

ÖZGE DOĞANAY

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

UZMANLIK TEZİ

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .

← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

(UZMANLIK TEZİ)

BİOGLUE HİDROJELİ'NİN KEMİK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE
ETKİSİNİN DENEYSEL OLARAK İNCELENMESİ

ARAŞ. GÖR. DT. ÖZGE DOĞANAY

DANIŞMAN
DOÇ. DR. BELİR ATALAY

AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI
UZMANLIK PROGRAMI

İSTANBUL - 2017

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Özge DOĞANAY

İTHAF



‘Anneme’ ve ‘Babama’

ithaf ediyorum..

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca mesleki bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, cerrahi kariyerime önemli katkıları olan, kullandığı her kelimenin benim için önemli olduğu, desteği ile beni güçlendiren, motive eden ve hep daha iyiye yönlendirmeye çalışan çok değerli hocam, çok sevdiğim ağabeyim Doç. Dr. Belir ATALAY'a,

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesi için gerekli izinleri veren İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Ana Bilim Dalı geçmiş dönem başkanı sayın Prof. Dr. Cengizhan KESKİN'e ve dönem başkanı sayın Prof. Dr. Çetin KASAPOĞLU'na,

Uzmanlık eğitimim sırasında yardımlarını esirgemeyen ve her zaman destek olan değerli hocalarım Prof. Dr. Buket AYBAR, Doç. Dr. Yusuf EMES, Doç. Dr. A. Burak ÇANKAYA, Doç. Dr. Mehmet Ali ERDEM ve Doç. Dr. Cemil İŞLER'e,

Tez çalışmamın istatistiksel değerlendirmelerinde yardımlarını esirgemeyen, mesleki ve manevi anlamda büyük desteğini gördüğüm ve bendeki emeklerini hiçbir zaman unutmayacağım çok değerli hocam, İ.Ü. Tıp Fakültesi Anesteziyoloji Ana Bilim Dalı'ndan öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Mehmet TUĞRUL'a,

Tez çalışmamın histopatolojik incelemelerini gerçekleştiren İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü, Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Bilim Dalı'ndan öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Vakur Olgaç'a, laboratuvar teknisyeni sayın Mehmet BOZOĞLU'na,

Çalışmamın deney aşamasında yardımlarını esirgemeyen Dt. Mehmet Cem ÖZDEN, Dt. Şeyma ALLA'ya ve Uzm. Dr. Dt. Senem YILDIRIMTÜRK'e,

Diş Hekimliği lisans ve uzmanlık eğitimim boyunca her zaman yanımda olduğunu hissettiren ve desteklerini esirgemeyen sevgili dostum Dr. Dt. Dudu OTÇUOĞLU ve ailesine,

Mesleği seçmemde büyük etkisi olan ve rol model olarak gördüğüm babam Uzm. Dr. Kemal DOĞANAY, her zaman destek olan annem Nilgün DOĞANAY ve ağabeyim Özgür DOĞANAY'a,

sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:45337



İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	Vİİ
TABLolar LİSTESİ.....	X
ŞEKİLLER LİSTESİ	Xİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİİ
ÖZET	XİV
ABSTRACT.....	XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. KEMİK	3
2.1.1. Kemik Dokusu	3
2.1.2. Kimyasal Yapısı.....	3
2.1.3. Morfolojik Özellikleri.....	4
2.1.4. Kemik Tipleri.....	5
2.1.4.1. Primer Kemik	6
2.1.4.2. Sekonder Kemik.....	6
2.1.5. Kemik Dokusunun Hücresel Elemanları	8
2.1.5.1. Osteoprogenitör Hücreler	8
2.1.5.2. Osteoblastlar.....	8
2.1.5.3. Osteositler	9
2.1.6. Kemik Oluşumunun ve Gelişiminin Evreleri	10
2.1.6.1. Endokondral Kemikleşme	10
2.1.6.2. İntramembranöz Kemikleşme	10
2.1.7. Kemik Büyümesi	11
2.1.7.1. Şekillenme ve Yeniden Şekillenme	11
2.1.8. Kırık İyileşmesi	12
2.1.8.1. Enflamasyon (Yangı) Fazı	13

2.1.8.2. Reperasyon (Onarım) Fazı	14
2.2. BİYOMATERYALLER	15
2.2.1. Biyomateryallerin İçinde Buldukları Doku ya da Organ İle İlişkilerinin Değerlendirilmesi	16
2.2.1.1. Biyoyumluluk.....	16
2.2.1.2. Biyofonksiyonalitye.....	16
2.2.2. Biyomateryaller ile Kemik Şekillenmesi.....	17
2.2.3. Greftin İyileşmesi.....	18
2.2.3.1. Birleşme.....	18
2.2.3.2. Yer Değiştirme.....	18
2.2.3.3. Şekillenme.....	18
2.2.3.4. Bölgesel Hızlanma Fenomeni.....	19
2.2.4. Biyomateryallerin Taşınması Gereken Özellikler.....	19
2.2.5. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Biyomateryallerin Klinik Uygulamaları.....	20
2.2.6. Biyomateryal Çeşitleri.....	20
2.2.6.1. Kemik Kaynaklı Biyomateryaller.....	21
2.2.6.1.1. Otojen Kemik Grefti.....	21
2.2.6.1.2. Allojenik Kemik Grefti.....	22
2.2.6.1.3. Ksenogreftler.....	22
2.2.6.2. Kemik Kaynaklı Olmayan Biyomateryaller.....	23
2.2.6.2.1. Alloplastik Materyaller.....	23
2.2.6.2.1.1. Seramikler.....	24
2.2.6.2.1.1.1. Sentetik Hidroksilapatit.....	24
2.2.6.2.1.1.2. Trikalsiyum Fosfat – Bifazik Kalsiyum Fosfat Seramikleri.....	24
2.2.6.2.1.1.3. Biyoaktif Cam.....	26
2.2.6.2.1.2. Kalsiyum Karbonat.....	26
2.2.6.2.1.3. Kompozit Kopolimerler.....	26
2.2.6.2.1.4. Kalsiyum Sülfat.....	27
2.2.6.2.2. Allogreft ve Alloplastik Materyallerin İyileşmesi.....	27
2.2.7. Biyomateryallere Karşı Gelişen Biyolojik Reaksiyonlar.....	28
2.3. YÖNLENDİRİLMİŞ KEMİK REJENERASYONU.....	28
2.4. BİOGLUE® HİDROJELİ.....	32

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
3.1. Gereç.....	34
3.2. Yöntem.....	35
3.2.1. Bioglu® Hidrojeli'nin Hazırlanması ve Uygulanması	36
3.2.3. Deney Hayvanları ve Grupları.....	41
3.2.3.1. Ana Gruplar ve Alt Gruplar	41
3.2.4. Histopatolojik İnceleme ve Değerlendirme Kriterleri	42
3.2.5. İstatistiksel Değerlendirme Yöntemi	43
4. BULGULAR.....	44
5. TARTIŞMA	65
KAYNAKLAR	77
ETİK KURUL KARARI.....	91

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Yeniden Şekillenme Evreleri.....	12
Tablo 2-2: Biyomateryallerin Sınıflandırılması.....	20
Tablo 2-3: Bariyer Membranların Sınıflandırılması.....	30
Tablo 4-1: İltihap Değerleri	44
Tablo 4-2: Fibrozis Değerleri.....	46
Tablo 4-3: Yeni Kemik Oluşumu Değerleri.....	47
Tablo 4-4: İyileşme Bulguları.....	49
Tablo 4-5: Nekroz Bulguları.....	51
Tablo 4-6: Yabancı Cisim Reaksiyon Bulguları.....	53

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3-1: Karıştırma Tüpleri Ve Uygulama Uçları.....	36
Şekil 3-2: Operasyon Sahasının Hazırlanması.....	37
Şekil 3-3: Tibiada Oluşturulan Kemik Defekti.....	37
Şekil 3-4: Pıhtı Oluşumu Sonrasında Defekt Üzerine Bioglue Uygulaması.....	38
Şekil 3-5: Bioglue'nun Sertleştikten Sonraki Görüntüsü.....	38
Şekil 3-6: Greftin Defekt Bölgesine Yerleştirilmesi.....	39
Şekil 3-7: Greftin Bioglue ile Kaplanması.....	39
Şekil 3-8: Bioglue'nun Sertleştikten Sonraki Görüntüsü.....	40
Şekil 3-9: Cildin 3/0 ipek dikiş ipliği ile kapatılması	40
Şekil 4-1: İltihap Bulgularının Grafik Gösterimi.....	45
Şekil 4-2: Fibrozis Alanının Grafik Gösterimi	46
Şekil 4-3: Yeni Kemik Yapımı Alanlarının Grafik Gösterimi.....	48
Şekil 4-4: İyileşme Skorunun Grafik Gösterimi.....	50
Şekil 4-5: Nekroz Bulgularının Grafik Gösterimi.....	52
Şekil 4-6: Yabancı Cisim Reaksiyon Bulgularının Grafik Gösterimi.....	54
Şekil 4-7: Bioglue grubunda 7. günde defektin yüzeyinde bariyer oluşturan materyalin artıkları, altında genç mezenkim hücreleri, fibrosit ve fibroblastlardan oluşan aktif bağ dokusu içinde defektin kenarlarından başlayarak ortaya ilerleyen yeni kemik yapımı alanları görülmektedir (H&E x 100).....	55
Şekil 4-8: Bioglue grubunda 21. günde defekt kenarları arasında defekt bölgesini kapatan köprüleşme tarzında, yüzeyden hafifçe kabarık yeni kemik dokusu görülmektedir (H&E x 100).....	56
Şekil 4-9: Bioglue grubunda 45. günde defekt bölgesini kapatan ince lameller kemik dokusu görülmektedir (H&E x 100).....	57
Şekil 4-10: Greft+Bioglue grubunda 7. günde yüzeyde bariyer materyali, altında kanama alanları içeren aktif bağ dokusu içinde greft materyalinden kalan boşluklar, tabana doğru trabeküler yeni kemik yapım alanları görülmektedir (H&E x 100).....	58
Şekil 4-11: Greft + Bioglue grubunda, 21. günde greft bölgesinde aktif fibröz doku içinde greft materyalinden kalan boşluklar ve çevrelerinde ince trabeküler kemik yapısı izlenmektedir (H&E x 100).....	59

Şekil 4-12: Greft + Bioglue grubunda, 21. günde greft materyali çevresinde yabancı cisim dev hücreleri izlenmektedir (H&E x 400).....	60
Şekil 4-13: Greft + Bioglue grubunda, 45. günde greft materyali çevresinde defekti büyük ölçüde kapatan düzensiz yapıda lameller ve trabeküler kemik dokusu görülmektedir (H&E x 100).....	61
Şekil 4-14: Kontrol grubunda, 7. günde defekt kenarları arasında aktif fibröz bağ dokusu içinde yeni kemik trabekülleri izlenmektedir (H&E x 100).....	62
Şekil 4-15: Kontrol grubunda, 21. günde defekti kapatan lameller-trabeküler yapıda kemik dokusu izlenmektedir (H&E x 100).....	63
Şekil 4-16: Kontrol grubunda, 45. günde defekti kapatan lameller kemik dokusu izlenmektedir (H&E x 100).....	64

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

µm: Mikrometre

YKR: Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu

HA: Hidroksilapatit

BHF: Bölgesel Hızlanma Fenomeni

TKF: Trikalsiyum Fosfat

β-TKF: Beta-Trikalsiyum Fosfat

BKF: Bifazik Kalsiyum Fosfat

TZP: Trombositten Zengin Plazma

H&E: Hemotoksilen Eozin

iv: intravenöz

ip: intraperitonal

im: intramuskuler

ÖZET

Doğanay Ö. Bioglue® Hidrojeli'nin Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisinin Deneysel Olarak İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi ABD. Uzmanlık Tezi. İstanbul. 2017.

Çalışmamızda bariyer amacıyla kullanılan Bioglue® Hidrojeli'nin ve beta-Trikalsiyum fosfat/ Hidroksilapatit (B-TKF/HA) greftinin kemik dokusu iyileşmesi üzerine olan etkilerini histopatolojik olarak değerlendirmeyi amaçladık. Çalışmamızda, 60 adet Sprague-Dawley türü, 250±20 gr ağırlığında olan erkek sıçanlar kullanılmıştır. Deney grupları 24'er, kontrol grubu ise 12 denek içermektedir ve tüm gruplar sakrifikasyon günleri 7, 21 ve 45 olmak üzere toplam 9 alt gruba ayrılmıştır. Deneklerin sağ tibialarında 3 mm çapında monokortikal, kemiğin korteks ve medulla tabakalarını içine alan kemik defektleri oluşturulmuştur. İlk grupta defektlere sadece Bioglue®, ikinci grupta defektlere B-TKF/HA kemik grefti uygulandıktan sonra üzerine Bioglue® uygulanıp, kontrol grubu boş bırakılarak iyileşmeye bırakılmıştır. Bütün denekler 7., 21. ve 45. günlerde sakrifiye edilerek örnekler iltihap, fibrozis, yeni kemik yapımı, iyileşme bulguları, nekroz ve yabancı cisim reaksiyonu açısından histopatolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir. 7. ve 21. günlerde B-TKF/HA+Bioglue® grubundaki yeni kemik yapımı alan değerlerinin kontrol grubuna oranla istatistiksel açıdan anlamlı derecede düşük olduğu, Bioglue® ve kontrol grubu arasında ise anlamlı bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir. 21. ve 45. günlerde iyileşme bulgularının Bioglue® (21.gün: p<0,001) (45.gün: p<0,05) ve kontrol (p<0,01) gruplarında, B-TKF/HA+Bioglue® grubuna oranla daha yüksek olduğu bulunmuştur. Yabancı cisim reaksiyon varlığının 45. günde B-TKF/HA+Bioglue® grubunda, diğer gruplara oranla istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur. Bioglue®'nun kritik boyutta olmayan defektlerde tek başına bariyer olarak kullanımı defekt hacmini korumada ve pıhtı stabilizasyonunda başarılı bulunmuştur. Ancak, seçtiğimiz modelde Bioglue®'nun B-TKF/HA kemik greftleri ile birlikte kullanımının greft partiküllerinin stabilizasyonu dışında yarar sağlamadığını tespit ettik.

Anahtar Kelimeler : Bioglue, bariyer, bifazik kalsiyum fosfat, sıçan, kemik iyileşmesi
Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 45337

ABSTRACT

Doğanay Ö. Experimental investigation of the effect of Bioglue® hydrogel on bone healing. İstanbul University, Department of Oral Surgery, Specialist thesis . İstanbul. 2017.

We aimed to evaluate histopathological effects of Bioglue® Hydrogel using as a barrier and beta-tricalcium phosphate/ Hydroxyapatite (B-TKF/HA) graft on healing of experimental bone defects in our study. 60 Sprague-Dawley male rats, with a weight of 250 ± 20 g were used in this study. Two experimental groups and control group were consisted of 48 and 12 rats respectively and all groups were divided into 9 subgroups due to the sacrifice days which were 7, 21 and 45. 3 mm in diameter, monocortical, cortico-cancellous bone defects were surgically created in the right tibia of each rat. Defects were sealed with Bioglue® in the first group. B-TKF/HA graft covered with Bioglue® was applied to the second experimental groups and control group was kept empty. All samples were evaluated in terms of inflammation, fibrosis, new bone formation, healing score, necrosis and foreign body reaction histopathologically and histomorphometrically after sacrifice at the days of 7, 21 and 45. In 7 and 21 days, new bone formation values in the B-TKF/HA+Bioglue® group was significantly lower than the control group, whereas a significant difference was not found between Bioglue and control groups. In 21 and 45 days, healing scores in Bioglue® (21. day: $p<0,001$), (45. day: $p<0,05$) and control ($p<0,01$) groups were found to be significantly higher than B-TKF/HA+Bioglue®. In 45. day, foreign body reaction in B-TKF/HA+Bioglue® was found to be statistically higher than other groups. Application of Bioglue® as a barrier in non-critical size defects was found to be successful for preserving defect size and clot stabilization. However, using Bioglue® together with B-TKF/HA grafts was found to be useless except stabilization of graft particles in our model.

Key Words: Bioglue, barrier, biphasic calcium phosphate, rat, bone healing.

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No: 45337

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gelişimsel bozukluklar, enfeksiyon, travma veya patoloji sebebiyle yapılan girişimler sonucunda oluşan oral ve maksillofasiyal bölgedeki kemik defektlerinin yapısal ve fonksiyonel rekonstrüksiyonu modern cerrahinin en zor uğraş alanlarından biri olarak görülmektedir (1). Kemik defektlerinin bir kısmı kendiliğinden iyileşebilse de bazı durumlarda tamir ve şekillendirme mekanizmasının yetersiz kaldığı defektlerde kemik sınırlarının doğal anatomiye uygun olarak tekrardan oluşturulması amacıyla kemik greftleri veya kemik yerine geçen materyallerin kullanımı gündeme gelmiştir (2, 3).

Kemik greftleri arasında 'altın standart' olarak görülen otojen greftlerin birtakım dezavantajlarının olması, araştırmacıları başka materyaller bulmaya yöneltmiştir ancak bugüne kadar yapılan çalışmalarda ideal özelliklere sahip greft materyali bulunamamıştır (4). İdeal kemik greft materyali güçlü, kolay elde edilebilir, osteoindüktif, osteokondüktif, kolay uygulanabilir ve ucuz olmalıdır. Bunların yanısıra materyal, üzerine uygulanacak işlemleri tolere edebilmeli ve iyi bir taşıyıcı olmalıdır (5, 6). Kemik greftlerine alternatif olarak geliştirilen alloplastik materyallerin kullanımı son 20 yılda oldukça artmıştır. Limitsiz elde edilmeleri, kolay sterilize edilebilmeleri ve depolanabilmeleri gibi avantajları olan sentetik veya yarı sentetik materyallerin kullanım amacı, kemiğin materyal içine doğru gelişimine izin veren sağlam bir matris oluşumunu sağlamaktır. Bu materyaller alveol kemiği rekonstrüksiyonunda, periodontal defekt restorasyonunda veya diş çekimini takiben immediyat implantasyonda başarılı olarak kullanılmaktadır (7).

Defekt alanına, bağ dokusu ve epitel hücrelerinin göçünü engellemek amacıyla, yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu (YKR) tekniği için bariyer membranlar geliştirilmiştir. Bu membranlar sıklıkla greft materyalleri ile birlikte kullanılmakta ve kemik rejenerasyonunu arttırmaktadır. Bu teknikte, bariyer membranların iyileşme bölgesi üzerine yerleştirilmesi ile rejenerasyon potansiyeli olan hücrelerin defekt bölgesine doğru proliferasyonu sağlanarak doku iyileşmesi amaçlanır. Membranların diğer önemli bir rolü ise, defekt üzerinde çatı oluşturarak, alttaki pıhtının, hücrelerin ve kan damarlarının gelişimine yardımcı olmaktır. Ancak, membranların da bazı

dezavantajlarının olduğu bilinmekte ve bariyer amaçlı farklı materyallerin kullanılması için çalışmalar yapılmaktadır (8).

Kemik defektinde farklı uygulamalarla osseöz iyileşmenin en iyi şekilde nasıl sağlandığının belirlenmesi için deneysel çalışmalara gerek duyulmaktadır. Biz de çalışmamızda, Bioglue hidrojelinin ve alloplastik greft materyallerinden olan bifazik kalsiyum fosfat seramiklerinin deneklerde oluşturulan kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine olan kısa ve orta dönem etkilerini histopatolojik olarak incelemeyi amaçladık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. KEMİK

2.1.1. Kemik Dokusu

Kemik, mineralize organik matriks ile karakterize ve vücuttaki birçok fonksiyonu yerine getirebilmek için ileri derecede özelleşmiş bir bağ dokusudur. Yetişkin iskeletinin en önemli yapısını kemik dokusu oluşturmaktadır (9). İnsanların toplam kemik dokusu vücut ağırlığının % 20'sini teşkil eder (10). Kemik, yumuşak dokuları destekler, hayati önem taşıyan organları korur ve kan hücrelerinin üretildiği kemik iliğini barındırır (9). Kalsiyum, fosfor ve sodyum gibi mineralleri depolayarak gerektiğinde vücut sıvılarına salgılayan özel bir dokudur (11, 12). Ayrıca, kemik spontan rejenerasyon yapan nadir organlardan biridir (13-15).

Vücudun en sert yapısı olmasına rağmen, esnek ve elastik olma özelliğine sahiptir. Elastik olma özelliği sayesinde, belli sınırın altında gelen deforme edici kuvvetler ortadan kalktıktan sonra eski şekline dönebilir. Kemik yapısının aksiyal kuvvetler karşısında direnci yüksek iken, rotasyonel kuvvetler karşısında direnci daha azdır (10).

Kemikler sürekli olarak ya yenilenerek ya da yeniden şekillenerek vücudun mineral gereksinimine, mekanik strese, yaşlılık veya hastalığın neden olduğu kemik incelmesine ya da kırık iyileşmesine yanıt verirler. Çevreden gelen mekanik ve hormonal uyarılara göre kendini şekillendirebilen bir yapıya sahip olan kemik dokusu, mineralize olmuş hücreler arası temel madde ve özelleşmiş kemik hücrelerinden meydana gelir (16, 17).

2.1.2. Kimyasal Yapısı

Kemik dokusunun yaklaşık %65'i inorganik madde, %30'u organik matriks, %5'i ise su ve hücrelerden oluşmaktadır (18).

İnorganik madde, kemiğin sertliğini veren kalsiyum fosfat (%85), kalsiyum karbonat (%10) ile sodyum, potasyum, kalsiyum florid, magnezyum florid, hidroksit ve sülfat bileşiklerinden (%5) oluşur. Kalsiyum ve fosfor, hidroksiapatit adı verilen yassı plak şeklinde kristalleri oluşturur. Kalsiyum/fosfor oranı beslenme koşullarına göre farklılık göstermekle birlikte genellikle 1,3 ile 2,0 arasında değişir (19).

Organik maddeler kemiğin formunu verir ve inorganik tuzların şekillenmesini sağlar. Organik matriksin %90'dan fazlası az miktardaki proteoglikanla birlikte tip I kollajendir. Tip I kollajen derideki ve tendonlardaki kollajenle benzerlik gösterir (20). Kollajen lifler kemiğin kuvvet çizgileri boyunca uzanarak kemiğin gerilme direncini arttırlar. %10'luk kısmı ise, osteonektin, osteokalsin, osteopontin gibi matriks proteinleri ile fosfoproteinler, sialoprotein, büyüme faktörleri, sitokinler ve kan hücreleri gibi yapısal olmayan proteinlerden oluşur (19).

2.1.3. Morfolojik Özellikleri

İskeleti oluşturan kemikler görevlerine göre ve vücudun genel yapısına uygun olarak uzun (humerus, femur, tibia gibi), kısa (el bilek kemikleri) ve yassı (kafatası kemikleri) kemikler olarak sınıflandırılmıştır. Bu kemikler, dış görünüşlerinin yanı sıra iç şekillenmeleriyle de farklılık gösterir. Uzun kemiklerin şişkince olan uç kısımlarına epifiz adı verilir. Epifizler ince bir kompakt kemik tabakasıyla kaplı süngerimsi kemikten oluşmuştur. Uzun kemiklerin gövdesini oluşturan silindirik kısma ise diyafiz denir. Diyafizin büyük bir kısmı kompakt kemikle çevrelenmiştir ve kemik iliği boşluğuna bakan yüzeylerinde çok az süngerimsi kemik vardır. Büyüme çağındaki bir insanda epifiz ve diyafiz arasında, kıkırdak yapıda epifizyal plak vardır. Epifizyal plak ile diyafiz arasındaki geçiş yeri metafizdir. Kısa kemiklerin merkezindeki süngerimsi kemik tamamen kompakt kemikle çevrelenmiştir. Yassı kemikler ise, süngerimsi kemikten oluşmuştur. Kalınlığı değişebilen süngerimsi kemik, alt (iç) ve üst (dış) tarafta yoğun kompakt kemik tabakalarıyla örtülüdür. Kemik boşlukları iki tür kemik iliği ile doldurulmuştur. Bunlardan biri kan hücrelerinin oluşturduğu kırmızı kemik iliği, diğeri ise büyük bir bölümü yağ hücrelerinden oluşan sarı kemik iliğidir. Kemik dokusunun iç ve dış yüzeyleri, kemiği oluşturan hücrelerden ve bağ dokusundan

oluşan tabakalarla örtülüdür. Dış yüzeyi örten doku periost, iç yüzeyi örten doku ise endosteum adı verilen fibröz bir kılıf ile örtülüdür (9, 21, 22).

2.1.3.1. Periost

Periost, parlak, sarı-beyaz renkte, fibröz bir bağ dokusu membranı olup kemiklerin dış yüzeyini örter. Bu doku, kortikal kemik ve kendisine tutunan kas tendonları ve ligamentler arasındaki bağlantıyı sağlar. Uzun kemiklerin büyük bir kısmı periost ile örtülüyken, eklem yüzeylerinde ve tendon bağlantılarında periost bulunmaz. Periost, yapı ve işlev bakımından dış tabaka (stratum fibrosum) ve iç tabaka (stratum cambium) olarak ikiye ayrılır. Dış tabaka fibroblastlardan, kollajenden, elastin liflerden oluşur ve belirgin bir sinir ağı ile çok sayıda kılcıl damar içerir. Sharpey lifleri olarak adlandırılan kollajen lif demetleri kemiğin matriksi içine uzanarak periostu kemiğe bağlar. İç tabaka ise hücresel bakımdan zengindir. Yassı osteoprogenitör hücreler mitoz bölünme ile farklılaşarak osteoblast oluşturabilme potansiyeline sahiptirler. Bu hücreler kemik gelişimi ve onarımında etkinleşerek kemik yapımına katılırlar (17, 21, 22).

2.1.3.2. Endosteum

Uzun kemiklerin içindeki kemik iliği, süngerimsi kemiklerin içindeki boşluklar, Havers ve Volkmann kanallarının iç yüzeyleri endosteum ile kaplanmıştır. Endosteum, tek sıra halinde dizilmiş yassı osteoprogenitör hücreler ile az miktarda retiküler bağ dokusundan oluşan ince bir zardır. Osteojenik ve hematopoetik potansiyele sahip olan bu tabaka periost ile beraber kemik dokusunun beslenmesi, büyümesi ve onarımı için gerekli olan osteoblastların sağlanmasından sorumludur (17, 21, 22).

2.1.4. Kemik Tipleri

Kemikte yapılan mikroskopik incelemelerin sonucunda iki farklı kemik türü tespit edilmiştir. Kemik, primer (birincil) ve sekonder (ikincil, olgun) olmak üzere iki kısımda incelenir. Primer kemik embriyolojik gelişim sürecinde, kırık ve diğer onarım olaylarında ilk ortaya çıkan kemik türüdür. Sekonder kemiğin lameller halinde organize olmuş kollajen lif dağılımının tersine, primer kemik, rastgele ve değişik yönlere

dağılmış ince kollajen lifleri ile karakterizedir. Primer kemik geçicidir ve yetişkinlerde yerini sekonder kemiğe bırakır (23-25).

2.1.4.1. Primer Kemik

Embriyolojik gelişim sürecinde, kırık veya diğer onarım işlemlerinde ortaya çıkan kemik dokusu primer kemik olarak adlandırılır. İntrauterin hayatta şekillenir, giderek erişkindeki kemik şekli olan lamelli kemiğe dönüşür. Yapısında, dağınık halde dizilerek lif demetlerini oluşturan kollajen iplikler bulunur. Kollajen lifler ve osteoblastlar ile dōşeli düzensiz vasküler boşluklar içeren primer kemiğe sıklıkla ağsı ya da örgümsü kemik de denir. Mineral komponenti sekonder kemikten azdır, lamel içermez ve sekonder kemiğe göre daha fazla osteosit içerir. Doku hücrelerden oldukça zengindir. Yenidoğanda ve büyümekte olan uzun kemiklerin metafiz bölgeleri, kafatasındaki yassı kemik eklemleri, tendon ve ligamentlerin kemiğe doğrudan yapıştıkları alanlar ve alveol çıkıntıları haricinde primer kemik 3-4 yaşından sonra yerini lameller kemiğe bırakır, yeniden yapılanma ile kortikal veya süngerimsi kemiğe dönüşür. Öte yandan primer kemik dokusuna, kırık onarımı, Paget hastalığı, hiperparatiroidizm gibi kemik yapımının hızlı olduğu patolojik durumlarda da rastlanır (9, 17, 26).

2.1.4.2. Sekonder Kemik

Sekonder kemik yetişkinlerde bulunan kemik dokusudur. Yapısında birbirine paralel ya da vasküler bir kanal etrafında dairesel olarak dizilmiş, 3-7 μm kalınlığında, düzenli kemik lamelleri bulunur. Her lamelde bulunan kollajen fibriller birbirine paraleldir, ancak komşu lamellerdeki fibrillere göre çapraz yönde ve spiraller yaparak seyredirler. Fibrillerin bu özel dizimleri sekonder kemiğe dayanıklılık kazandırır. Sekonder kemik dokularında hidroksilapatit (HA) kristallerinin çoğunlukla kollajen fibrillerin üzerinde konumlanması kemiğin sertliğini arttırmaktadır. İç içe geçmiş bu lameller, kemiğin uzun eksenine paralel olarak dizilen Haversian kanallarının etrafında bulunur. İçerisinde damar sinir paketi bulunan bu kanallar ve onları çevreleyen lamellere “Havers Sistemi” veya “Osteon” adı verilir. Kemik yüzeyine dik olarak konumlanan ve kemiğin iç ve dış yüzeylerinin birbirleriyle iletişimini sağlayan diğer kanal sistemine “Volkman Kanalları” adı verilir. Yeni kemik yapımı ve yıkımı döngüsü

primer kemikte sekonder kemiğe kıyasla çok daha hızlıdır. Bu nedenle primer kemiğin sekonder kemiğe göre birim alandaki osteosit sayısı dört kat daha fazladır (9, 21, 26). Sekonder kemik dokusu kortikal kemik ve süngerimsi kemik olmak üzere iki farklı komponente sahiptir.

- **Kortikal Kemik**

Kompakt veya lameller kemik olarak da adlandırılan kortikal kemik, yassı kemiklerin iç ve dış tabakaları ile uzun kemiklerin dış yüzünü oluşturur. Erişkin insan iskeletinin yaklaşık %80'i kortikal kemikten oluşur. Kompakt kemiğin özelliği matriksin lameller denilen tabakalar halinde düzenlenmiş olmasıdır. Bu yapılar, içinde osteositler ya da kemik hücreleri bulunan, lakün denilen boşluklar içeren, kemik dokusunun ince plaklarıdır. Kortikal kemiğin ana yapısı "Haversian sistem" olarak da adlandırılan osteondur. Osteonlar, kemiğin uzun eksenine ve birbirine paralel seyreden nörovasküler kanaldan ve bu kanalı ortak bir merkeze bağlı halkalar halinde çevreleyen kemik lamellerinden oluşur. Havers kanallarının duvarları, osteoprogenitör hücre ve osteoblastlarla çevrilidir. Her sistemin lamelleri dıştan içe doğru birbiri ardına oluşur, bu nedenle genç sistemlerin kanalları daha büyüktür. Olgun Havers sistemlerinde en yeni oluşan lamel merkezi kanala en yakın olanıdır. Bir osteonun merkez kanalını komşu osteonun merkez kanalına ya da ilik boşluğuna bağlayan ve kemiğin uzun eksenine dik veya oblik yönde seyreden kanallara Volkmann kanalları adı verilir. Periosttan ve endosteumdan gelen kan damarları bu kanallar aracılığı ile Havers sistemi ile ilişki kurar, böylece kompakt kemiğin tüm kısımlarına kan damarları ulaşmış olur (17, 22, 26, 27).

- **Süngerimsi Kemik**

Kansellöz kemik, diğer adlarıyla süngerimsi, spongiyöz ya da trabeküler kemik, ilik boşluğunu çevreleyen ve birbirine bağlanarak üç boyutlu ağ oluşturan düzensiz kemik trabeküllerinden oluşmuştur. Kısa ve uzun kemiklerin metafiz ve epifizlerinin iç kısımları ve yassı kemiklerin iç yüzlerinde bulunur. Trabeküller kan damarları içermeyen ince, şekilsiz kemik alanlarıdır. Birkaç sıra halinde uzunlamasına seyreden kemik lamellerinden oluşmuşlardır. Trabeküllerin yerleşim düzeni organın fonksiyonuna ve dış etkenlere bağlı olarak değişebilir. Kompakt kemik dokusu ile aynı kemik matriksine sahiptir ancak kütleli olarak daha hafiftir ve Havers ile Volkmann

kanalları çok nadir olarak bulunur. Lamellerin içindeki osteositlerin beslenmesi, trabeküllerin içini döşeyen endosteumdan difüzyon yolu ile sağlanır (17, 22, 26, 27).

2.1.5. Kemik Dokusunun Hücresel Elemanları

2.1.5.1. Osteoprogenitör Hücreler

Osteoprogenitör hücreler bağ dokusu mezenkiminden kaynaklanan, farklılaşmamış, çok potansiyelli kök hücrelerdir. Olgun kemiklerde inaktif durumda bulunurlar. Kemik gelişimi sırasında, kırık iyileşmesi ya da herhangi bir nedene bağlı kemik yapımı uyarıldığında bu hücreler aktif hale geçerek çoğalırlar ve osteoblastlara dönüşürler (11, 16, 22).

2.1.5.2. Osteoblastlar

Osteoblastlar, kemik dokusunun yüzeyinde bulunan, periostun iç yüzeyinden ya da komşu osteoprogenitör hücrelerin mezenkimal dokularından farklılaşan kemik yapıcı hücrelerdir (17).

Osteoblastlar osteoid adı verilen yeni kemik matriksinin organik bileşenlerinin (Tip I kollajen, proteoglikanlar ve glikoproteinler) sentezinden sorumludurlar. Organik matriksin komponentlerinin sentezlenmesi ve matriks mineralizasyonunun kontrol edilmesi öncelikli görevleri arasındadır. Osteoid madde kalsifiye değildir. Yeni oluşmuş kemik matriksi herhangi bir mineral içermez ancak birikiminden hemen sonra hızla mineralizasyona gider. Ayrıca osteoblastlar inorganik bileşenlerin organik matriks içerisine çökelmesini de sağlarlar (11, 16, 17, 22, 28).

Osteoblastlar aktif olarak matriks sentezi ile uğraşırken kübik şekilden prizmatığe kadar değişen farklı şekillere sahip olabilirler. Osteoblastlar bazofilik özellikte sitoplazmaya sahiptir, ancak üretim işlevleri azaldığında, yassılaşırlar ve bazofilik özellikleri azalmaya başlar (29).

Yeni aktif kemik oluşumu durduğunda, osteoblastların aktiviteleri önce yavaşlar sonra durur ve sonunda osteosit haline geçerler. Osteoblastların bölünme özellikleri yoktur (28).

2.1.5.3. Osteositler

Osteositler kemiğin ekstrasellüler matriksinin varlığını sürdüren, osteoblastlardan farklılaşan hücrelerdir. Osteositler lakün denen lameller arasındaki küçük boşlukları işgal eden hücrelerdir. Kanalikül denen küçük kanallar lameller boyunca ilerler ve komşu lakünleri birbirine bağlar. Besin maddeleri de Havers kanalı içindeki bitişik kan damarlarından gelerek kanalikül boyunca lakün içerisine yayılır. Bir osteositin ömrü besin difüzyonu sürecine, kemik matriksinin ömrü de osteositlere bağlıdır. Osteositler damarlanması devam ettiği sürece canlı kalabilirler (27, 30).

2.1.5.4. Osteoklastlar

Osteoklastlar hormonal ve hüresel mekanizmaların kontrolünde rol alan, çok çekirdekli, çok büyük ve hareket edebilen hücreler olup, kemik iliğindeki osteoklast progenitör yola ayrılan monosit-makrofaj progenitör hücrelerden meydana gelmektedir. İnterlökin-1, 3, 6 ve 11, TNF- α ve TGF- β 'nin osteoklast oluşumunu etkileyen faktörler olduğu düşünülmektedir (31). Osteoklastların öncül progenitör hücreleri monositlerdir. Monositler kemik iliğinin stromal hücreleri ve osteoblastlar tarafından düzenlenen bir işlemle yaklaşık 30 çekirdekten meydana gelen osteoklastları oluşturmak için birleşirler ve kan dolaşımı vasıtasıyla kemiğe ulaşırlar. Osteoklastlar hedef kemik matriksine bağlandıktan sonra, kemik rezorpsiyonu için gerekli olan korunmuş bir asidik çevre meydana getirirler. Kemik rezorpsiyonu önce adenozin trifosfat aracılığı ile düzenlenen asidik bir ortamda inorganik kemik bileşenlerinin ayrılmasını, takiben de katepsin K denen bir lizozomal proteaz ile organik bileşenlerin enzimatik yıkımını içermektedir (32, 33, 34).

Osteoklastlar, kemiğin rezorpsiyonu, yeniden şekillenmesi ve tamirinin olduğu yerlerde kemik yüzeyi boyunca bulunur. Temel görevi yeniden şekillenme sırasında trabeküllerin yüzeylerinde ya da kompakt kısımların iç yüzeylerinde, Howship lakünleri denilen, sığ oluklarda yerleşerek kemiği rezorbe etmektir (16, 22, 28, 35, 36).

2.1.6. Kemik Oluşumunun ve Gelişiminin Evreleri

Kemik iki şekilde meydana gelmektedir. Bunlar intramembranöz ve endokondral kemikleşmedir. İntramembranöz kemikleşme mezenşimal bağ dokusunun, endokondral kemikleşme ise kıkırdak dokunun katılımıyla gerçekleşmektedir. Yassı kemiklerin çoğunda intramembranöz kemikleşme, uzun ve kısa kemiklerde ise genellikle endokondral kemikleşme görülür. Her iki kemikleşme çeşidinde de ortaya çıkan ilk kemik primer kemiktir ve daha sonra yerini sekonder kemiğe bırakır. Kemik büyümesi esnasında primer kemik alanları, rezorbsiyon alanları ve sekonder kemik alanları birarada görülür. Bu sayede kemik yapımı ve yeniden şekillenme meydana gelir. Yeniden şekillenme ve kemik yapımı büyüyen kemiklerde daha hızlı, yetişkinlerde daha yavaş olarak hayat boyu devam eder (31, 37).

2.1.6.1. Endokondral Kemikleşme

İskelet sisteminin büyük bir bölümü endokondral kemikleşme ile oluşur. Ekstremiteler kemikleri, omurga vertebraları ve pelvis kemikleri hiyalin kıkırdak modelinden köken almaktadır. İntramembranöz kemikleşmede olduğu gibi endokondral kemikleşme sürecinde de primer kemikleşme merkezi oluşur. İntramembranöz kemikleşmeden farklı olarak bu kemikleşme merkezi, tip-II kollajen içeren, ekstraselüler matriksi depolayıp çoğalabilen kondrositlerden köken alır (38). Gelişen uzun kemiklerde kemikleşme merkezi ilk olarak kemiğin orta bölümünde yani diyafiz kısmında görülür ve buraya primer kemikleşme merkezi adı verilir. Bunu kemiğin her iki uç bölümü olan epifizde görülen sekonder kemikleşme merkezi izler. Uzun kemiklerde, diyafiz ve epifizdeki kıkırdağın yerini epifiz plağı alır. Epifiz plağı bölgesinde kıkırdak doku çoğalmaya devam ederek kemiğin boyuna uzamasını sağlar. İskelet sisteminin olgunlaşmasıyla beraber kemik büyümesi durur. Kemikleşme merkezlerinin yayılması sonucunda, uzun kemiklerin serbest uçları hariç, tüm kıkırdak modelin yerini kemik dokusu alır (9, 16, 17, 22).

2.1.6.2. İntramembranöz Kemikleşme

İntramembranöz kemikleşmede kemik, kıkırdak bir model olmadan, mezenşimal bağ dokusundan gelişir. Frontal ve pariyetal kemiklerin tamamı ile oksipital ve temporal

kemikler, mandibula ve maksillanın bazı kısımları intramembranöz kemikleşme ile meydana gelir. İntramembranöz kemikleşmenin kısa kemiklerin büyümesinde ve uzun kemiklerin kalınlaşmasında da rolü vardır (31).

Gelişmekte olan kafatası kemiklerinin lateral kesimlerinde mezenkimal hücrelerin yoğunlaşmasıyla kemik oluşumu başlar. Mezenkimal hücrelerden farklılaşan osteoblastlar osteoid madde sentezini ve salgılanmasını gerçekleştirerek kemik matriksi üretirler. Mineralizasyonun artmasıyla bu matriks içindeki lakünalarda gömülü kalan osteoblastlar osteositlere dönüşürler. Devamlı kemik birikimi ile kemikleşme merkezleri işınsal olarak yayılıp birbirleriyle kaynaşır ve suture hattını oluştururlar (16, 17, 22).

2.1.7. Kemik Büyümesi

Kemiğin büyümesinde iki temel mekanizma vardır. Bunlardan ilki, büyüme hormonunun etkisiyle uzun kemiklerin epifizlerinin, kıkırdak bölgelerinde boyca uzaması ve yeni oluşan kıkırdak dokunun kemik dokuya dönüşmesiyle büyümenin gerçekleştiği durumdur. Ergenlik döneminin sonlarına doğru, epifizler arasında kemik kaynaşması gerçekleşir ve kemik boyunda daha fazla uzama beklenmez. İkinci mekanizma ise, periosteum tabakasında bulunan osteoblastların, eski kemik yüzeyinde yeni kemik depolamasıdır. Bir yandan osteoklastlar kemik dokusunu ortadan kaldırırken diğer yandan kemik depolaması gerçekleşir. Depolanma hızı yıkım hızından fazla olduğunda kemik kalınlığı artar. Özellikle intramembranöz kemikleşmenin görüldüğü bölgelerde, büyüme hormonunun osteoblastlar üzerindeki uyarıcı etkisiyle, kemikler yaşam boyu kalınlaşır (11, 22).

2.1.7.1. Şekillenme ve Yeniden Şekillenme

Kemik yapımı intrauterin hayatta başlar ve iskeletin olgunlaşması tamamlanıncaya kadar devam eder. Kemik, oluşumunu tamamladıktan sonra şekillenir (modeling) ve daha sonra mekanik ihtiyaçlara göre yaşam boyu yeniden şekil alır (remodeling) (28, 35, 36, 39).

Yeniden şekillenme, yük taşıma kapasitesi az olan primer kemiğin yük direnci yüksek olan sekonder kemik ile yer değiştirmesi sürecidir. Hemostazın devamlılığı ve kemik tamiri için gerekli olan yeniden şekillenme mekanizması aktivasyon,

rezorpsiyon, geri dönüşüm, formasyon fazlarından oluşmaktadır (Tablo 2-1) (16, 39, 40).

Tablo 2-1: Yeniden Şekillenme Evreleri

I. Aktivasyon Fazı	II. Rezorpsiyon Fazı	III. Geri dönüşüm Fazı	IV. Formasyon Fazı
<ul style="list-style-type: none"> • Osteoklast öncü hücrelerinin toplanması • Hücrelerin birleşmesi ve osteoklastlara farklılaşması • Osteoklastların göçü ve kemik yüzeyine bağlanması 	<ul style="list-style-type: none"> • Osteoklastların rezorpsiyona başlaması • Rezorpsiyonun devamı • Rezorpsiyonun sonlanması 	<ul style="list-style-type: none"> • Osteoklastların kemik yüzeyinden uzaklaşması • Osteoblast öncü hücrelerinin toplanması • Öncü hücrelerin çoğalması, göçü ve farklılaşması 	<ul style="list-style-type: none"> • Öncü hücrelerin matriks üretimine başlaması • Matriks mineralizasyonu • Mineral ve matriksin olgunlaşması

2.1.8. Kırık İyileşmesi

Dışarıdan gelen kuvvetlerin etkisiyle kemiğin anatomik bütünlüğünün bozulmasına kırık denir. Fizyolojik reaksiyonlar, bozulan kemik bütünlüğünün yeniden sağlanmasına yöneliktir. Kemik, skar dokusu oluşturmaz ve yeniden yapılanmayla iyileşir. Kemik iyileşmesi, kırık olduğu anda başlar, düzenli kemik doku ile kırık uçları birleşinceye kadar devam eder (41). Kırıklar, primer ve sekonder olmak üzere iki şekilde iyileşirler.

Primer (doğrudan) kırık iyileşmesi, kırık segmentlerinin tam olarak karşı karşıya gelmesi ile mekanik stabilizasyonun sağlandığı durumdaki iyileşmedir. Kendi içinde kontakt iyileşme ve aralıklı iyileşme olarak ikiye ayrılmaktadır (27, 28).

Kontakt iyileşme (birincil kemik iyileşmesi), kırık fragmanları arasında tam bir temas sağlayarak (rijit internal fiksasyon), herhangi bir hücresel ya da vasküler gelişime izin vermeyecek şekilde kırığın iyileşmesidir. Belirli bir dış kallus oluşmadan sadece iç kallusla devam eden temas iyileşmesi olarak da tariflenebilir (27, 28).

Aralıklı iyileşme (ikincil kemik iyileşmesi, gap iyileşmesi) kırık fragmanlar arasında 150-200 μm 'den fazla boşluk kaldığı durumlarda görülür. Osteoblastlar, osteoklastik rezorpsiyon olmadan, kırık uçlarda osteoid madde biriktirir. Genellikle 4-6 hafta sürer (27, 28).

Sekonder (dolaylı) kırık iyileşmesi, kırık parçaları arasında mekanik stabilizasyonun sağlanamadığı durumlarda görülen iyileşme şeklidir. Histolojik olarak iyileşme süresindeki evreler birbirinden zaman olarak kesin sınırlarla ayrılamaz ve her evre daima kendinden bir önceki veya bir sonraki evre içinde yer almaktadır (42).

Cruess ve Dumont' a göre sekonder kırık iyileşmesinin 3 evresi vardır (43):

- 1- Enflamasyon (Yangı) fazı,
- 2- Reperasyon (Onarım) fazı,
- 3- Remodeling (Yeniden Şekillenme) fazı

En uzun evre “yeniden şekillenme”, en kısa evre ise “yangı” evresidir (43).

2.1.8.1. Enflamasyon (Yangı) Fazı

Bir kemik kırığı; matrikste hasara, hücrelerde ölüme, periosteum ve endosteumda yırtıklara ve kırık kemik uçlarında yer değişimine neden olur. Tüm doku travmalarında, dolayısıyla kırıklarda, ilk verilen yanıt “enflamasyon” dur. Enflamasyon fazında, vazokonstriksiyon, vazodilatasyon, hemostaz, fagositoz, yeniden damarlanma ve sonrasında granülasyon dokusu meydana gelir. Kemikteki hasara bağlı olarak, kırık uçlarını çevreleyen periost, yumuşak doku ve damarlar yırtılır. Kanın pıhtılaşması ile hematoma oluşur. Oluşan bu hematoma ile, ilk aşamada kırık uçları arasında geçici bir hareketsizlik sağlanmış olur. Kırık iyileşmesinde kritik öneme sahip olan hematoma, hücresel faaliyetlerin başlamasını sağlayan sinyal verici moleküller içerir. Açık kırıklarda, hematoma'nın dışarıya boşalması ile kırık iyileşmesi gecikir veya hiç olmaz (17, 43, 44).

Kırık uçlarındaki damarsızlaşma nedeniyle hücre ölümleri gerçekleşir. Kırık aralığında biriken ölü kemik hücreleri, nekrotik doku artıkları ve yabancı cisimler iltihapsal bir yanıt oluşturur. Bunu takiben, dokudaki mast hücreleri ve bazofillerden salınan histaminin etkisiyle arteriol, venül ve kapillerlerde vazodilatasyon görülür. Vazodilatasyonla birlikte kapiller geçirgenlik artar ve kırık bölgesinde eksüda birikir. Bölgeye ilk olarak polimorfonükleer lökositler daha sonra nötrofiller, makrofajlar ve lenfositler göç ederek enflamasyon fazında rol alırlar. Kırık bölgesindeki hematoma,

organize olarak fibrinden zengin bir yapıya dönüşür. Nekrotik dokular ortamdaki uzaklaştırılır ve kaybolan hematoma yerini granülasyon dokusu olarak kırık aralığını doldurur. Enflamasyon fazının süresi 1-5 gündür (17, 28, 36, 39, 43, 44).

2.1.8.2. Reperasyon (Onarım) Fazı

Onarım evresi kırık iyileşmesindeki en önemli fazdır. İlk basamağı hematoma organize olmasıdır. Lokal aracılı mekanizmalarla farklılaşan öncü hücreler, yeni damar, fibroblast, hücreler arası madde, destek hücreleri ve diğer hücreleri oluşturmak üzere çoğalmaya başlarlar. Kırık oluşumunu takiben birkaç gün içinde başlar ve haftalar bazen aylar boyunca devam eder. Kırık aralığındaki hematoma organize olması ve granülasyon dokusunun oluşmasıyla tamir başlar. Granülasyon dokusunun hematoma yerini alması ve fragmanlar arası bağ dokusuna dönüşmesiyle kondrojenik ve osteojenik hücrelerin gelişimine imkan sağlanır. Fibroblast, kondroblast ve osteoblastların salgıladıkları kollajen, glikozaminoglikanlar ve osteoid madde primer kallusa oluşturur. Osteoid yapının mineralize olmasıyla sert kallus oluşur ve böylece kırık parçaların harekete direnci artar (22, 40, 43, 44).

2.1.8.3. Remodelasyon Fazı

Kemiğin şekillenmesi en uzun evre olup, aylar hatta yıllar sürebilir. Bu evre, güçlü ama düzensiz sert kallusun, normal veya normale yakın sertlikteki daha düzenli lameller kemiğe dönüşmesiyle başlar. İnsanlarda bu faz, kırığın tipine göre genellikle 4-16 hafta sürer. Bu fazda, örgü kemik kademeli olarak lameller kemik ve kemik iliği ile yer değiştirir. Daha sonra osteoklastik aktivite ile rezorbe olan örgü kemiğin yerini, sekonder osteonların yapılması ile yeni kemik almaya başlar. Mekanik strese maruz kalan kemiğin konveks yüzü pozitif, konkav yüzü ise negatif elektrikle yüklendiği için, konveks yüzeyde rezorpsiyon meydana gelirken, konkav yüzeyde kemikleşme görülür. Bu sayede, kemik kırık öncesi orjinal şeklini alır (40, 43, 45).

2.1.9. Kemik İyileşmesinde Karşılaşılabilecek Sorunlar

Ağız kavitesi vücudun giriş kapılarından birisi olup dış ortamla doğrudan temas halinde olan önemli bir yapıdır. Bu bölgede oluşacak defektler, hastalarda fonksiyon, fonasyon, estetik ve sosyal açıdan problemler oluşturabilmektedir (46).

Oral mukozanın destek dokusu olan kemik, oral mukozadan farklı bir onarım kapasitesine sahiptir. İki doku arasındaki iyileşme kapasitesi farkı, yara iyileşmesini olumsuz etkilemektedir. Kemik defektlerinin iyileşmesi sırasında karşılaşılan en önemli sorun, kemik iyileşmesinin istendiği biçimde gerçekleşmemesidir. İyileşme sürecini engelleyen faktörlerden biri mevcut kemik boşluğunun bağ dokusu hücreleri tarafından doldurulmasıdır (47-51).

Bir kemik defektindeki iyileşmenin ilk aşaması pıhtı oluşumudur. Oluşan bu pıhtı, birkaç haftada osteojenik özelliği olan granülasyon dokusuna, daha sonra da yeni kemik dokusuna dönüşür. İyileşmenin tamamlanması ise endost veya kemik iliğinden farklılaşan osteoblastlarla sağlanır. İyileşme sürecinin tam olmadığı çok geniş defektlerde, boşluğun skatrisyel bağ dokusu ile dolduğu ve kemik iyileşmesinin yıllar sonra bile tam olarak sağlanmadığı, özellikle; hem iç hem de dış korteksin ortadan kalktığı büyük kemik defektlerinde kavitenin fibrotik doku ile dolduğu deneysel olarak gösterilmiştir (51).

Spontan olarak iyileşmeye bırakılan kemik defektlerinde, kavitenin fibröz bağ dokusu ile dolması ve yeni kemik yapımında görülen azalma, ideal greft materyallerine duyulan gereksinimi arttırmaktadır. Büyük kemik defektleri söz konusu olduğunda kemik konturlarının normal morfolojisinin korunması ve iyileşmenin bağ dokusu göçü olmadan sağlanması önemlidir (52).

2.2. BİYOMATERYALLER

Canlı organizmada herhangi bir etken sonucu meydana gelen eksikliğin giderilmesinde ve fonksiyon kazandırılmasında ya da bu eksikliğin organizma tarafından düzenli ve hızlı bir şekilde tamamlanmasına yardımcı olan tüm maddelere

‘Biyomateryal’ adı verilir. Biyomateryal ayrıca biyolojik sistemler ile etkileşmesi amaçlanan tıbbi bir araçta kullanılan cansız bir materyal olarak da tanımlanır. İdeal bir biyomateryali elde etmek için uzun yıllar çalışmalar yapılmış ve henüz kaybedilen dokuların tekrar elde edilmesi veya kemik defektlerinin tamamen dolmasını sağlayabilecek özelliklere sahip ideal bir materyal bulunamamıştır (53). Heimke (54); biyomateryalleri, biyoyumluluklarına göre 3 sınıfa ayırmıştır.

1. Biyotolere materyaller
2. Biyoinert materyaller
3. Biyoaktif materyaller

Biyotolere materyaller, kollajenden zengin ana tabakanın formasyonu ve öncül hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasıyla konakçı doku etrafında irritasyona sebep olur. Biyoinert materyaller, hücre sel cevap düzeyinde çevre dokularda hiçbir yan etki göstermez. Sonuç olarak hiçbir enzim reaksiyonu görülmez ve implant bireyin immün sistemi karşısında kamufle olmuştur. Yabancı cisim reaksiyonu meydana gelmez ve kontakt osteogenezisi oluşur. Biyoaktif materyallerde ise çevredeki kemikten başlayarak kollajen ve hidroksilapatitin implant yüzeyine apozisyonu görülür ve kimyasal birleşme meydana gelir (54).

2.2.1. Biyomateryallerin İçinde Buldukları Doku ya da Organ İle İlişkilerinin Değerlendirilmesi

2.2.1.1. Biyoyumluluk

Biyolojik ortamda sürekli kalması planlanan materyalin yakın ve uzak dokularda kısa ve uzun süreli etkilerinin olması beklenmektedir. Bu etkilerin organizma için potansiyel risk faktörü taşımaması gerekir. Biyokompatibilite, materyalin girdiği ortamdaki biyolojik uyumluluğu ve ilgili organa ait kesintiye uğramış fonksiyonları sağlayabilme özelliği olarak tanımlanır (53).

2.2.1.2. Biyofonksiyonalite

Yerleştirildiği ortamdaki fonksiyon sırasında, biyomateryalin karşılaştığı kuvvetler, yapısında bazı değişikliklere neden olur. Bu durumda materyalin biyofonksiyonalite özelliğinden söz edilmektedir (53).

2.2.2. Biyomateryaller İle Kemik Şekillenmesi

Greft terimi, doku ve organlardaki kazanılmış veya konjenital defektlerin rekonstrüksiyonunda, yer tutucu özelliğinin yanı sıra, kemik yapımını uyaran tüm materyaller için kullanılır (55).

Günümüze kadar kemik fizyolojisi, histolojisi ve patolojisi hakkında edindiğimiz bilgiler ışığında, çeşitli nedenler ile kaybolan kemiğin rejenerasyon ile iyileşmesi ideal iyileşme olarak kabul edilmektedir. Greft uygulamasında amaç, normal şartlarda “tamir iyileşmesi” gösterecek olan kemik dokusunun, rejenerasyon iyileşmesi göstermesini sağlamak, böylece hem doku bütünlüğü hem de fonksiyonuna en fazla katkıyı sağlamaktadır (56, 57).

Kemik greft materyalleri üç farklı mekanizma ile kemik oluşumu sağlarlar (56).

1. Osteogenez,
2. Osteokondüksiyon,
3. Osteoindüksiyon

Osteogenez, osteoblastların ve prekürsör hücrelerin greft materyali ile birlikte defekt bölgesine transplante edildiği durumlarda gerçekleşir. Osteojenik greftler, hem osteoindüktif hem de osteokondüktif özellik taşırlar. Osteojenik karaktere sahip tek greft materyali, otojen kemiktir (58, 59).

Osteokondüksiyon, prekürsör hücrelerin ve osteoblastların, greft materyalinin içerisine doğru büyümesi için, greftin bir çatı görevi gördüğü durumlarda gerçekleşir. Eğer kullanılan materyal dereceli olarak rezorbe oluyorsa yerini kemik dokusuna bırakır. Rezorbe olmayan materyaller remodeling sırasında yer değiştirmezler. Osteokondüktif greft maddelerine hidroksilapatit greft materyalleri örnek olarak gösterilebilir (58, 59).

Osteoindüksiyon, greftteki kemik indükleyici proteinlerinin veya kemik morfojenik proteinlerinin etkisiyle mezenşimal hücrelerin osteoprogenitör hücrelere dönüşümü ile tanımlanır. Bir veya daha fazla ajanın etkisi ile farklılaşmamış lokal bağ dokusu hücrelerinin farklılaşması sonucunda yeni kemik oluşumu başlar (53, 60, 61).

2.2.3. Greftin İyileşmesi

İyileşme döneminde greft dokusu, ya konak kemik dokusunun fonksiyonel bir parçası haline gelir ya da birleşmede başarısız olarak kademe kademe kaybolur. Greftin, konak kemik dokusunun fonksiyonel bir parçası olması için birbirini takip eden birleşme, yer değiştirme, şekillenme ve bölgesel hızlanma fenomeni olmak üzere 4 iyileşme fazının başarıyla tamamlanması gerekmektedir. Bu olay genellikle büyük greftlerde küçük greftlere göre daha uzun zaman almaktadır. Bu fazların herhangi birinde oluşan başarısızlık, greftin başarısızlığı ile sonuçlanır (62).

2.2.3.1. Birleşme

Grefti çevreleyen sert ve yumuşak konak doku tabakası canlı ve iyi bir kanlanmaya sahip olmalıdır. Greftleme operasyonlarını takip eden haftalarda konak tabaka, interstisyel hücreleri, yeni damarları ve yeni kemik oluşumunu üstlenen osteoblastları üretir. Tüm bu elemanlar, greft ve yeni oluşan kemik kompleksini oluşturur. Sement çizgileri, greft ve yeni oluşan kemiği bir arada tutarak, konak kemiğe mekanik destek sağlamaktadır. Bu işlemler, hücresel proliferasyona, hücresel göçe, farklılaşmaya, fonksiyona, genetik duruma, adezyona ve apoptozise ihtiyaç duyan birçok non-mekanik faktöre bağlıdır (62).

2.2.3.2. Yer değiştirme

Birleşme fazı biterken, greft–kemik doku kompleksinin lameller kemik ile yer değiştirmesi gerçekleşir. Tam yer değiştirme bir yıldan daha fazla zaman alabilir (62).

2.2.3.3. Şekillenme (Modeling)

Daha büyük miktarlarda gerilim verildiğinde modeling işlemiyle greft-kemik kompleksi internal ve eksternal olarak şekillenir. Bu işlem, yeni lameller kemik parçalarını bölgesel mekanik gereksinimlere göre dizer. Bu dizim işlemiyle, kompleksin trabekül ve korteksini şekillendirir. Bu fazın tamamlanması bir yıldan fazla zaman alabilir ve yetişkinlerde, gençlerden daha uzun sürebilir (62).

2.2.3.4. Bölgesel Hızlanma Fenomeni

Cerrahi travma sonrası konak yatağında artan reaksiyon, bölgesel hızlanma fenomeni (BHF) olarak adlandırılır. BHF, greftte görülen iyileşme fazlarının hepsini hızlandırmaktadır. Cerrahi işlem sırasında başlar ve 2 yıldan daha fazla sürebilir. Başarısız olan durumlar iyileşme hızını düşürür ve enfeksiyona olan direnci azaltır. Bu başarısızlık sinirsel dağılımın olmadığı bölgelerde ve bazı kronik hastalıklarda (tip I diyabet, pulmoner yetersizlik, konjestif kalp yetmezliği, hepatik siroz) görülebilir. Bazı non-steroid antiinflamatuvar ajanlar BHF'yi baskılayabilir, greft iyileşmesinin yer değiştirme ve şekillenme fazlarını yavaşlatabilir (62).

2.2.4. Biyomateryallerin Taşınması Gereken Özellikler

Biyomateryal olarak kullanılacak maddelerin bir takım temel özellikler taşıması gerekir (53). Bunlar;

- ~ Biyolojik uygunluğu olan yani spesifik ve non spesifik immün mekanizmaları harekete geçirmeyecek, immün sistem tarafından mümkün olduğu kadar tolere edilebilen bir madde olmalıdır.
- ~ Osteokondüktif ve osteoindüktif olmalıdır.
- ~ Yeterli stabilite ve desteği sağlamalıdır.
- ~ Karsinojenik ve toksik olmamalıdır.
- ~ Kimyasal olarak bozulmadan sterilize edilebilmelidir.
- ~ Enfeksiyona karşı dirençli olmalıdır.
- ~ Çevre dokuları etkileyebilecek renk özellikleri olmamalıdır.
- ~ Uygulaması kolay olmalı, uygulama esnasında minimum travmaya neden olmalıdır.
- ~ Kırılmaya ve bükülmeye karşı dirençli olmalı, elastik olmalı, elastisitesi uygulandığı dokuya yakın olmalı, greft ve doku arasındaki bağlantıyı geliştirmek ve estetiği sağlayabilmek için kolaylıkla bükülebilir olmalıdır.
- ~ İstenilen forma getirilebilmelidir.
- ~ Rezorbsiyona dirençli olmalıdır.
- ~ Uygulama hasta tarafından kabul edilebilir olmalıdır.
- ~ Uygulaması kesin sonuçlar vermelidir.

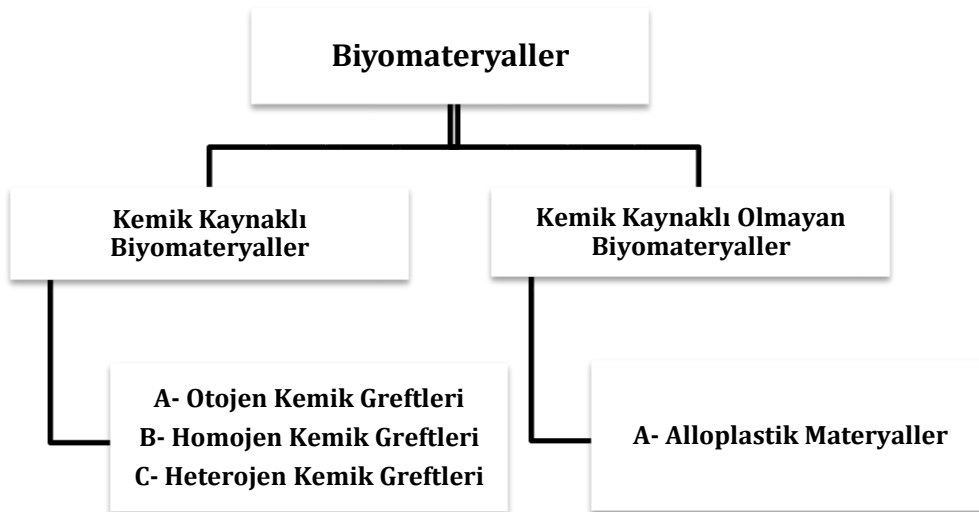
- ~ Başarısızlık durumunda kolaylıkla çıkartılabilmeli veya kesilebilmelidir.
- ~ Saklanması ve depolanması kolay olmalıdır.
- ~ Maliyeti düşük ve elde edilmesi kolay olmalıdır.

2.2.5. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Uygulanan Biyomateryallerin Klinik Uygulama Alanları

- Kist, gömük diş ve tümör rezeksiyonları gibi operasyonlardan sonra oluşan defektler
- Preprotetik operasyonlar
- Çene kırığı, oro-antral fistül gibi travmatik defektler
- Kemik içi implantların etrafında oluşan defektler
- Trafik kazaları veya tümör rezeksiyonları sonrasında görülen defektler
- Bazı osteomyelit olguları
- Dudak-damak yarığı gibi konjenital maksillofasiyal defektler
- Periodontal defektler (53).

2.2.6. Biyomateryal Çeşitleri

Biyomateryaller elde edildikleri dokulara göre sınıflandırılmıştır (Tablo 2-2) (53).



Tablo 2-2: Biyomateryallerin Sınıflandırılması (53).

2.2.6.1. Kemik Kaynaklı Biyomateryaller

Kemik kaynaklı biyomateryaller, konjenital deformitelerin, tümör cerrahisi veya travma sonucu oluşan kemik defektlerinin tedavisinde kullanılır. Organ veya doku grefti uygulamalarında transplante edilen materyaller immunolojik orijinlerine göre sınıflandırılmaktadır (53).

2.2.6.1.1. Otojen Kemik Grefti (Otogreft)

Otojen kemik greftleri, hastanın kendisinden alınan ve tüm kemik greftleri arasında osteojenik olarak etkili olan tek greft materyalidir. Oral ve maksillofasiyal cerrahide kist ve tümör operasyonları, konjenital damak yarıkları, dental implant uygulamaları ve alveolar yetersizlik durumlarında en sık otojen kemik greftleri kullanılmaktadır. Otojen kemik greftleri “altın standart” olarak kabul edilen kemik greftleridir (63-65).

Otojen kemik greftleri içeriklerine göre kansellöz, kortikal, kortikokansellöz olmak üzere üç tiptir. Yapılacak operasyona göre otojen kemik greft tipi önemlilik arz eder. Sağlamlık ve sert bir temel yapı istendiğinde kortikal tip kullanılırken, osteogenezisin daha çok arandığı ve sağlamlığın ikinci planda olduğu durumlarda kansellöz tip kullanılır. Kortikal tip otojen kemik greftlerinin aksine kansellöz tip, kemik iliği içerdiğinden dolayı osteogenezisi artırma yeteneğine sahiptir (66). Kortikal tipte önce osteoklastik aktivite sonrasında osteoblastik aktivite meydana gelirken kansellöz tipte durum bunun tam tersidir (67).

Otojen kemik greftlerinin avantajları canlı osteoblastlar ve ilikteki osteoprogenitör hücreler ile direkt osteogenez, kollajen matris ile osteokondüksiyon, kemik morfojenetik proteinleri ile osteoindüksiyon yapabilmeleridir (68). Ayrıca otojen kemik greftleri kısa sürede revaskülarizasyon gösterir, kişinin kendisinden alındığı için çapraz enfeksiyon ve immün reaksiyon riski yoktur (69).

Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılmak üzere otojen greftlerin elde edildiği bölgeler ağız içi ve ağız dışı olmak üzere ikiye ayrılır. Ağız içinde otojen kemik grefti

elde edilen bölgeler; mandibular simfizis, ramusun ön yüzü, tüber maksilla ve torus bölgeleri olarak sıralanabilir (64, 65). Ağız dışından elde edilen otojen greft bölgeleri ise; kranium, kaburgalar, iliak kemik, tibia ve fibuladır (64, 65).

Otojen kemik grefti, intramembranöz (kraniyal kemik, mandibula) veya endokondral kökenli (iliak, kostalar) olabilir. Intramembranöz tipteki kemik grefti ile defekt bölgesi doğrudan kemikleşerek iyileşmektedir. Endokondral tipteki kemik grefti ise, kırıldak oluşumu sonrasında kemikleşerek iyileşir. İntramembranöz kemik endokondral kemikten daha önce revaskülarize olur, rezorpsiyonu ise daha yavaştır (70).

2.2.6.1.2. Allojenik Kemik Greftleri (Allogreft, Homogreft)

Allogreftler, farklı genotipe sahip aynı tür bireylerden elde edilen, otojen greftlere alternatif olarak en sık kullanılan kemik greftleridir. Allogreftler, otojen greftlerin donör saha zararı ve sınırlı elde edilme gibi dezavantajlarını ortadan kaldırırlar. Allogreftler yaşayan insanlardan veya kadavralardan elde edilmekte ve kemik bankalarında saklanmaktadır (71).

Klinikte farklı özelliklerde allogreftler mevcuttur. Son yıllarda üzerinde en çok durulan tip demineralize kemik matriksidir. Bu greftte, antijenik etkiyi ortadan kaldırmak için uygulanan dondurma ve kurutma gibi işlemler uygulanmaz, bunun yerine kemik bankasından greft alındıktan sonra aseptik şartlarda antiviral işlemlere tabi tutulur. Bu kemik greftinde sterilizasyon işlemi uygulanmadığından kemik morfogenetik proteinleri ve dolayısıyla osteoindüktif etki korunmuş olur (72).

2.2.6.1.3. Ksenogreftler (Heterogreft)

Ksenogreftlerde, alıcı ile verici türü birbirinden farklıdır. At, sığır, mercan ve domuz sıklıkla greft kaynağı olarak kullanılır. Doğal hidroksilapatit, mercanın kalsiyum karbonat iskeletinden sentezlenir ve bu materyal yüksek derecede biyoyumludur. Son yıllarda özellikle sığır kaynaklı greftler üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır (53).

Ksenogreftlerde organik komponentleri uzaklaştırmak için greft materyali ısı işlemlerine tabi tutulmaktadır. Daha sonra geride kalan inorganik matriks sterilize edilerek kullanıma hazırlanır ve böylece greft materyalinin konakta immün cevap geliştirmesi engellenmiş olur. İnorganik ve proteinsiz olan bu yapı doymamış kalsiyum apatit kristallerinden oluşmaktadır (73).

Sığır kaynaklı kemik grefti, biyouyumlu ve osteokondüktif bir materyaldir. Sığır kaynaklı kemik grefti uygulamaları, son yıllarda sağlık konusunda önemli bir yer tutan, prionlarla bulaşan Deli Dana Hastalığını ve bunun insanlardaki varyasyonu olan Creutzfeldt-Jacob hastalığını gündeme getirmektedir. Bazı yazarlar, ksenogreft uygulamalarında bu riski sıfıra indirmek veya mümkün olan en düşük seviyede tutmak için bu hastalığın bulunmadığı ülkelerdeki firmalar tarafından üretilen greftlerin kullanılmasını önermektedir (74).

2.2.6.2. Kemik Kaynaklı Olmayan Biyomateryaller

2.2.6.2.1. Alloplastik Materyaller

Otogreftlerin sınırlı miktarda elde edilmesi, allogreftler ve ksenogreftlerin dezavantajlarından kaçınmak için son yıllarda biyouyumlu sentetik materyaller üretilmiştir. Tamamen sentetik olan alloplastlar, son yıllarda maksillofasiyal iskeletin onarımında sık kullanılan bir materyal haline gelmiştir (53, 75).

Otojen kemik greftleriyle karşılaştırıldığında, en belirgin avantajı donör sahaya ihtiyaç duyulmamasıdır. Ek bir operasyon alanı ve ilave anestezi süresi gerektirmez. Ayrıca, istenilen miktarda ve büyüklükte elde edilebilmektedirler (76-78).

Alloplastik materyallerin başarısı; kimyasal bileşimine, biyostabilitesine, fiziksel formuna, mekanik özelliklerine ve yerleştirilecek bölgeye bağlı olarak değişiklik gösterir. Genellikle alloplastlar iskelet sisteminin temel taşı olan karbon ve kalsiyum elementlerinden elde edilmiş olup, belli oranda osteokondüktif özelliğe sahiptirler. Bazı durumlarda, inflamasyon ve yabancı cisim reaksiyonuna neden olabilmektedirler (77). Buna ek olarak, greft bölgesine gelen mekanik yükler hücre büyümesinde ve farklılaşmasında büyük öneme sahiptir. Kemik greftinin stabilitesi yeterli oranda

sağlanmazsa, greft-kavite arasındaki mikrohareketlilik iyileşmenin fibröz doku ile tamamlanmasına ve kemik iyileşmesinde duraksamalara sebep olur (79).

2.2.6.2.1.1. Seramikler

2.2.6.2.1.1.1. Sentetik Hidroksilapatit

Hidroksilapatit (HA), $(C_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$ kemiğin primer inorganik doğal komponentidir. Kalsifiye iskeletin % 60-70'ini ve minenin % 98'ini oluşturur. Biyouyumludur, komşu sert ve yumuşak dokuya kolayca yapışır. Bu materyalin klinik kullanımı, greft tipinin fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlıdır. Poröz (mikro veya makro) ve poröz olmayan formları, rezorbe olan ve olmayan formları, blok ve partiküler formları fiziksel özelliklerini oluştururken; kalsiyum fosfat oranı, çevreleyen alanın pH'sı ve iyon değişimi kimyasal özellikleri ile ilgilidir (79).

Materyalin kristal yapısı, rezorbsiyon derecesini belirlemektedir. Geniş kristal partiküllerin rezorbe olması çok uzun zaman alır ve rezorbe olmayan HA olarak adlandırılır. Küçük boyutlu kristal HA ve amorf HA daha hızlı yıkıma uğramaktadır. Diğer yandan materyalin porlu granüler yapısı, greft içine doğru gelişecek vasküler infiltrasyonu belirlemektedir. 250-350 μm 'lik porların kemik büyümesi için ideal olduğu kabul edilmiştir. Fakat, porozite artışı ile sıkıştırıcı tarzda gelen kuvvetlere dayanıklılık azalmaktadır (79).

Seramik HA preparatları, *invivo* ortamlarda rezorbsiyona oldukça dirençli olup, yılda ortalama kütesinin % 1-2'sini kaybetmektedir (80). HA, fibroosseöz büyümeye izin vermez ve elastisite modülü kemikten daha yüksektir (81). HA, pek çok uygulamada başarılı sonuçlar vermiş olmasına karşın, rezorbsiyon hızının yeni kemik oluşum hızına oranla daha yavaş olduğu rapor edilmiştir. Rezorbsiyonu yavaş olduğu için de *invivo* ortamda uzun süre kalmakta ve bu durum bazı komplikasyonlara yol açmaktadır (82).

2.2.6.2.1.1.2. Trikalsiyum Fosfat (TKF)

TKF, bir kalsiyum fosfat formudur ve genellikle beta-trikalsiyum fosfat (β -TKF) şeklinde kullanılır. Materyal, kimyasal kompozisyonu ve kristal yapısıyla kemiğin

mineral yapısına benzerlik göstermektedir. Diğer greft materyalleriyle benzer iyileşme aşamalarını takip eder (83).

β -TKF, kemik grefti olarak bilinen en eski kalsiyum fosfat içeriğidir. 1920 yılında Albee ve Morrison, segmental kemik defektine β -TKF yerleştirildiğinde, kemik oranının arttığını bildirmiştir (84). Yapısal olarak porlu β -TKF'ın sıkıştırma ve gerilme kuvvetlerine direnci spongiöz kemiğe yakındır (85). β -TKF genellikle granüler form halinde kullanılmaktadır. Poröz granüler formda, erken dönemde fibrovasküler yapıların greftin içine doğru büyümesiyle stabilizasyon sağlanmaktadır. Bu özellik nedeniyle poröz form solid granüler forma oranla daha az migrasyon göstermektedir (86).

β -TKF'ın porlu yapısı spongiöz kemiğin trabeküler yapısını taklit etmektedir. Bu greftin yapısındaki küçük porlar; kemik şekillendiren hücrelerin, besinlerin, büyüme faktörlerinin, kapiller damarların ve resorpsiyon yapan fagositik hücrelerin araya girmesine izin verir. Tüm seramik yapıdaki materyaller gibi β -TKF da osteoindüktif özellik göstermemektedir (85, 86).

Son dönemlerde, HA'in fonksiyonunu ve rezorpsiyon oranını arttırmak için, diğer materyallerle kombinasyonu ya da modifikasyonu gündeme gelmiştir (79). Bu amaçla HA ile β -TKF kombine edilmiş ve **bifazik kalsiyum fosfat (BKF) seramikleri** elde edilmiştir (79).

β -trikalsiyum fosfat (β -TKF) ve HA, kemik dokusunun inorganik komponentine benzeyen ve çeşitli nedenlerle yok olmuş kemiğin telafisine yeni bir boyut getiren kristal yapıdaki biyoabsorbe olabilen ve biyouyumlu materyallerdir (85). β -TKF/HA osteokondüktiftir. Yavaş yıkıma uğrayan HA, ogmente edilen bölgeye mekanik destek ve hacim sağlarken, hızla yıkıma uğrayan TKF yeni kemik mineralizasyonu için kalsiyum kaynağı olarak görev almaktadır. Ayrıca, β -TKF/HA bileşiminin, 6-18 ay arasında değişen konak kemik ile yer değiştirme sürecinde bağ dokusu göçünü engellediği düşünülmektedir (87).

Bifazik kalsiyum fosfat seramikleri, diş hekimliği alanında, kemik ve furkasyon defektleri, alveolar kenar defektlerinin ogmentasyonu, diş çekim soketi koruma, sinüs tabanı yükseltme sırasında, intraoral/maksillofasiyal kemik defektlerinin ogmentasyonu

için tek başına kullanılabilceği gibi, otogreftlerle, büyüme faktörleri ya da trombosit zengin plazma (TZP) ile kombine halde de kullanılmaktadır (87).

2.2.6.2.1.1.3. Biyoaktif Cam

Biyoaktif cam, diş hekimliğinde restoratif amaçlı kullanılan cam iyonmer simanların yapısında da bulunan siliko-fosfat zincirlerinden oluşur. Bu materyalin kemikle kimyasal bağ oluşturma özelliği bulunmaktadır. Kalsiyum tuzu, sodyum tuzu ve silikondan oluşur. Uygulandığı zaman kollajen, büyüme faktörleri ve fibrine bağlanarak osteojenik hücrelerin ilerlemesini sağlayan poröz bir matriks oluşturur. Granül, blok ve çubuk şeklinde tipleri bulunmaktadır. Biyoaktif cam rezorbe olabilen ve olamayan şekillerde bulunabilir. Klinikte periodontal defekt onarımında kullanımı önerilmiştir. Diş kaybı sonrası alveoler sırt korunması amacıyla diş kökü formuna sahip biyoaktif camlar da kullanıma sunulmuştur (83).

2.2.6.2.1.2. Kalsiyum Karbonat

Mercan kaynaklıdır. Bu materyalin rezorpsiyonu yavaştır. Kalsiyum karbonat greftler, iyi derecede hemostatik özelliğe sahiptir ve bölgeden uzaklaştırılması zordur. Diğer yandan bu materyal hassas yapıdadır ve iyileşme periyodu sırasında stres altında migrasyona uğrayabilmektedir (83).

2.2.6.2.1.3. Kompozit Kopolimerler

Polimerler doğaları gereği sayısız konfigürasyonda şekillendirilebilir. Kopolimerlerin rezorbe olabilen formlarından polilaktik asitten veya poliglolik asitten oluşan ürünler sütür materyali ve fiksasyon vidaları olarak uzun yıllardır kullanılmaktadır. Bu materyaller yüksek molekül ağırlığına sahiptir ve 3 yıla varan yıkılma süreleri vardır. Rezorbe olmayan kopolimerlere örnek verilebilecek alloplastik materyal polimetil metakrilat ve polihidroksietil metakrilat karışımıdır (83).

2.2.6.2.1.4. Kalsiyum Sülfat

Paris alçısı veya Gypsum adlarıyla da anılır. Medikal tipteki kalsiyum sülfat kristalize yapıdadır ve yavaş çözünürlüğe sahiptir. Bu materyal yerleştirildiği konuma ve hacmine bağlı olarak 30-60 gün arasında rezorbe olabilmektedir. Enfeksiyon varlığında kullanılabilmesi ve ucuz olması avantajları arasındadır. Buna karşın, nadir de olsa bu materyalin kullanımına bağlı olarak allerjik reaksiyon ve inflamatuvar cevap geliştiği bildirilmiştir (83).

2.2.6.2.2. Allogreftlerin ve Alloplastik Materyallerin İyileşmesi

Allogreftler, immünolojik reaksiyon geliştirme ihtimaline karşı ve greftin reddedilmesini önlemek için birtakım işlemlerden geçirilir. Günümüzde oral cerrahide en sık kullanılan allojenik greftler; demineralize veya mineralize dondurulmuş kurutulmuş greftlerdir. Bu materyaller zayıf biyomekanik özelliklere sahiptirler ancak defekt ve kaviterin doldurulması için uygun malzemelerdir. Allojenik ve alloplastik greftlerin iyileşme süreci, otojen greftlerin iyileşme sürecine benzer şekilde gerçekleşir. Fakat greft içerisinde osteojenik hücrelerin bulunmaması kemik yapımında gecikmeye yol açmaktadır. Sonuçta otojen greftlere oranla alıcı sahayla daha az birleşme gerçekleşir (88).

Greftin rezorpsiyon süresine; ortamın pH'sı, yerleştirilen greftin porozitesi, hacmi, partikül büyüklüğü ve kompozisyonu etki etmektedir. Örneğin; HA ile greftlenen büyük defektlerin kemik ile yer değiştirmesi küçük defektlere oranla diğer tüm faktörler eşit olduğunda daha uzun zaman alır. Dens, kristalize HA partikülleri, stabil pH varlığında ömür boyu rezorbe olmadan kalabilmektedir. HA'nın amorf formu küçük hacim ve boyutta olup birkaç ay içerisinde rezorbe olabilir. Ksenogreft gibi mikroporöz özellikteki materyaller orta dereceli rezorpsiyon süresine sahiptir. Ancak, geniş kaviterlerde kullanıldıkları durumlarda rezorbe olmaları bir yıldan fazla sürmektedir (88).

2.2.7. Biyomateryallere Karşı Gelişen Biyolojik Reaksiyonlar

Biyomateryalin vücut ortamına yerleştirilmesi ile birlikte, her cerrahi girişim sonrasında görüldüğü gibi akut enflamasyon belirtileri başlamaktadır. Erken dönemde biyomateryal çevresinde histiositler, polimorfonükleer lökositler ve makrofajlar görülürken, sonrasında fibroblastlar ortama kollajen salgırlar. Normal yara iyileşmesinden farklı olmayan bu durum, makrofajların çoğalması ile reaksiyonu karmaşık hale getirmektedir. İmplant edilen biyomateryale karşı oluşan cevap non-immünojeniktir. Bir başka deyişle, lenforetiküler sistem rol oynamamakta, T lenfositler yerine makrofajların (kemikte osteoklast) aktivasyonu sonucu reaksiyon gelişmektedir. Osteoklastlarla temas sağlandıktan sonra bu hücrelerden serbestlenen kollajenaz, lizozomal enzimler ve prostaglandinler ile rezorpsiyon süreci, iyileşme döneminde ise fibroblast ve osteoblastlar tarafından tamir süreci başlamaktadır. İyileşme süreci devam ederken biyomateryal, herhangi bir kuvvetle karşılaşır, relatif mobilizasyon sonucu stres bölgesinde fibrinoid madde birikmektedir. Fibrinoid madde, asellüler, kollajen ve esas madde içermektedir. Bunun sonucunda, defekt bölgesi fibröz doku ile iyileşme gösterir (53).

2.3. YÖNLENDİRİLMİŞ KEMİK REJENERASYONU

Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu (YKR) tekniği; kemik greftleri, bariyer membranlar, büyüme faktörleri ve benzer biyomateryaller kullanılarak kemik iyileşmesini arttırmak, kemiğin yeniden şekillendirilmesi ve yumuşak dokunun kemik rejenerasyonu beklenen alana doğru büyümesini engellemek amacıyla uygulanmaktadır (89).

Başarılı bir kemik iyileşmesi veya yeni kemik oluşumu sürecinin önündeki en önemli engel, kemik dokudan daha hızlı büyüyen yumuşak dokulardır. Yara bölgesine ya da defekt içine hızla büyüyen yumuşak dokular osteogenezisi tamamen veya kısmen engelleyebilir. Çeşitli hayvan ve insan modellerinde yapılan çalışmalar mekanik bariyer kullanımının kemik rejenerasyonunu arttırdığını göstermektedir (89).

Mekanik bariyer kullanımının en önemli amacı, defekt üzerinde çatı oluşturarak defekt etrafındaki kemikten gelen hücreleri ve kan damarlarını içeren pıhtının

korunmasının sağlanmasıdır (53). Yapılan çalışmalarda YKR'nin kemik defektlerinde başarılı olduğu, yara iyileşmesi ve osteoblastlar üzerinde pozitif etkileri olduğu gösterilmiştir (90).

Bariyer membranları, bazı olgularda greft materyalleri ile birlikte kombine halde kullanılmaktadır. Buradaki amaç;

- I. Greft materyalinin osteoindüktif ve osteokondüktif özelliğinden faydalanmak,
- II. Oluşturulan boşluğun korunması ve membranın defekt içine doğru çökmesini engellemek ve dolayısı ile daha fazla alanda kemik rejenerasyonunu sağlamaktır (53).

Bugüne kadar yapılan çalışmaların sonucunda başarılar elde edilmiş olsa dahi, en ideal rejenerasyonun sağlanması için tek başına avantajları olan tekniklerin kombinasyonları ve farklı biyomateryallerin kullanımları yönünde araştırmalar devam etmektedir (91).

2.3.1. YKR' de Kullanılacak Materyalde Olması Gereken Özellikler

- Uygulaması kolay olmalıdır.
- Epitel ve bağ dokusu hücrelerinin göç etmesini engellemelidir.
- İyileşme sırasında stabilitesini koruyabilmelidir.
- Doku dostu olmalıdır.
- Steril olmalıdır.
- Defekt içine çökmemeli ve doku içerisinde kalması isteniyorsa ekspoz olmamalıdır.
- Bakteri birikimine elverişli bir yapısı olmamalıdır (53).

YKR tekniğinde kullanılan farklı tipteki bariyer membranlar iki ana başlık altında toplanmaktadır (Tablo2-3) (89).

Tablo 2-3: Bariyer Membranların Sınıflandırılması (89).

1. Rezorbe Olmayan Bariyer Membranları
• Genişletilmiş politetrafloroetilen
• Nanopolitetrafloroetilen
• Titanyumla Güçlendirilmiş politetrafloroetilen
2. Rezorbe Olabilen Bariyer Membranları
• Doğal Bariyerler
• Sentetik Bariyerler

1. Rezorbe Olmayan Bariyer Membranları

Rezorbe olmayan bariyerler, uygulandıkları yerden çıkarılmaları için ikinci bir cerrahi işlem gerektirirler. Toplam tedavi süresinin ve maliyetin artması dezavantajları arasındadır (89).

~ Genişletilmiş Politetrafloroetilen

Genişletilmiş politetrafloroetilen, yapısında teflon olan pöröz bir bariyerdir. Farklı periodontal defektler için farklı şekillerde üretilebilir, yaka ve gövde kısımları farklı yapısal özellikte hazırlanabilir. Por çapları 0,2 – 5 µm arasındadır (89).

~ Nanopolitetrafloroetilen

Nanopolitetrafloroetilen membranlarda sinterleme işlemi yapılmaz; böylelikle materyal daha esnek olup, manüplasyonu ve adaptasyonu daha kolaydır. 0,2 – 0,3 µm'lik porlara sahiptir. Küçük porların, epitelyal büyümeyi ve bakteriyel infiltrasyonu sınırlandırdığı düşünülmektedir (89).

~ Titanyumla Güçlendirilmiş Politetrafloroetilen

İki tabaka politetrafloroetilen arasına yerleştirilen titanyumdan oluşur. Yüzey yapısı ve porları bakteri geçişini ve tutunmasını engelleyecek şekilde tasarlanmıştır.

Yumuşak dokunun defekt bölgesine migrasyonunu azaltarak bölgede kemik oluşumu ve neovaskülarizasyona elverişli ortam sağlar. Bükülmeyecek kadar sıkı, ancak yumuşak dokuyu perfore etmeyecek kadar da esnek yapıda bulunurlar. Yumuşak dokunun çökmesini ve greft üzerine kuvvet gelmesini engellerler (89).

2. Rezorbe Olabilen Bariyer Membranları

Rezorbe olabilen bariyerler hayvan kaynaklı ya da sentetik polimerler olarak bulunur. Yavaş yavaş hidrolize olur ya da enzimatik reaksiyonla çözünürler. Bu nedenle ikinci cerrahiyle uzaklaştırılmaları gerekmez. Geçmişten bugüne kadar, sıçan ve sığır kollajeni, öküz peritonu, polilaktik asit, poliglikolid, vikril, yapay deri ve dondurulmuş kurutulmuş dura-mater gibi çeşitli kaynaklardan elde edilmiş bariyer membranları kullanılmıştır (89).

~ Doğal Bariyerler

Sığır ve domuzların Tip I veya Tip II kollajeninden hazırlanır. Tip I kollajen periodontal bağ dokuda bulunan temel komponenttir. Kollajen membranlar çapraz bağlı yapıdadır ve hazırlanma şekline göre 4 - 40 hafta arasında rezorbsiyon süreleri vardır. Epitel hücrelerinin migrasyonuna izin vermezler. Hemostaza katkıları vardır. Trombosit agregasyonuna izin vererek pıhtı oluşumuna yardım ederler. Zayıf immünojenite gösterirler, genişletilmiş politetrafloroetilen membranlara oranla ekspoz olmaları ve buna bağlı olarak enfeksiyon geliştirme ihtimalleri düşüktür (89).

~ Sentetik Bariyerler

Laktik asit ve glikolik asidin polimerleri şeklinde bulunurlar. Sentetik bariyerlerin ester bağları 30 ila 60 gün arasında çözünür ve enflamatuar reaksiyon oluşturabilme potansiyeli olan serbest asitler ortaya çıkar. Sentetik bariyerler de kollajen ve genişletilmiş politetrafloroetilen bariyerler gibi başarılı klinik sonuçlar vermektedir (89).

2.4. BIOGLUE® HİDROJELİ

Bioglue®, saflaştırılmış sığır kaynaklı serum albümin ve gluteraldehit komponentlerinin çapraz bağlanması sonucu geliştirilen bir üründür. 1994 yılında üretilmeye başlayan Bioglue®, ilk kez 1998 yılında kardiyovasküler cerrahide kullanılmak üzere “cerrahi yapıştırıcısı” olarak tanıtılmıştır. Hemostaz ve büyük damarların onarımı için FDA onayı alan materyal, aort kapak replasmanı ve karotid endarterektomi cerrahisinde 1998 yılından beri kullanılmaktadır. Her bir volüm için %45 ağırlıkta sığır kaynaklı serum albümin, %10 ağırlıkta gluteraldehit içeren şırınga 4 e 1 oranında eş zamanlı olarak karıştırılır. 20 - 30 saniye içinde polimerize olmaya başlar ve 2 dakika içinde tam sertliğine ulaşmaktadır. Onarım sahasında vücut pıhtılaşma mekanizmasından bağımsız bir şekilde sertleşerek esnek mekanik kapama sağlamaktadır. Uygulanan materyalin kalınlığına bağlı olarak rezorpsiyon süresi 2 yıla kadar uzayabilir. Günümüzde, izolasyon amaçlı, adheziv ya da doku desteği olarak kullanılabilir. Gama radyasyonu veya etilen oksit kullanılarak materyalin sterilizasyonu sağlanmaktadır (92, 93).

2.4.1. Bioglue® Mekanığı

Polimerizasyon için ilk adım karıştırma adıdır. Karışım %63 H₂O, %35 serum albümin, %2 Gluteraldehit içerir. Hastanın hemostaz kapasitesinden bağımsız olarak bioglue polimerizasyonu başlar. Hava ile temasta dehidrate olur, su ile temasta kuruyan bölgeler rehidrate hale gelir. Sıvı içeren ortamla temas süresi ne kadar uzarsa daha uzun süre fleksibilitesini korur. Ayrıca, Bioglue® greft matriks boşlukları arasında sentetik greft materyaline mekanik olarak bağlanmaktadır. Retansiyon bölgelerinin yokluğu nedeniyle yağ dokusu ile bağlanması zayıftır (94).

2.4.2. Endikasyonlar

Bioglue®, yumuşak dokunun yapıştırılması, kaplanması ve/veya güçlendirilmesi için standart cerrahi onarım yöntemlerine (sütür, elektrokoter ve/veya yama gibi) ilave olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda diğer ligatür veya geleneksel prosedürlerin etkisiz veya uygulanamaz olması halinde hasar görmüş parankimin tıkanması ve/veya güçlendirilmesi amacıyla tek başına uygulanabilir. Yumuşak dokulardan; kardiyak,

vasküler, pulmoner, genitoüriner, dural, alimenter (özofajiyal, gastrointestinal ve kolorektal) ve diğer karın bölgesi dokularında (pankreatik, splenik, hepatik, biliyer) kullanımı onaylanmıştır (95).

2.4.3. Kontrendikasyonlar

Serebrovasküler onarımlarda, intraluminal bölgelerde ve sığır kaynaklı materyallere karşı hassasiyeti olan bireylerde Bioglue® kullanımı önerilmez (95).

Bioglue® uygulamasını ve kullanım alanlarını anlatan birçok olgu sunumu ve çalışması mevcuttur (92, 93). Materyal, travmalarda özellikle dalak ve kardiyak yaralanmalarında ve bazı abdominal dokularda, zarar görmüş parankimi güçlendirmek için kullanılmaktadır. Ayrıca, sütür ile onarımı güçlendirmek amacıyla hemoraji kontrolü için de kullanılır. Bunların dışında, endoskopik browplasti operasyonunda periostu kortikal kemiğe adapte etmek için yapıştırıcı olarak ve dura-mater yırtıklarında izolasyon amaçlı kullanılan çalışmalar bulunmaktadır (92, 93). Maksillofasiyal cerrahi alanında kaynaklarda doku adezivlerinin kullanımı sonrasında gelişen sinir fonksiyon bozuklukları ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Bazı çalışmalarda, Bioglue'nun aşırı skar dokusu oluşumu ve lokal toksisiteye sebep olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle, sinir dokusuna yakın bölgelerde dikkatli çalışılması gerektiği vurgulanmıştır (96, 97).

Kardiyovasküler cerrahi alanında yapılmış çalışmalarda, Bioglue'nun yumuşak doku üzerindeki olumsuz etkilerinden bahsedilmiştir. Bir olguda, operasyondan 5 ay sonra teşhis edilen, ventriküler onarım için kullanılan Bioglue ya karşı yabancı cisim reaksiyonu geliştiği bildirilmiştir (98). Szafrank ve ark., kardiyak cerrahide sütür hattını güçlendirmek için Bioglue uygulanan bölgede, operasyondan 7 ay sonra aniden başlayan, semptomatik olan ve şişliğin eşlik ettiği kistik bir oluşum tespit ettiklerini bildirmiştir (99). Lemaire ve ark. deneysel olarak yaptıkları bir çalışmada, epikardiyal uygulamalarda Bioglue'nun diyafragmatik paralize ek olarak, akut sinir hasarı ve miyokardiyal nekroz gelişimini uyardığını göstermişlerdir (96). Pasic ve ark., aort kapak implantasyonu sonrasında Bioglue kullanımına ilişkin yara iyileşmesinde gecikme gördüklerini bildirmiştir (100).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Çalışmamız, 60 adet Sprague Dawley türü, 250±20 gr ağırlığında ve 10-12 haftalık erkek sıçanlar üzerinde yürütüldü. Deneylede kullanılan materyaller aşağıda belirtilmiştir.

- I. Ketalar® flakon (Ketamin HCL, Pfizer İlaçları Limited Şirketi, Türkiye)
- II. Rompun® flakon (Xylazin hidroklorid, Bayer Türk Kimya Sanayi Limited Şirketi, Türkiye)
- III. Basitrasin ve neomisin sülfat pomadı (Thiocillin R 5g, Abdi İbrahim, Türkiye)
- IV. Jetokain 2 ml ampul (Lidokain HCL; Adeka, Türkiye)
- V. Gentavet %10 enjeksiyonluk çözelti (Gentamisin sülfat 10mg/kg; VETAŞ Veteriner ve Tarım İlaçları A.Ş., Türkiye)
- VI. Contramal 2 ml ampul (Tramadol HCL 2mg/kg; Abdi İbrahim, Türkiye)
- VII. Steril ameliyat takımı
- VIII. Tork ayarlı fizyodispenser ve piyasemen (Saeshin Co, Uysal Medikal Dişçilik ve Gıda Ürünleri San. Tic. Ltd. Şti, Türkiye)
- IX. 3 mm çapında yuvarlak uçlu tungsten karbid frez (HM 71 021, Meisinger, Hager&Meisinger GmbH, Germany)
- X. Elmas kesme diski (Buehler, Mega Danışmanlık Temsilcilik Dış Tic. Ltd. Şti, Türkiye)
- XI. Povidon İyodin Çözeltisi (%10) (Kimpa® İlaç Lab. Ve Tic. Ltd. Şti., İstanbul, Türkiye)
- XII. Steril enjektörler (5 cc)
- XIII. Serum fizyolojik izotonik %0.9
- XIV. Formaldehit çözeltisi (%10)
- XV. Pentothal Sodium 120mg/kg (Abbott Laboratuvarı A.Ş., Türkiye)
- XVI. 5/0 yarım yuvarlak 20 mm vikril dikiş ipliği (Doğsan Tıbbi Malzeme Sanayi A.Ş., Türkiye)
- XVII. 3/0 yarım yuvarlak 20 mm ipek dikiş ipliği (Doğsan Tıbbi Malzeme Sanayi

A.Ş., Türkiye)

- XVIII. Bioglue Hidrojeli (Bioglue® 5 ml, Cryolife, Kennesaw, USA)
- XIX. β -Trikalsiyum Fosfat/Hidroksilapatit (β -TKF/HA) (Bone ceramic™, Straumann®, Batı Dental, Türkiye)
- XX. Olympus Soft Imaging System AnalySIS Five (Olympus Optical Co. LTD, Japan)

Çalışmamızda, bifazik kalsiyum fosfat seramiklerinden olan β -TKF/HA (Bone ceramic™, Straumann®, Batı Dental, Türkiye) greft materyalini kullandık. %100 kristal barındıran, % 60'ı HA içerirken, % 40'ı da trikalsiyum fosfatın beta formundan (β -TKF) oluşan greft, 100-500 μ m çapında birbirine bağlı gözenekli yapısı ile yüksek poroziteye (%90) sahip bir materyaldir.

3.2. Yöntem

Bu proje kapsamındaki hayvan deneyleri için, İ.Ü. Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun (İÜDHEK) 29/05/2014 tarih ve 2014/52 sayılı kararı ile onay alınmıştır (EK1). Deney hayvanlarının ameliyatlarını ve sakrifikasyonlarını içeren deneysel kısmı İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı Laboratuvarları'nda, elde edilen kesitlerin histopatolojik incelemeleri İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Bilim Dalı'nda yapılmıştır.

Deney hayvanları, $22\pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklıkta, bağıl nem oranı %40-60 olan ortamda, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamı sağlayacak ve her metal kafes içerisinde 2 deney hayvanı olacak şekilde muhafaza edilmişlerdir. Denekler, %21 oranında protein içeren standart sıçan yemi ve çeşme suyu ile beslenmişlerdir.

Hayvanların post-operatif bakımları ve yaşam kaliteleri düşünülerek her bir sıçanda tek tibiada, tek kemik defekti açılarak işlemler gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla sıçanların sağ tibiaları çalışmaya dahil edilmiştir.

3.2.1. Bioglue® Hidrojeli'nin Hazırlanması ve Uygulanması

Karıştırma tüplerinin içerisindeki iki farklı komponent, kontrollü dağıtım sistemi ile karıştırılmaktadır (Şekil 3-1). Tüplerin içindeki hava kabarcıkları çıkartıldıktan sonra dağıtım başlatılarak oluşan ilk hacim uzaklaştırılır. Bioglue®, 0.4 mm kalınlıkta (0.05-0.1 ml/ 1-2 damla hacimde) olacak şekilde operasyon bölgesine uygulanır.

Şekil 3-1: Karıştırma tüpleri ve uygulama uçları

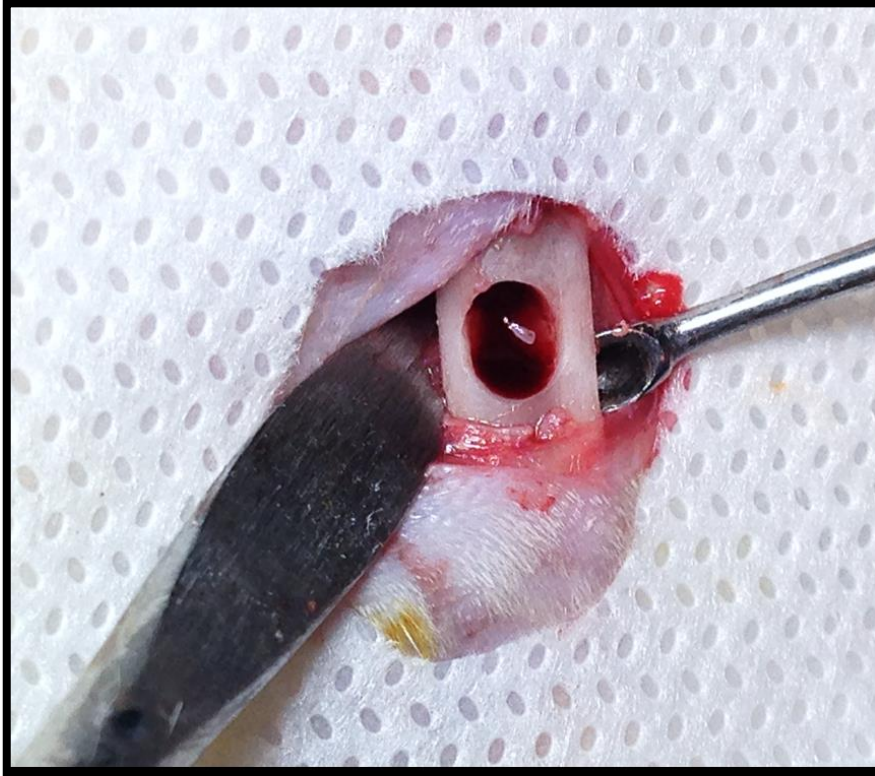


3.2.2. Cerrahi Uygulamalar

Deney Hayvanlarına 50 mg/kg Ketamin HCL ve 10 mg/kg i.m. Xylazin HCL karışımının periton içine uygulanması ile genel anestezi sağlandı. Genel anestezi sırasında oftalmik komplikasyonların engellenmesi amacı ile sıçanların gözlerine basitrasin ve neomisin sülfat pomadı sürüldü. Sıçanlar ısıtıcı lamba altında masaya yatırıldı. Standart postüre getirilen sıçanların sağ bacaklarının medial yüzleri tıraşlanıp temizlenerek cerrahi saha povidon iyot çözeltisi ile silindi. Lidokain, lokal anestezi amacıyla subkutan olarak uygulandı. Sağ bacakları fleksiyon pozisyona getirilip, tibianın medial yüzeylerine ulaşmak amacıyla 15 no'lu bistüri ucu kullanılarak 20-25 mm uzunluğunda longitudinal yönde cilt, cilt altı ve periost kesisi yapıldıktan sonra künt diseksiyonla tibiaların medial yüzeyleri açığa çıkartıldı. Fizyodispanlere bağlı mikromotorun cerrahi piyasemenine takılı 3mm çapındaki yuvarlak uçlu tungsten karbid frezle steril serum fizyolojik çözeltisi irrigasyonu altında frezin çapı genişliğinde kemiğin korteks ve medullasını içine alan 3x3 mm boyutlarında kemik defektleri oluşturuldu. Her bir gruptaki işlem tamamlandıktan sonra defekt çevresindeki periost ve kas 5/0 vikril dikiş ipliği ile, ve cilt ise 3/0 ipek dikiş ipliği ile primer olarak kapatıldı. Denekler kontrol edilip yara bakımı yapıldıktan sonra kafeslere yerleştirildi.



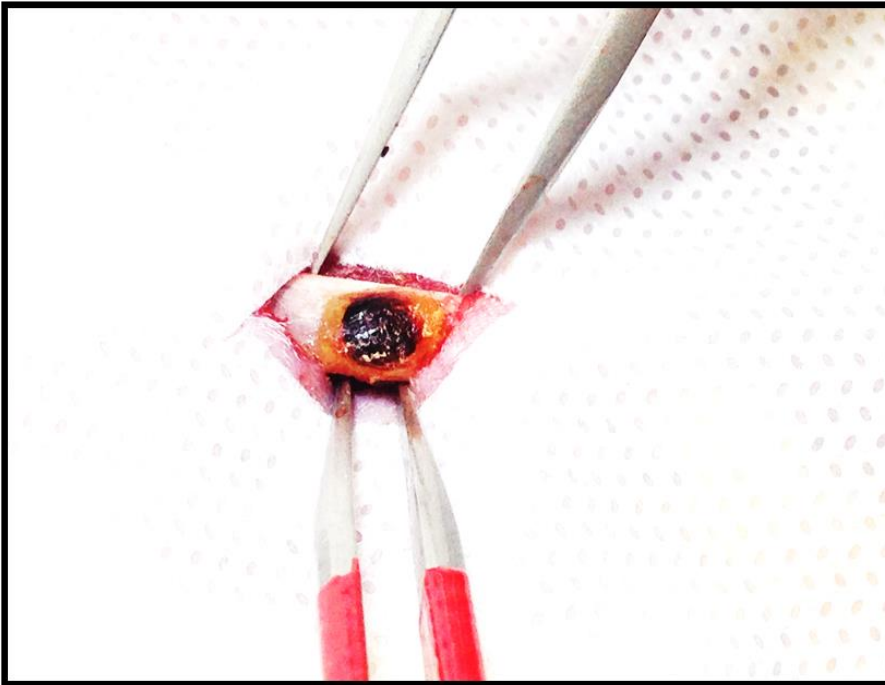
Şekil 3-2: Operasyon sahasının hazırlanması



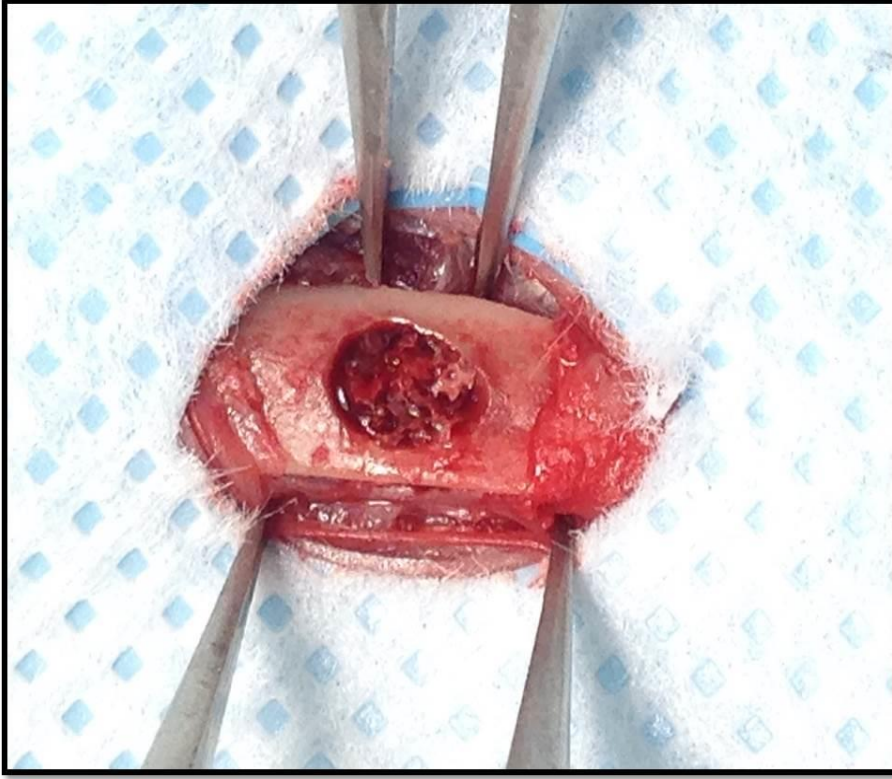
Şekil 3-3: Tibiada oluşturulan kemik defekti



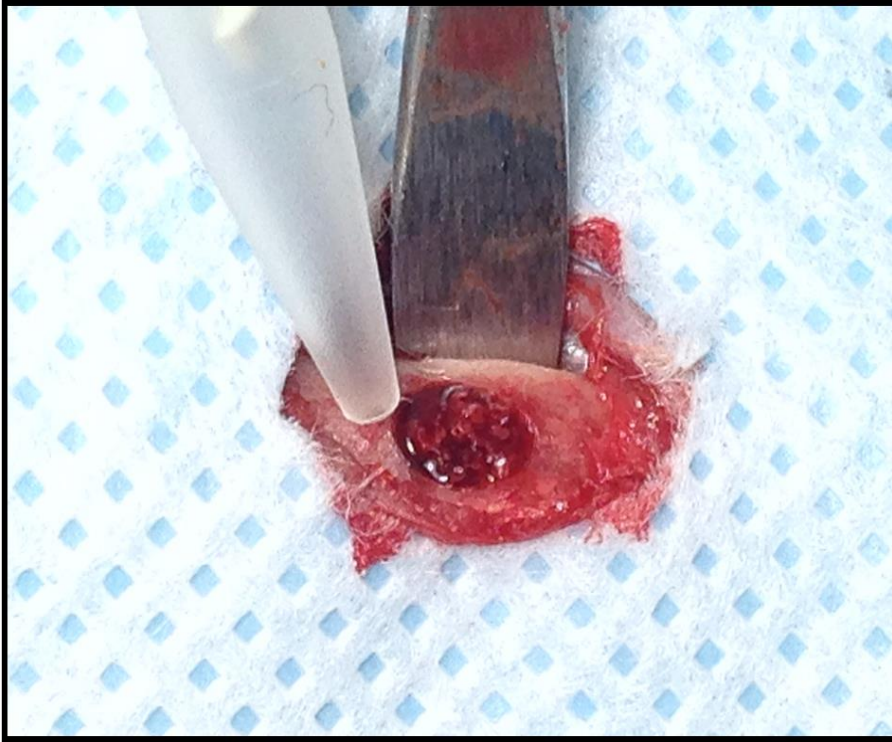
Şekil 3-4: Pıhtı oluşumu sonrasında defekt üzerine Bioglue® uygulaması



Şekil 3-5: Bioglue®'nun sertleştikten sonraki görüntüsü



Şekil 3-6: Greftin defekt bölgesine yerleştirilmesi



Şekil 3-7: Greftin Bioglue® ile kaplanması



Şekil 3-8: Bioglue®'nun sertleştikten sonraki görüntüsü



Şekil 3-9: Cildin 3/0 ipek dikiş ipliği ile kapatılması

Deneklere, operasyon sonrası ve takip eden iki günde intraperitonel olarak gentamisin ve postoperatif dönemde santral etkili bir analjezik olan Tramadol HCl oral yolla günde 2 kez verildi. Operasyonu takiben ilk 2 gün deneklerin beslenmesine yardımcı olabilmek amacı ile 5 ml subkütan %5 dekstroz enjeksiyonu yapıldı. Deneklerin genel sağlık durumları, belirlenmiş sakrifikasyon dönemlerine kadar her gün kontrol edildi. Sıçanlar, 7., 21. ve 45. günlerde yüksek doz anestezi madde (Sodyum pentotal 120mg/kg ip.) enjeksiyonu ile sakrifiye edildi. Sakrifikasyon işlemleri sonrasında deney hayvanlarının sağ tibiaları çıkartılarak %10'luk nötral formaldehit (ph=7.4) çözeltisi bulunan, önceden etiketlenerek belirlenmiş biyopsi kaplarına yerleştirildi.

3.2.3. Deney Hayvanları ve Grupları

Çalışmaya dahil edilen 60 adet Sprague Dawley cinsi sıçanlar rastgele 3 ana grup ve cerrahi girişimi takiben 7., 21. ve 45. günlerde gerçekleştirilen sakrifikasyonlara göre düzenlenmiş 9 alt gruba ayrıldı. Her bir çalışma grubunda 24 adet, kontrol grubunda ise 12 adet sıçan olacak şekilde gruplar oluşturuldu.

3.2.3.1. Ana Gruplar ve Alt Gruplar

- I. Biogluce Grubu (B Grubu):** 24 adet sıçandan oluşan bu grupta, deneklerin sağ tibialarında defekt açıldı. Bölgede hemostaz sağlandıktan sonra defektlerin üzerleri Biogluce ile kaplandı. Bu gruptaki hayvanlar sakrifikasyon gününe göre üç alt gruba ayrıldı.

- i.7. günde sakrifiye edilen grup (n=8)
- ii.21. günde sakrifiye edilen grup (n=8)
- iii.45. günde sakrifiye edilen grup (n=8)

II. Beta-Trikalsiyum Fosfat/HA (β -TKF/HA) + Bioglue Grubu (G Grubu):

24 adet sıçandan oluşan bu grupta, deneklerin sağ tibialarında defekt açıldı. Defektlerin içerisine β -TKF/HA yerleştirildikten sonra üzerleri Bioglue ile kaplandı.

- i. 7. günde sakrifiye edilen grup (n=8)
- ii. 21. günde sakrifiye edilen grup (n=8)
- iii. 45. günde sakrifiye edilen grup (n=8)

III. Kontrol Grubu (K Grubu): 12 adet sıçandan oluşan bu grupta, deneklerin sağ tibialarında defekt oluşturularak kendiliğinden iyileşmeye bırakıldı.

- i. 7. günde sakrifiye edilen grup (n=4)
- ii. 21. günde sakrifiye edilen grup (n=4)
- iii. 45. günde sakrifiye edilen grup (n=4)

Operasyon bölgesi dikişlerle kapatıldıktan sonra yumuşak dokuda gelişebilecek dehisens, enfeksiyon ya da herhangi bir patolojik durum varlığını değerlendirebilmek için sakrifikasyon dönemlerine kadar her gün yara bölgesi takibi yapıldı.

3.2.4. Histopatolojik İnceleme ve Değerlendirme Kriterleri

Sakrifikasyon işlemlerinden sonra deneklerin sağ tibiaları çıkartılarak %10'luk nötral formaldehit çözeltisine alınan doku örnekleri (n=60) histopatolojik incelemeler için İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi Bilim Dalı Laboratuvarı'na gönderildi.

Gönderilen materyaller 1 hafta süre ile formaldehit çözeltisinde bekletildikten sonra defekt sahaları açığa çıkarıldı. Örnekler suda çalkalandıktan sonra %50 formik asit ile %20 sodyum sitrat çözeltilerinden bire bir oranında karıştırılarak hazırlanan dekalsifikasyon çözeltisine alındı. 10-14 gün süre ile dekalsifiye olmaları sağlandı ve örnekler defekt bölgesini içine alacak biçimde kesilerek küçültüldü. Rutin takip işlemlerinin ardından örnekler enine kesit alınacak şekilde parafin bloklara gömüldü. Hazırlanan parafin bloklardan yaklaşık 5-7 μ m kalınlığında kesitler alınarak lam üzerine

yerleştirildi ve 85 °C sıcaklıktaki etüvde deparafinize edildi. Deparafinizasyon işlemlerinin ardından kesitler inen derecelerde alkollerden geçirilip, hematoxilen eosin (H&E) yöntemiyle boyanarak farklı büyütme oranlarında ışık mikroskopunda incelendi. Histomorfometrik değerlendirilmede yapılan ölçüm ve sayım işlemleri için “Olympus Soft Imaging System AnalySIS Five” görüntü analiz sistemi kullanıldı. İncelenen kesitlerde defekt bölgesinden bütün olarak digital görüntüler elde edildi ve bu alanlar, iltihap, fibrozis, yeni kemik yapımı, iyileşme alanı, nekroz ve yabancı cisim reaksiyonu açısından incelendi. Bu bulgulardan iltihap ve fibrozis değerlendirilirken bir büyük büyütme alanında kapladıkları bölgenin yüzdesine göre 0 (0), % 1-30 (1), % 30-60 (2) ve >%60 (3) olmak üzere değer verildi. İltihap değerlendirmesinde mikroapse oluşumu (3) olarak skorlandı. Oluşan kallus dokusunun değerlendirmesinde yeni kemik trabeküllerinin kapladıkları alan görüntü analiz sistemi ile ölçülerek değerler elde edildi. Defektin kemik dokusu ile onarımı değerlendirilirken Allen’in kırık iyileşmesi skorları kullanıldı (101). Nekroz ve yabancı cisim reaksiyonu yok (-), var (+) olarak skorlandı.

3.2.5. İstatistiksel Değerlendirme Yöntemi

Çalışmanın istatistik analizi SPSS 17.0 programı kullanılarak yapıldı. Veriler ortanca (minimum-maksimum) olarak sunuldu. Üç grubun karşılaştırılmasında Kruskal Wallis ANOVA testi kullanıldı. Gruplar arası ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi, grup içi dönemler arası karşılaştırmalar Wilcoxon testi ile yapıldı. Niteliksel verilerin (nekroz ve yabancı cisim reaksiyonu) değerlendirilmesinde (var/yok) Fisher’s exact testi kullanıldı. İstatistiksel analizlerde $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Genel Değerlendirme Bulguları

Sıçanlarda operasyona ikincil gelişen yara yeri enfeksiyonu, deri nekrozu, kıl dönmesi ya da başka bir komplikasyon görülmedi.

4.2. Histopatoloji Bulguları

İltihap değerleri, fibrozis alanları, yeni kemik yapımı alanları, iyileşme skoru değerleri ortanca (min-maks) olarak verilmiş, nekroz ve yabancı cisim reaksiyonu var/yok olarak gösterilmiştir.

4.2.1. İltihap Bulguları

İltihap bulguları Tablo 4-1’de gösterilmiştir.

İltihap	Grup B (n:8) Ort (min-maks)	Grup G (n:8) Ort (min-maks)	Grup K (n:4) Ort (min-maks)	ANOVA
7. gün	2 (1-3)	1 (1-3)	1 (1-1) *	0,07
21. gün	0 (0-2) #	1,5 (1-2) *, ⚡	0 (0-0) †	0,004
45. gün	0 (0-2) #	1 (1-2) **, ⚡	0 (0-0) †	0,002

Tablo 4-1: İltihap değerleri. B: Bioglue, G: Graft+Bioglue, K: Kontrol

* B ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

** B ile karşılaştırıldığında $p < 0,01$

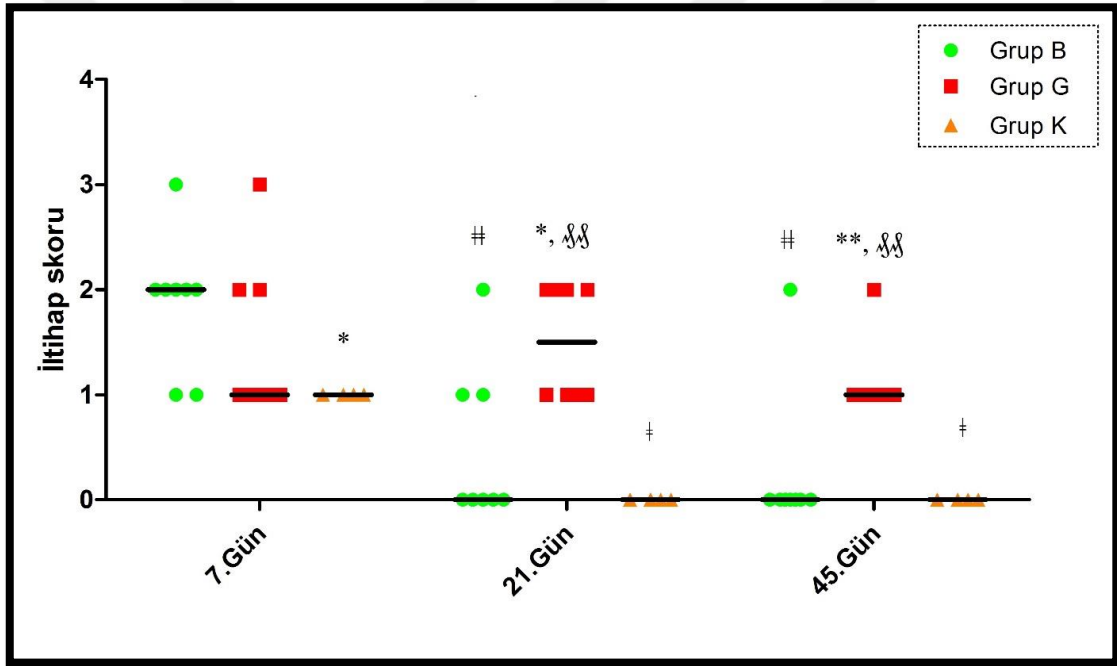
⚡ K ile karşılaştırıldığında $p < 0,01$

† 7. gün ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

7. gün ile karşılaştırıldığında $p < 0,01$

İltihap değerlerinde 3 grup arası karşılaştırmada 7., 21. ve 45. günlerde istatistiksel açıdan anlamlı farklılık tespit edilmiştir (sırasıyla ANOVA p:0,07, p:0,004, p:0,002). Yapılan gruplar arası karşılaştırmalarda 7. günde B grubu ile K grubu arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (p<0,05). G grubundaki iltihap değerleri 21. günde gerek B grubu (p<0,05) gerekse K grubu (p<0,01) ile istatistiksel açıdan anlamlı fark göstermiştir. Yine aynı şekilde 45. günde G grubunda iltihap değerleri diğer gruplardan istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı olarak farklı bulunmuştur (p<0,01, p<0,01).

Yapılan grup içi karşılaştırmalarda B grubunda 21. ve 45. günlerde iltihabın 7. güne oranla istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı düzeyde azaldığı görülmüştür (p<0,01). K grubunda da iltihap değerleri 21. ve 45. günlerde 7. güne oranla istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde azalmıştır (p<0,05).



Şekil 4-1: İltihap Bulgularının Grafik Gösterimi

Ortanca (Min-Max), B: Bioglue, G: Greft+Bioglue, K: Kontrol

4.2.2. Fibrozis Bulguları

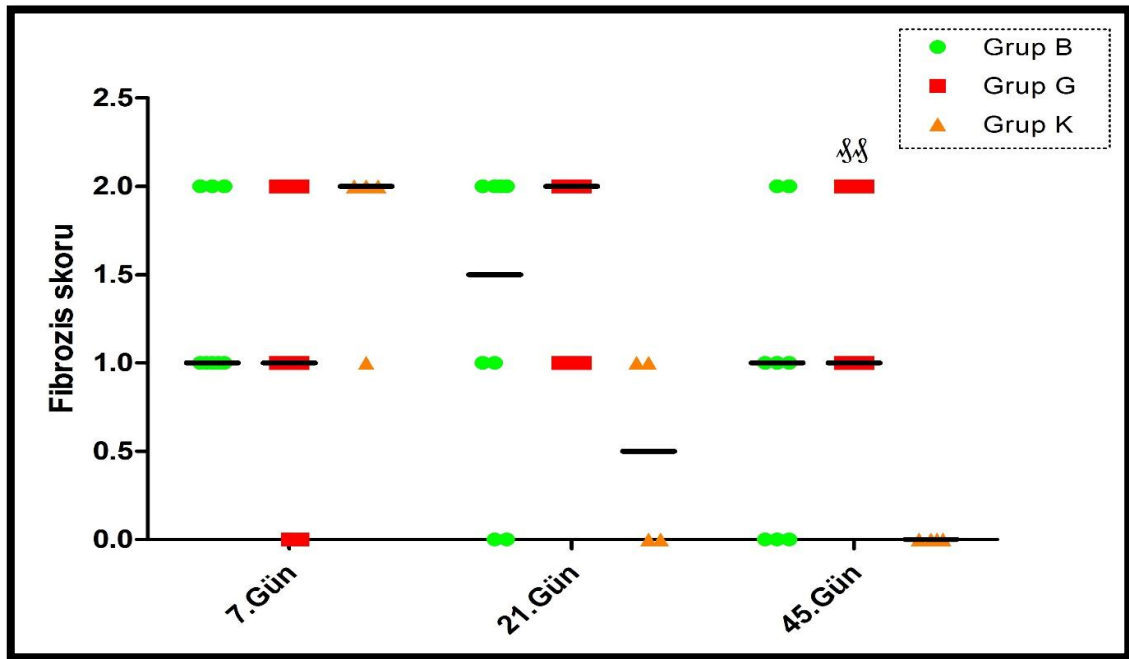
Fibrozis bulguları Tablo 4-2’de gösterilmiştir.

Fibrozis Alanı	Grup B (n:8) Ort (min-maks)	Grup G (n:8) Ort (min-maks)	Grup K (n:4) Ort (min-maks)	ANOVA
7. gün	1 (1-2)	1 (0-2)	2 (1-2)	0,3
21. gün	1,5 (0-2)	2 (1-2)	0,5 (0-1)	0,07
45. gün	1 (0-2)	1 (1-2) §§§	0 (0-0)	0,014

Tablo 4-2: Fibrozis değerleri. B: Bioglue, G: Greft+Bioglue, K: Kontrol

§§§ K ile karşılaştırılınca $p < 0,01$

Fibrozis verilerinde 3 grup arası karşılaştırmada 45. günde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ($p: 0,014$). Bu dönemde G grubunun fibrozis alan değerleri K grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0,01$).



Şekil 4-2: Fibrozis Alanının Grafik Gösterimi

Ortanca (Min-Max), B: Bioglue, G: Greft+Bioglue, K: Kontrol

4.2.3. Yeni Kemik Oluşumu Bulguları

Yeni kemik oluşumu Tablo 4-3’de gösterilmiştir.

Yeni Kemik Yapımı Alanları	Grup B (n:8) Ort (min-maks)	Grup G (n:8) Ort (min-maks)	Grup K (n:4) Ort (min-maks)	ANOVA
7. gün	0,12 (0-0,45)	0 (0-0,12) §§	0,27 (0-0,45)	0,02
21. gün	0,17 (0,07-0,35)	0,08 (0,02-0,27) §, †	0,265 (0,25-0,32)	0,03
45. gün	0,245 (0-0,41)	0,145 (0-0,4) †	0,36 (0,28-0,38)	0,1

Tablo 4-3: Yeni kemik oluşumu değerleri. B: Bioglue, G: Graft+Bioglue, K: Kontrol

§§ K ile karşılaştırılınca $p < 0,01$

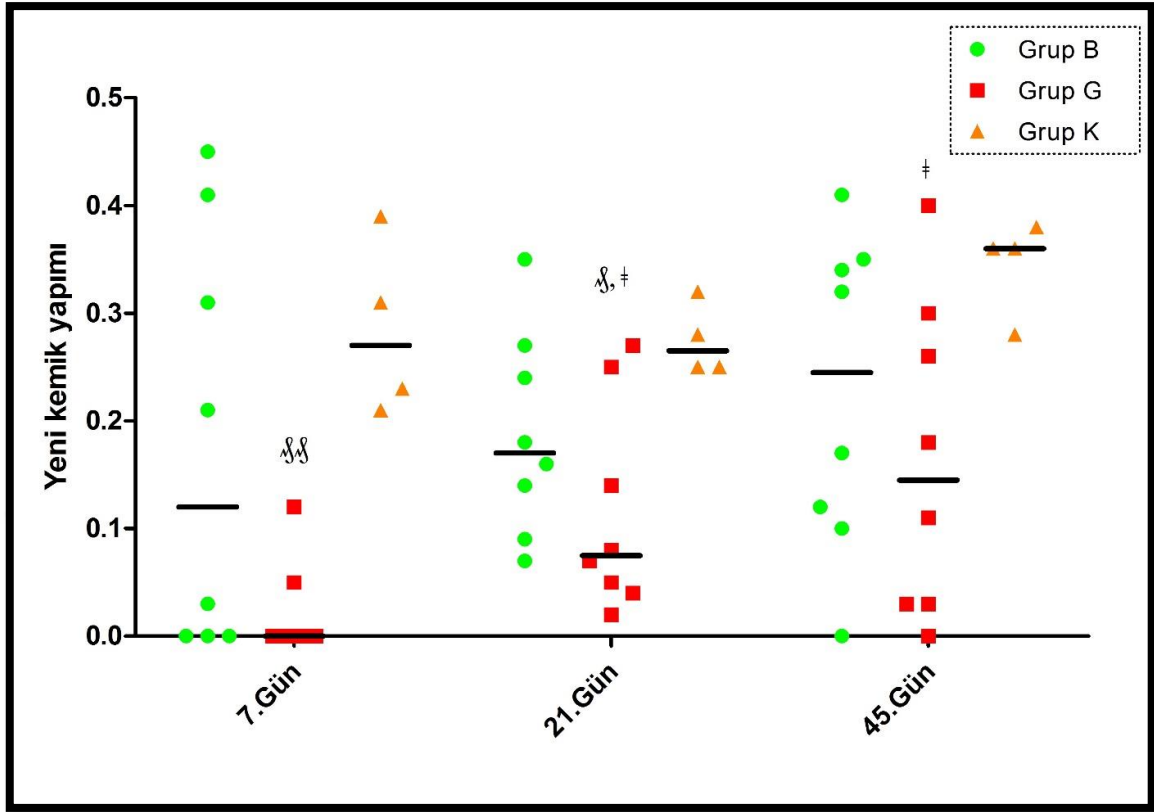
§ K ile karşılaştırılınca $p < 0,05$

† 7. gün ile karşılaştırılınca $p < 0,05$

3 grup arası karşılaştırmada 7. ve 21. günlerde yeni kemik yapımı alanları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir (sırasıyla ANOVA $p:0,02$, $p:0,03$). B ve G gruplarının yeni kemik yapımı alan değerlerinin K grubuna oranla daha düşük olduğu saptanmıştır. Yapılan ikili karşılaştırmalarda 7 ve 21. günlerde G grubu değerlerinin K grubundan istatistiksel açıdan anlamlı olarak farklı olduğu belirlenmiştir (7. gün $p < 0,01$, 21. gün $p < 0,05$).

B grubunda ise tüm zamanlarda yeni kemik yapımı alan değerleri K grubuna oranla düşük olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır.

Grup içi karşılaştırmalarda, G grubunda 21. ve 45. günlerde 7. güne oranla yeni kemik yapımı alanlarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı görülmüştür ($p < 0,05$).



Şekil 4-3: Yeni Kemik Yapımı Alanlarının Grafik Gösterimi

Ortanca (Min-Max), B: Bioglue, G: Greft+Bioglue, K: Kontrol

4.2.4. İyileşme Bulguları

İyileşme bulguları Tablo 4-4’de gösterilmiştir.

İyileşme Bulguları	Grup B (n:8) Ort (min-maks)	Grup G (n:8) Ort (min-maks)	Grup K (n:4) Ort (min-maks)	ANOVA
7. gün	2 (0-3)	0 (0-3) §§§	4 (3-4) *	0,006
21. gün	5(3-6) †	1 (1-4) §§§, ***, †	5,5 (5-6)	0,001
45. gün	5 (1-6) †	3 (1-5) §§§, *, †	6 (6-6)	0,003

Tablo 4-4: İyileşme Bulguları. B: Bioglue, G: Graft+Bioglue, K: Kontrol

§§§ K ile karşılaştırılınca $p < 0,01$

* B ile karşılaştırılınca $p < 0,05$

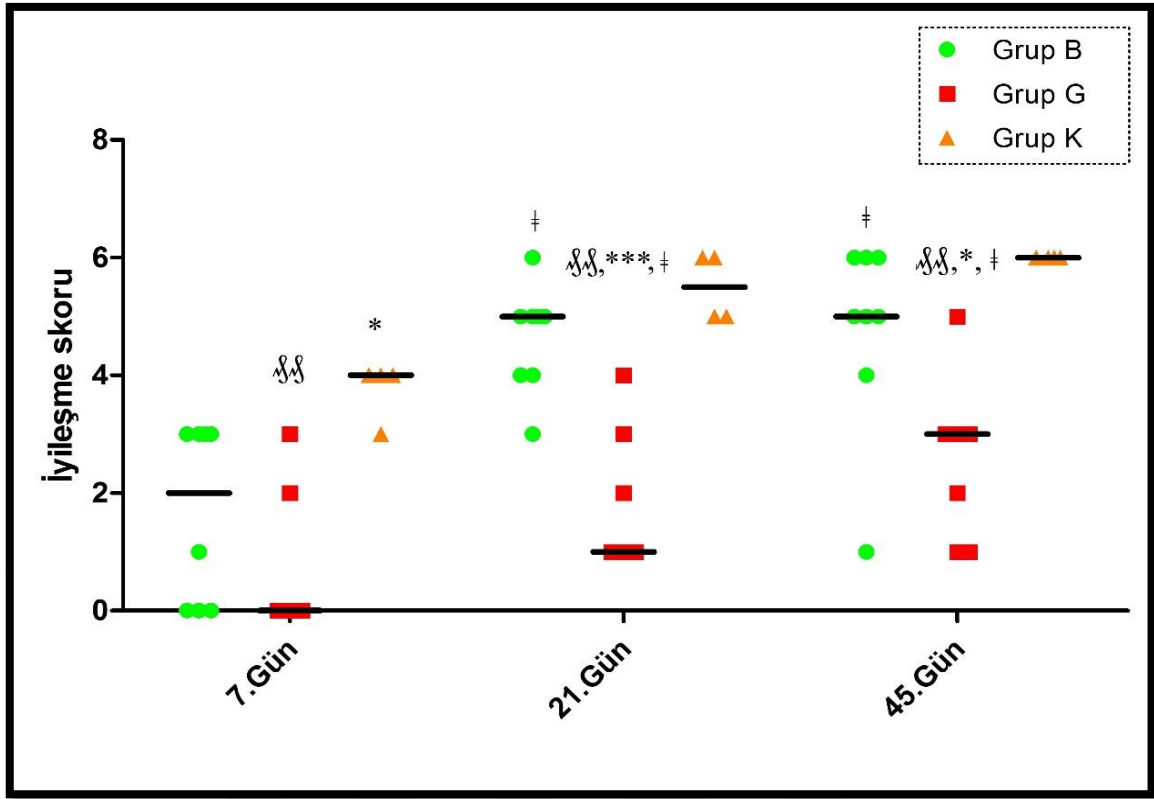
*** B ile karşılaştırılınca $p < 0,001$

† 7. gün ile karşılaştırılınca $p < 0,05$.

İyileşme bulgularında, 3 grup arasında yapılan karşılaştırmada 7., 21. ve 45. günlerde istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı fark bulunmuştur (ANOVA sırasıyla $p:0,006$, $p:0,001$, $p: 0,003$).

Yapılan gruplar arası karşılaştırmalarda 7. günde K grubunun iyileşme skorunun G ($p < 0,01$) ve B ($p < 0,05$) gruplarına oranla istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu görülmüştür. 21. gün iyileşme bulgularında Grup G’nin Grup K ($p < 0,01$) ve B’ye ($p < 0,001$) oranla çok daha düşük olduğu izlenmiştir. Benzer şekilde 45. günde de iyileşme skorlarının Grup B’de ($p < 0,05$) ve K’da ($p < 0,01$) Grup G’ye oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan grup içi karşılaştırmalarda B ve G gruplarında 21. ve 45. günlerde iyileşme bulgularının 7. güne oranla istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde arttığı görülmüştür ($p < 0,05$).



Şekil 4-4: İyileşme Bulgularının Grafik Gösterimi

Ortanca (Min-Max), B: Bioglue, G: Greft+Bioglue, K: Kontrol

4.2.5. Nekroz Bulguları

Nekroz bulguları Tablo 4-5’de gösterilmiştir.

Nekroz	Grup B (n:8)	Grup G (n:8)	Grup K (n:4)	P
	+/-	+/-	+/-	
7. gün	4/4	8/0 *, §§	1/3	0,02
21. gün	0/8 †	2/6 #	0/4	0,1
45. gün	2/6	1/7 ##	0/4	0,5

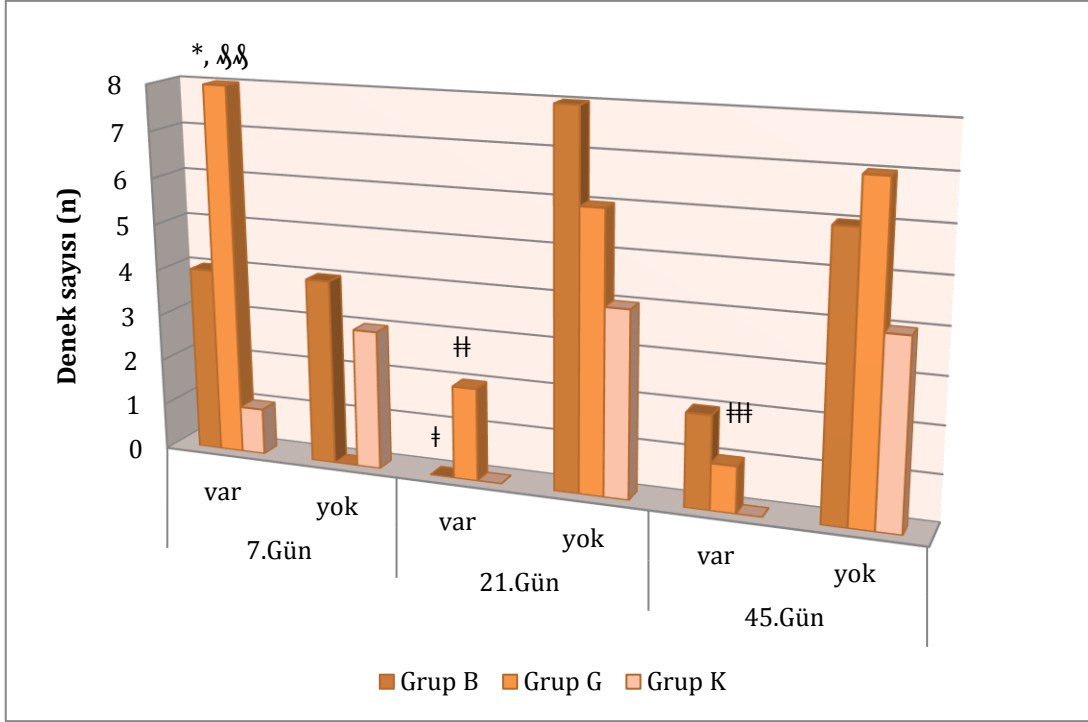
Tablo 4-5: Nekroz bulguları. B: Bioglue, G: Greft+Bioglue, K: Kontrol

- §§ K ile karşılaştırılınca $p < 0,01$
- * B ile karşılaştırılınca $p < 0,05$
- † 7. gün ile karşılaştırılınca $p < 0,05$
- # 7. gün ile karşılaştırılınca $p < 0,01$
- ## 7. gün ile karşılaştırılınca $p < 0,001$.

Gruplar arasında yapılan üçlü karşılaştırmada, nekroz değerlendirildiğinde, sadece 7. günde istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmuştur ($p: 0.02$).

Gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda, 7. günde Grup G’de tüm defektlerde nekroz tespit edilmiş olup, Grup G’deki nekrozun grup K ($p < 0,01$) ve Grup B ($p < 0,05$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur.

Yapılan grup içi karşılaştırmalarda, nekrozun Grup G’de 7.gün ile karşılaştırıldığında 21. ($p < 0,01$) ve 45. günlerde ($p < 0,001$) istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı düzeyde azaldığı gözlenmektedir. B grubundaki nekroz değerlerinin ise 7. güne oranla 21. günde anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir ($p < 0,05$).



Şekil 4-5: Nekroz Bulgularının Grafik Gösterimi

B: Bioglue, G: Greft+Bioglue, K: Kontrol

4.2.6. Yabancı Cisim Reaksiyon Bulguları

Yabancı cisim reaksiyon bulguları Tablo 4-6'da gösterilmiştir.

Yabancı Cisim Reaksiyonu	Grup B (n:8) +/-	Grup G (n:8) +/-	Grup K (n:4) +/-	P
7. gün	0/8	1/7	0/4	0,4
21. gün	0/8	2/6	0/4	0,2
45. gün	0/8	5/3 §, **, †	0/4	0,007

Tablo 4-6: Yabancı cisim reaksiyon bulguları. B: Bioglue, G: Greft+Bioglue, K: Kontrol

§ K ile karşılaştırılınca $p < 0,05$

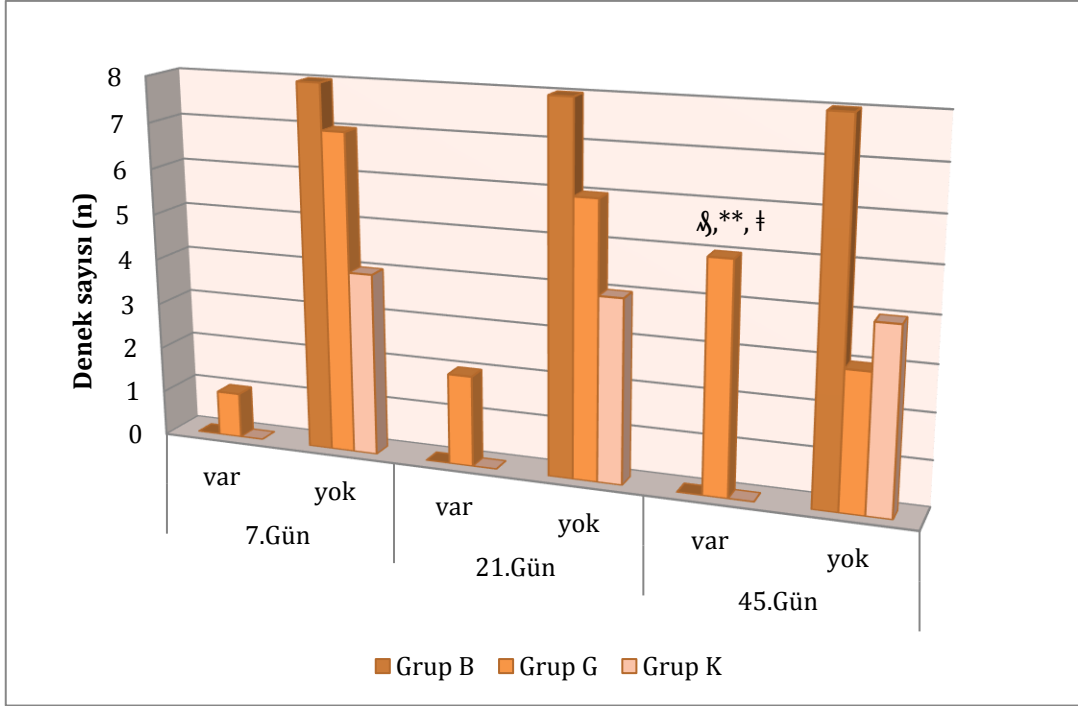
** B ile karşılaştırılınca $p < 0,01$

† 7. gün ile karşılaştırılınca $p < 0,05$

Yabancı cisim reaksiyonu açısından üç grup arasında yapılan karşılaştırmada sadece 45. günde istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmuştur ($p: 0.007$).

Yapılan ikili karşılaştırmalarda, 45. günde Grup G'deki yabancı cisim varlığının, Grup K ($p < 0,05$) ve Grup B ($p < 0,01$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur.

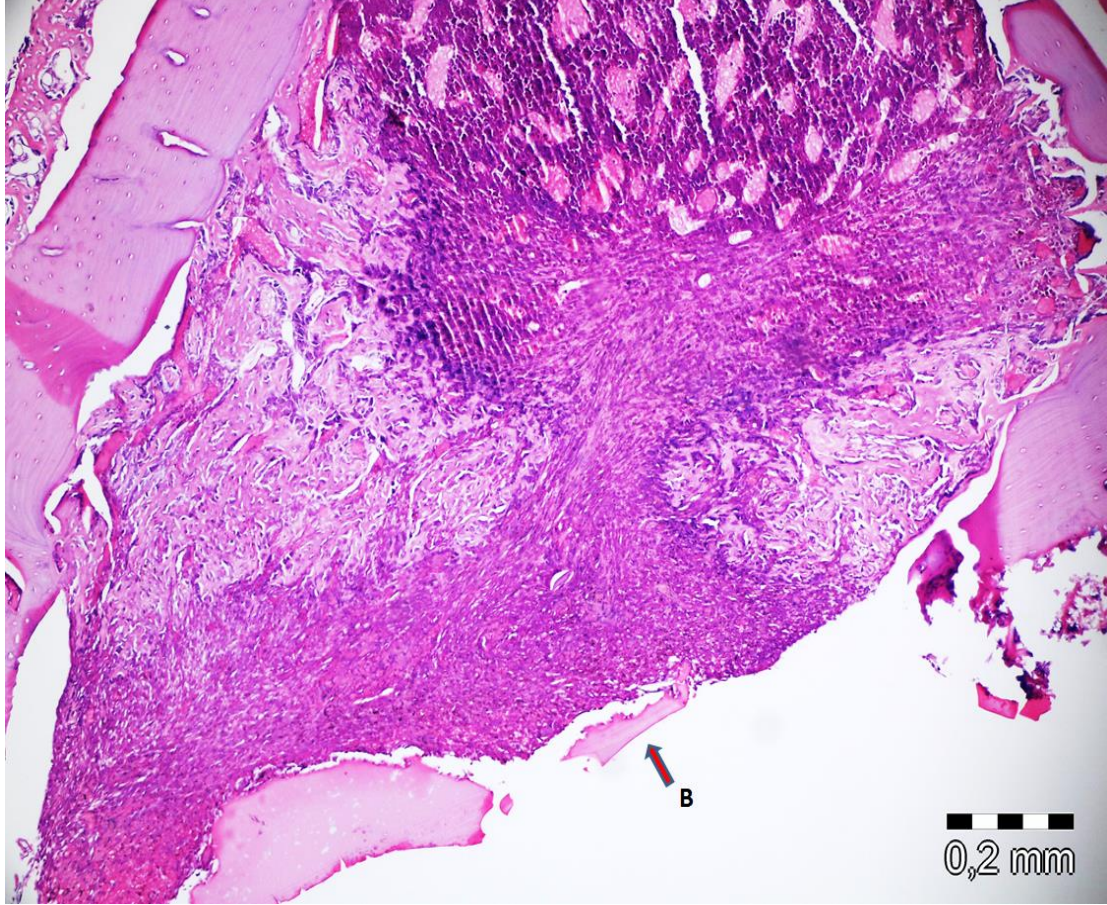
Yapılan grup içi karşılaştırmalarda yabancı cisim reaksiyonunun, Grup G'de 7. gün ile karşılaştırıldığında 45. günde ($p < 0,05$) istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde arttığı gözlenmiştir.



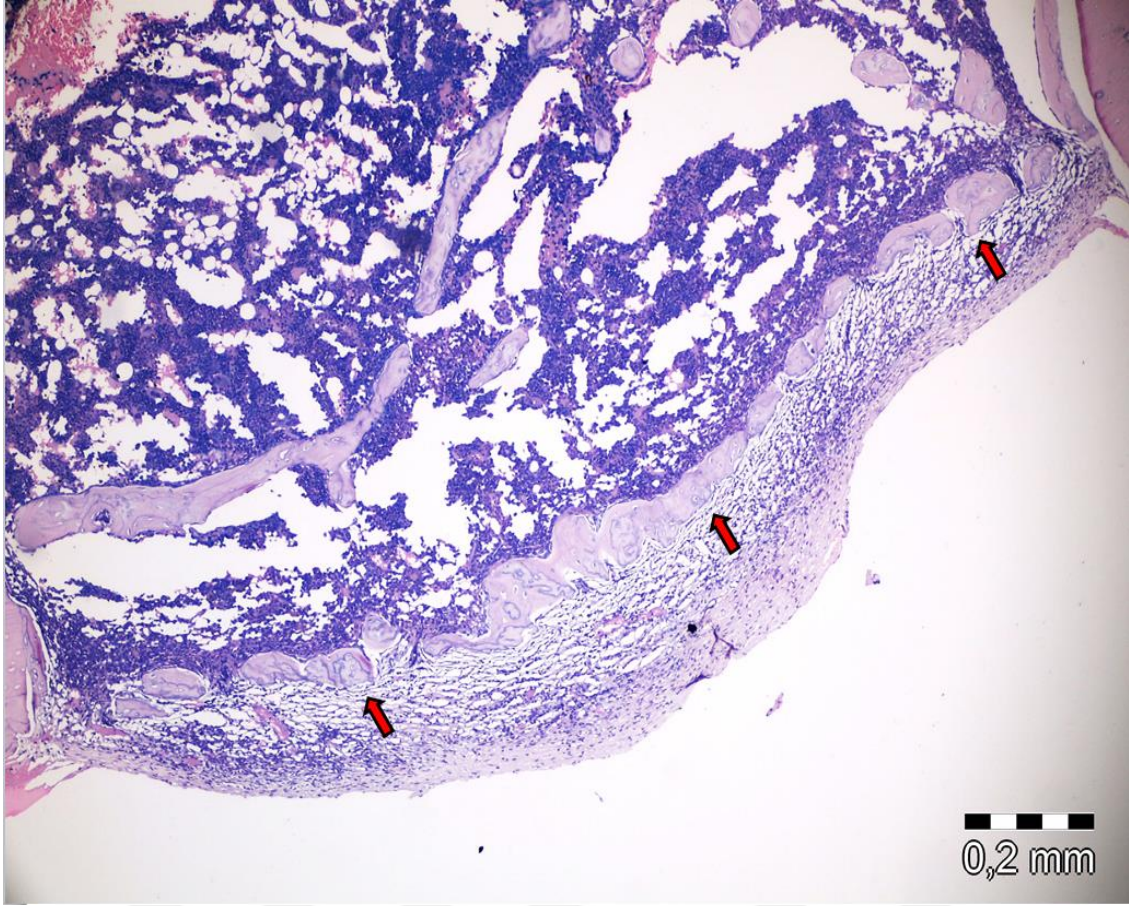
Şekil 4-6: Yabancı Cisim Reaksiyon Bulgularının Grafik Gösterimi

B: Bioglue, G: Greft+Bioglue, K: Kontrol

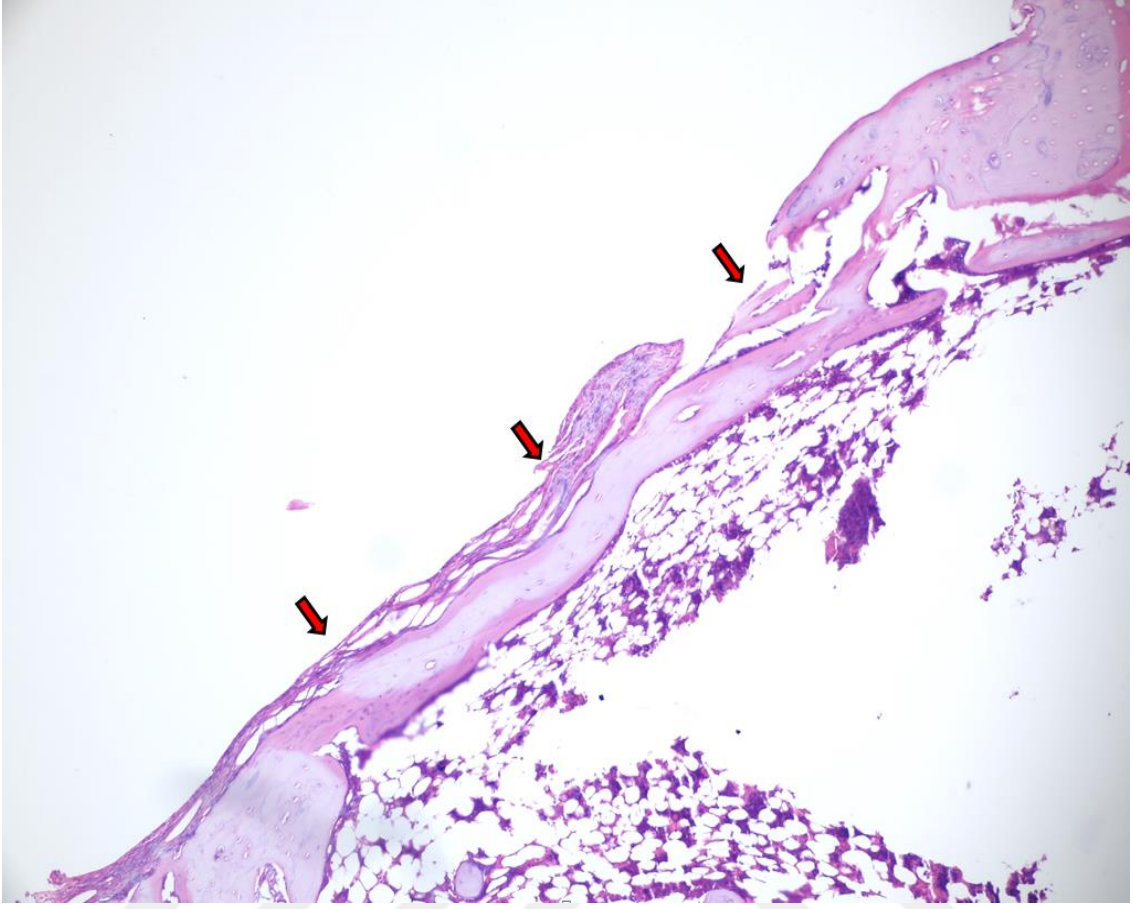
4.3. Işık Mikroskobu Değerlendirmeleri



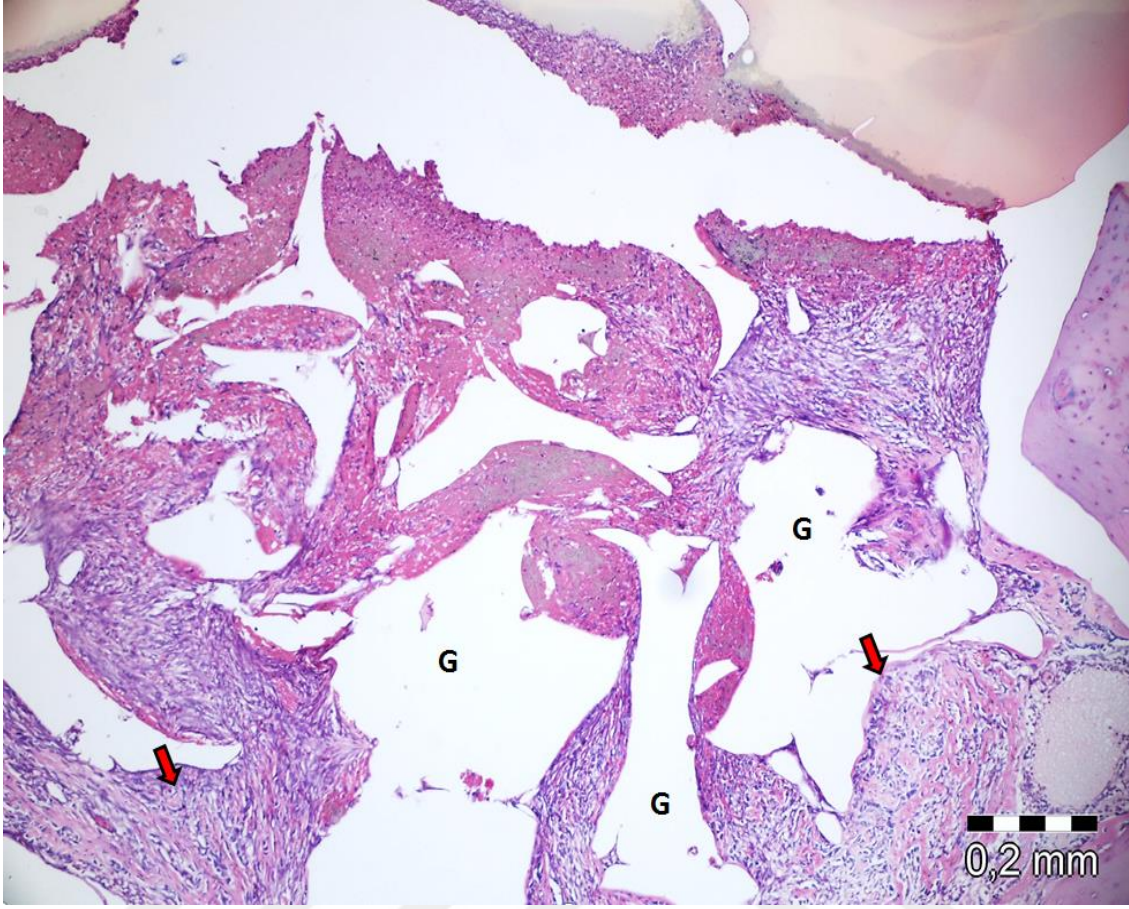
Şekil 4-7: Bioglu grubunda 7. günde defektin yüzeyinde bariyer oluşturan materyalin artıkları, altında genç mezenkim hücreleri, fibrosit ve fibroblastlardan oluşan aktif bağ dokusu içinde defektin kenarlarından başlayarak ortaya ilerleyen yeni kemik yapımı alanları görülmektedir (H&E x 100). (B: Bioglu)



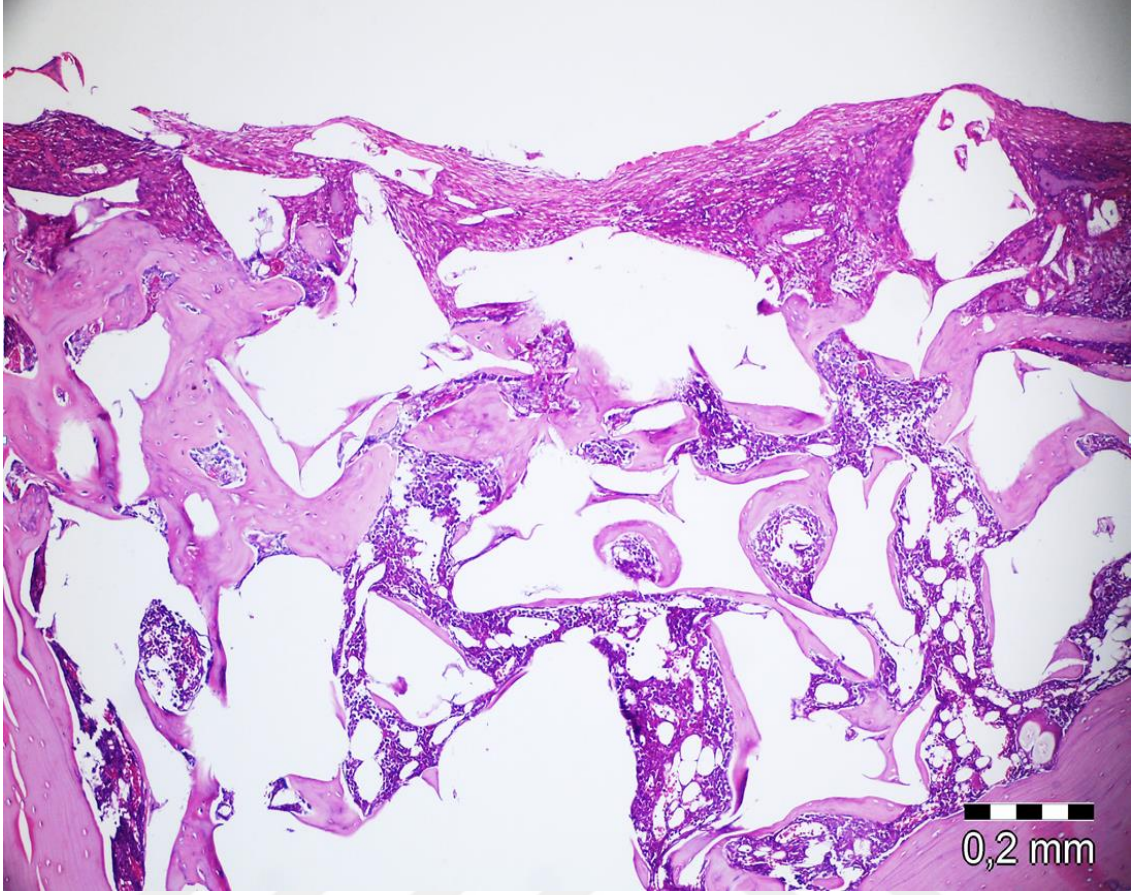
Şekil 4-8: Bioglu grubunda 21. günde defekt kenarları arasında defekt bölgesini kapatan köprüleşme tarzında, yüzeyden hafifçe kabarık yeni kemik dokusu görülmektedir (H&E x 100). (Kırmızı OK: Yeni kemik yapım alanları)



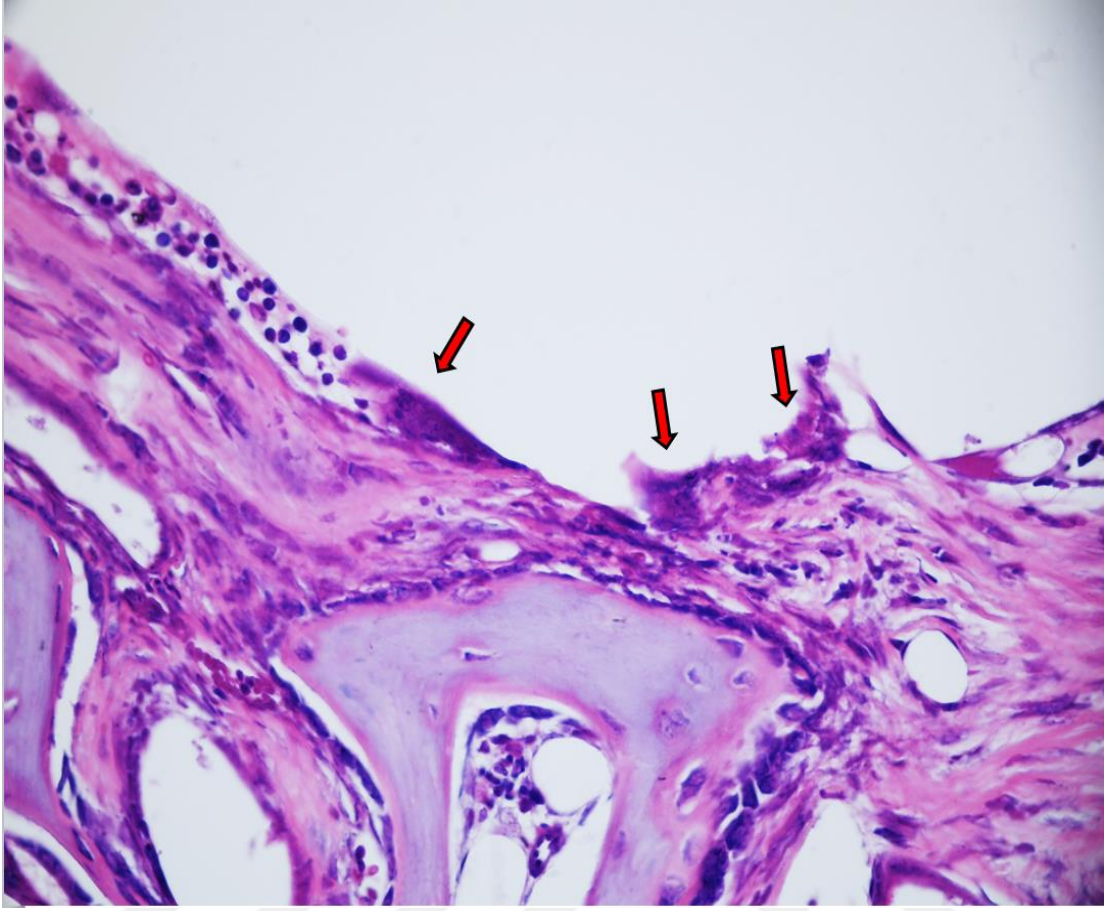
Şekil 4-9: Biogluce grubunda 45. günde defekt bölgesini kapatan ince lameller kemik dokusu görülmektedir (H&E x 100). (Kırmızı OK: Lameller kemik dokusu)



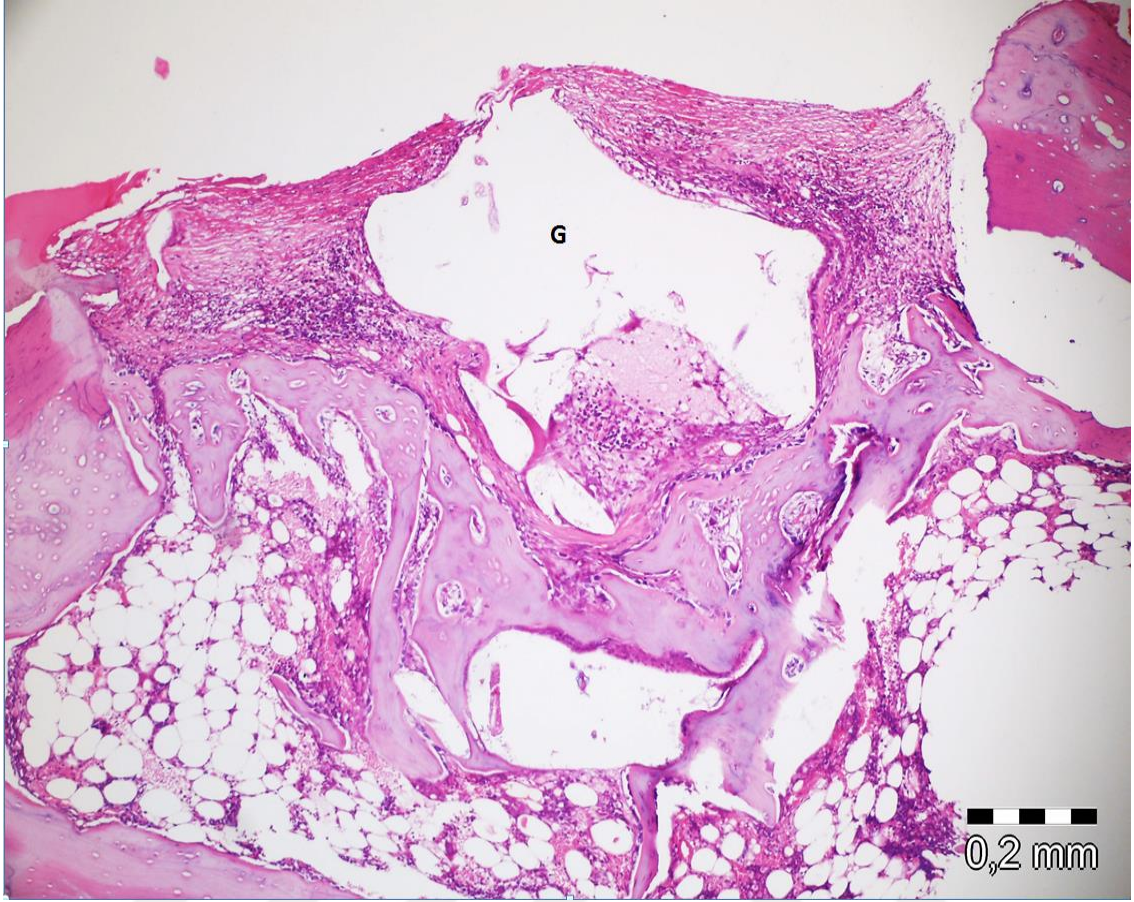
Şekil 4-10: Greft+Biogluce grubunda 7. günde yüzeyde bariyer materyali, altında kanama alanları içeren aktif bağ dokusu içinde greft materyalinden kalan boşluklar, tabana doğru trabeküler yeni kemik yapım alanları görülmektedir (H&E x 100). (Kırmızı OK: Yeni kemik yapım alanları, G: Greftin kapladığı alanlar)



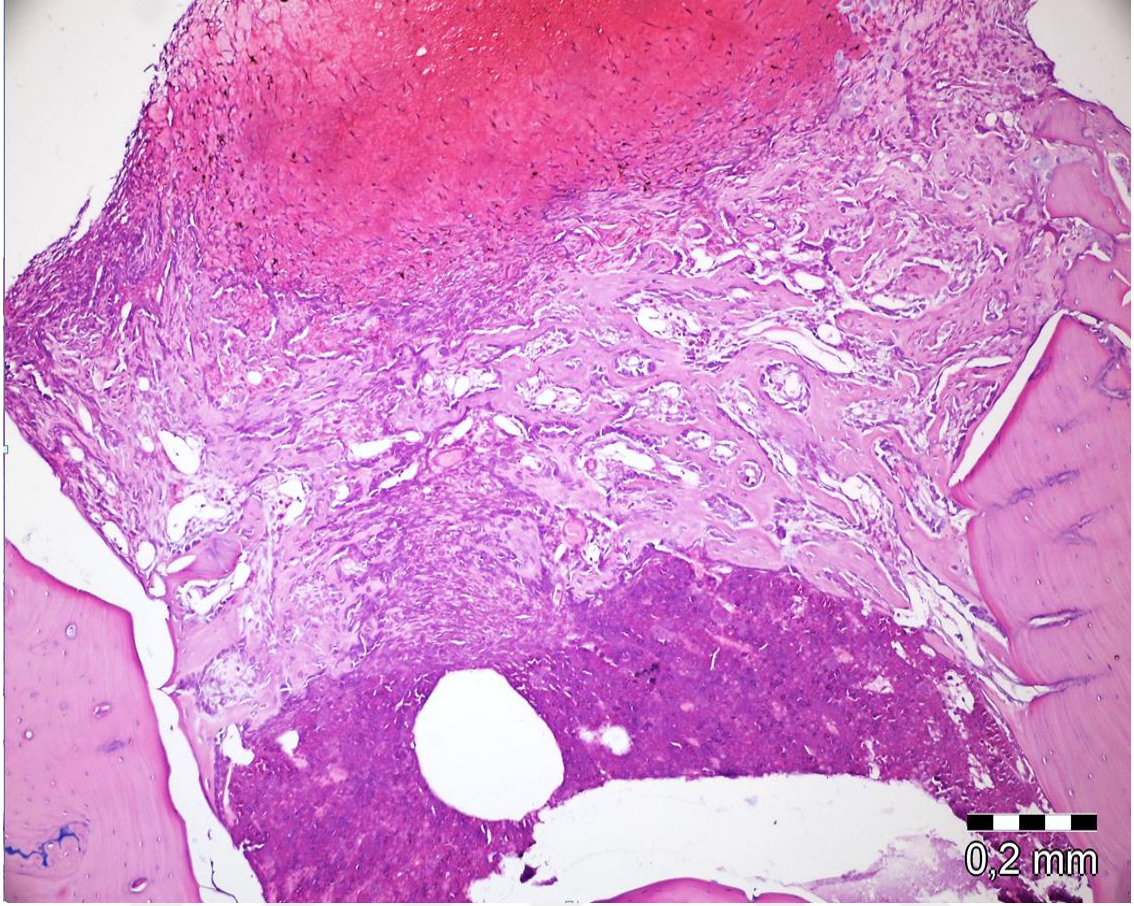
Şekil 4-11: Greft + Biogluce grubunda, 21. günde greft bölgesinde aktif fibröz doku içinde greft materyalinden kalan boşluklar ve çevrelerinde ince trabeküler kemik yapısı izlenmektedir (H&E x 100).



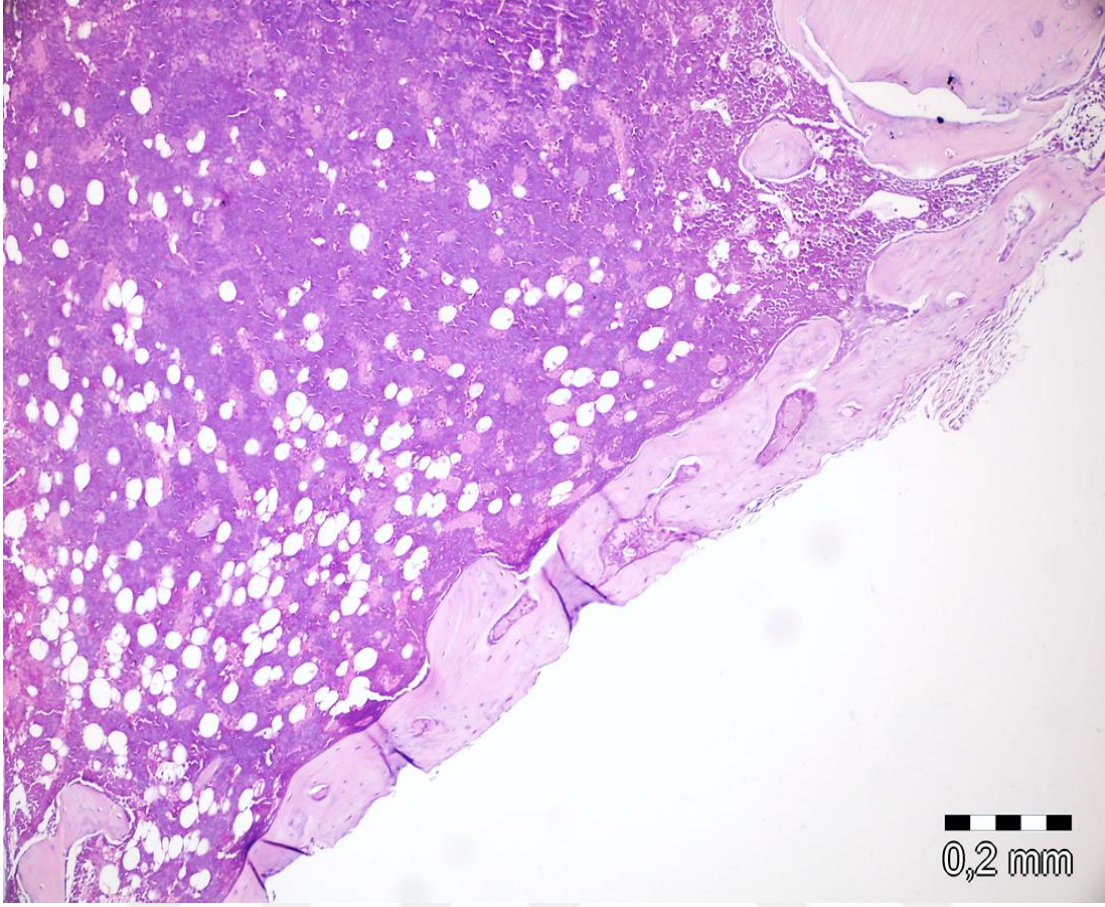
Şekil 4-12: Greft + Bioglu grubunda, 21. günde greft materyali çevresinde yabancı cisim dev hücreleri izlenmektedir (H&E x 400). (Kırmızı OK: Yabancı cisim dev hücre)



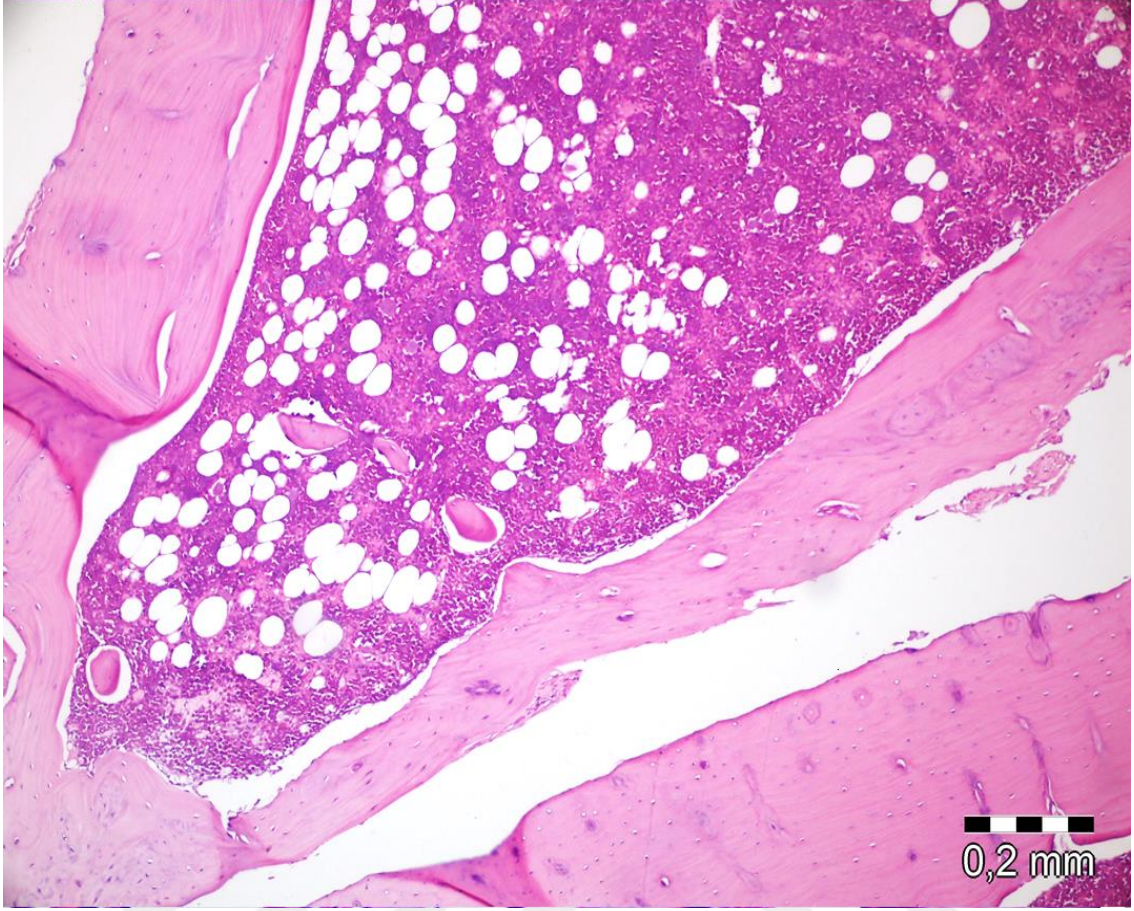
Şekil 4-13: Graft + Bioglu grubunda, 45. günde greft materyali çevresinde defekti büyük ölçüde kapatan düzensiz yapıda lameller ve trabeküler kemik dokusu görülmektedir (H&E x 100). (G: Graft alanı)



Şekil 4-14: Kontrol grubunda, 7. günde defekt kenarları arasında aktif fibröz bağ dokusu içinde yeni kemik trabekülleri izlenmektedir (H&E x 100).



Şekil 4-15: Kontrol grubunda, 21. günde defekti kapatan lameller-trabeküler yapıda kemik dokusu izlenmektedir (H&E x 100).



Şekil 4-16: Kontrol grubunda, 45. günde defekti kapatan lameller kemik dokusu izlenmektedir (H&E x 100).

5. TARTIŞMA

Çene ve yüz bölgelerinde enfeksiyöz, dejeneratif, kistik, travmatik ve neoplastik lezyonlara bağlı olarak gelişen kemik defektlerinin onarımları maksillofasiyal cerrahinin en önde gelen uğraş alanlarından biridir (102). Yeni kemikle dolması gereken bölgeler kemik dokusunun kendisini yenileme ve yeniden şekillendirme özelliğiyle iyileşir. Bu işlevlerin yetersiz kaldığı durumlarda, kemik sınırlarının doğal anatomiye uygun olarak tekrar oluşturulması amacıyla kemik greftleri, bariyer membranlar ya da biyomateryaller kullanılmaktadır (103).

Çalışmamızda; basit, cerrahi olarak tekrarlanabilen ve iyileşmenin farklı safhalarının değerlendirilebileceği bir model oluşturmayı amaçladık. Araştırmamızda sıçanları tercih etmemizin nedenleri; kemik metabolizmalarının hızlı olması, iyileşmenin çabuk gerçekleşmesi, deneylerin kısa sürede tamamlanabilmesi, deney hayvanlarının elde edilmesinin, barınma ve beslenme koşullarının kolay, maliyetinin düşük olması ve çalışılacak bölgede denekler için hayati önem taşıyan anatomik oluşumların bulunmamasıdır (104-106). Dişi sıçanlarda kemik yapımı üzerine etkisi olabilecek cinsiyet hormonlarının varlığı nedeniyle erkek sıçanlar tercih edilmiştir (107). Kaynaklarda iki tip defekt boyutundan bahsedilmektedir. “Kritik boyutlu defekt” tanımı deneğin yaşamı boyunca tamamen iyileşemeyen, olabilecek en küçük boyutta defektler için kullanılmaktadır (108). Konağa ve kemiğe göre değişiklik göstermekle birlikte kaynaklarda hangi çalışma için hangi boyutta defektlerin oluşturulması gerektiği ile ilgili kesin bir bilgi yoktur (109). Takagi ve Urist (110), kritik boyutlu defekt büyüklüğünü sıçanda 8 mm, fare ve tavşanda 15 mm olarak bildirmiştir. Freeman (111) ve Turnbull (112), sıçanların parietal kemiklerine açtıkları 2 mm çapındaki defektleri iyileşme yönünden incelemiş ve 12 hafta sonunda belirgin bir iyileşme olmadığını bildirmiştir. Kritik boyutta olmayan defektler ise; kendiliğinden iyileşebilen defektleri tanımlamaktadır. Jawad ve ark. (113) bu defekt modelinin karşılaştırmalı analizler için yeterli biyolojik materyali sağladığını belirtmiştir. Lewandrowski ve ark. (114) gözlemlerine ve yaptıkları çalışmalara dayanarak, seçtikleri sıçan modelinin ve kritik olmayan defekt boyutunun karşılaştırmalı histolojik değerlendirme için uygun olduğunu belirtmiştir. Kaynaklarda, kemik rejenerasyonu ile ilgili sıçan tibiaları üzerinde yapılmış çalışmalarda defekt boyutu ile ilgili farklı görüşler

bildirilmiştir. Esteves ve ark. (115) sıçan tibialarında 2x2 mm boyutunda, Kido ve ark. (116) 3x3 mm boyutunda defektler oluşturarak kemik iyileşmesini incelemiştir. Bizim çalışmamızda tercih ettiğimiz defekt modeli, tek taraflı, tek kortikal tabaka içeren 3 mm çapında, kaynaklarda yapılmış tanımlamalara göre kritik boyutta olmayan defekt sınıflamasında yer almaktadır. Bu model, tibia kırık riskleri göz önünde bulundurularak, stabilizasyon için herhangi bir fiksasyona ihtiyaç duyulmaksızın, en basit şekilde çalışmak için planlanmıştır. Kritik boyutlu defekt modeliyle yapılan deneysel çalışmalarda (117-119) kontrol gruplarında kemik iyileşmesinin tamamen gerçekleşmediği bildirildiği için çalışmamızda kritik boyutta olmayan defektler oluşturup kullandığımız materyallerin iyileşme süreci devam ederken yaptıkları etkileri karşılaştırmalı olarak değerlendirmeyi hedefledik.

Kemik iyileşmesinin histolojik olarak incelendiği çalışmalarda farklı sakrifikasyon zamanları tercih edilmiştir. Hayvan modellerinde, yeni kemik oluşumu ve anjiogenezisin gözlemlenmesi için 4 haftalık sürenin yeterli olduğu bildirilmiştir (120). Frota ve ark. (121) sıçan modelinde β -TKF'nin kemik üzerindeki etkilerini 7., 15. ve 30. günlerde incelemiştir. Calvo ve ark. (122), β -TKF'nin kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerini 15., 30., 45. ve 60. günlerde değerlendirmiştir. Valiense ve ark. (123), sıçan kalvaryasında 4 mm çapında hazırladıkları kritik boyutta olmayan defektlere HA içerikli kemik greftlerini yerleştirerek 7., 21. ve 42. günlerde yeni kemik oluşumunu histolojik olarak incelemiştir. Biz de sıçan modelinde anjiogenez ve yeni kemik yapımını gözlemek için önerilen süreleri dikkate alarak deneylerimizi 7., 21. ve 45. günlerde sonlandırdık. Defekt bölgesindeki kemik iyileşmesini değerlendirmek için; histopatolojik olarak iltihap, fibrozis, yeni kemik yapımı, iyileşme bulguları, nekroz ve yabancı cisim reaksiyonu değişkenlerini değerlendirdik.

YKR tekniğinde farklı bariyer materyalleri kullanılarak deneysel çalışmalar yapılmakta olup, iyileşmenin desteklenmesinde materyallerin hangi özelliğinin daha etkili olduğu konusunda tartışmalar devam etmektedir (124). Bariyer materyalinin hareketsizliği, bariyer ve konak kemik arasındaki sızdırmazlık, yumuşak dokunun defekt içine büyümesinin engellenmesi, yeterli dolaşımın varlığı ve osteojenik hücrelerin bölgeye ulaşımının aksamaması gibi etkenlerin birarada olması başarılı bir YKR için gereklidir (125, 126). YKR'de kullanılacak materyalin biyouyumlu olması,

hacim oluşturması, istenmeyen hücre geçişine engel olması, doku bütünlüğünü sağlaması gereklidir (127). YKR tekniğinin uygulanmaya başladığı dönemde genişletilmiş politetrafloroetilen membranlar kullanılmaktayken, daha sonra ikincil cerrahi gereksinimden kaçınmak için rezorbe olabilen kollajen membranlar geliştirilmiştir (128). Kemik iyileşmesi üzerinde yapılan birçok çalışmada; kollajen membranlar, hemostatik mekanizmaya yardımcı olmaları, fibroblastlara karşı kemotaktik özelliğe sahip olması ve geçirgenlik gibi özellikleriyle tercih edilmişlerdir. Ancak, kollajen yapısı makrofaj ve lökositlerin neden olduğu enzimatik aktivite sonucunda hızla yıkıma uğramakta ve membran direnci zayıflamaktadır. Rezorpsiyon sürelerinin tahmin edilemez oluşu, yapısal bütünlüğünü erken dönemde kaybetmesi ve stabilizasyondaki yetersizliği, kollajen membranların başarısızlık sebepleri arasında gösterilmiştir (129).

Kemik iyileşme sürecinin bağ dokusuna göre daha yavaş gerçekleşmesi ve osteoblastlar oluşuncaya kadar defektin bağ dokusu ile dolması osteogenezi olumsuz yönde etkilemektedir. Sonuçta oluşan fibrotik dokunun kemik dokusu gibi fonksiyon göstermeyip, kuvvetlere karşı dirençli olmaması ve defekt alanının fonksiyonunu sağlayamaması YKR alanında farklı materyallerin ya da kombinasyonların kullanımını gündeme getirmiştir (130). Kollajen gibi rezorbe olan membranların erken dönemde deforme olarak stabilitesini kaybetmesinin sakıncaları bariyer materyallerinin fiziksel özelliklerinin güçlendirilmesi ve/veya kemik greftleri ile kombine halde kullanılmaları ile ortadan kaldırılmaya çalışılmıştır (131-133). Cortellini ve ark. (134), rezorbe olmayan 3 farklı membranın etkinliğini karşılaştıran bir klinik çalışmada, YKR uygulamasını takiben klinik ataşman kazanç miktarının kullanılan membranın özelliğinden etkilenmediğini ve membranın hücre tutucu özelliğinin çok sayıda biyomateryalle sağlanabileceğini belirtmiştir. Aynı araştırmacılar, 1994 yılında kemik içi defektlerde bariyer amacıyla rubber dam kullandıkları çalışmada 1 yılın sonunda kemik ve klinik ataşman miktarında artış gördüklerini bildirmiştir. Rubber dam kullanmalarındaki nedenleri; geçirgenliğinin olmaması, defekti dış ortamdan tamamen izole etmesi ve elastik yapısı gibi fiziksel özellikleriyle açıklamışlardır (135).

Maksiller ve mandibuler kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda yeni kemik oluşumu ve YKR'nun beklendiği gibi çalışabilmesi için kan pıhtısının stabilizasyonunun ve matürasyonunun bozulmaması ve boşluğun korunması önem taşımaktadır (136). Simion ve ark. (122), defekt üzerinde kullanılan bariyer membranların pıhtıyı stabilize ettiği, boşluğu koruduğu ve böylelikle yeni kemik yapımı için gereken osteojenik hücrelerin sahaya göçünü kolaylaştırdığı sonucuna varmıştır. YKR için tek başına kemik greftinin uygulandığı durumlarda, partiküllerin defekt bölgesinde kalmadığı ve kemik oluşumu öncesinde gerçekleşen bu hareketin osteokondüktiviteyi azalttığı bilinmektedir (137). Osteokondüktif materyallerin yer tutucu fonksiyonunu desteklemek amacıyla, fibröz dokuların defekt alanına doğru hızla büyümesini ve greft partiküllerinin göçünü engellemek için bariyer membranlar ile birlikte kullanılması önerilmektedir (50, 138). Yapılan bir sistematik derlemeye göre; bariyer membranların kemik greft materyalleri ile birlikte kombine olarak kullanılmalarının, tek başına kullanılmalarına oranla kemik rejenerasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (139). Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, partikül göçüne sebep olabilecek sorunları gidermek için farklı yaklaşımlarda bulunulmuştur. Bu yaklaşımlar içinde en sık tercih edilen yöntem, rezorbe olan veya olmayan materyalleri kullanarak fiziksel bir bariyer oluşturmaktır (122).

1990'ların başında, tüm mevcut membran sistemlerinin ortak özelliği olan ve etrafındaki yumuşak dokuların tutunmasını sağlayan makroporozitenin, implantın ya da greftin stabilizasyonu için gerekli olduğu düşünülmekteydi. Ancak, oral bölgede makroporöz biyomateryallerin kullanımının erken bakteriyal kontaminasyona ve antibiyotiğe dirençli enfeksiyona sebep olabileceği bildirilmiş ve poröz yapıda olmayan materyaller ile yapılan çalışmalar gündeme gelmiştir. Pritlove-Carlson ve ark. (140), Selvig ve ark. (141), Wang ve ark. (142) tarafından *in vitro* ve *in vivo* ortamlarda genişletilmiş politetrafloroetilen, kollajen ve polilaktik asit membranların ağız bakterileri ile kolonizasyonları gösterilmiştir. Bartee ve Carr (143), sıçan mandibulasında 4 mm lik tam kalınlıkta defektler oluşturarak poröz olmayan yüksek yoğunluklu n-PTFE membranın etkinlik ve stabilitesini incelemiştir. Membranın YKR prosedüründe bariyer olarak etkin bir şekilde kullanılabileceğini ve YKR membranının altında başarılı bir kemik oluşumu için makroporozitenin bir ön koşul olmadığını vurgulamıştır. Aynı çalışmada, membran por yapısının besin ve oksijen difüzyonu için

önemli olabileceği düşünülmüş, ancak tüm membran sistemlerinde en önemli mekanizmanın hızlı çoğalabilen yumuşak doku hücrelerinin mekanik blokajı olduğu belirtilmiştir.

Membranların kaynaklarda bahsedilen dezavantajlarını en aza indirmek amacıyla çalışmamızda rezorbe membranlara oranla 3 ay - 2 yıl arasında uzayan rezorpsiyon sürelerine sahip, dokulara adezyon özelliği olduğu bilinen ve poröz yapı içermeyen Bioglue hidrojelini bariyer materyali olarak kullandık. Oluşturduğumuz kemik defektlerinde materyali, bir grupta boş defektin üzerinde uygulayarak tek başına Bioglue'nun, diğer deney grubunda ise β -TKF/HA kemik greftini Bioglue ile kaplayarak, granülasyon dokusu ve yeni oluşacak fibroosseöz ya da osseöz dokular üzerindeki etkilerini inceledik. Yerleştirilecek greftin ya da pıhtının stabilizasyonunun kemik iyileşmesi üzerindeki olumlu etkilerini gösteren çalışmalar (122, 136) dikkate alınarak, ayrıca β -TKF/HA partiküllerinin yuvarlak yapıda olmasının tek başına kullanıldığında dokular arasına göçü arttıracaklarını düşünerek defekt hacmini korumak için her iki deney grubuna da Bioglue'yu bariyer olarak uyguladık. Kollajen, hyaluronik asit ya da fibrin yapıştırıcısı gibi biyomateryallerle greft karıştırılarak kullanıldığında, bariyer membran olmadan kemik oluşumunun hızlandığını gösteren farklı çalışmalar vardır. Bu yapışkan materyaller genellikle osteoindüktif özellikte olmayan ve kabul edilebilir rezorpsiyon sürelerine sahip biyouyumlu materyallerdir (137). Çalışmamızda kullandığımız Bioglue hidrojel 3 ay- 2 yıl arasında rezorbe olabilen ve kısa sürede sertleşen esnek bir materyaldir. Sertleşme süresinin kısa olması greftle karıştırılıp kaviteye yerleştirmeyi imkansız hale getirmektedir. Ayrıca, 2 yıla uzayan rezorpsiyon sürelerinden dolayı yeni kemik yapımını olumsuz etkileyebileceğini düşündüğümüz için Bioglue materyalini greftle karıştırarak uygulamayı tercih etmedik. Uygulanan Bioglue materyalinin kalınlığının, esneklik ve rezorpsiyon sürelerinde etkili olduğu, kalınlığın artmasıyla rezorpsiyon süresinin uzadığı, esnekliğin ise azaldığı belirtilmiştir. Yumuşak dokuda adezyon bariyeri endikasyonu ile kullanıldığında, bükülme ve manüplasyon açısından optimal kalınlığın 0.4 mm (1-2 damla) olması gerektiği vurgulanmıştır. Wang ve ark. nın (144) yaptıkları çalışma sonuçlarına göre, perikardiyal onarımda bu kalınlıkta uygulanan materyalin 3-6 ay arasında rezorpsiyona uğradığı ve çok az miktarda kalıntı bıraktığı gösterilmiştir. Çalışmamızda, benzer olarak materyali her defekte 1-2 damla uygulayarak kalınlığı standart hale getirmeyi ve önerilen kalınlığın

stabilizasyon açısından etkinliğini incelemeyi amaçladık. 7., 21. ve 45. günlerde yaptığımız makroskopik incelemede Bioglue materyali'nin defekt üzerinde intakt kaldığını gözlemledik ve yumuşak doku ile kemik arasında greft partiküllerine rastlamadık. Bu veriler bize, Bioglue'nun stabilizasyon açısından bu tür defektlerde kullanımının uygun olabileceğini düşündürmektedir.

İdeal kemik greftini bulmak amacıyla birçok materyal denenmiş ancak istenilen özellikleri tümüyle sağlayan greft materyali henüz bulunamamıştır (145). Günümüzde ‘‘altın standart’’ olarak kabul edilen otojen greftlerin bilinen dezavantajlarından dolayı allogreft, ksenogreft ve sentetik materyallerin kullanımı gündeme gelmiştir (146, 147, 148). Otogreftte alternatif olarak en sık allogreftler tercih edilirken, hastalık transfer riski, yabancı cisim reaksiyonu gibi dezavantajları ortadan kaldırmak için uygulanan işlemlerin osteojeniteyi zayıflattığı gerekçesiyle klinik kullanım açısından yetersiz bulunmuş (149) ve osteokondüktif iskeletlerin geliştirilmesini temel alan doku mühendisliğinde geniş çaplı araştırmalar yapılmaya başlanmıştır (150, 151). Alloplastik materyallerin istenilen miktarda temin edilebilmeleri, kimyasal formüllerinin değiştirilmesi ve rezorpsiyon sürelerinin kontrol edilebilmesi gibi avantajları sayesinde klinik kullanımları yaygınlaşmıştır (152). İdeal kemik yerine geçen materyallerin, sadece yeni kemik ve damar oluşumunu stimüle etmekle kalmaması, aynı zamanda remodeling boyunca defekt hacmini koruyabilmek için düşük yer değiştirme oranına sahip olması gerektiği belirtilmiştir (153, 154). Bu özellikteki biyomateryaller fiziksel açıdan bariyer materyalini destekleyerek ve iyileşme sürecinde membranın çökmesine engel olarak kemik rejenerasyonuna katkı sağlamaktadırlar (155).

Broggini ve ark.'nın (153) yaptıkları bir çalışmada, HA, deproteinize sığır kaynaklı kemik grefti, BKF (40/60% β -TKF/HA) ve otolog partiküllü kemik grefti karşılaştırılmıştır. 2. ve 8. haftalarda yeni kemik oluşumu açısından otolog greft grubunda değerlerin diğer gruplara oranla anlamlı derecede yüksek olduğu ancak deproteinize greft, HA ve BKF'in defekti doldurma yüzdelerinin birbirlerine yakın ve otolog greft grubu ile kıyaslandığında çıkan farkın anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuş, HA ve BKF kullanımının defekt hacmini korumada etkili olduğu bildirilmiştir. İnsan modelinde yapılan bir çalışmada, diş çekim soketlerinde β -TKF/HA (%40/60) ile deproteinize edilmiş sığır kaynaklı kemik grefti karşılaştırılmış ve 8 ay

sonra yapılan incelemede β -TKF/HA'in, bukkolingual boyutu sığır kaynaklı grefte oranla daha iyi koruduğu sonucuna varılmıştır (87). Daculsi ve ark. (156), β -TKF/HA'in farklı oranlarını (15/85, 35/65, 85/15) karşılaştırdıkları deneysel çalışmalarında, bu oranların greft materyalinin sadece çözünme süresinde etkili olduğunu bildirmişlerdir. β -TKF/HA içeriğinde, artan β -TKF'in daha hızlı çözülmede, HA miktarındaki artışın ise daha geç gerçekleşen rezorbsiyon üzerinde etkili olduğu vurgulanmıştır. Ayrıca, %40'ını β -TKF, %60'ını HA'in oluşturduğu materyallerin insan kansellöz kemik yapısını taklit ettiği bildirilmiştir (157).

Osteokondüktif çatı materyallerinin osteoindüktif faktörler ve osteojenik hücreler ile beraber kullanılmasının kemik rejenerasyonu üzerinde yaptığı etkileri incelemek için doku mühendisliği alanında geniş çapta araştırmalar yapılmaktadır (158). Wiltfang ve ark. (159) tarafından sinüs ogmentasyonu sırasında β -TKF kemik grefti ve trombosit zengin plazma ayrı ayrı ve karışım halinde kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerine bakılmış, TZP uygulamasının greft materyalinin yıkımı üzerinde hızlandırıcı bir etkisinin olmadığı ve kemik yapım hızında değişiklik gözlenmediği bildirilmiştir. TZP'nin sadece osteosit veya osteoblast gibi hedef hücrelerin varlığında kemik oluşumunu hızlandırılabilceği vurgulanmıştır. Jensen ve ark. nın (160) yaptıkları çalışmada, trombosit konsantresi β -TKF, otogreft ve inorganik sığır kaynaklı kemik greft materyalleri ile karıştırılarak uygulanmıştır. Histolojik incelemelerde, karışım halinde uygulanan greftlerin, tek başına uygulandığı gruplarla benzer sonuçlar elde edilmiş, trombosit konsantresinin greft materyalleri ile kombine kullanımının, yeni kemik dokusu oluşumu ve greft yıkımı üzerinde hızlandırıcı bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır. Bu bilgiler doğrultusunda, hacim oluşturmada ve sürdürmede başarılı sonuçlar verdiği gözlenen ve %40/60 oranındaki β -TKF/HA greft materyalini osteoindüktif ve osteojenik faktörler ya da hücreler olmadan kullanmayı tercih ettik.

Alloplastik materyallerin fiziksel özelliklerinden biri olan por yapısının, yeni kemik gelişimi ve hücrel infiltrasyon için önemli olduğu vurgulanmaktadır. Fagositik hücrelerin 50 μ m'den daha küçük porlara doğru göç edemedikleri ve olası bir kontaminasyon durumunda makrofajların bölgeye ulaşamamaları sonucunda enfeksiyon riskinin artacağı bildirilmiştir (161). Çalışmamızda kullandığımız β -TKF/HA materyalinin partikül büyüklükleri 500-1000 μ m ve porları 100-500 μ m arasındadır. Bu

por büyüklüğü optimal hücre penetrasyonunu ve damarlanmayı desteklerken, materyalin kemiğe entegrasyonunu güçlendirmektedir (162).

Kontrol grubunu kendi içinde incelediğimizde 7. günde kemik oluşumunun görüldüğü, 21., 45. günlerde giderek arttığı ve tüm deneklerde defektin 45. günde tamamen kemikle dolduğu görülmüştür. Ayrıca çalışmamızda, kontrol grubundaki deneklerde zaman içinde iltihap, fibrozis ve nekroz alanlarının giderek azaldığı görülmektedir. Bu değişkenlerin aldığı değerlerin azalması sonucunda yeni kemik yapımı alanlarında düzenli bir artışın olması normal seyrinde bir iyileşme sürecini göstermektedir.

Bariyer membranların kemik rejenerasyonu öncesinde ağız ortamına açılmaları iyileşmeyi olumsuz yönde etkilemektedir (163). Açığa çıkan bölgede kollajen yapısında görülen erken yıkım, bariyer fonksiyonunun ve kemik dolumunun azalmasına yol açmaktadır (122). Slots ve ark.'nın (164) yaptıkları bir çalışmada, bariyer membranların mikrobiyal kontaminasyon durumunda beklenen klinik etkiyi ortaya koymakta yetersiz kaldıkları gösterilmiştir. Cortellini ve ark. (165), rejeneratif tedavilerin başarısının uygulanan membranın özelliklerinden çok mikrobiyal kontaminasyon ile ilişkili olduğunu belirtmiştir. Tüm membran sistemlerinin ortak özelliklerinden olan makroporöz yüzey yapısının bakteriyel kontaminasyonla ilişkili olduğu ve poröz olmayan yapıdaki materyallerin mikroorganizma penetrasyonunu ve beraberinde antibiyotiğe dirençli enfeksiyon gelişimini engelleyebileceği vurgulanmıştır (143). Biz gruplarımızda, kemik iyileşmesini engelleyecek ya da bozacak enfeksiyon bulgusuna klinik olarak rastlamadık. Bioglue materyalinin gözenekli olmayan yapısının yara kenarından gelebilecek kontaminasyonun azaltılmasında rol aldığını düşünüyoruz.

Tek başına Bioglue hidrojeli uyguladığımız grupta, zamanla iltihap değerlerinde belirgin bir azalma gözlenirken, yabancı cisim reaksiyonuna hiçbir denekte rastlanmaması materyalin biyoyumlu yapısı ile açıklanabilir. Maksillofasial cerrahi alanında yayınlanmış tek olgu sunumunda, Bioglue hidrojeli yapıştırıcı amaçlı tek taraflı temporomandibuler eklem ankilozu tedavisinde kullanılmış, ancak periyodik kontrollerde materyalin durumu ile ilgili bilgilendirme yapılmamış ve kemik iyileşmesi üzerindeki etkisi de değerlendirilmemiştir (166). Buna ek olarak, Bioglue'nun kemik

iyileşmesi üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği herhangi bir çalışmaya rastlanmamış ve elde edilen bulguları doğrudan karşılaştırma imkanımız olmamıştır. Kaynaklarda, yumuşak dokudaki kullanımı ile ilgili çelişkili bilgiler yer almaktadır. Wang ve ark. (144) Bioglue materyalinin ciddi bir enflamatuvar yanıt geliştirmedeğini bildirmiştir. Ancak, kardiyovasküler cerrahi alanında yapılmış çalışmalarda, Bioglue'nun yumuşak doku üzerindeki bazı olumsuz etkilerinden bahsedilmiştir. Babin-Ebell ve ark. (98) yabancı cisim reaksiyonu geliştiğini, Szafranek ve ark. (99) kist benzeri oluşum tespit ettiklerini, Lemaire ve ark. (96) diyafragmatik paralizi, akut sinir hasarı ve miyokardiyal nekroz gelişimini uyardığını, Pasic ve ark. (100) yara iyileşmesinde gecikme gördüklerini bildirmiştir. Çalışmamızda ise, Bioglue kullanımı ile ilişkilendirilebilecek yumuşak dokulara ait kist gelişimi, nekroz ya da yara iyileşmesinde gecikme gibi herhangi bir bulguya rastlamadık. Buna ek olarak, kemik iyileşmesini bozacak ya da engelleyecek herhangi bir olumsuz etki de gözlemedik. Ancak, elde ettiğimiz bulgulara dayanarak materyalin kemik üzerindeki kullanımının güvenli olduğu sonucuna varılmamalıdır. Farklı çalışma modelleriyle etkinliğinin ve güvenilirliğinin değerlendirilmesi gerektiğini düşünüyoruz.

Cerrahi travma periostal, endostal ve medullar olmak üzere 3 farklı iyileşme sistemini aktive etmektedir. Bu üç sistemin aktivasyonu, iyileşmenin erken dönemlerinde yoğun bir osteojenik cevap uyandırır (167). Periostta yer alan osteojenik tabakadaki hücrelerin, yaralanma durumunda yeni kemik oluşumu için osteoblastik hücrelere dönüştüğü ve iyileşmeye katkı sağladığı gösterilmiştir (168). Çalışmamızda kullandığımız cerrahi model, tek kortikal tabaka ve meduller kanal içermektedir. Her iki grupta da kullandığımız Bioglue hidrojeli, defekti tamamen kapatmakta ve hücre göçünü engellemektedir. Hücre seçici özelliğinin olmaması periosttan gelecek osteojenik hücrelerin geçişine de engel olmaktadır. Ancak, çalışmamızda 7., 21. ve 45. günlerde yeni kemik yapımı alan değerleri arasında Bioglue ve Kontrol gruplarında anlamlı bir farkın bulunmaması, kontrol grubunda devam eden periostal iyileşme faktörünün 3 mm lik tek kortikal tabaka içeren bu defekt modelinde kemik yapımına önemli ölçüde katkı sağlamadığını düşündürmektedir.

β -TKF/HA greftinin osteoindüktif özelliğinin olmadığı bilinmektedir (70). Çalışmamızda, histolojik kesitlerde β -TKF/HA + Bioglue uygulanan grupta 21. ve 45. günlerde defekt kenarlarından başlayan ve greftin rezorpsiyonu ile birlikte merkeze

doğru ilerleyen yeni kemik yapımı alanlarının görölmesi, materyalin osteokondüktif karakterde olduğunu düşündürmektedir. Aynı grupta, 7. günden 45. güne doğru nekroz verilerinde görölen azalmanın anlamlı olduğu, 7. günde tüm deneklerde nekroz alanları görölmesinin greft materyalinin iyileşme dokusu üzerinde yaptığı bir etki olabileceği ve zamanla bu etkinin zayıfladığı kanaatindeyiz. İltihap değerlerinin bütün deneklerde 21. ve 45. günlerde düşük-orta düzeyde seyretmesinde greft materyalinin fiziksel yapısının etkili olduğunu ve 45. günde greftin varlığını sürdürmesinin reaksiyonu devam ettirdiği düşünüyörz.

Fibrotik doku, granölasyon dokusu ile yeni kemik yapımı arasında oluşun bir geçiş dönemi dokusudur. Fibroblastların kollajen lif yapımına devam etmesi ile görölen ve kemikleşme oldukça ortadan kalkan bir dokudur (12). Buna bağlı olarak, 45. günde β -TKF/HA + Bioglue grubunda diğer gruplara oranla halen fibrozis alanlarının görölmesi, çalışmamızda kullandığımız greftin rezorpsiyon sürecinin devam etmesi ve buna bağlı olarak yeni kemik yapımında gecikme ile açıklanabilir. Her iki deney grubunda da fibrozis değişkeninin ortanca değerlerinde grup içi karşılaştırmalarda 21. günde artış olmasında, kemik yapımının bu dönemde duraksamış olabileceği ve her iki grupta da kullanılan Bioglue'nun bu duraksamada etkili olabileceği görüşündeyiz.

Tavşan tibiasında 6 mm çapında kritik boyutta oluşturulan defektlere BKF (β -TKF %40 / HA %60) ve kollajen membran uygulanarak yeni kemik oluşum yüzdelerine ve rezidüel greft ortalamalarına bakılmıştır. BKF grubunda yeni kemik oluşumu görölmüş ancak BKF + membran grubuna oranla kemikleşen alanların daha az olduğu ve her iki grupta da 45. günde greft partiküllerinin yeni oluşun kemik dokusunun içinde varlığını sürdürdüğu bildirilmiştir (122). Aynı çalışmada, BKF grubunda 30. ve 60. günlerde greft materyali yüzeyinde yabancı cisim dev hücreleri görölmüş ve bu durum aktif rezorpsiyon sürecinin devam etmesinin bir işareti olarak yorumlanmıştır (122). Bu bulgularla uyumlu olarak, çalışmamızda β -TKF/HA + Bioglue grubunda yabancı cisim reaksiyon varlığının 45. güne doğru artarak devam ettiğini gördük. Ayrıca, 45. günde greft partiküllerinin çok az miktarda rezorpsiyona uğradığını ve kemikleşme gösteren alanların içinde kaldığını saptadık.

Escobar ve ark. (169) tarafından, sıçan parietal kemiğinde 5 mm çapında tam kalınlıkta bilateral oluşturulan defektler, kontrol grubunda polietilen glikol (PEG) membranı, test grubunda ise β -TKF/HA ile doldurup PEG membranı ile kapatılmıştır. 2

ay sonra yapılan histolojik ve histomorfometrik incelemelerde, yeni kemik yapım alanları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığını, β -TKF/HA'in osteokondüktif özellikleri sergilemediğini ve çok az partikülün yeni oluşan kemikle birleştiğini bildirmiştir. İyileşme döneminde çok az partikül rezorpsiyonu görüldüğü ve β -TKF/HA'in mevcut boşluğu koruduğu belirtilmiştir. PEG membranının deney sonunda her iki grupta da intakt olduğu tespit edilmiş, ancak kontrol grubunda membranın defekt içine doğru kollapsı gözlenmiştir. Ayrıca, β -TKF/HA partiküllerinin etrafını yeni kemik yerine çoğunlukla fibröz dokunun kapladığı ve bu partiküllerin yakınında çok çekirdekli osteoklast benzeri hücrelerin görüldüğü bildirilmiştir. Çalışmamızda β -TKF/HA + Bioglue uyguladığımız gruptan elde ettiğimiz sonuçlar, bu çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Bioglue hidrojel her iki deney grubumuzda da tüm zamanlarda intakt kalmış, tek başına uygulanan grupta defekt içine kollabe olmamış ve boşluğu korumuştur. Escobar ve ark. (169), PEG membranı hacminde tüm gruplarda artış olduğunu bildirmiş ve tek başına uygulanan grupta meydana gelen çökme bu ekspansiyona bağlanmıştır. Bu veriler ışığında, Bioglue'nun fiziksel dayanımının tek başına uygulandığı durumlarda boşluğu korumak için yeterli olduğunu düşünüyoruz.

Sıçan kalvaryal defekt modelinde, kemikte 3 mm genişlikte ve 0.6 mm derinlikte defektler oluşturularak BKF'in kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerine bakılmış ve 30. günde alınan örnekler histolojik olarak incelenmiştir. BKF'in herhangi bir yan etki göstermediği ancak defektlerde iyileşme görülmediği, kemik iyileşmesi açısından kontrol grubuyla aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı ve bu materyalin sadece yer tutucu olarak kullanımının uygun olabileceği belirtilmiştir (170). Diğer bir ifade ile greft materyalinin tamamen rezorbe olabilmesi için daha uzun süreye ihtiyacının olduğu ve iyileşme döneminde greftin hacmini sürdürmesinin yeni oluşacak kemiğin miktarını etkileyeceği bildirilmiştir (170). Benzer olarak, çalışmamızda da β -TKF/HA + Bioglue grubunda 7. ve 21. günlerde yeni kemik yapımı alan değerlerinin Kontrol grubundan anlamlı derecede düşük olmasını materyalin rezorpsiyonunun kemik iyileşme hızından çok daha yavaş gerçekleşmesiyle açıklayabiliriz.

Çalışmamızda, β -TKF/HA + Bioglue grubunda 45. günde iyileşmenin diğer gruplara göre daha az, Bioglue grubunda ise Kontrol grubuna yakın değerlerde olduğu ve aralarında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Kontrol grubunda 7. günde defekt

sınırını aşan granülasyon dokusunun Bioglue kaplanan gruplarda sınırlara yakın seyretmesi ile remodeling sürecinin kısalması beklenirken, deney sonunda Bioglue grubunda kontrol grubuna yakın bir iyileşme görülmüştür. Bu bulgulara göre, Bioglue materyalinin bu çalışma modelinde iyileşme sürecini çok fazla değiştirmedeğini söyleyebiliriz.

Bioglue'nun kritik boyutta olmayan defektlerde tek başına bariyer olarak kullanıldığında defekt hacmini korumada ve pıhtı stabilizasyonunda başarılı olduğunu düşünüyoruz. Ayrıca, kolay uygulanabilirliği, kemik yüzeyine tutunması, biyouyumlu olması ve kapama yeteneğinin üstünlüğü gibi özellikleriyle YKR için iyi bir seçenek olduğu kanısındayız. Ancak, çalışmamızda kullandığımız β -TKF/HA materyalinin uzun dönemde rezorbe olması sebebiyle bizim çalışma modelimizde Bioglue'nun β -TKF/HA kemik greftleri ile birlikte kullanımının greft partiküllerinin stabilizasyonu dışında yarar sağlamadığı görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

1. Redondo LM., Cantera JMG., Hernández AV. ve ark. Effect of Particulate Porous Hydroxyapatite on Osteoinduction of Demineralized Bone Autografts in Experimental Reconstruction of the Rat Mandible. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1995;24: 445.
2. Aaboe M, Pinholt ME ve Hjorting-Hansen E. Healing of Experimentally Created Defects: A Review. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1995; 33: 312.
3. Bernard GW. Healing and repair of osseous defects. *Dent Clin North Am* 1991. 35(3): 469-477.
4. Greenwald AS., Boden SD., Goldberg VM. ve ark. Bone graft substitutes: Facts, fictions and applications. *J Bone Joint Surg Am.*2001;83-A,Suppl 2,Pt 2:98-103.
5. Aichelmann-Reidy ME. ve Yukna RA. Bone replacement grafts. The bone substitutes. *Dent Clin North Am.* 1998; 42: 491-503.
6. Stevenson S., Emery SE. ve Goldberg VM. Factors affecting bone graft incorporation. *Clin Orthop Relat Res.* 1996; 324: 66-74.
7. Declercq HA., Verbeeck RM., De Ridder LI. ve ark. Calcification as an indicator of osteoinductive capacity of biomaterials in osteoblastic cell cultures. *Biomaterials* 2005; Volume 26, Issue 4; 4964-4974.
8. Polson MA, Garrett S, Stoller NH. ve ark. Guided tissue regeneration in human furcation defects after using a biodegradable barrier: A multicenter feasibility study. *J. Periodontology.* 1995; 377-385.
9. Junqueira, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O., *Bone In:Basic histology* 8th.Ed. 1998, Stamford, Conn.: Appleton & Lange. Istanbul Barış Kitabevi Ltd. Şti.,132-148.
10. Nordin M, F.V., *Biomechanics of Whole Bone and Bone Tissue.* 1980: 15-60.
11. Cassandra A.,Thomas A.E., *The Bone Organ System:Form And Function., in Osteoporosis,* R. Marcus, Feldman,D.D., Kelsey,J., Academic Press: San Diego. 2001, 3-20.
12. Baron, R., *Anatomy And Ultrastructure Of Bone,* in *Metabolic Bone Disease And Disorder Of Mineral Metabolism,* M. Favus, Lippincottwilliams&Wilkins, 1999.
13. Simmons DJ., *Fracture healing. Fundamental and Clinical Bone Physiology.,* 1980: 283-330.

14. Ham AW, Harris WR., Repair and transplantation., *Biochemistry and Physiology of Bone*. Vol I. 1971, New York: Academic Press. 338-399.
15. Mc Lean FC, Urist MR., *Bone: Fundamentals of the Physiology of Skeletal Tissue*. 1968, University of Chicago Press: Chicago.
16. Jee, W., *Integrated Bone Tissue Physiology: Anatomy And Physiology*, in *Bone Mechanics Handbook*, S. Cowin., Editor. 2001, CRC Press: Florida. p. 1-68.
17. Bostrom, M.P.G., Yang,X., Koutras,I., *Biologics In Bone Healing*, in *Current Opinion In Orthopedics*. 2000. p. 403-412.
18. Glimcher MJ., in *Handbook of Physiology: Endocrinology.*, The Williams and Wilkins Company: Baltimore. 1976: 25-116.
19. Guyton, A. and J. Hall, *Paratiroid Hormonu, Kalsitonin, Kalsiyum ve Fosfat Mekanizmasi, D vitamini, Kemik ve Dişler*. In Çavuşoğlu, H, Yegen B. *Tibbi Fizyoloji*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2007. 11: p. 978-994.
20. Prockop, D.J., Kivirikko, K. I., Tuderman, L. ve ark. The biosynthesis of collagen and its disorders (first of two parts). *N Engl J Med*, 1979. 301(1): 13-23.
21. Gartner, L.P., Hiatt, J.L., *Cartilage And Bone Color Textbook Of Histology*. 2001. 2nd Ed:129-155.
22. Ham, A.W., Cormack, D.H., *Bone And Bones. Histophysiology Of Cartilage, Bone And Joints*, 1979(Philadelphia And Toronto): 377-462.
23. Aslan M., *Kemik defektlerinin iyileşmesinde heterojen kemik greftinin ve yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu yönteminin etkilerinin incelenmesi ve karşılaştırılması*. Doktora Tezi. 2002, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü: Erzurum.
24. Ballı B., *Kemik iyileşmesi ve iyileşmeyi etkileyen faktörler*. Bitirme Tezi. 2004, İÜ Diş Hekimliği Fakültesi: İstanbul.
25. Revell PA., *Pathology of Bone*. Springer-Verlag, 1986. 30(Berlin Heidelberg): 203-231.
26. Soydan, N., *Kemik. Genel Histoloji*, 1992, İstanbul: 100-117.
27. Kalfas, I.H., *Principles Of Bone Healing*. *Neurosurg Focus*, 2001. 10(4): p. 1-4.
28. Hadjidakis, D.J., Androulakis, I.I. , *Bone Remodeling*. *Ann.N.Y.Acad.Sci.*, 2006. 1092: p. 385-396.
29. Junquera LC, Carnerio .J., *Basic Histology*, 10th ed., McGraw-Hill, New York, Chapter 8., 2003:144-146.

30. Baden SD., Bioactive factors for bone tissue engineering, Clin Orthop. 1999: 367, 84-95.
31. Junqueira LC, Carneiro J., Temel Histoloji. Nobel Tıp Kitapevleri (Çeviri: Aytekin Y, Solakoğlu S), İstanbul. 2006: p. p.141-151.
32. Alpar K., Ortopedi ilkeleri ve uygulamaları: Kemikğin fizyolojisi ve minerilizasyonu, Yorgancıoğlu Basımevi, Ankara. 1980: p. s:100-153.
33. Lynch SE, G.R., Marx RE, Tissue Engineering, Quintessence books, Illinois. 1999: 217-226.
34. Khan SF, Bostrom M., Lane JM, Bone growth factors, Orthop Clin North AM. 2000:31, 375-389.
35. Nakamura, I., Takahashi, N., Jimi, E. ve ark., Regulation Of Osteoclast Function. Mod.Rheumatol, 2012. 22(2): p. 167-177.
36. Martin JM, R.A., Coupling Of Bone Resorption And Formation During Bone Remodeling. Marcus, R., Feldmann,D.D., Elsey,J.: Osteoporosis San Diego, 2001: p. 189-212.
37. Müftüoğlu S., Kemik nasıl oluşur. Bilim ve Teknik Dergisi, Vol. 26(313): 1993:907.
38. Gartner LP, J.L., Color Atlas of Histology, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia,. 2000: p. s:73.
39. Lee, T.C., Staines, A., Taylor, D., Bone Adaptation To Load; Microdamage, As A Stimulus For Bone Remodeling. Journal Of Anatomy, 2002. 201(6): p. 437-446.
40. Burr, D.B., Martin, R. B. , Structure, Function, And Adaptation of Compact Bone. 1989: p. 105-143.
41. Kılıçoğlu SS., Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, Vol: 55(2),. 2002: 143-150.
42. Brond AR, Rubin T., Fracture Healing. Surgery of the Musculoskeletal System. 2nd ed. New York: Churchill Livingstone. 1990:1: : p. 93-114.
43. Cruess RL., Healing of bone,tendon and ligament : Fractures. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Co. 1984: 1:147-167.
44. Kalfas IH., Principles of Bone Healing. Neurosurg Focus. 2001: p. 10, 1-4.
45. Frost, H.M., Wolff's Law And Bone's Structural Adaptations To Mechanical Usage: An Overview For Clinicians. Angle Orthod. . 1994; 64(3): p. 175-188.
46. Atay MH., Yılmaz FR., İki Farklı Kemik Greftinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi. Dicle Tıp Dergisi. 2005 Cilt:32, Sayı:4:172-178.

47. Atabek A., Ototogreftler Aracılığı ile Elde Edilen Otojen Kemik Partiküllerinin ve İki Farklı Greft Materyalinin Yalın ve Kombine Uygulamalarının Histopatolojik İncelenmesi Sonuçları. Doktora Tezi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2003: p. 88-95.
48. Jaffe HL., *Metabolic, Degenerative and Inflammatory Disease of Bone and Joints*. Urban and Schwarzenburg, München, Berlin, Wien 1972.
49. Altunatmaz K., Kırık İyileşmesinin Biyolojisi ve Biyolojik Osteosentez. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2004. 1.
50. Aaboe M, P.E., Hjørting-Hansen E, Solheim E ve ark., Guided tissue regeneration using degradable and nondegradable membranes in rabbit tibia. *Clin Oral Impl Res*. 1993;4: p. 172-176.
51. Mac Intyre D.R., Speculand .B., Autogenous Bone Grafting for Persistent Maxillary Cyst Cavities. *Br. Dent. J.* 1983; 155: p. 273-277.
52. Wada T., Wu.C.-H., Sugita H. ve ark., Autogeneous, Allogenic and β -TCP Grafts: Comparative Effectiveness in Experimental Bone Furcation Defects in Dogs. *J. Oral Implantol.* 1989; 15: p. 231-236.
53. Tuskan C, Yaltrık M., Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Biyomateryaller. 2002; 66.
54. Türker M, Yücetaş Ş., *Ağız Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi*, Ankara. 1999, Atlas Kitapçılık: p. 426-433.
55. Jablanski S., *Illustrated Dictionary of Dentistry*. W.B.Saunders Company, Philadelphia. 1982.
56. Beaman FD, B.L., Peterson JJ, Kransdorf MJ., Bone graft materials and synthetic substitutes. *Radiol Clin North Am. Review*. 2006 May;44(3): p. 451-61.
57. Eppley BL, P.W., Blanton MW., Allograft and alloplastic bone substitutes: a review of science and technology for the craniomaxillofacial surgeon. *J Craniofac Surg. Review*. 2005 Nov;16(6): p. 981-9.
58. Lynch, S.E., Genco, R.J., Marx, R.E., *Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics*. Quintessence Pub, USA,. 1999.
59. Chan CK, K.T., Liao S, Murugan R, Ngiam M. ve ark., Biomimetic nanocomposites for bone graft applications. *Nanomed. Review*. 2006 Aug;1(2): p. 177-188.

60. Zhang M, Powers R., Wolfinbarger L., Effects of the Demineralized Process on the Osteoinductivity Of Demineralized Bone Matrix. *J.Periodontology*. 1997;68(11): p. 1085-1092.
61. Carranza FA, Newman M., *Clinical Periodontology*. 9th Edition. W.B.Saunders Company, Los Angeles:. 2004.
62. Ackermann KL., *The Sinus Bone Graft*, Jensen OT, Chicago. 1999, Quintessence Publishing: p. 1-45.
63. Becker W, U.M., Becker BE., Clinical and histological observation of sites implanted with intraoral autologous bone grafts or allografts. 15 human case reports. *J Periodontol*. 67. 1998: p. 1025-1033.
64. Kahnberg KE., *Bone grafting Techniques for Maxillary Implants*. Blackwell Munksgaard, Blackwell Publishing. Sweden. 2005: p. 2-11.
65. Alfaro FH., *Bone Grafting in Oral Implantology Techniques and Clinical Applications*. Quintessence Publishing Co Ltd. UK. 2006.
66. Aktaş ÜKA., *Dental İmplantlarda Greft Kullanımı*. *Türkiye Klinikleri Dergisi İmplantoloji Sayısı*. 1:. 2010: p. 23-30.
67. Taşdemir OU., *Rifamisin ile dekontamine edilen otojen blok kemiğin onley greft olarak kullanımının deneysel olarak incelenmesi*. Doktora Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas. 2011.
68. Wolfe MW, S.S., Cook SD., *Bone Morphogenetic Proteins in the treatment of non unions and bone defects: historical perspective and current knowledge*. *J Orthop Trauma* 12(6):. 1998: p. 407-412.
69. Başarır K, Selek .H., Yıldız Y. ve ark., *Nonvascularized fibular grafts in the reconstruction of bone defects in orthopedic oncology*. *Acta Orthop Traumatol Turc* 39(4):. 2005: p. 300-306.
70. Moore WR, Grave S., Bain GI. *Synthetic bone graft substitutes*. *Australian and New Zealand Journal of Surgery*., 2001;71: p. 354-361.
71. Görmez U., *Dental İmplant Çevresinde Cerrahi Olarak Oluşturulan Kemik Defektlerinde Sığır Kaynaklı Laktoferrinin Kemik Rejenerasyonuna Etkisi*. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız-Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, Adana. 2008.

72. Coulson R, C.C., Peel S., Collagen and a Thermally Reversible Poloxamer deliver Demineralized Bone Matrix (DBM) and Biologically Active Proteins to Sites of Bone Regeneration. Proceedings of the Portland Bone Symposium: 1999: 619-637.
73. Sandor GKB, L.T., Clokie CML., Bone regeneration of the cranimaxillofacial and dento-alveolar skeletons in the framework of tissue engineering. In Ashammakhi N, Ferretti P (eds). Topics in Tissue Engineering. 2003: p. 1-46.
74. Berglundh T, Lindhe J., Healing around implants placed in bone defects treated with Bio-Oss. An experimental study in the dog. Clin Oral Implants Res. 8(2):. 1997: p. 117-124.
75. Sanan A, Haines SJ. Repairing holes in the head: A history of cranioplasty. Neurosurgery.1997;40:588-603.
76. Ellis III E. Surgical reconstruction of defects of jaws. In Peterson LJ, eds. Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery. St. Louis. Cv Mosby;1998:680-4.
77. Bloomquist DS, Turvey TA. Modern practice in orthognatic and reconstructive surgery. In Fonseca Volume 2, Philadelphia, London. WB Saunders Company; 2000:513-21.
78. Khan SN, Tomin E, Lanr JM. Clinical applications of bone graft substitutes. Orthop Clin North Am.2000;31:389-96.
79. Bauer TW, Muschler G., Bone graft materials. An overview of the basic science. Clin Orthop Relat Res. (371):. 2000:10-27.
80. Constantino PD, Freidman CD. Synthetic bone graft substitutes. Otolaryngol Clin North Am.1994;27:1037-73.
81. Oonishi H, Kushitani S, Yasukawa E. ve ark. Particulate bioglass compared with hydroxyapatite as a bone graft substitute. Clin Orthop.1997;334:316-25.
82. Ylinen P, Suuronen R, Taurio R. ve ark. Use of hydroxylapatite/ polymer-composite in facial bone augmentation. An experimental study. Int J Oral and Maxillofac Surg. 2002;31:405-9.
83. Ashammakhi N, Ferretti P., Topics in tissue engineering. Volume I (Electronic book). 2003: p. Chapter 7:1-46.
84. Artzi Z, Weinreb M, Givol N, Biomaterial Resorption Rate And Healing Site Morphology Of Inorganic Bovine And Beta-Tricalcium Phosphate In The Canine: A 24-Month Longitudinal Histologic Study And Morphometric Analysis, Int J Oral Maxillofac Implants, 2004, 19, 357-368.

85. Jensen OT, The Sinus Bone Graft, 2nd Edition, Quintessence Books, Colorado, 2006, P:3-41
86. Suba Z, Takacs D, Gyulai-Gaal S, ve ark. Facilitation Of Beta- Trikalسيوم Fosfat Induced Alveolar Bone Regeneration By Platelet Rich Plasma In Beagle Dogs: A Histologic And Histomorphometric Study, Int. J Oral Maxillofac Implants, 2004, 19, 832-838.
87. Mardas, N., Chadha, V. & Donos, N. Alveolar ridge preservation with guided bone regeneration and a synthetic bone substitute or a bovine- derived xenograft: a randomized, controlled clinical trial. Clinical Oral Implants Research, 2010, 21: 688 –698.
88. Boyne PJ, Peetz M., Osseous Reconstruction of the Maxilla and the Mandible Surgical Techniques Using Titanium Mesh & Bone Mineral, Michigan: Quintessence Publishing. 1997: p. 87-100.
89. Sanrı M., Cerrahi Olarak Oluşturulan Kemik Defektlerinde Sığır Kaynaklı Anorganik Kemik Grefti ve Kanama Durdurucu Bitki Ekstresinin Kombine Kullaniminin Kemik Rejenerasyonuna Etkisi, Doktora Tezi. 2013, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş Ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı: Adana.
90. LeGeros RZ. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates. Clin Orthop Relat Res. 2002 Feb;(395): 81-98. Review.
91. Boyne PJ. Restoration of osseous defects in maxillofacial causalities. J Am Dental Association 1969; 78 (4) : 767-76.
92. Jones E.L., Burlew C.C., Moore E.E., BioGlue hemostasis of penetrating cardiac wounds in proximity to the left anterior descending coronary artery, J. Trauma Acute Care Surg. 72 (March (3)), 2012: 796–798.
93. Biggs G., Hafron J., Feliciano J. ve ark., Treatment of splenic injury during laparoscopic nephrectomy with BioGlue, a surgical adhesive, J. Urol. 2005, 04.054.
94. Klimo, Paul Jr., M.P.H.; Khalil, Amer; Slotkin, Jonathan R. ve ark., Wound Complications Associated With The Use Of Bovine Serum Albumin-Glutaraldehyde Surgical Adhesive In Pediatric Patients, Neurosurgery 60:ONS-305–ONS-309, 2007.

95. U.S. Food and Drug Administration Center for Devices and Radiological Health: <http://www.fda.gov/cdrh/pdf/P010003.html>.
96. Lemaire SA, Ochoa LN, Conklin LD ve ark. Nerve and conduction tissue injury caused by contact with BioGlue. *J Surg Res* 2007, 143, 286-293.
97. Fürst W, Banerjee A: Release of glutaraldehyde from an albumin-glutaraldehyde tissue adhesive causes significant in vitro and in vivo toxicity. *Ann Thorac Surg* 2005, 79, 1522-1529.
98. Babin-Ebell J, Bougioukakis P, Urbanski P, ve ark., Foreign material reaction to Bioglue® as a possible cause of cardiac tamponade, *Thorac Cardiovasc Surg*. 2010 Dec;58(8):489-91.
99. Szafranek A, Podila SR, Al-Khyatt W, ve ark. Aseptic mediastinal cyst caused by BioGlue 7 months after cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006;131:1202-1203.
100. Pasic M, Unbehaun A, Drews T, ve ark., Late Wound healing problems after use of Bioglue for apical hemostasis during transapical aortic valve implantation. *Interact CardioVasc Thorac Surg* 2011;13:532-535.
101. Estai MA, Soelaiman IN, Shuid AN, ve ark. Histological changes in the fracture callus following the administration of water extract of piper sarmentosum (daun kadok) in estrogen-deficient rats. *Iran J Med Sci*. 2011 Dec;36(4):281-8.
102. Ruhaimi KA. Bone graft substitutes: A comparative qualitative histologic review of current osteoconductive grafting materials. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2001,16(1): p.105- 114.
103. Alfaro FH, Opispo CA, Biosca MJ, ve ark., Bone Grafting in Oral Implantology Techniques and Clinical Applications, 1th edition, Quintessence books, Barcelona, 2006, p:9-24.
104. Macey, L.R., Kana, S.M., Jingushi, S. ve ark. Defects of Early Fracture-Healing in Experimental Diabetes. *J. Bone Joint Surg. Am.* 1989;71(5):722-733.
105. Funk, J.R., Hale, J.E., Carmines, D. ve ark. Biomechanical Evaluation Of Early Fracture Healing In Normal And Diabetic Rats. *J. Orthop. Res.* 2000;18(1):126-132.
106. Harvey E.J., Giannoudis P.V., Martineau, P.A. ve ark. Preclinical Animal Models in Trauma Research *J. Orthop. Trauma*. 2011;25(8):488-493.

107. Sarkozy, M., Fekete, V., Szucs, G. ve ark. Anti-Diabetic Effect Of A Preparation Of Vitamins, Minerals And Trace Elements in Diabetic Rats: A Gender Difference. *BMC Endocr.Disord.* 2014;(14):72-76.
108. Schmitz, J.P. & Hollinger, J.O., The critical size defect as an experimental model for cranio-mandibulofacial nonunions. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 1986, 205: 299–308.
109. Gugala Z, Lindsey RW, Gogolewski S: New approaches in the treatment of critical-size segmental defects in long bones. *Macromol Symp* 2007, 253:147-161.
110. Urist. M.R., New advances in bone research, *West J.Med.*, 1984, 141:71
111. Freeman E., Turnbull R.S., The role of osseous coagulum as a graft material. *J. Periodont. Res.* 1973, 8:229.
112. Turnbull RS., Freeman E., Use of wounds in the parietal bone of the rat for evaluating bone marrow for grafting into periodontal defects, *J. Periodont. Res.* 1974, 9:39.
113. Jawad MU, Fritton KE, Ma T., ve ark., Effects of sclerostin antibody on healing of a non-critical size femoral bone defect, *Journal of Orthopaedic Research*, January 2013, 31,155-163.
114. Lewandrowski, K-U., Cattaneo, M.V., Gresser, J.D., ve ark. Effect of a poly (propylene fumarate) foaming cement on the healing of bone defects. *Tissue Engineering*, 1999, 5: 305–316.
115. Esteves JC, Jr Marcantonio E, Faloni APS ve ark. Dynamics of bone healing after osteotomy with piezosurgery or conventional drilling histomorphometrical, immunohistochemical, and molecular analysis. *Journal of Translation Medicine.* 2013; 11.
116. Kido HW, Tim CR, Bossini PS, ve ark. Porous bioactive scaffolds: Characterization and biological performance in a model of tibial bone defect in rats. *J Mater Sci Mater Med.* 2015; 26: 74.
117. Xu W, Ganz C, Weber U ve ark. Evaluation of injectable silica-embedded nanohydroxyapatite bone substitute in a rat tibia defect model. *International Journal of Nanomedicine.* 2011; 6: 1543-1552.
118. Grewal BS, Keller B, Weinhold P, ve ark. Evaluating effects on deferoxamine in a rat tibia critical bone defect model. *Journal of Orthopedics* 2014; 11: 5-9.

119. Kleinschmidt JC, Hollinger JO. Animal models in bone research. In Mutaz HB, Reddi AH, ed. Bone grafts & bone substitutes. WB Saunders Company: Philadelphia; 1992.
120. Schmid J, Wallkamm B, Hammerle CH, ve ark. The significance of angiogenesis in guided bone regeneration. A case report of a rabbit experiment. Clin Oral Implants Res. 1997; 8: 244-248.
121. Frota R, Da Silva-Júnior VA, Teixeira M, ve ark., Histological evaluation of bone repair using β - tricalcium phosphate. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2011 Mar 1;16(2):190-4.
122. Calvo-Guirado JL, Ramírez-Fernández MP, Delgado-Ruíz RA, ve ark. Influence of biphasic β -TCP with and without the use of collagen membranes on bone healing of surgically critical size defects. A radiological, histological, and histomorphometric study. Clin Oral Implants Res. 2014 Nov;25(11):1228-38.
123. Valiense H., Fernandes G.V.O., Moura B., Effect of Carbonate-apatite on bone repair in non-critical size defect of rat calvaria, Key Engineering Materials, 2012, Sayı: 493-494, 258-262.
124. Linde A, Thorn C, Dahlin C, ve ark. Creation of new bone by an osteopromotive membrane technique: An experimental study in rats. J. Oral Maxillofac. Surg. 1993, 892-7.
125. Kostopoulos L, Karring T. Augmentation of the rat mandible using guided tissue regeneration. Clin Oral Implants Res 1994,5:75–82.
126. Rocuzzo M, Ramieri G, Spada MC, ve ark. Vertical alveolar ridge augmentation by means of a titanium mesh and autogenous bone grafts. Clin Oral Implants Res 2004,15:73–81.
127. Scantlebury TV. 1982–1992: a decade of technology development for guided tissue regeneration. J Periodontol 1993,64:1129–37.
128. Hutmacher D., Hurzeler M.B., and Schliephake H. A review of material properties of biodegradable and bioresorbable polymers and devices for GTR and GBR applications. Int J Oral Maxillofac Implants 11, 667, 1996.
129. Machtei E, Peled M, Aizenbud D. ve ark. Guided bone regeneration for the treatment of cleft plate defects: A report of two cases. J. Oral Maxillofac. Surg. 1999; 57: 604-608.

130. Mundell RD, Money MP, Siegel MI, ve ark., Osseous guided tissue regeneration using a collagen barrier membrane, *J. Oral Maxillofac. Surg.* 1993; 51: 1004-1012.
131. Schwarz F., Rothamel D., Herten M., ve ark. Immunohistochemical characterization of guided bone regeneration at a dehiscence-type defect using different barrier membranes: an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res* 19, 402, 2008.
132. Schwarz F., Herten M., Ferrari D., ve ark. 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, 1198, 2007.
133. Jegoux F., Goyenvallée E., Cognet R., ve ark. Mandibular segmental defect regenerated with macroporous biphasic calcium phosphate, collagen membrane and bone marrow graft in dogs. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 136, 971, 2011.
134. Cortellini P. Pini Prato GP. Baldi C, ve ark. Guided tissue regeneration with different materials. *Int J Periodont Rest Dent* 1990;10:137-151.
135. Cortellini, P., Pini Prato, G., Guided tissue regeneration with a rubber-dam: A five-case report. *Int. J. Periodont. Rest. Dent*;1994, 14:9-15.
136. Egelberg J Regeneration and repair af periodontal tissues *J PeriodontRes* 1987;22:233-242.
137. Choi BH., Cheong H., Ahn JS. ve ark. Engineered mussel biogluce as a functional osteoinductive binder for grafting of bone substitute particles to accelerate in vivo bone regeneration, *J. Mater. Chem. B*, 2015, 3, 546-555.
138. Queirox T.P., Hochuli-Vieira, E., Gabrielli, M.A., ve ark. Use of bovine bone graft and bone membrane in defects surgically created in the cranial vault of rabbits. Histologic comparative analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 21, 29, 2006.
139. Sclean, A., Nikolidakis, D., Schwarz, F. Regeneration of periodontal tissues: combinations of barrier membranes and grafting materials-biological foundation and preclinical evidence: a systematic review. *J Clin Periodontol* 35, 106, 2008.
140. Pritlove-Carlson S, Palmer RM , Morgan PR. ve ark., Immunohistological analysis of cells attached to Teflon membranes following guided tissue regeneration. *J Periodontol*, 1992, 63:969-973.
141. Selvig KA, Kersten BG, Chamberlain ADH, ve ark., Regenerative surgery of intrabony periodontal defects using e-PTFE barrier membranes: Scanning electron

- microscopic evaluation of retrieved membranes versus clinical healing. *J Periodontol* 1992, 63:974-978.
142. Wang H-L, Yuan K, Burgett F, ve ark., Adherence of oral microorganisms to guided tissue membranes: An in-vitro study. *J Periodontol*, 1994, 65:211-218.
143. Barteo B., Carr J., Evaluation of High-density Polytetrafluoroethylene (n-PTFE) membrane as a Barrier Material to Facilitate Guided Bone Regeneration in the Rat Mandible, *J of Oral Implantology*, 1995:111:2.
144. Wang ND., Doty DB., Doty JR. ve ark., BioGlue®: A Protective Barrier After Pericardiotomy, *J. Card Surg*, 2007:22:295-299.
145. Lewandrowski KU, Gresser JD, Wise DL ve ark. Bioresorbable bone graft substitutes of different osteoconductivities: a histologic evaluation of osteointegration of poly-based cement implants in rats. *Biomaterials*. 2000;21:757-64.
146. Younger EM, Chapman MP, Morbidity at bone graft donor sites, *J. Orthop. Trauma* 1989; 3: 192-195.
147. Lane JM, Tomin E., Bostrom MP. Biosynthetic bone grafting. *Clin. Orthop*.1999; 367:107-17.
148. Burchardt H. The biology of bone graft repair. *Clin Orthop Relat Res* 1983:28–42.
149. Brom MJ, Banta JV, Renshaw TS. Spinal fusion augmented by Luque-rod segmental instrumentation for neuromuscular scoliosis. *J Bone Joint Surg Am*.1989;71:32-44.
150. Mauffrey, C., Madsen, M., Bowles, R.J. ve ark. Bone graft harvest site options in orthopaedic trauma: a prospective in vitro quantification study. *Injury* 43, 323, 2012.
151. Giannoudis, P.V., Dinopoulos, H. ve Tsiridis, E. Bone substitutes: an update. *Injury* 36, S20, 2005.
152. Bostman O, Pihlajamaki H. Clinical biocompatibility of biodegradable orthopaedic implants for internal fixation: A review. *Biomaterials*. 2000;21:2615-21.
153. Brogini N., Bosshardt D., Jensen S. ve ark. Bone healing around nanocrystalline hydroxyapatite, deproteinized bovine bone mineral, biphasic calcium phosphate, and autogenous bone in mandibular bone defects. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2015 Oct; 103(7):1478-87.
154. Rumpel E, Wolf E, Kauschke E. ve ark. The biodegradation of hydroxyapatite bone graft substitutes in vivo. *Folia Morphol (Warsz)* 2006;65:43–48.

155. Buser D, Chen ST, Weber HP. ve ark. Early implant placement following single-tooth extraction in the esthetic zone: Biologic rationale and surgical procedures. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2008;28:441–451.
156. Daculsi G, Legreos RZ, Nery E. Transformation of biphasic calcium phosphate cermics in vivo: ultrastructural and physicochemical characterization. *J Biomed Mater Res.* 1989;23:883-94.
157. Jensen SS, Bornstein MM, Dard M. ve ark. Comparative study of biphasic calcium phosphates with different HA/ TCP ratios in mandibular bone defects. A long-term histomorphometric study in minipigs. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2009;90:171–181.
158. Giannoudis P.V., Einhorn T.A. ve Marsh D. Fracture healing: the diamond concept. *Injury* 38 Supplement 4, S3, 2007.
159. Wiltfang J, Schelegel KA, Shultze-Mosgau S. ve ark. Sinus floor augmentation with β -tricalciumphosphate (β -TCP): Does platelet-rich plasma promote its osseous integration and degradation? *Clinical Oral Implants Research* 2003; 14:213-218.
160. Jensen SS, Brogini N, Weibrich G. ve ark., Bone regeneration in standardized bone defects with autografts or bone substitutes in combination with platelet concentrate: a histologic and histomorphometric study in the mandibles of minipigs, *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005 Sep-Oct;20(5):703-12.
161. Stanton DC, Fonseca, *Oral and Maxillofacial Surgery Volume:6*, W.B. Saunders Company, 2000; 513-521.
162. Erbe EM. Attributes of vitoss synthetic cancellous bone void filler, an ultraporous beta-tricalcium phosphate scaffold (abstract) Presented at: *Int Workshop on Bone Substitutes*; October 8-10. 2000.
163. Machtei EE., The effect of membrane exposure on the outcome of regenerative procedures in humans: a meta-analysis., *J Periodontol.* 2001 Apr;72(4):512-6.
164. Slots J., Macdonald E.S., Nowzari H., Infectious aspect of periodontal regeneration. *Periodontology* 2000; 1999, 19:164-172.
165. Cortellini P., Prato G., Tonetti M.S., Long-term stability of clinical attachment following guided tissue regeneration and conventional therapy. *J. Clin.Periodontol*;1996;23:106-111.
166. Muhammad JK., Al Hashimi BA., Al Mansoor AB. ve ark. The Use of a Bioadhesive (BioGlue®) Secured Conchal Graft and Mandibular Distraction

- Osteogenesis to Correct Pediatric Facial Asymmetry as Result of Unilateral Temporomandibular Joint Ankylosis, *Craniofacial Trauma Reconstr.* 2013 Mar; 6(1): 49-56.
167. Landry P.S., Marino A.A., Sadasivan K.K. ve ark., Bone injury response. An animal model for testing theories of regulation. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 1996, 332: 260–273.
168. Eyre-Brook AL. The periosteum: its function reassessed. *Clin Orthop* 1984;189:300–7.
169. Escobar T, Almeida e Sousa J, Portela A. ve ark. The effect of a biphasic calcium phosphate on bone healing: a pilot study in rats. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2014 Nov-Dec;29(6):1322-31.
170. Develioğlu H, Koptagel E, Gedik R. ve ark. The effect of a biphasic ceramic on calvarial bone regeneration in rats, *J Oral Implantol.* 2005;31(6):309-12.

ETİK KURUL KARARI





Sayı: 2014/ 52

29 / 05 / 2014

Sayın: Doç. Dr. Belir ATALAY
İstanbul Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi**Karar No** :2014/ 52**Başvuru** :07.05.2014

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, aşağıda çalışma materyali belirtilen Araş. Gör. Dt. Özge DOĞANAY'a ait "Biogluce Hidrojeli'nin Kemik Dokusu İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Deneysel Olarak İncelenmesi" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Sığır
	Cinsiyeti	Erkek
	Sayısı	60
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi		Haziran 2014/Ağustos 2016

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ
İÜ HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIK
İÜ HADYEK Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Pınar YAMANTURK ÇELİK
Üye

Prof. Dr. Erik ÇAKATAY
Üye

Doç. Dr. Alper OKYAR
Üye

Yard. Doç. Dr. Altan ARMI
Üye

Uzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Üye

Dr. Burak OLGUN
Mak. Yük. Müh.
Üye

Avukat Selma DEMİR
Üye