35 8.hafta B grubunda cerrahi sınıra yakın bölgede osteoindüktif odaklar (oklar: cerrahi sınır, ok başları: osteoindüktif odaklar, H-E, Skala: 1000µm)

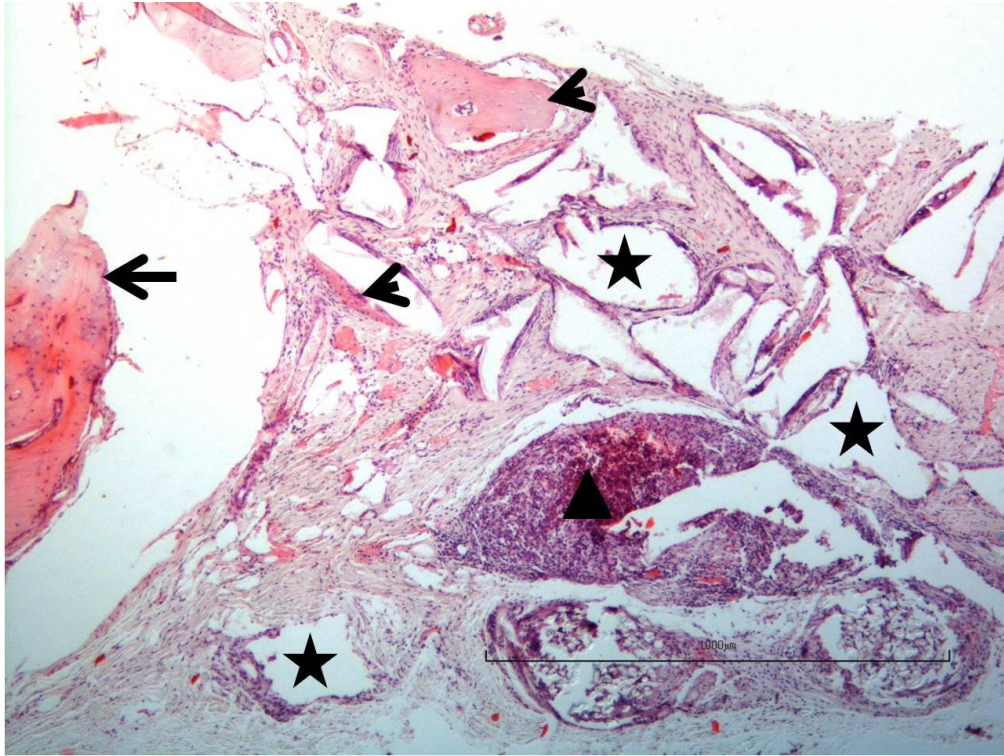


Şekil 4.36 8.hafta B grubunda görülen osteoblastik aktivite (oklar: cerrahi sınırdaki kemik dokusu, ok başları: kalsifiye kemik doku parçacıkları ve çevre alanda osteoblastik aktivite, H-E, Skala: 100µm)

**8.Hafta C Grubu:** Bu gruba ait histolojik görüntü Şekil 4.37’de görülmektedir. İncelenen kesitlerde cerrahi kemik uçları arasındaki bölgenin düzensiz vakuoller şeklinde greft materyali alanları içeren fibröz bağ dokusu ile kapanmış olduğu görüldü. Cerrahi kemik doku sınırlarında osteokondüktif aktivite izlendi. Bir kesitte greft materyali çevresinde inflamatuvar doku alanı saptandı (Şekil 4.38). Cerrahi kemik sınırlarına yakın ve uzak alanlarda yer yer greft materyali alanları çevresinde ince lameller şeklinde yeni kemik doku oluşumları saptandı (Şekil 4.38-4.40). Graft materyali vakulleri periferinde osteoklastlar ve ince hücre hatları şeklinde osteoblastik aktivite izlendi (Şekil 4.41).

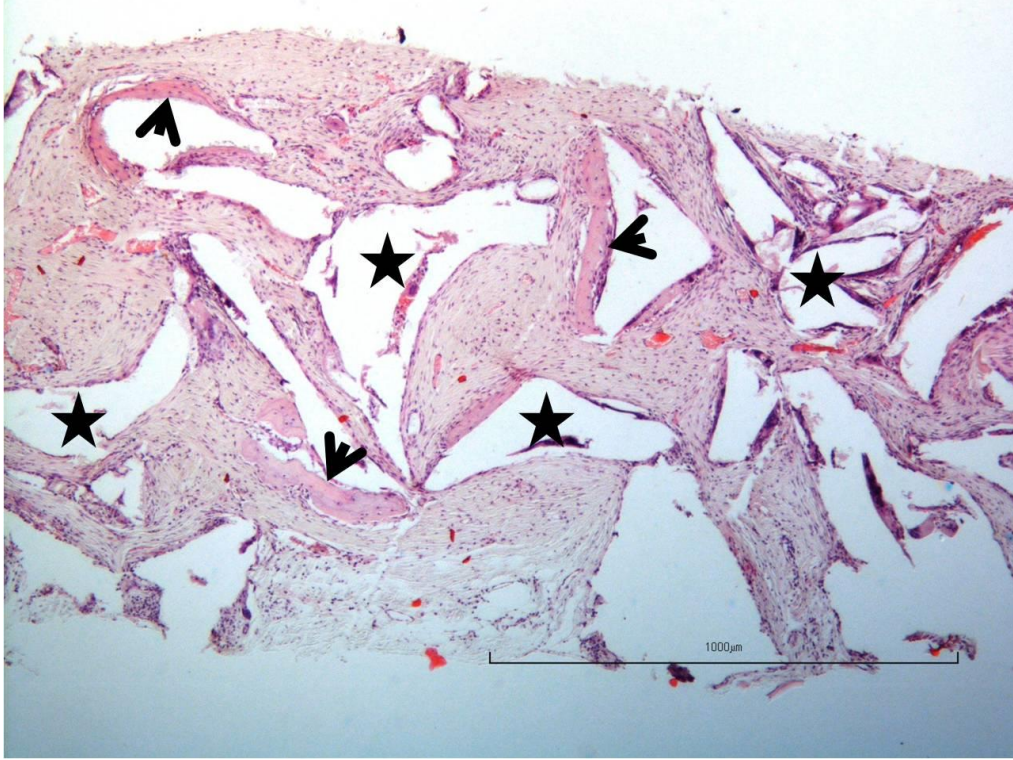


Şekil 4.37 8.hafta C grubuna ait defektin tamamının histolojik görüntüsü(H-E, Skala: 1000µm)

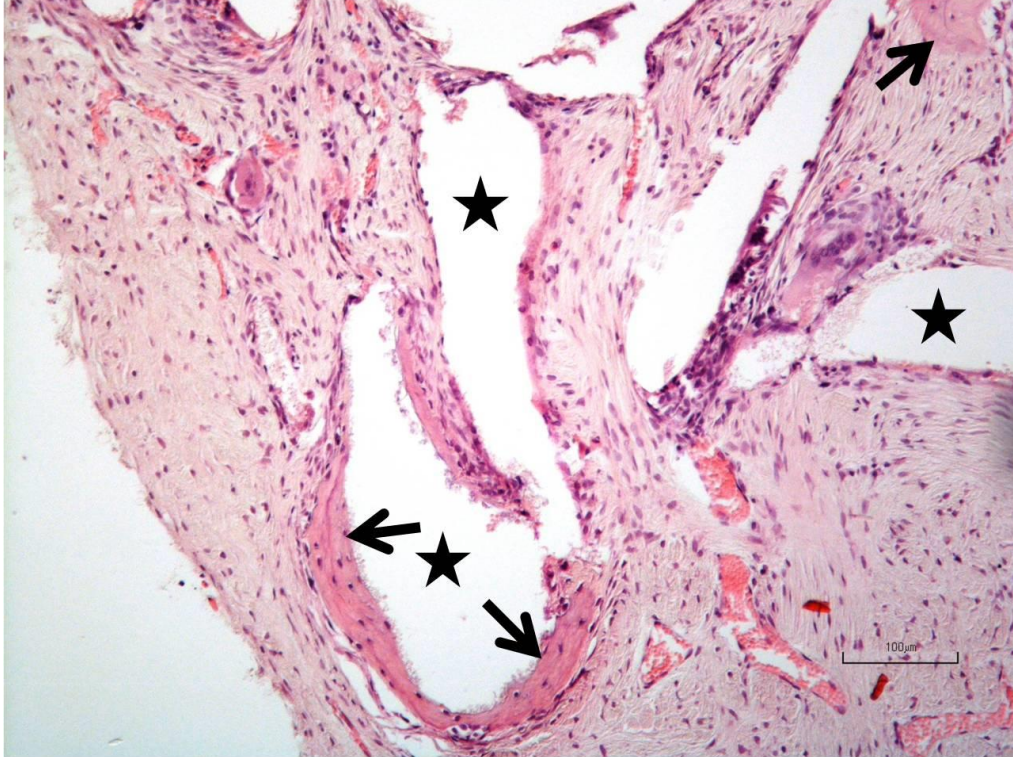


Şekil 4.38 8.hafta C grubuna ait cerrahi sınıra yakın bölgenin histolojik görüntüsü (ok: cerrahi sınır, ok başları: yeni oluşan kemik dokusu, üçgen: inflamatuvar doku alanı, H-E, Skala: 1000µm)

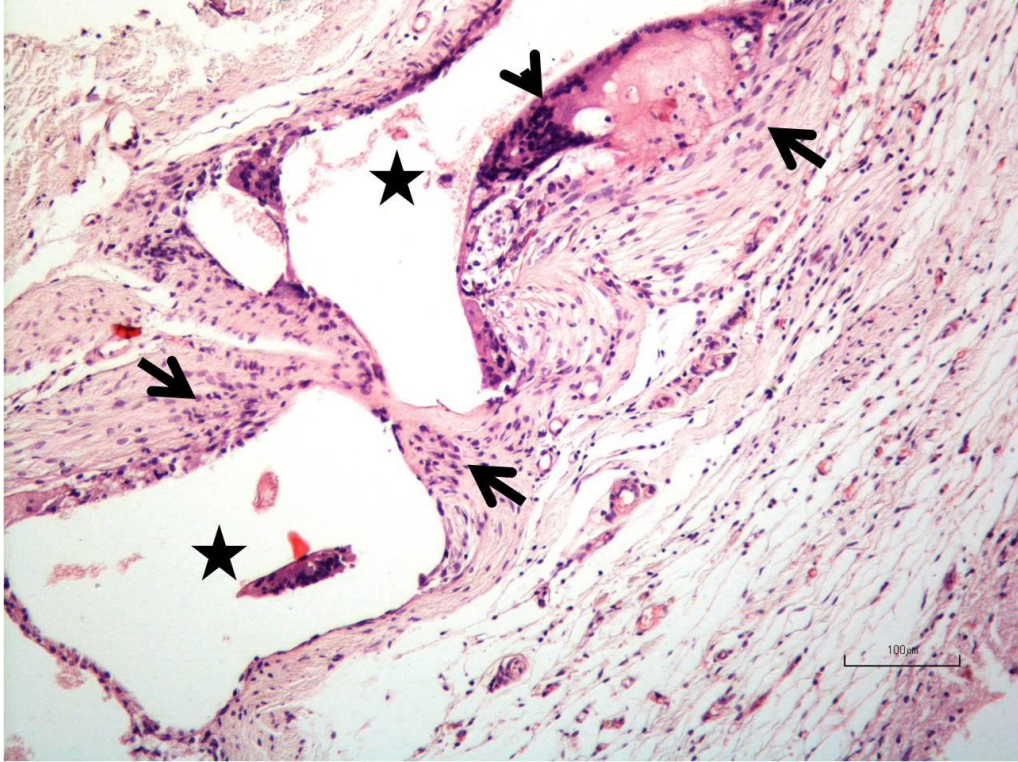




Şekil 4.39 8.hafta C grubuna ait cerrahi sınıra uzak bölgenin histolojik görüntüsü (yıldızlar: greft materyali alanları, ok başları: greft materyali alanları periferinde ince kemik doku lamelleri, H-E, Skala: 1000µm)



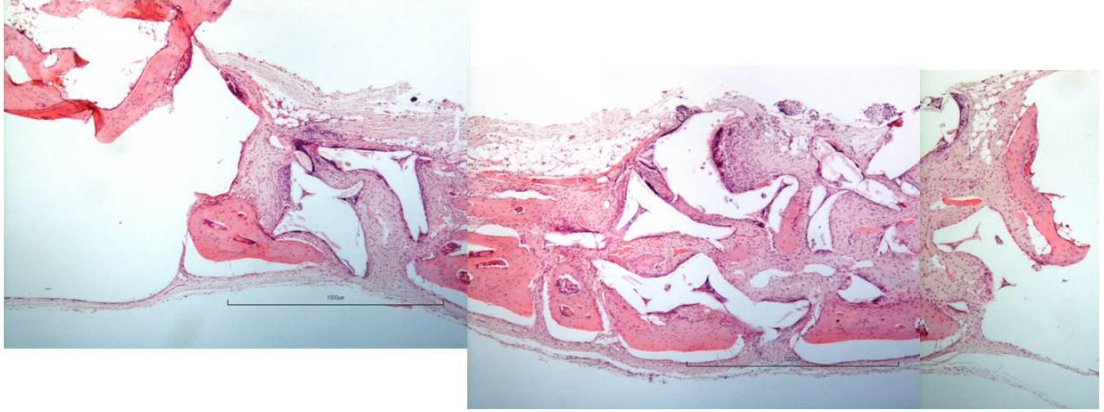
Şekil 4.40 Kemik doku lamelleri (yıldızlar: greft materyali alanları, oklar: greft materyali alanları periferinde ince kemik doku lamelleri, H-E, Skala: 100µm)



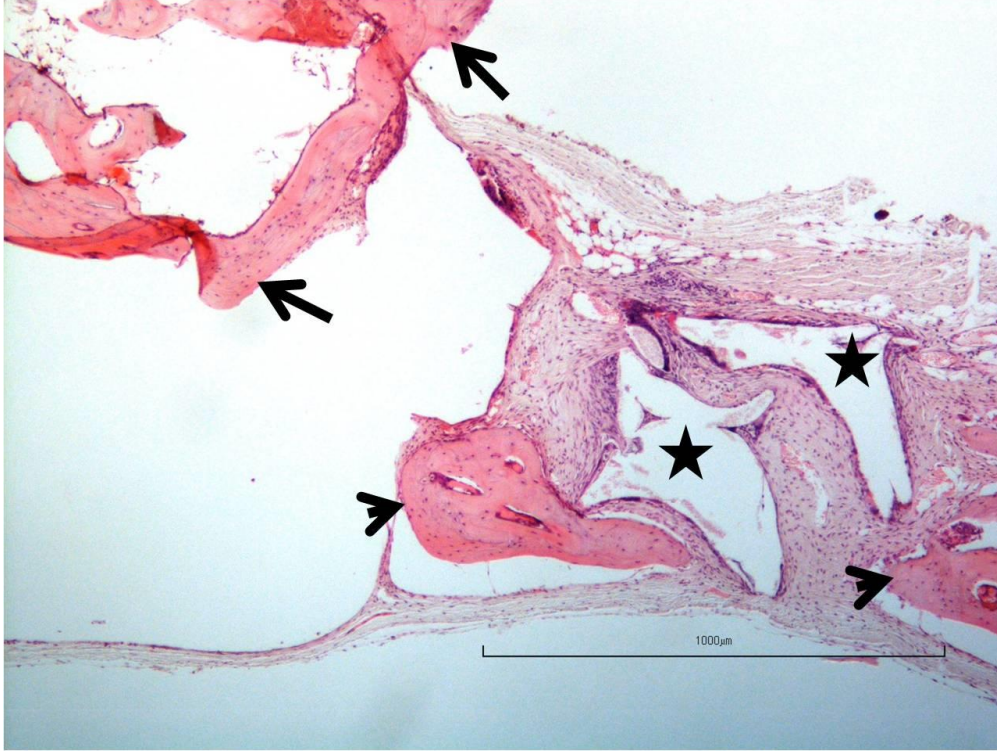
Şekil 4.41 Greft materyali periferinde osteoklastik aktivite (yıldızlar: greft materyali alanları, ok başları: osteoklastlar, oklar: osteoblastik aktivite alanları, H-E, Skala: 100μm)



**8.Hafta D Grubu:** Bu gruba ait histolojik görüntü Şekil 4.42’de görülmektedir. Bu gruba ait kesitler incelendiğinde cerrahi kemik uçları arasında düzensiz vakuoller şeklinde greft materyali alanları içeren fibröz bağ dokusu bağlantısı kurulduğu gözlemlendi. Cerrahi kemik doku sınırlarında osteokondüktif aktivite izlendi. Cerrahi kemik uçlarına yakın ve uzak bölgelerde greft materyali çevresinde ve içerisinde yeni kemik oluşumları saptandı (Şekil 4.43-4.45) Ayrıca greft materyali periferinde çok sayıda osteoklastlar tespit edildi (Şekil 4.46). Graft materyali alanları periferinde ve yeni kemik oluşumları çevresinde yoğun osteoblastik aktivite gözlemlendi (Şekil 4.47)



Şekil 4.42 8.hafta D grubuna ait defektin tamamının histolojik görüntüsü (H-E, Skala: 1000 $\mu$ m)

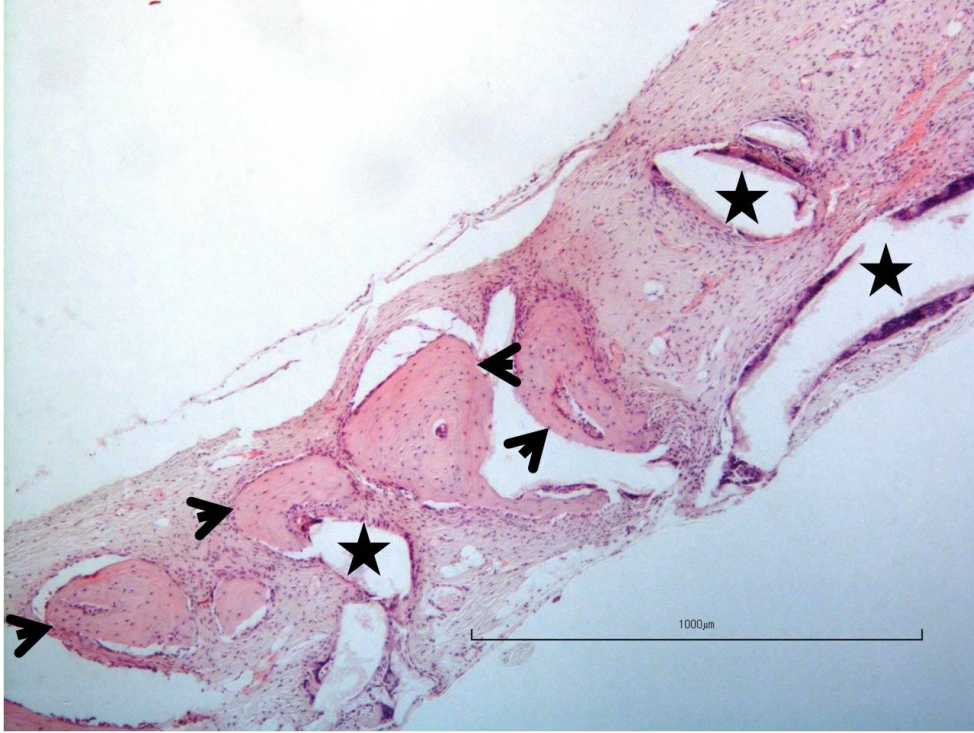


Şekil 4.43 8.hafta D grubuna ait cerrahi sınıra yakın histolojik görüntü (oklar: cerrahi sınır, yıldızlar: greft materyali, ok başları: yeni oluşan kemik dokusu, H-E, Skala: 1000µm)

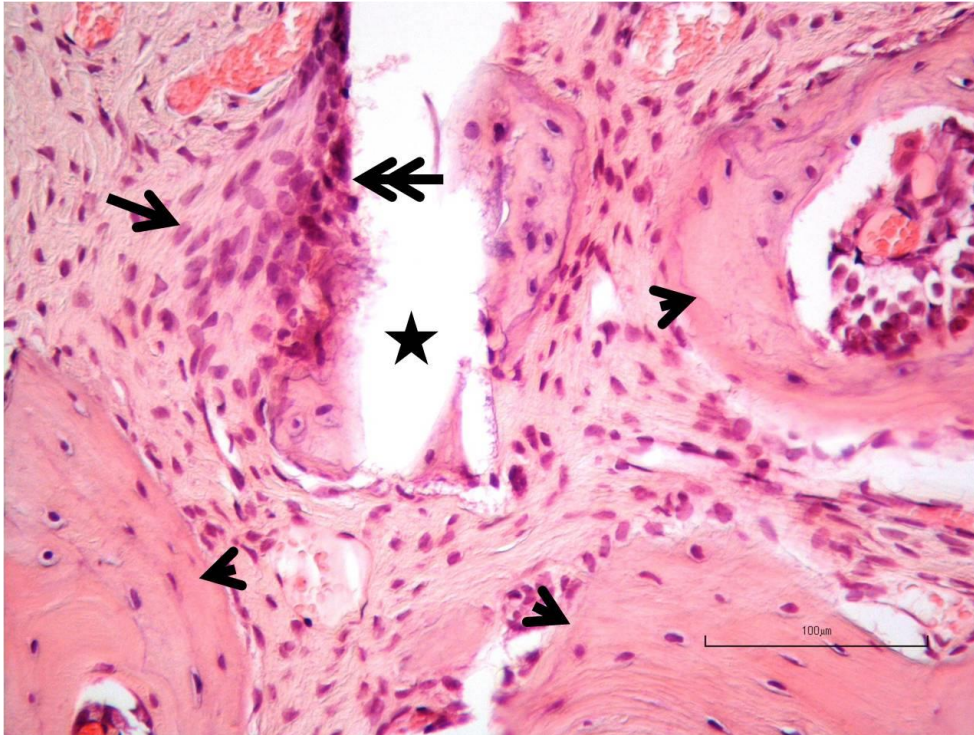


Şekil 4.44 8.hafta D grubuna ait cerrahi sınıra uzak histolojik görüntü (yıldızlar: greft materyali alanları, ok başları: greft alanları çevresinde ve içerisinde oluşan yeni kemik dokusu, H-E, Skala: 1000µm)

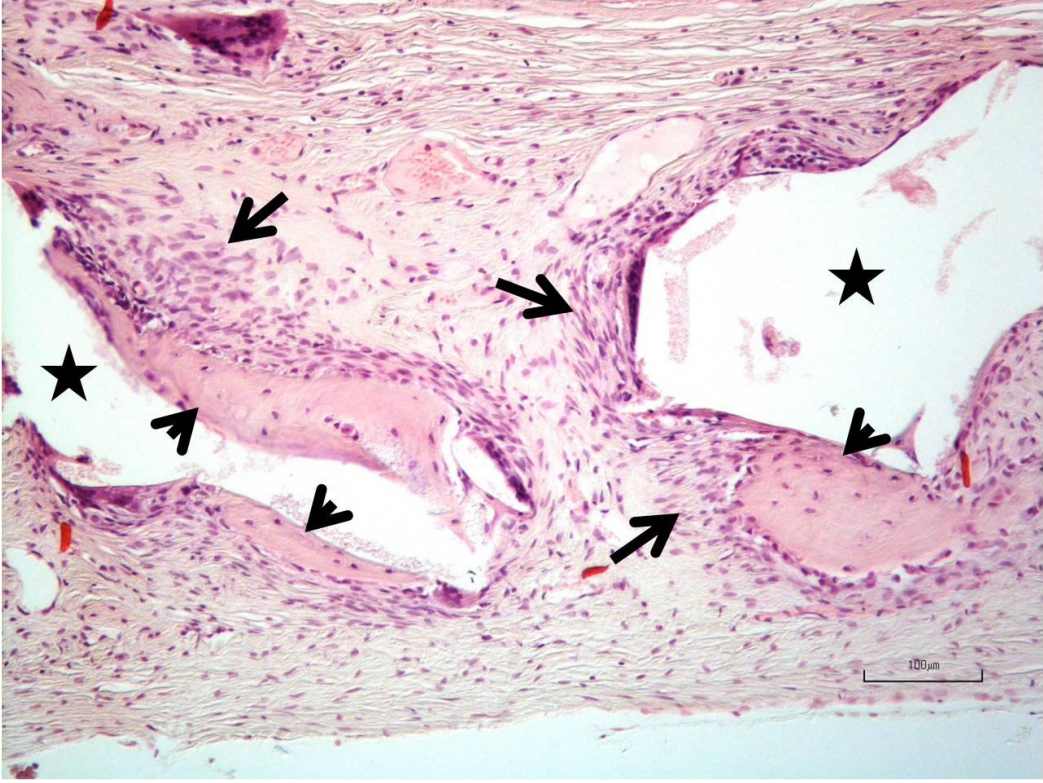




Şekil 4.45 8.hafta D grubuna ait yeni oluşan kemik görüntüsü (yıldızlar: greft materyali alanları, ok başları: greft alanları çevresinde ve içinde oluşan yeni kemik dokusu, H-E, Skala: 1000µm)



Şekil 4.46 Greft materyali periferinde görülen osteoklastlar (yıldız: greft materyali alanı, ok başları: içerisinde myeloid doku alanları olan kalsifiye kemik doku parçaları, çift başlı ok: osteoklastlar ok: osteoblastlar, H-E, Skala: 100µm)



Şekil 4.47 Greft materyali ve yeni oluşan kemik dokusu çevresinde görülen osteoblastik aktivite (yıldızlar: greft materyali alanları,ok başları: greft alanları çevresinde ve içerisinde görülen yeni kemik dokusu, oklar: osteoblastik aktivite, H-E, Skala: 100µm)

### 4.1.3 Histomorfometrik Bulgular

Yeni oluşan kemiğin total doku alanına oranlanarak elde edilen yeni oluşan kemik alanlarının yüzdeleri Tablo 4.1 ve Şekil 4.48’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1:Histomorfometrik değerlendirme sonuçları

Oluşan Yeni Kemik Alanının Yüzdesi	4.Hafta		<sup>2</sup> p
	Ort±SS	Ort±SS	
Grup A	%5,27±2,30	%7,36±2,70	0,079
Grup B	%13,86±5,26	%24,51±7,71	0,002**
Grup C	%14,81±4,72	%24,50±3,87	0,001**
Grup D	%27,40±7,33	%39,10±8,10	0,003**
<sup>1</sup> p	0,001**	0,001**	
A-B	0,004**	0,001**	
A-C	0,001**	0,001**	
A-D	0,001**	0,001**	
B-C	0,977	1,000	
B-D	0,001**	0,001**	
C-D	0,001**	0,001**	
<sup>1</sup> Oneway ANOVA	<sup>2</sup> Student t test	**p<0.01	

Grupların 4.haftadaki histomorfometrik incelemesinde yeni oluşan kemik alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p<0.01$ ). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını saptamak amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda, D grubunda 4. haftada oluşan yeni kemik alanı A grubundan ( $p:0.001$ ), B grubundan ( $p:0.001$ ) ve C grubundan ( $p:0.001$ ) anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p<0.01$ ). B grubu ( $p:0.004$ ) ve C grubunda ( $p:0.001$ ) oluşan yeni kemik alanı A grubundan anlamlı şekilde yüksektir ( $p<0.01$ ). B ve C grupları arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Grupların 8.haftadaki histomorfometrik incelemesinde yeni oluşan kemik alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p<0.01$ ). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını saptamak amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda, D grubunda 8. haftada oluşan yeni kemik alanı A grubundan ( $p:0.001$ ), B grubundan ( $p:0.001$ ) ve C grubundan ( $p:0.001$ ) anlamlı

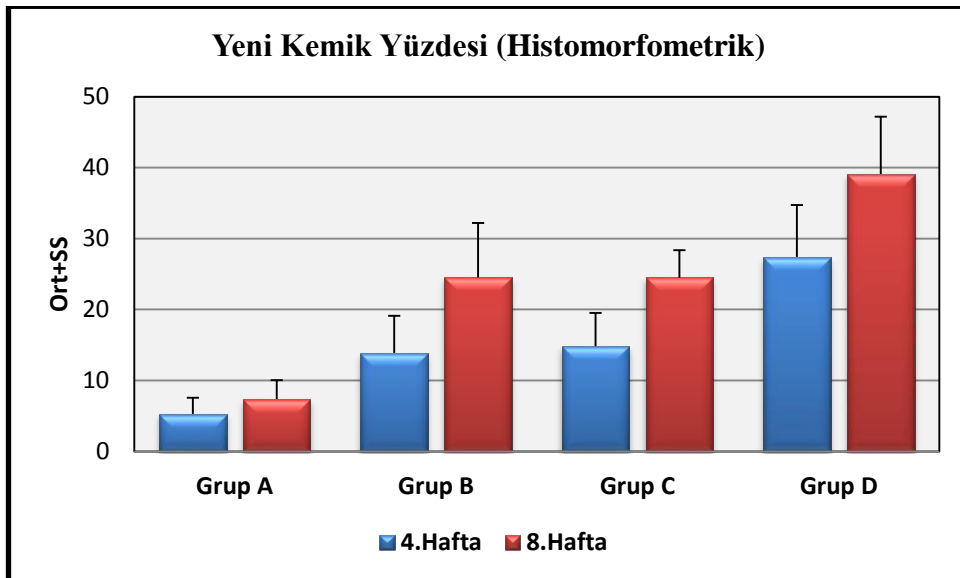
şekilde yüksek saptanmıştır ( $p<0.01$ ). B grubu ( $p:0.001$ ) ve C grubunda ( $p:0.001$ ) oluşan yeni kemik alanı A grubundan anlamlı şekilde yüksektir ( $p<0.01$ ). B ve C grupları arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

**A grubunda;** 8.haftadaki yeni oluşan kemik alanı ile 4.haftadaki yeni oluşan kemik alanı arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

**B grubunda;** 8. haftadaki yeni oluşan kemik alanı 4. haftadaki yeni oluşan kemik alanından istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksektir ( $p<0.01$ ).

**C grubunda;** 8. haftadaki yeni oluşan kemik alanı 4. haftadaki yeni oluşan kemik alanından istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksektir ( $p<0.01$ ).

**D grubunda;** 8.haftadaki yeni oluşan kemik alanı 4.haftadaki yeni oluşan kemik alanından istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksektir ( $p<0.01$ ).



Şekil 4.48: Histomorfometrik inceleme sonuçlarına göre yeni oluşan kemik alanlarının yüzde cinsinden dağılımları (%)



## 4.2 Radyolojik Bulgular

Yeni oluşan kemik hacimlerinin yüzdeleri Tablo 4.2 ve Şekil 4.49'da gösterilmiştir. Gruplara ait Mikro-BT görüntüleri Şekil 4.50'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2 Mikro-BT analizinde hesaplanan yeni kemik hacminin yüzdesi

Oluşan Yeni Kemik Hacminin Yüzdesi	4.Hafta	8.Hafta	<sup>2</sup> p
	Ort±SS	Ort±SS	
<b>Grup A</b>	%13,43±2,56	%17,58±3,11	<b>0,004**</b>
<b>Grup B</b>	%24,69±2,73	%30,62±5,62	<b>0,011*</b>
<b>Grup C</b>	%28,56±5,09	%34,30±3,56	<b>0,009**</b>
<b>Grup D</b>	%36,08±3,87	%47,75±5,72	<b>0,001**</b>
<sup>1</sup> p	<b>0,001**</b>	<b>0,001**</b>	
<b>A-B</b>	<b>0,001**</b>	<b>0,001**</b>	
<b>A-C</b>	<b>0,001**</b>	<b>0,001**</b>	
<b>A-D</b>	<b>0,001**</b>	<b>0,001**</b>	
<b>B-C</b>	<b>0,110</b>	<b>0,306</b>	
<b>B-D</b>	<b>0,001**</b>	<b>0,001**</b>	
<b>C-D</b>	<b>0,001**</b>	<b>0,001**</b>	
<sup>1</sup> Oneway ANOVA	<sup>2</sup> Student t test	**p<0.01	*p<0.05

Grupların 4.haftadaki yeni oluşan kemik hacimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p<0.01$ ). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını saptamak amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda, D grubunda 4.haftadaki yeni oluşan kemik hacmi A grubundan ( $p:0.001$ ), B grubundan ( $p:0.001$ ) ve C grubundan ( $p:0.001$ ) anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır ( $p<0.01$ ). B grubu ( $p:0.004$ ) ve C grubunda ( $p:0.001$ ) yeni oluşan kemik hacmi A grubundan anlamlı şekilde yüksektir ( $p<0.01$ ). B ve C grupları arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Grupların 8.haftadaki yeni oluşan kemik hacimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p<0.01$ ). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını saptamak amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda, D grubunda 8.haftadaki yeni oluşan kemik hacmi A grubundan ( $p:0.001$ ), B grubundan ( $p:0.001$ ) ve C grubundan ( $p:0.001$ ) anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır ( $p<0.01$ ). B grubu ( $p:0.001$ )

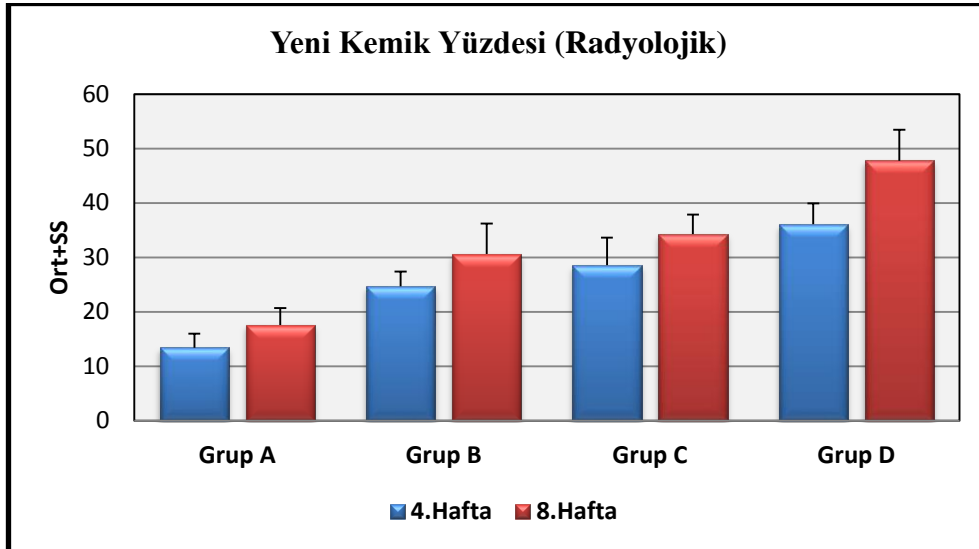
ve C grubunda ( $p:0.001$ ) yeni oluşan kemik hacmi A grubundan anlamlı şekilde yüksektir ( $p<0.01$ ). B ve C grupları arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

**A grubunda;** 8.haftadaki yeni oluşan kemik hacmi 4.haftadaki yeni oluşan kemik hacminden istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksektir ( $p<0.01$ ).

**B grubunda;** 8.haftadaki yeni oluşan kemik hacmi 4.haftadaki yeni oluşan kemik hacminden istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksektir ( $p<0.05$ ).

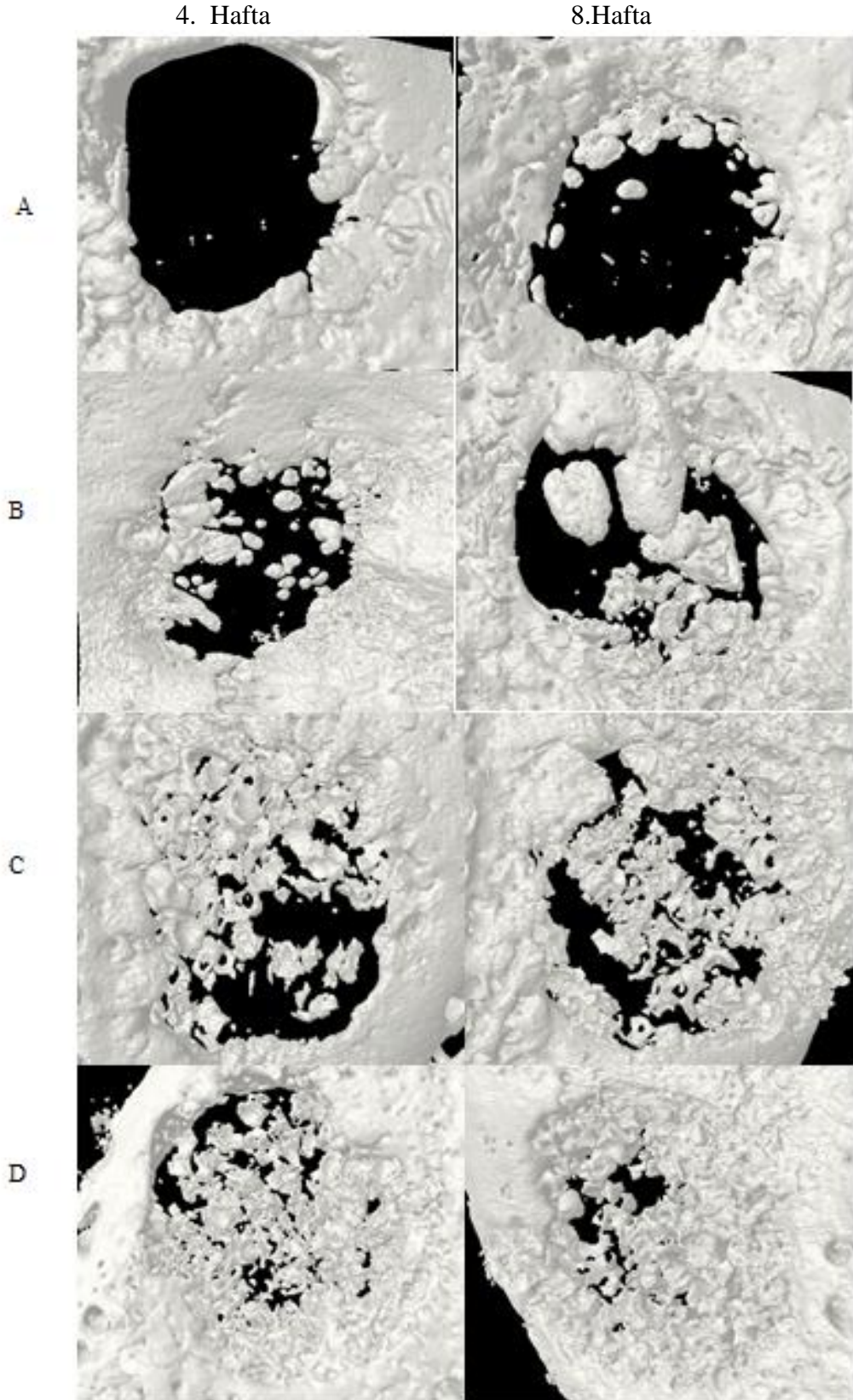
**C grubunda;** 8.haftadaki yeni oluşan kemik hacmi 4.haftadaki yeni oluşan kemik hacminden istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksektir ( $p<0.01$ ).

**D grubunda;** 8.haftadaki yeni oluşan kemik hacmi 4.haftadaki yeni oluşan kemik hacminden istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksektir ( $p<0.01$ ).



Şekil 4.49: Mikro-BT ile hesaplanan yeni kemik hacminin yüzdesi (%)





Şekil 4.50 Gruplara ait Mikro-BT görüntüsü

## 5.TARTIŞMA

Kemik dokusu maksillofasiyal cerrahinin temel uğraş alanlarından. Kemikler çeşitli nedenlere bağlı olarak yaralanabilirler ve yapısal bütünlüklerini kaybedebilirler. Bunun sonucunda kemik dokusunda defektler oluşabilir. Oluşan bu kemik defektlerinin tedavileri eski çağlardan beri yapılmaktadır. Günümüzde bu defektlerin tedavilerinde greft materyalleri yaygın olarak kullanılmaktadır (2). Maksillofasiyal cerrahide kullanılan otoplastlar, alloplastlar, ksenoplastlar ve sentetik greftler farklı özelliklere sahiptirler. Bu greft materyalleri osteogenezis, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon gibi özelliklerin en az birine veya birkaçına sahip olabilirler (50,54).

Otojen kemik greftleri sahip oldukları özellikler nedeniyle altın standart olarak kabul edilmektedirler. Bu greftler taşıdığı canlı hücreler sayesinde osteoindüktif kapasiteye ve osteogenezis özelliğine sahiptirler. Ayrıca osteokondüktif özellikleri de vardır. Tüm bu olumlu özelliklere rağmen canlılığın kendi dokusundan elde edildikleri için ikinci bir operasyona gerek duyulması, verici bölgede enfeksiyon riski, yeterli miktarda greft elde edilmemesi gibi faktörler bu greftlerin kullanımını kısıtlamaktadır (4,55).

Otojen kemik greftlerin kullanımını kısıtlayan sebeplerden dolayı maksillofasiyal cerrahide farklı greft çeşitlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Alloplastlar otojen kemik greftlerine iyi bir alternatif olarak karşımıza çıkmaktadırlar. Özellikle dentoalveolar cerrahide yaygın olarak kullanılan bu greftler sinüs tabanı yükseltme operasyonu ve implant cerrahisinde tercih edilmektedirler (103,104,105). Bu greftlerin osteoindüktif etkileri tartışmalıdır. Elde edilme kaynakları kısıtlıdır. Ayrıca immünolojik reaksiyon oluşturma ve bulaşıcı hastalık taşıma riski olumsuz özellikleri olarak gösterilmektedir. Fakat günümüzde geliştirilen teknikler sayesinde bulaşıcı hastalık taşıma riski en aza indirilmiştir (4,5,6).

Ksenoplastlar otojen kemik greftlerine ve alloplastlara alternatif olarak dentoalveolar cerrahide sıklıkla kullanılmaktadırlar. Osteokondüktif etki gösteren bu greftler yapısal olarak sahip oldukları yüksek dayanıklılık nedeniyle özellikle sinüs tabanı yükseltme operasyonlarında sık tercih edilmektedirler (106).

Ksenogreftler ile ilgili olarak yapılmış birçok insan ve hayvan çalışması mevcuttur (107,108,109,110,111,112,113). Sığır kaynaklı ksenogreftler insan kemiğine morfolojik olarak benzediğinden sık tercih edilmektedirler. Ksenogreftler içinde sığır kaynaklı olan Bio-Oss<sup>®</sup> dentoalveolar cerrahide yaygın olarak kullanılmaktadır (108,109,112). Bio-Oss<sup>®</sup> sinüs tabanı yükseltme operasyonlarında tek başına veya otojen kemik greftleriyle karıştırılarak kullanılabilir. Yıldırım ve ark. (2001) sinüs tabanı yükseltme operasyonu ile ilgili yaptıkları klinik bir çalışmada osteokondüktif etkili Bio-Oss<sup>®</sup> ile otojen kemik greftinin karıştırılarak kullanılmasını önermişlerdir (108).

Ksenogreftlerin kullanımını kısıtlayan bazı faktörler vardır. Ksenogreftler elde edilirken geçirildikleri bazı aşamalardan dolayı, osteoindüktif etkilerini kaybetmektedirler. Ayrıca elde edilmelerinde bazı etik problemler mevcuttur (6). Bu sebeplerden dolayı farklı kemik grefti kaynaklarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Günümüzde kullanılan sentetik kemik greftleri bulaşıcı hastalık riski taşımazlar. Elde edilmelerinde bir kısıtlama olmayıp istenilen miktarda üretilebilirler. Bu yüzden diğer greft çeşitlerine iyi bir alternatiftirler. Sentetik kemik greftlerinin üretiminde seramikler, deniz mercanlarından elde edilen hidroksiapatitler ve biyoaktif camlar gibi kaynaklar kullanılabilirler (4). Hidroksiapatit ve trikalsiyum fosfattan oluşan sentetik greftler ortopedik cerrahi, kranio-maksillofasiyal ve dentoalveolar cerrahide yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Bu greft materyalleri biyouyumlu olup yeni kemik oluşturmada etkin bir iskelet görevi görmektedirler (114,115). Çalışmamızda kullandığımız SBC greft materyali tamamen sentetik malzemelerden üretilmiştir. Bu greft materyali %60 HA ve %40  $\beta$ -TCP'nin 1100–1500°C'de sinterlenmesiyle oluşmuş bifazik kalsiyum fosfattan oluşmaktadır. Greft partikülleri 100-500 mikron çapında olup %90 poroz yapıdadır. Tamamen sentetik olduğu için enfeksiyon riski taşımaz ve biyouyumludur. Osteokondüktif etkiye sahip olup, uygulandığı yerde rezorbe olarak yeni kemik oluşumunu destekler (4,60,115,116).

SBC maksiller sinüs tabanı yükseltme operasyonlarında Bio-Oss<sup>®</sup> gibi iyi bir alternatiftir. Yapılan klinik çalışmalarda SBC, sinüs tabanı yükseltme operasyonlarında 6-8 aylık takipte başarılı sonuçlar vermektedir (114,117). Kısa dönem takipli çalışmalarda SBC'nin sinüs tabanı yükseltme operasyonlarında

başarılı olduğu ve implant sağ kalımını artırdığı rapor edilmiştir (114,117,118). Covani ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada, SBC greft materyalinin sinüs tabanı yükseltme operasyonları için iyi bir alternatif olduğunu belirtmişlerdir (119).

Cordaro ve ark. (2008) yaptıkları klinik çalışmada sinüs tabanı yükseltme operasyonunda SBC ve Bio-Oss® greft materyallerini kıyaslamışlardır. Çalışmada bir grupta SBC, diğer grupta ise Bio-Oss® kullanılmıştır. Histolojik inceleme sonucunda her iki grup arasında mineralize kemik oluşumunda istatistiksel olarak fark olmadığı ve her iki greft materyalininde sinüs tabanı yükseltme operasyonu için uygun materyaller olduğu rapor edilmiştir (114).

De Lange ve ark. (2013) sinüs tabanı yükseltme operasyonu ile ilgili yaptıkları klinik çalışmada, SBC ve Bio-Oss® greft materyallerinin iyi osteokondüktif etki gösterdiklerini rapor etmişlerdir. Çalışmada histolojik ve radyografik incelemelerde her iki greft grubunda kemik mineralizasyonu, kemik hacmi ve osteoklast sayısının birbirlerine yakın olduğu belirtilmiştir. Fakat SBC grubunda kireçlenmemiş kemik (osteoid) miktarının ve aktif kemik formasyonunun daha yüksek olduğu görülmüştür (120).

Yapılan çalışmalarda SBC'nin atrofiye alveolar kretilerde kemik hacminin artırılmasında Bio-Oss® greft materyaline yakın sonuçlar verdiği rapor edilmiştir. Çalışmalarda SBC'nin bu tür operasyonlar için uygun bir greft materyali olduğu vurgulanmıştır (57,121).

Literatürde SBC ile ilgili olumsuz sonuç rapor eden klinik çalışma da mevcuttur. Coster ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada 10 hastada çekim endikasyonu konulan toplam 29 diş çekmişlerdir. 14 soketi kontrol grubu olması amacıyla çekim sonrası boş bırakmışlardır. Çalışma grubunda ise 15 diş çekim soketine SBC konulmuştur. İyileşme süresi için ortalama 22 hafta beklenen çalışmada hastaların çekim yerlerinden örnek alınarak histolojik inceleme yapılmıştır. İnceleme sonucunda SBC konulan soketlerde kontrol grubuna göre daha kalitesiz kemik oluştuğu ve ayrıca implant cerrahisi sırasında bu gruptaki kemiğin kontrol grubuna göre daha yumuşak olduğu rapor edilmiştir. Çalışmada SBC'nin soketteki iyileşmeyi olumsuz etkilediğinden bahsedilmiştir (122).

SBC ile ilgili yapılan hayvan çalışmaları da mevcuttur. Yapılan hayvan çalışmalarında SBC greft materyalinin sahip olduğu osteokondüktif etki ile yeni

kemik oluşumunu sağladığı ve canlı doku ile uyumlu olduğu belirtilmiştir (123,124). Bununla birlikte Rokn ve ark. (2011) tavşan kalvaryumlarında yaptıkları çalışmada SBC greft materyalinin kontrol grubuna göre daha fazla kemik oluşturmadığını rapor etmişlerdir. Yine aynı çalışmada SBC grubunda 4. ve 8. haftalar arasında yeni kemik artışında istatistiksel fark olmadığı belirtilmiştir (125).

Bizim çalışmamızda SBC greft materyalinin biyouyumlu olduğu ve yeni kemik oluşumunu desteklediği görülmüştür. Ayrıca sentetik olması nedeniyle ihtiyaç duyulduğu kadar üretilme imkanının bulunması ve bulaşıcı hastalık riski taşımaması önemli avantajlarından. Sonuç olarak çalışmamızda elde edilen bulgular eşliğinde osteokondüktif etki gösteren SBC'nin dentoalveolar cerrahide diğer kemik greftlerine iyi bir alternatif olabileceği düşünülmüştür.

Maksillofasiyal cerrahide yapılan çalışmalarda çeşitli hayvan türleri kullanılmaktadır. Literatür incelendiğinde köpek, domuz, koyun, tavşan ve rat türlerinin kullanıldığı görülmektedir (8,123,125,126,127). Rat ve tavşan türlerinin üretimi ve bakımı diğer türlere göre daha kolay olup ayrıca daha düşük maliyetlidir. Bu sebepten dolayı çalışmalarda rat ve tavşan türleri sıklıkla tercih edilmektedir. Çalışmamızda ratlardan TZF için yeterli miktarda kan elde edilemeyeceğinden deney modeli olarak tavşan türü tercih edilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda da bu sebeplerden dolayı deney hayvanı olarak tavşan türü uygun görülmüştür (13,71).

Tavşan çalışmalarında kalvaryal defektler sık tercih edilmektedir. Kalvaryal kemiğe ulaşılması ve defekt oluşturulması kolaydır. Fakat kalvaryal defekt boyutlarıyla ilgili literatürde tartışma mevcuttur. Çalışmalarda genellikle kritik boyuttaki defektlerin kullanılması önerilmektedir. Kritik boyuttaki defektler hayat boyu spontan olarak (herhangi bir iyileşme protokolü uygulanmadan) iyileşemeyecek kadar büyük olan defektlere denilmektedir. Çalışmamızda tavşanların kalvaryumlarına trefin frez ile 6mm çapında defektler oluşturulmasına rağmen literatürde tavşan kalvaryumlarında 15 mm çapındaki defektler kritik boyut olarak önerilmektedir (128).

Tavşan kalvaryum defekt modeli kullanılarak yapılan çalışmalarda farklı boyutta defektler oluşturulmuştur. Literatürde tavşanlarda 15 mm çapında kalvaryal defekt önerilmesine rağmen 10mm, 9mm, 8mm, 6,5mm ve 5mm çapında kalvaryal defektler ile yapılan çalışmalar mevcuttur (18,101,125,129,130,131). Yapılan



çalışmalarda tavşan kalvaryumlarına açılan 5mm çapındaki defektlerin 8 haftalık sürede kendiliğinden iyileşemediği rapor edilmiştir (131,132). Meikle ve ark. (1994) tavşan kalvaryumlarında oluşturulan 5mm çapındaki defektlerin kemik iyileşmesini incelemek için yeterli olduğunu belirtmişlerdir (133). Sonuç olarak literatür incelendiğinde 5mm ve daha büyük çaptaki tavşan kalvaryal defektlerinin 8 haftalık çalışmalar için uygun olduğu görülmektedir. Bu sebepten dolayı 6mm çapındaki kalvaryal defektlerin çalışmamız için uygun olduğu düşünüldü. Ayrıca çalışmamızda tavşan kalvaryumuna 4 adet defekt açıldığı için daha büyük çaptaki defektler için yeterli alanın mevcut olmadığı görüldü.

Çalışmamızda histomorfometrik incelemede kontrol gruplarında 4. ve 8. haftalardaki yeni kemik oluşumunda artış görülmektedir. Fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Mikro-BT incelemelerinde ise 8. hafta sonunda 4 haftaya göre yeni kemik oluşumundaki artış istatistiksel olarak anlamlıdır. Her iki inceleme yönteminde de 8. hafta sonunda kontrol grubu defektlerinin tamamen iyileşmediği görülmüştür. Bu sonuçlar doğrultusunda tavşan kalvaryumlarında oluşturulan 6mm çapındaki defektlerin 8 haftalık çalışmalarda yeni oluşan kemiğin incelenmesi için uygun bir boyut olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda tavşan kalvaryumlarında defekt hazırlamak için trefin frez kullanılmıştır. Kemik dokusunun ısınmaması için serum ile soğutma yapılmıştır. Ayrıca dura matere zarar verilmemesi için hassas çalışılmıştır. Yapılan çalışmalarda da tavşan kalvaryumlarında oluşturulan defektler dura matere zarar vermemeye dikkat edilerek trefin frez yardımıyla hazırlanmıştır (131,132).

Kemik defektlerinin tedavisinde trombosit konsantrasyonlarının kullanımı yaygındır. Trombositler hemostazda önemli görevlere sahiptirler. Vasküler yaralanmanın olduğu yerde toplanırlar ve trombosit tıkaçı oluşturarak kan kaybını önlerler. Trombositler aynı zamanda doku iyileşmesinde önemli görevleri olan PDGF, TGF- $\beta$ , IGF ve VEGF gibi sitokinleri yapısında bulundurur. Bu sayede doku iyileşmesinde de görev alırlar (134).

İlk nesil trombosit konsantrasyonu olan TZP'nin insan osteoblastlarında hücre proliferasyonunu ve osteojenik markırları artırdığı in vitro olarak gösterilmiştir (135,136,137). Fakat in vivo çalışmalarda TZP'nin yeni kemik oluşturmadaki etkisi tartışmalıdır. TZP bazı çalışmalarda yeni kemik oluşumunda

etkili bulunurken, diğler çalışmalarda ise TZP'nin yeni kemik oluşumuna bir katkı sağlamadığı grlmştir (64,65,102,138,139,140).

İkinci nesil trombosit konsantrasyonu olan TZF Choukroun tarafından 2000 yılında özellikle maksillofasiyal cerrahide kullanılmak için geliştirilmiştir (17). TZF'nin elde edilmesi TZP'ye göre daha basit bir prosedürden oluşmaktadır. Ayrıca TZF elde etmek için pahalı kilitlere gerek duyulmadığından TZP'ye göre maliyeti çok düşüktür. Bu sebepten dolayı TZF'nin popülaritesi giderek artmıştır. Birçok araştırmacı ve klinisyen tarafından bu konuda yapılmış çalışmalar mevcuttur (13,14).

TZF elde edilirken TZP'den farklı olarak kanın santrifuji ile üç boyutlu fibrin matriks oluşmaktadır. Bu sayede TZF uygulandığı bölgede hemen çözünmez ve yapısını korur. Ayrıca oluşan bu fibrin matriks TZF'nin içeriğindeki büyüme faktörlerinin ortama yavaşça salınmasını sağlar. Yapılan bir çalışmada TZF'in yoğun fibrin yapısı sayesinde üç ana büyüme faktörü olan TGFβ-1, PDGF ve VEGF'yi yapısında 7 güne kadar bulundurduğu ve ortama yavaşça salgıladığı tespit edilmiştir (141). Fibrin yapısı TZF'ye biyoiskelet özelliği kazandırmaktadır. Ayrıca hücre gücünü sağlamaktadır (142,143).

TZF in-vitro ortamda insan osteoblast proliferasyonunu doza bağlı olarak belirgin şekilde artırmaktadır. Alkalın fosfataz ekspresyonunu ise zamana bağlı olarak artırmaktadır (144). Araştırmacılar bunu TZF içindeki büyüme faktörlerine ve fibrin matriks yapısına bağlamaktadırlar (144,145).

TZF ve TZP'nin karşılaştırıldığı çeşitli çalışmalar mevcuttur (146,147). Yapılan çalışmalarda TZF'nin supernatant ve eksudasında TGFβ-1 ve PDGF miktarlarının TZP'ye göre daha az olduğu belirtilmektedir. Bu da TZF içindeki sitokinlerin fibrin ağı içinde hapsolduğunu göstermektedir. Fibrin ağı içine hapsolan bu sitokinler matriksin yeniden şekillenmesi sırasında ortama salınmaktadır (19,145).

Kemik defektlerinin tedavisinde TZF'yi tek başına veya greft materyalleri ile birlikte kullanmak iyi bir fikir gibi görünmektedir. Araştırmacılar tarafından yeni kemik oluşumunu arttırmak amacıyla TZF tek başına ve çeşitli greft materyalleri ile birlikte kullanılmıştır. Fakat TZF'nin deproteinize kemik greftleriyle birlikte kullanılmasının faydası tartışmalıdır (13,145,148,149).

Pripatnanont ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada tavşan kalvaryal defektlerinde TZF'nin tek başına ve otojen greft ile birlikte kullanıldığında yeni kemik oluşumunu artırdığını belirtmişlerdir. Ancak aynı çalışmada TZF'nin sığır kaynaklı deproteinize kemik grefti ile birlikte uygulandığında aynı etkiyi göstermediği belirtilmiştir (13).

Zhang ve ark. (2012) yaptıkları klinik bir çalışmada sinüs tabanı yükseltme operasyonu yaptıkları hastalara kontrol grubunda Bio-Oss, çalışma grubunda ise Bio-Oss ile TZF'yi karıştırarak uygulamışlardır. Bu çalışmada da TZF'nin deproteinize sığır kaynaklı kemik grefti ile karıştırılarak uygulandığında yeni kemik oluşumunu artırmadığı belirtilmiştir (145).

Xuan ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada ise köpeklere sinüs tabanı yükseltme operasyonu yapmışlardır. Çalışmada Bio-Oss<sup>®</sup> greft materyalini TZF ve ticari fibrin (Tisseel<sup>®</sup>) ile birlikte uygulamışlardır. Aynı seansa implant uygulamasıda gerçekleştirilmiştir. 6 aylık iyileşme sürecinden sonra histomorfometrik incelemelere göre yeni oluşan kemiğin ve osteointegrasyonun Bio-Oss<sup>®</sup> ve TZF'nin birlikte uygulandığı grupta daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (148).

Literatürde TZF'nin TCP ile birlikte kullanımı azdır. Kim ve ark. (2012) tavşan maksiller sinüslerinde yaptıkları çalışmada kontrol grubunda TCP, çalışma grubunda rekombinant human bone morfojenik protein-2 ile kaplanmış TCP, diğer çalışma grubunda ise TCP ve TZF'yi karıştırarak kullanmışlardır. Histomorfometrik incelemede 2. hafta, 4.hafta, 6.hafta ve 8. hafta sonunda çalışma gruplarında kontrol grubuna göre daha fazla kemik oluşumu tespit edilmiştir. Ayrıca TCP ve TZF'nin karıştırılarak kullanıldığı grupta, kontrol ve diğer çalışma grubuna göre daha yüksek oranda kemikleşme olduğu görülmüştür (150).

Bizim çalışmamızda histomorfometrik ve mikro-BT incelemelerine göre SBC ile TZF karıştırılarak kullanıldığı grupta sadece SBC kullanılan gruba kıyasla 4. ve 8. hafta sonunda daha fazla yeni kemik oluşumu olduğu görülmüştür. Bu sonuç TZF içindeki PDGF, TGF $\beta$ -1 ve VEGF gibi büyüme faktörlerinin salgılanmasıyla açıklanabilir. Ayrıca TZF eksudasında ve süpernatantında büyüme faktörleri bulunmaktadır. Bu yüzden membran olarak kullanıldıktan sonra TZF' den geriye

kalan sıvı bile greft materyalleri için büyüme faktörü kaynağı olarak kullanılabilir (151).

TZF ile ilgili yapılan çalışmalarda peri-implant defektleri tek başına tedavi ettiği rapor edilmiştir (71,152). Lee ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada tavşan tibialarında peri-implant defekt oluşturmuşlardır. Çalışmada kontrol grubu tedavi edilmeden bırakılmıştır. Deney grubu ise sadece TZF uygulanarak tedavi edilmiştir. 8 hafta sonra yapılan histomorfometrik değerlendirmede TZF ile tedavi edilen peri-implant defektlerde kontrol grubuna göre daha fazla kemik oluştuğunu tespit edilmiştir (71). Jang ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada ise tavşan tibialarında oluşturdukları peri-implant defektleri TZF ve ipek fibroini beraber kullanarak tedavi etmişlerdir (152).

TZF tek başına greft materyali yerine kullanıldığında da başarılı sonuçlar vermektedir. Mazor ve ark (2009) yaptıkları klinik çalışmada sinüs tabanı yükseltme operasyonunda sadece TZF kullanmışlardır. İmplantların aynı seansta yerleştirildiği çalışmada 6 ay sonra radyografik inceleme ile yeterli miktarda kemik oluştuğunu tespit etmişlerdir (14). Yapılan başka bir çalışmada Özdemir ve ark. (2013) tavşan kalvaryumlarında sert titanyum bariyer ile birlikte TZF'yi yeni kemik oluşturmak için kullanmışlardır. Çalışmada tek başına TZF kullanımının yeni kemik oluşumunu kontrol grubuna göre artırdığı belirtilmiştir (153).

Bizim çalışmamızda sadece TZF konulan defektlerde, kontrol grubuna göre histomorfometrik ve radyolojik incelemelerde daha fazla yeni kemik oluşumu olduğu görülmüştür. Ayrıca histolojik kesitlerde sadece TZF olan grupta kontrol grubuna göre daha az fibröz doku infiltrasyonu görülmüştür. Fibröz doku infiltrasyonunun TFZ olan grupta daha az olması, fibrin matriksin biyoiskelet özelliği ile açıklanabilir. (141,142,143).

Kemik iyileşmesi ile ilgili yapılan çalışmalarda mikro-BT, immünohistokimya ve histomorfometri gibi değerlendirme yöntemleri kullanılmaktadır (154,101). Histomorfometrik analiz kemik hücreleri ve aktivitelerini in situ olarak değerlendirebilen tek yöntemdir. Bu yüzden histomorfometrik inceleme yöntemi kemik dokusunun değerlendirilmesinde altın standart olarak kabul edilmektedir (154). Kemik metabolizmasını değerlendirmede diğer hiçbir yöntem histomorfometrik inceleme yöntemi kadar etkili değildir (155). Çalışmamızda yeni

kemik oluşumunu ve defekt bölgesinde iyileşme sırasında görülen hücreleri incelemek için histolojik ve histomorfometrik değerlendirme yöntemleri kullanılmıştır.

Mikro-BT ilk olarak Feldkamp ve ark. tarafından 1989'da tanıtılmıştır (156). O tarihten beri kullanımı giderek yaygınlaşmıştır. Mikro-BT doku mineral yoğunluğunu, kemik mineral yoğunluğunu ve kemik hacmini hesaplayabilir (101,129). Ayrıca trabeküler kemiğin üç boyutlu yapısını değerlendirmede altın standart olarak kabul edilmektedir. Fakat kortikal kemiğin mikro yapısını değerlendirmede sınırlıdır (157).

Yapılan çalışmalarda mikro-BT kemik dokusunun incelenmesinde histolojik inceleme yöntemi gibi güvenilir bir yöntem olarak kabul edilmiştir (158,159). Cowan ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada mikro-BT görüntüleri kullanılarak yapılan yeni kemik alanı ölçümleri ile histolojik analiz yöntemiyle yapılan ölçümlerin birbirleriyle uyumlu olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmada elde ettikleri sonuçlar neticesinde mikro-BT analizinin kemik iyileşmesinin değerlendirilmesinde faydalı bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir (159).

Marechal ve ark. (2005) kemik ogmentasyonu ile ilgili yaptıkları çalışmada kemik oluşumunu incelemek için histolojik kesitleri ve mikro-BT görüntülerini kullanmışlardır. Çalışmada her iki yöntemden elde edilen sonuçlar arasında korelasyon bulunduğu belirtilmiştir (160). Bizim çalışmamızda yeni oluşan kemik hacminin hesaplanması ve histomorfometri sonuçlarıyla benzerlik kurulabilmesi için mikro-BT kullanılmıştır. Çalışmamızın sonunda elde ettiğimiz sonuçlar eşliğinde histomorfometrik değerlendirme ve mikro-BT sonuçları arasında benzerlik olduğunun görülmesi, mikro-BT'nin kemik iyileşmesinin değerlendirilmesinde yararlı bir yöntem olduğunu desteklemektedir.



## 6.SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, şu sonuçlara varılmıştır:

1. Tavşan kalvaryumlarına açılan 6mm çapındaki defektlerin 8 hafta içinde kendiliğinden iyileşmediği görülmüştür. Gelecek çalışmalarda 8 haftalık kemik iyileşmesini incelemek için tavşan kalvaryumunda 6mm çapındaki defektler kullanılabilir.
2. HA/ $\beta$ TCP osteokondüktif özelliği ile yeni kemik oluşumunu artırmaktadır.
3. Trombositten zengin fibrin tek başına kullanıldığında yeni kemik oluşumunu artırmaktadır.
4. Trombositten zengin fibrin ile HA/ $\beta$ TCP karıştırılarak kullanıldığında yeni kemik oluşumunu sadece TZF ve sadece HA/ $\beta$ TCP kullanımından daha fazla artırmaktadır.

Bu sonuçlar ışığında TZF'nin kemik defektlerinin tedavisinde tek başına ve sentetik greft materyalleri ile birlikte karıştırılarak kullanılmasının faydalı olacağını düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

1. Smrke, D., Rožman, P., Veselko, M. and Gubina, B. (2013). Treatment of Bone Defects — Allogenic Platelet Gel and Autologous Bone Technique, *Regenerative Medicine and Tissue Engineering*. Jose A. Andrades (Ed.). InTech.
2. Kahnberg, K.E. (2005). *Bone grafting Techniques for Maxillary Implants*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd.
3. Pandit, N., Pandit, I.K., Malik, R., Bali, D., Jindal, S. (2012) Autogenous bone block in the treatment of teeth with hopeless prognosis. *Contemp Clin Dent.*,3(4):437-42.
4. Giannoudis, P.V., Dinopoulos, H., Tsiridis, E. (2005) Bone substitutes: an update. *Injury.*, 36:20-7.
5. Stavropoulos, A. and Karring, T. (2010) Guided tissue regeneration combined with a deproteinized bovine bone mineral (Bio-Oss) in the treatment of intrabony periodontal defects: 6-year results from a randomized-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.*,37(2):200-10.
6. Yang, Y.G and Sykes, M. (2007) Xenotransplantation: current status and a perspective on the future. *Nature Reviews Immunology.*,7(7):519–31.
7. Erbe, E.M., Marx, J.G., Clineff, T.D., Bellincampi, L.D.(2001) Potential of an ultraporous beta-tricalcium phosphate synthetic cancellous bone void filler and bone marrow aspirate composite graft. *Eur Spine J.*,2:141-6.
8. Toker, H., Ozdemir, H., Ozer, H.,Eren, K. (2012) Alendronate enhances osseous healing in a rat calvarial defect model. *Arch Oral Biol.*,57(11):1545-50.
9. Notodihardjo, F.Z., Kakudo, N., Kushida, S., Suzuki, K., Kusumoto, K. (2012) Bone regeneration with BMP-2 and hydroxyapatite in critical-size calvarial defects in rats. *J Craniomaxillofac Surg.*,40(3):287-91.
10. Yueyi, C., Xiaoguang, H., Jingying, W., Quansheng, S., Jie, T., Xin, F., Yingsheng, X., Chunli, S. (2013) Calvarial defect healing by recruitment of autogenous osteogenic stem cells using locally applied simvastatin. *Biomaterials.*,34(37):9373-80.

11. Hasuike, A., Sato, S., Udagawa, A., Ando, K., Arai, Y., Ito, K. (2011) In vivo bone regenerative effect of low-intensity pulsed ultrasound in rat calvarial defects. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*,111(1):12-20.
12. Fávaro-Pípi, E., Feitosa, S.M., Ribeiro, D.A., Bossini, P., Oliveira, P., Parizotto, N.A., Renno, A.C. (2010). Comparative study of the effects of low-intensity pulsed ultrasound and low-level laser therapy on bone defects in tibias of rats. *Lasers Med Sci.*,25(5):727-32.
13. Pripatnanont, P., Nuntanaranont, T., Vongvatcharanon, S., Phurisat, K. (2013) The primacy of platelet-rich fibrin on bone regeneration of various grafts in rabbit's calvarial defects. *J Craniomaxillofac Surg.*,41(8):191-200.
14. Mazor, Z., Horowitz, R.A., Del, C.M., Prasad, H.S., Rohrer, MD., Dohan, Ehrenfest D.(2009) Sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using Choukroun's platelet-rich fibrin as the sole grafting material: a radiologic and histologic study at 6 months. *J Periodontol.*, 80(12):2056-64.
15. Khairy, N.M., Shendy, E.E., Askar, N.A., El-Rouby, D.H.(2013) Effect of platelet rich plasma on bone regeneration in maxillary sinus augmentation (randomized clinical trial). *Int J Oral Maxillofac Surg.*,42(2):249-55.
16. Riaz, R., Ravindran, C., Ramkumar, Nandakumar.(2010) Efficacy of platelet rich plasma in sinus lift augmentation. *J Maxillofac Oral Surg.*, 9(3):225-30.
17. Choukroun, J., Adda, F., Schoeffler, C., Vervelle, A. (2000) Une opportunité en paro-implantologie: le PRF. *Implantodontie.*,42:55-62.
18. Dohan, D.M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S.L., Dohan, A.J., Mouhyi, J., Gogly, B. (2006) Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*,101(3),37-44.
19. Dohan, D.M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S.L., Dohan, A.J., Mouhyi, J., Gogly, B.(2006) Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*,101(3):45-50.
20. Marrelli, M., Tatullo, M.(2013) Influence of PRF in the healing of bone and gingival tissues. Clinical and histological evaluations. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.*,17(14):1958-62.

21. Thorat, M., Pradeep, A.R., Pallavi, B.(2011) Clinical effect of autologous platelet-rich fibrin in the treatment of intra-bony defects: a controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.*,38(10):925-32.
22. Ross, M.H., Romrell, L.J., Kaye., I.G.(1995). *Histology A Text Atlas.Third Edition*. Amerika: Williams & Wilkins.
23. Junqueira, L.C. and Carneiro, J. (2006). *Temel Histoloji* (Çeviri: AYTEKİN, Y., SOLAKOĞLU, S.) İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
24. Sağlam, M., Aştı, R.N., Özer, A. (2001) *Genel Histoloji* (Genişletilmiş 6. Baskı ) Ankara: Yorum Matbaacılık.
25. Açıkalin, A.E., Bayçu C., Gürer F., Aral E. *Histoloji*. Eskişehir: T.C. Anadolu Üniversitesi Yayınları No: 894 Açıköğretim Fakültesi Yayınları No: 480
26. Ross, M.H. and Pawlina, W. (2006). *Histology A Text and Atlas With Correlated and Cell Molecular Biology. Fifth Edition*. Amerika: Lippincott Williams & Wilkins.
27. Erdoğan, D., Hatipoğlu, M., Görgün M. Ve Ilgaz, C.(1999). *Genel Histoloji*. Ankara: Hatipoğlu Yayın Evi.
28. Bernard, G.W.(1991). Healing and Repair of Osseous Defects. *Dent. Clin. North Am.*, 35(3):469-77.
29. Currey, J.D.(1998). The Effect of Porosity and Mineral Content on the Young's Modulus of Elasticity of Compact Bone. *J.Biomech.*,21,131-9.
30. Eşrefoğlu, M.(2009). *Genel Histoloji*. Malatya: Medipress Matbaacılık Yayıncılık Ltd.
31. Pittenger, M.F., Mackay, A.M., Beck, S.C., Jaiswal, R.K., Douglas, R., Mosca, J.D., Moorman, M.A., Simonetti, D.W., Craig, S., Marshak, D.R. (1999) Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science.*,284(5411):143-7.
32. Boyce, B.F., Yao, Z., Xing, L. (2009) Osteoclasts have multiple roles in bone in addition to bone resorption. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.*,19(3):171-180.
33. Allen, M.R., Burr, D.B. (2005) Human femoral neck has less cellular periosteum, and more mineralized periosteum, than femoral diaphyseal bone. *Bone.*, 36(2):311–6.

34. Colnot, C. (2009). Skeletal cell fate decisions within periosteum and bone marrow during bone regeneration. *J Bone Miner Res.*, 24(2):274–82.
35. Colnot, C., Zhang, X., Knothe Tate, M.L. (2012) Current insights on the regenerative potential of the periosteum: molecular, cellular, and endogenous engineering approaches. *J Orthop Res.*, 30(12):1869-78.
36. Haylock, D.N., Williams, B., Johnston, H.M., Liu, M.C., Rutherford, K.E., Whitty, G.A., Simmons, P.J., Bertonecello, I., Nilsson, S.K. (2007) Hemopoietic stem cells with higher hemopoietic potential reside at the bone marrow endosteum. *Stem Cells.*, 25(4):1062-9.
37. Altunalmaz, K. (2004). Kırık İyileşmesinin Biyolojisi ve Biyolojik Osteosentez. *İstanbul Üni.Vet.Fak.Derg.*, 30(1),141-7.
38. Kılıçoğlu, S.S. (2002). Mikroskopik Düzeyde Kırık İyileşmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası.*, 55(2),143-50.
39. Kalfas, I.H. (2001) Principles of bone healing. *Neurosurg Focus.*,10,1-5.
40. Xing, Z., Lu, C., Hu, D., Yu, Y.Y., Wang, X., Colnot, C., Nakamura, M., Wu, Y., Miclau, T., Marcucio, R.S. (2010) Multiple roles for CCR2 during fracture healing. *Dis Model Mech.*,3(7-8):451-8.
41. Mountziaris, P.M., Spicer, P.P., Kasper, F.K., Mikos, A.G. (2011) Harnessing and modulating inflammation in strategies for bone regeneration. *Tissue Eng Part B Rev.*,17(6):393-402.
42. Dimmen, S., Nordsletten, L., Engebretsen, L., Steen, H., Madsen, J.E.(2008) Negative effect of parecoxib on bone mineral during fracture healing in rats. *Acta Orthop.*, 79(3):438-44.
43. Simon, A.M., O'Connor, J.P. (2007) Dose and time-dependent effects of cyclooxygenase-2 inhibition on fracture-healing. *J Bone Joint Surg Am.*, 89(3):500-11.
44. Pountos, I., Georgouli, T., Blokhuis, T.J., Pape, H.C., Giannoudis, P.V. (2008). Pharmacological agents and impairment of fracture healing: what is the evidence? *Injury.*, 39(4):384–94.
45. Türker, M., ve Yücetaş, Ş. (2004) *Ağız,Diş ve Çene Hastalıkları ve Cerrahisi*. 3. Baskı . Ankara: Özyurt Matbaacılık.



46. Misch, C.E. (2005) *Dental İmplant Protezler*. (Çeviri: Kutay Ö.) İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri.
47. Mauney, J.R., Volloch, V., Kaplan, D.L.(2005) Role of adult mesenchymal stem cells in bone tissue engineering applications: current status and future prospects. *Tissue Eng.*,11(5-6):787-802.
48. Efeoğlu, A. (Eylül) 2013. Periodontal Kemik Cerrahisi. Erisim: 13 Ekim 2013 [http://www.istanbul.edu.tr/dishekimligi/dersnotlari/Periodontal\\_Kemik\\_Cerrahisi.pdf](http://www.istanbul.edu.tr/dishekimligi/dersnotlari/Periodontal_Kemik_Cerrahisi.pdf).
49. Şimşek, A., Çakmak, G., Cila, E.(2004) Kemik Greftleri ve Kemik Greftlerinin Yerini Tutabilecek Maddeler. *TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi.*,3, 3-4.
50. Caetano-Lopes, J., Canhão, H., Fonseca, J.E. (2007) Osteoblasts and bone formation. *Acta Reumatol Port.*,32(2),103-10.
51. Kanczler, J.M., Oreffo, R.O.(2008) Osteogenesis and angiogenesis: the potential for engineering bone. *Eur Cell Mater.*,15,100-14.
52. Friedenstein, A.Y. (1968) Induction of bone tissue by transitional epithelium. *Clin Orthop Relat Res.*,59:21-37.
53. Habibovic, P., de Groot, K.(2007) Osteoinductive biomaterials--properties and relevance in bone repair. *J Tissue Eng Regen Med.*,1(1):25-32.
54. Barradas, A.M, Yuan, H., van Blitterswijk, C.A., Habibovic, P. (2011)Osteoinductive biomaterials: current knowledge of properties, experimental models and biological mechanisms. *Eur Cell Mater.*,21:407-29.
55. Silva, R.V., Camilli, J.A., Bertran, C.A., Moreira, N.H. (2005) The use of hydroxyapatite and autogenous cancellous bone grafts to repair bone defects in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg.*,34(2):178-84.
56. Delloye, C., Cornu, O., Druez, V., Barbier, O.(2007) Bone allografts: What they can offer and what they cannot. *J Bone Joint Surg Br.*,89(5):574-9.
57. Mardas, N., Chadha, V., Donos, N.(2010) Alveolar ridge preservation with guided bone regeneration and a synthetic bone substitute or a bovine-derived xenograft: a randomized, controlled clinical trial. *Clin Oral Implants Res.*, 21(7):688-98.

58. Hallman, M., Lundgren, S., Sennerby, L. (2001) 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.*,3(2):87-96.
59. Rodella, L.F, Favero, G., Labanca, M. (2011) Biomaterials in maxillofacial surgery: membranes and grafts. *Int J Biomed Sci.*, 7(2):81-8.
60. Anonim (2013). Straumann Bone Ceramic, Erişim: 15 Eylül 2013. <http://www.straumann.us/en/professionals/products-and-solutions/regeneration-solutions/bone-grafts/BoneCeramic.html>.
61. Dohan Ehrenfest, D.M., Rasmusson, L., Albrektsson, T.(2009) Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol.*,27(3):158-67.
62. Whitman, D.H, Berry, R.L., Green, D.M. (1997) Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg.*,55(11):1294-9.
63. Khairy, N.M., Shendy, E.E., Askar, N.A., El-Rouby, D.H.(2013) Effect of platelet rich plasma on bone regeneration in maxillary sinus augmentation (randomized clinical trial). *Int J Oral Maxillofac Surg.*, 42(2):249-55.
64. Gerard, D., Carlson, E.R., Gotcher, J.E., Jacobs, M. (2006) Effects of platelet-rich plasma on the healing of autologous bone grafted mandibular defects in dogs. *J Oral Maxillofac Surg.*,64(3),443-51.
65. Gerard, D., Carlson, E.R., Gotcher, J.E., Jacobs, M.(2007) Effects of platelet-rich plasma at the cellular level on healing of autologous bone-grafted mandibular defects in dogs. *J Oral Maxillofac Surg.*,65(4):721-7.
66. Kazakos, K., Lyras, D.N., Thomaidis, V., Agrogiannis, G., Botaitis, S., Drosos, G., Kokka, A., Verettas, D. (2011) Application of PRP gel alone or in combination with guided bone regeneration does not enhance bone healing process:An experimental study in rabbits. *J Craniomaxillofac Surg.*,39(1):49-53.
67. Naik, B., Karunakar, P., Jayadev, M., Marshal, V.R.(2013) Role of Platelet rich fibrin in wound healing: A critical review. *J Conserv Dent.*,16(4):284-93.

68. Dohan, D.M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S.L., Dohan, A.J., Mouhyi, J., Gogly, B. (2006) Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*,101(3):51-5.
69. Choukroun, J., Diss, A., Simonpieri, A., Girard, M.O., Schoeffler, C., Dohan, S.L., Dohan, A.J., Mouhyi, J., Dohan, D.M. (2006) Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*,101(3):56-60.
70. Choukroun, J., Diss, A., Simonpieri, A., Girard, M.O., Schoeffler, C., Dohan, S.L., Dohan, A.J., Mouhyi, J., Dohan, D.M. (2006) Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*,101(3):299-303.
71. Lee, J.W., Kim, S.G., Kim, J.Y., Lee, Y.C., Choi, J.Y., Dragos, R.(2012) Rotaru H. Restoration of a peri-implant defect by platelet-rich fibrin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.*, 113(4):459-63.
72. Mosesson, M.W., Siebenlist, K.R., Meh, D.A. (2001) The structure and biological features of fibrinogen and fibrin. *Ann N Y Acad Sci.*,936:11-30.
73. Loike, J.D., Sodeik, B., Cao, L., Leucona, S., Weitz, J.I., Detmers, P.A., Wright, S.D., Silverstein, S.C. (1991) CD11c/CD18 on neutrophils recognizes a domain at the N terminus of the A alpha chain of fibrinogen. *Proc Natl Acad Sci U S A.*,88(3):1044-8.
74. Ross, M.H. and Pawlina, W. (2011). *Histology A Text and Atlas With Correlated and Cell Molecular Biology. Six Edition.* Amerika:Williams & Wilkins.
75. Sahni, A., Odrjin, T., Francis, C.W. (1998) Binding of basic fibroblast growth factor to fibrinogen and fibrin. *J Biol Chem.*,273(13):7554-9.
76. van Hinsbergh, V.W., Collen, A, Koolwijk, P. (2001) Role of fibrin matrix in angiogenesis. *Ann N Y Acad Sci.*,936,426-37.
77. Feng, X., Clark, R.A., Galanakis, D., Tonnesen, M.G. (1999) Fibrin and collagen differentially regulate human dermal microvascular endothelial cell integrins: stabilization of alphav/beta3 mRNA by fibrin1. *J Invest Dermatol.*,113(6):913-9.

78. Kazura, J.W., Wenger, J.D., Salata, R.A., Budzynski, A.Z., Goldsmith, G.H. (1989) Modulation of polymorphonuclear leukocyte microbicidal activity and oxidative metabolism by fibrinogen degradation products D and E. *J Clin Invest.*,83(6):1916-24.
79. Güneş, H. (1999) Sitokinlerin Hücre Döngüsü Üzerinde Etkileri. *Tr. J. of Biology.*,23:283–92.
80. Baykal, Y., Karaayvaz, M., Kutlu, M. (1998) İnterlökinler. *Turkiye Klinikleri J Med Sci.*,18(2):77-84.
81. Schiller M, Javelaud D, Mauviel A. TGF-beta-induced SMAD signaling and gene regulation: consequences for extracellular matrix remodeling and wound healing.(2004) *J Dermatol Sci.*,35(2):83–92.
82. Dobaczewski, M., Chen, W., Frangogiannis, N.G. (2012) Transforming growth factor (TGF)- $\beta$  signaling in cardiac remodeling. *J Mol Cell Cardiol.*,51(4):600-6.
83. Border, W.A., Noble, N.A. (1994) Transforming growth factor beta in tissue fibrosis. *N Engl J Med.*,331(19):1286-92.
84. Heldin, C.H. (1997) Simultaneous induction of stimulatory and inhibitory signals by PDGF. *FEBS Lett.*,410(1):17-21.
85. Çolak, R.(2007) İnsülin Benzeri Büyüme Faktörleri ve İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Proteinler. *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci.*,3(37),10-7.
86. Keleş, M., Türkeli, M.(2005) İnsülin benzeri büyüme faktörü sistemi ve kanser (DERLEME). *Tip Araştırmaları Dergisi.*,3(2),39-43.
87. Winkler, R., Pasleau, F., Boussif, N., Hodzic, D. (2000) The IGF system: summary and recent data. *Rev Med Liege.*,55(7):725-39.
88. Feldmeyer, L., Werner, S., French, L.E., Beer, H.D. (2010) Interleukin-1, inflammasomes and the skin. *Eur J Cell Biol.*,89(9):638-44.
89. Rosenwasser, L.J. (1998) Biologic activities of IL-1 and its role in human disease. *J Allergy Clin Immunol.*, 102(3):344-50.
90. Dinarello, C.A. (2009) Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annu Rev Immunol.*,27:519-50.
91. Dinarello, C.A.(2002) The IL-1 family and inflammatory diseases. *Clin Exp Rheumatol.*, ; 20 (5 Suppl 27),S1-13.

92. Dinarello, C.A. (2004) Therapeutic strategies to reduce IL-1 activity in treating local and systemic inflammation. *Curr Opin Pharmacol.*,4(4):378-85.
93. Tilg, H., Trehu, E., Atkins, M.B., Dinarello, C.A., Mier, J.W. (1994) Interleukin-6 (IL-6) as an anti-inflammatory cytokine: induction of circulating IL-1 receptor antagonist and soluble tumor necrosis factor receptor p55. *Blood.*,83(1):113-8.
94. Kamimura, D., Ishihara, K., Hirano, T. (2003) IL-6 signal transduction and its physiological roles: the signal orchestration model. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.*,149:1-38.
95. Hennigan, S., Kavanaugh, A. (2008) Interleukin-6 inhibitors in the treatment of rheumatoid arthritis. *Ther Clin Risk Manag.*,4(4):767-75.
96. Aggarwal, B.B, Shishodia, S., Ashikawa, K., Bharti, A.C. (2002) The role of TNF and its family members in inflammation and cancer: lessons from gene deletion. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.*,1(4):327-41.
97. Rivas, M.A., Carnevale, R.P., Proietti, C.J., Rosembli, C., Beguelin, W., Salatino, M., Charreau, E.H., Frahm, I., Sapia, S., Brouckaert, P., Elizalde, P.V., Schillaci, R. (2008) TNF alpha acting on TNFR1 promotes breast cancer growth via p42/P44 MAPK, JNK, Akt and NF-kappa B-dependent pathways. *Exp Cell Res.*, 314(3):509-29.
98. Robak, E., Sysa-Jedrzejewska, A., Robak, T. (2003) Vascular endothelial growth factor and its soluble receptors VEGFR-1 and VEGFR-2 in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. *Mediators Inflamm.*,12(5):293-8.
99. Joško, J., Gwóźdź, B., Jedrzejewska-Szypułka, H., Hendryk, S.(2000) Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its effect on angiogenesis. *Med Sci Monit.*, 6(5):1047-52.
100. Tiggelman, A.M., Boers, W., Linthorst, C., Sala, M., Chamuleau, R.A. (1995) Collagen synthesis by human liver (myo)fibroblasts in culture: evidence for a regulatory role of IL-1 beta, IL-4, TGF beta and IFN gamma. *J Hepatol.*, 23(3):307-17.
101. Shim, J.H., Moon, T.S., Yun, M.J., Jeon, Y.C., Jeong, C.M., Cho, D.W., Huh, J.B. (2012) Stimulation of healing within a rabbit calvarial defect by a PCL/PLGA scaffold blended with TCP using solid freeform fabrication technology. *J Mater Sci Mater Med.*,23(12):2993-3002.



102. El Backly, R.M., Zaky, S.H., Canciani, B., Saad, M.M., Eweida, A.M., Brun, F., Tromba, G., Komlev, V.S., Mastrogiacomo, M., Marei, M.K., Cancedda, R. (2013) Platelet rich plasma enhances osteoconductive properties of a hydroxyapatite- $\beta$ -tricalcium phosphate scaffold (Skelite™) for late healing of critical size rabbit calvarial defects. *J Craniomaxillofac Surg*. Erisim: 7 Ağustos 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcms.2013.06.012>.
103. Gapski, R., Neiva, R., Oh, T.J., Wang, H.L.(2006) Histologic analyses of human mineralized bone grafting material in sinus elevation procedures: a case series. *Int J Periodontics Restorative Dent.*, 26(1):59-69.
104. Gapski, R., Misch, C., Stapleton, D., Mullins, S., Cobb, C., Vansanthan, A., Reissner, M.(2008) Histological, histomorphometric, and radiographic evaluation of a sinus augmentation with a new bone allograft: a clinical case report. *Implant Dent.*,17(4):430-8.
105. Sohn, D.S., Lee, J.K., An K.M., Shin, H.I. (2009) Histomorphometric evaluation of mineralized cancellous allograft in the maxillary sinus augmentation: a 4 case report. *Implant Dent.*,18(2):172-81.
106. Froum, S.J., Wallace, S.S., Cho, S.C. and Tarnow, D.P. (2006) Use of Xenografts for Sinus Augmentation. In. Jensen, O.T. *The Sinus Bone Graft*. Chicago : Quintessence Publishing Co.Inc.
107. Hürzeler, M.B., Quiñones, C.R., Kirsch, A., Gloker, C., Schüpbach, P., Strub, J.R., Caffesse, R.G. (1997) Maxillary sinus augmentation using different grafting materials and dental implants in monkeys. Part I. Evaluation of anorganic bovine-derived bone matrix. *Clin Oral Implants Res.*,8(6):476-86.
108. Yildirim, M., Spiekermann, H., Handt, S., Edelhoff, D. (2001) Maxillary sinus augmentation with the xenograft Bio-Oss and autogenous intraoral bone for qualitative improvement of the implant site: a histologic and histomorphometric clinical study in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants.*,16(1):23-33.
109. Yildirim, M., Spiekermann, H., Biesterfeld, S., Edelhoff, D. (2000) Maxillary sinus augmentation using xenogenic bone substitute material Bio-Oss in combination with venous blood. A histologic and histomorphometric study in humans. *Clin Oral Implants Res.*, 11(3):217-29.

110. Bozkaya, S., Karaca, İ., Oygür, T., Barış, E. (2008). Deproteinize Kemik Grefti (Bio-OSS®)nin Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisinin Deneysel Olarak İncelenmesi. *ADO Klinik Bilimler Derg.*,2(2),87-97.
111. Artzi, Z., Tal, H., Dayan, D. (2000) Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets. Part 1: histomorphometric evaluations at 9 months. *J Periodontol.*,71(6):1015-23.
112. Valentini, P., Abensur, D., Densari, D., Graziani, J.N., Hämmerle, C.(1998) Histological evaluation of Bio-Oss in a 2-stage sinus floor elevation and implantation procedure. A human case report. *Clin Oral Implants Res.*,9(1):59-64.
113. Aghazadeh, A., Rutger, Persson, G., Renvert, S.(2012) A single-centre randomized controlled clinical trial on the adjunct treatment of intra-bony defects with autogenous bone or a xenograft: results after 12 months. *J Clin Periodontol.*,39(7):666-73.
114. Cordaro, L., Bosshardt, D.D., Palattella, P., Rao, W., Serino, G., Chiapasco, M. (2008) Maxillary sinus grafting with Bio-Oss or Straumann Bone Ceramic: histomorphometric results from a randomized controlled multicenter clinical trial. *Clin Oral Implants Res.*, 19(8):796-803.
115. Antunes, A.A., Oliveira, Neto. P., de Santis, E., Caneva, M., Botticelli, D., Salata, LA. (2013) Comparisons between Bio-Oss(®) and Straumann(®) Bone Ceramic in immediate and staged implant placement in dogs mandible bone defects. *Clin Oral Implants Res.*,24(2):135-42.
116. Dietze, S., Bayerlein, T., Proff, P., Hoffmann, A., Gedrange, T. (2006) The ultrastructure and processing properties of Straumann Bone Ceramic and NanoBone. *Folia Morphol.*,65(1):63-5.
117. Froum, S.J, Wallace, S.S.,Cho, S.C., Elian, N.,Tarnow, D.P. (2008) Histomorphometric comparison of a biphasic bone ceramic to anorganic bovine bone for sinus augmentation: 6- to 8-month postsurgical assessment of vital bone formation. A pilot study. *Int J Periodontics Restorative Dent.*, 28(3):273-81.

118. Frenken, J.W., Bouwman, W.F., Bravenboer, N., Zijdeveld, S.A., Schulten, E.A., ten Bruggenkate, C.M. (2010) The use of Straumann Bone Ceramic in a maxillary sinus floor elevation procedure: a clinical, radiological, histological and histomorphometric evaluation with a 6-month healing period. *Clin Oral Implants Res.*,21(2):201-8.
119. Covani, U.,Orlando, B., Giacomelli, L., Cornelini, R., Barone, A. (2011) Implant survival after sinus elevation with Straumann® BoneCeramic in clinical practice: ad-interim results of a prospective study at a 15-month follow-up. *Clin Oral Implants Res.*,22(5):481-4.
120. de Lange, G.L., Overman, J.R., Farré-Guasch, E., Korstjens, C.M.,Hartman, B., Langenbach, G.E., Van Duin, M.A, Klein-Nulend, J. (2013) A histomorphometric and micro-computed tomography study of bone regeneration in the maxillary sinus comparing biphasic calcium phosphate and deproteinized cancellous bovine bone in a human split-mouth model. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.*,117(1):8-22.
121. Mardas, N., D'Aiuto, F., Mezzomo, L., Arzoumanidi, M., Donos, N. (2011) Radiographic alveolar bone changes following ridge preservation with two different biomaterials. *Clin Oral Implants Res.*,22(4):416-23.
122. De Coster, P., Browaeys, H., De Bruyn, H. (2011) Healing of extraction sockets filled with BoneCeramic® prior to implant placement: preliminary histological findings. *Clin Implant Dent Relat Res.*,13(1):34-45.
123. Schwarz F, Hertel M, Ferrari D, Wieland M, Schmitz L, Engelhardt E, Becker J. (2007) Guided bone regeneration at dehiscence-type defects using biphasic hydroxyapatite + beta tricalcium phosphate (Bone Ceramic) or a collagen-coated natural bone mineral (BioOss Collagen): an immunohistochemical study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Surg.*,36(12):1198-206.
124. Sager, M., Ferrari, D., Wieland, M., Dard, M., Becker, J., Schwarz, F. (2012) Immunohistochemical characterization of wound healing at two different bone graft substitutes. *Int J Oral Maxillofac Surg.*,41(5):657-66.

125. Rokn, A.R, Khodadoostan, M.A, Reza Rasouli Ghahroudi, A.A., Motahhary, P., Kharrazi Fard, M.J, Bruyn, H.D, Afzalifar, R, Soolar, E., Soolari, A.(2011) Bone formation with two types of grafting materials: a histologic and histomorphometric study. *Open Dent J*,5:96-104.
126. Philipp, A., Duncan, W., Roos, M., Hämmerle, C.H, Attin, T., Schmidlin, P.R. Comparison of SLA<sup>®</sup> or SLActive<sup>®</sup> implants placed in the maxillary sinus with or without synthetic bone graft materials - an animal study in sheep. (2013) *Clin Oral Implants Res*. Erisim: 22 Eylül 2013.doi: 10.1111/clr.12255.
127. Liñares, A., Domken, O., Dard, M., Blanco, J. (2013) Peri-implant soft tissues around implants with a modified neck surface. Part 1. Clinical and histometric outcomes: a pilot study in minipigs. *J Clin Periodontol*.,40(4):412-20.
128. Hollinger, J.O, Kleinschmidt, J.C. (1990) The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. *J Craniofac Surg*.,1(1):60-8.
129. Lee, E.H., Kim, J.Y, Kweon, H.Y., Jo, Y.Y., Mi., S.K., Park, Y.W., Choi, J.Y., Kim, S.G. (2010) A combination graft of low-molecular-weight silk fibroin with Choukroun platelet-rich fibrin for rabbit calvarial defect. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*.,109(5):33-8.
130. Özdemir, B., Kurtiş, B., Tüter, G., Sengüven, B., Tokman, B., Pınar-Özdemir, S., Demirel, İ., Özcan, G. (2012) Double-application of platelet-rich plasma on bone healing in rabbits. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*.,17(1):171-7.
131. Hokugo, A., Sawada, Y., Hokugo, R., Iwamura, H., Kobuchi, M., Kambara, T., Morita, S., Tabata, Y. (2007) Controlled release of platelet growth factors enhances bone regeneration at rabbit calvaria. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*.,104(1):44-8.
132. Jiang, Z.Q., Liu, H.Y., Zhang, L.P., Wu, Z.Q., Shang, D.Z. (2012) Repair of calvarial defects in rabbits with platelet-rich plasma as the scaffold for carrying bone marrow stromal cells. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*.,113(3):327-33.
133. Meikle, M.C., Papaioannou, S., Ratledge, T.J., Speight, P.M., Watt- Smith, S.R., Hill, P.A, Reynolds, J.J. (1994) Effect of poly DL-lactide– co-glycolide implants and xenogeneic bone matrix-derived growth factors on calvarial bone repair in the rabbit. *Biomaterials*.,15(7):513-21.

134. Anitua, E., Andia, I., Ardanza, B., Nurden, P., Nurden, A.T. (2004) Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost.*,91(1):4-15.
135. Kanno, T., Takahashi, T., Tsujisawa, T., Ariyoshi, W., Nishihara, T. (2005) Platelet-rich plasma enhances human osteoblast-like cell proliferation and differentiation. *J Oral Maxillofac Surg.*,63(3):362-9.
136. Clausen, C., Hermund, N.U., Donatsky, O., Nielsen, H., Osther, K. (2006) Homologous activated platelets stimulate differentiation and proliferation of primary human bone cells. *Cells Tissues Organs.*,184(2):68-75.
137. Uggeri, J., Belletti, S., Guizzardi, S., Poli, T., Cantarelli, S., Scandroglio, R., Gatti, R. (2007) Dose-dependent effects of platelet gel releasate on activities of human osteoblasts. *J Periodontol.*,78(10):1985-91.
138. Fürst, G., Gruber, R., Tangl, S., Zechner, W., Haas, R., Mailath, G., Sanroman, F., Watzek, G. (2003) Sinus grafting with autogenous platelet-rich plasma and bovine hydroxyapatite. A histomorphometric study in minipigs. *Clin Oral Implants Res.*,14(4):500-8.
139. Wiltfang, J., Kloss, F.R., Kessler, P., Nkenke, E., Schultze-Mosgau, S., Zimmermann, R., Schlegel, K.A. (2004) Effects of platelet-rich plasma on bone healing in combination with autogenous bone and bone substitutes in critical-size defects. An animal experiment. *Clin Oral Implants Res.*,15(2):187-93.
140. Metzler, P., von Wilmsowky, C., Zimmermann, R., Wiltfang, J., Schlegel, K.A. (2012) The effect of current used bone substitution materials and platelet-rich plasma on periosteal cells by ectopic site implantation: an in-vivo pilot study. *J Craniomaxillofac Surg.*,40(5):409-15.
141. Dohan Ehrenfest, D.M., de Peppo, G.M., Doglioli, P., Sammartino, G. (2009) Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors.*,27(1):63-9.
142. Kang, Y.H., Jeon, S.H., Park, J.Y., Chung, J.H., Choung, Y.H., Choung, H.W, Kim, E.S., Choung, P.H. (2011) Platelet-rich fibrin is a Bioscaffold and reservoir of growth factors for tissue regeneration. *Tissue Eng Part A.*, 17(3-4):349-59.



143. Gassling, V., Hedderich, J., Açil, Y., Purcz, N., Wiltfang, J., Douglas, T. (2013) Comparison of platelet rich fibrin and collagen as osteoblast-seeded scaffolds for bone tissue engineering applications. *Clin Oral Implants Res.*,24(3):320-8.
144. Dohan Ehrenfest, D.M., Diss, A., Odin, G., Doglioli, P., Hippolyte, M.P., Charrier, J.B. (2009) In vitro effects of Choukroun's PRF (platelet-rich fibrin) on human gingival fibroblasts, dermal prekeratinocytes, preadipocytes, and maxillofacial osteoblasts in primary cultures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*,108(3):341-52.
145. Zhang, Y., Tangl, S., Huber, C.D., Lin, Y., Qiu, L., Rausch-Fan, X. (2012) Effects of Choukroun's platelet-rich fibrin on bone regeneration in combination with deproteinized bovine bone mineral in maxillary sinus augmentation: a histological and histomorphometric study. *J Craniomaxillofac Surg.*,40(4):321-8.
146. Gassling, V.L., Acil, Y., Springer, I.N., Hubert, N., Wiltfang, J. (2009) Platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin in human cell culture. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*,108(1):48-55.
147. Pradeep, A.R., Rao, N.S., Agarwal, E., Bajaj, P., Kumari, M., Naik, S.B. (2012) Comparative evaluation of autologous platelet-rich fibrin and platelet-rich plasma in the treatment of 3-wall intrabony defects in chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. *J Periodontol.*,83(12):1499-507.
148. Xuan, F., Lee, C.U., Son, J.S., Jeong, S.M., Choi, B.H. (2013) A comparative study of the regenerative effect of sinus bone grafting with platelet-rich fibrin-mixed Bio-Oss<sup>®</sup> and commercial fibrin-mixed Bio-Oss<sup>®</sup>: An experimental study. *J Craniomaxillofac Surg.* Erişim: 1 Ağustos 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcms.2013.05.029>
149. Inchingolo, F., Tatullo, M., Marrelli, M., Inchingolo, A.M., Scacco, S., Inchingolo, A.D., Dipalma, G., Vermesan, D., Abbinante, A., Cagiano, R. (2010) Trial with Platelet-Rich Fibrin and Bio-Oss used as grafting materials in the treatment of the severe maxillary bone atrophy: clinical and radiological evaluations. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.*,14(12):1075-84.

150. Kim, B.J., Kwon, T.K., Baek, H.S., Hwang, D.S., Kim, C.H., Chung, I.K., Jeong, J.S., Shin, S.H. (2012) A comparative study of the effectiveness of sinus bone grafting with recombinant human bone morphogenetic protein 2-coated tricalcium phosphate and platelet-rich fibrin-mixed tricalcium phosphate in rabbits. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.*,113(5):583-92.
151. Su, C.Y., Kuo, Y.P., Tseng, Y.H., Su, C.H., Burnouf, T. (2009) In vitro release of growth factors from platelet-rich fibrin (PRF): a proposal to optimize the clinical applications of PRF. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*,108(1):56-61.
152. Jang, E.S., Park, J.W., Kweon, H., Lee, K.G., Kang, S.W., Baek, D.H., Choi, J.Y., Kim, S.G. (2010) Restoration of peri-implant defects in immediate implant installations by Choukroun platelet-rich fibrin and silk fibroin powder combination graft. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*,109(6):831-6.
153. Ozdemir, H., Ezirganli, S., Kara, İ.M., Mihmanli, A., Baris, E. (2013) Effects of platelet rich fibrin alone used with rigid titanium barrier. *Arch Oral Biol.*, 58(5):537-44.
154. Iwaniec, U.T., Wronski, T.J., Turner, R.T. (2008) Histological analysis of bone. *Methods Mol Biol.*,447:325-41.
155. Kulak, C.A., Dempster, D.W. (2010) Bone histomorphometry: a concise review for endocrinologists and clinicians. *Arq Bras Endocrinol Metabol.*,54(2):87-98.
156. Feldkamp, L.A., Goldstein, S.A., Parfitt, A.M., Jesion, G., Kleerekoper, M. (1989) The direct examination of three-dimensional bone architecture in vitro by computed tomography. *J Bone Miner Res.*,4(1):3-11.
157. Britz, H.M., Jokihaara, J., Leppänen, O.V., Järvinen, T., Cooper, D.M. (2010) 3D visualization and quantification of rat cortical bone porosity using a desktop micro-CT system: a case study in the tibia. *J Microsc.*,240(1):32-7.
158. Thomsen, J.S., Laib, A., Koller, B., Prohaska, S., Mosekilde, L., Gowin, W. (2005) Stereological measures of trabecular bone structure: comparison of 3D micro computed tomography with 2D histological sections in human proximal tibial bone biopsies. *J Microsc.*, 218:171–9.

159. Cowan, C.M., Aghaloo, T., Chou, Y.F., Walder, B., Zhang, X., Soo, C., Ting, K., Wu, B. (2007) MicroCT evaluation of three-dimensional mineralization in response to BMP-2 doses in vitro and in critical sized rat calvarial defects. *Tissue Eng.*,13(3):501-12.
160. Maréchal, M., Luyten, F., Nijs, J., Postnov, A., Schepers, E., van Steenberghe, D. (2005) Histomorphometry and micro-computed tomography of bone augmentation under a titanium membrane. *Clin Oral Implants Res.*,16(6):708-14.

## EKLER

## EK.1: Deney Hayvanları Etik Kurulu Kararı



İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 22-06-2012  
 Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya  
 Araştırma Protokol no.su : 2012/A-78  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Yeni Zelanda Tavşanı  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 20 adet  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : 5-7 aylık/2,5-3 kg

Diş Hekimliği Fakültesi Öğretim Üyelerinden Yrd.Doç.Dr. Ümit YOLCU'nun yürütücüsü olduğu "Tavşan Kalvaryal Kemik Defektlerinde Trombositten Zengin Fibrinin Yeni Kemik Oluşumundaki Etkinliğinin Araştırılması" isimli 2012/A-78 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

 Prof.Dr. Yusuf TÜRKÖZ Başkan	 Doç.Dr. Abdurrahman KARAMAN Başkan Yard.	Prof.Dr. Selim DOĞANAY Üye katılmadı
 Doç.Dr. M. Arif ALADAĞ Üye	 Yrd.Doç.Dr. Mehmet KARATAŞ Üye	Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN Üye
 Vet.Hek.M.Zafer BOZDAĞ Üye	 Salih AVCI Sivil Üye	 Ahmet GÖNÜLLÜOĞLU Sivil Üye

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı: Ahmet Hüseyin ACAR  
Doğum Yeri ve Tarihi: Muradiye 6/5/1983  
Medeni Hali: Evli  
Yabancı Dil: İngilizce  
İletişim Adresi: İnönü Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, 44280-Malatya  
E-posta Adresi: ahmethuseyinacar@gmail.com

### Eğitim ve Akademik Durumu

Lisans ve Yüksek Lisans: İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi 2003-2008  
Doktora: İnönü Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı ve Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi ortak doktora programı 2010-2014

### İş Tecrübesi

İnönü Üniversitesi Araştırma Görevlisi 2011-2014