

← 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
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**SIÇAN TIBİALARINDA OLUŞTURULAN KIRIK
MODELİNDE PRF VE HYALURONİK ASİT
UYGULAMALARININ HİSTOPATOLOJİK VE
RADYOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

SERVET AKYILDIZ

**DANIŞMAN
DOÇ.DR. SİRMAHAN ÇAKARER**

**AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI
AĞIZ, DİŞ, ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2017

DOKTORA TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Doktora Programı'nda doktora öğrencisi Dt. Servet AKYILDIZ tarafından Doç. Dr. Sırmahan ÇAKARER'in danışmanlığında hazırlanan "Sıçan tibialarında oluşturulan kırık modelinde PRF ve hyaluronik asit uygulamalarının histopatolojik ve radyolojik olarak değerlendirilmesi" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 13/11/2017 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof.Dr. Cengizhan KESKİN
İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız Diş Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Jüri-Danışman

Doç.Dr. Sırmahan ÇAKARER
İstanbul Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız Diş Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Jüri

Doç.Dr. Merva SOLUK TEKKEŞİN
İstanbul Üniversitesi
Onkoloji Enstitüsü, Tümör Patolojisi
ve Onkolojik Sitoloji Bilim Dalı

Jüri

Doç.Dr. Erdem KILIÇ
Bezmialem Vakıf Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi
Anabilim Dalı

Jüri

Doç.Dr. Gühan DERGİN
Marmara Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

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 çalışmasıyla 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 olmadığı beyan ederim.

SERVET AKYILDIZ



İTHAF

Aileme ithaf ediyorum...

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübesini üzerimden hiç eksik etmeyen danışmanım, hocam, ablam Doç. Dr. Sırmahan ÇAKARER'e; doktora eğitimi sürecimin en başından beri gözleri üzerimde olan, üzerimde büyük emeği olan Prof. Dr. Cengizhan KESKİN'e; Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Çetin KASAPOĞLU'na; doktora tezimin histomorfometrik değerlendirmelerini yapan İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü, Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Merva SOLUK TEKKEŞİN'e ve anabilim dalı çalışanlarına; doktora tezimin radyolojik değerlendirmelerinde yardımlarını esirgemeyen Ağız, Diş-Çene Radyolojisi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İlknur ÖZCAN'a ve Dt. Gürkan ÜNSAL'a; doktora tezimin istatistiksel analizlerini yapan İ.Ü. Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Biyoistatistik Anabilim Dalı Arş. Gör. Sevda ÖZEL YILDIZ'a;

Doktora eğitimim sırasında bana destek olan ve pratik anlamda çok şey öğrettiklerine inandığım abilerim Doç. Dr. Cemil İŞLER, Doç. Dr. Burak ÇANKAYA, Doç. Dr. Cem TANYEL, Doç. Dr. Mehmet Ali ERDEM, Doç. Dr. Yiğit ŞİRİN, Yrd. Doç. Dr. Erol CANSIZ'a

Doktora eğitimim boyunca beraber ter döktüğümüz, her şeyi birlikte tecrübe ettiğimiz dönem arkadaşlarım ve diğer bütün çalışma arkadaşlarıma;

Doktora eğitimim ve çalışmalarım boyunca hep yanımda olan ve desteğini esirgemeyen, değerli eşim, hayat arkadaşım Ekin AKYILDIZ'a, hayatım boyunca desteklerini hissettiğim annem Muhteşem AKYILDIZ, babam Zekai AKYILDIZ ve kardeşim Serhat AKYILDIZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 21495

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİİ
ÖZET	XV
ABSTRACT.....	XVİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. KEMİK DOKUSU.....	4
2.1.1. KEMİĞİN KİMYASAL YAPISI	4
2.1.1.1. İnorganik Yapı	4
2.1.1.2. Organik Matriks	5
2.1.2. KEMİK HÜCRELERİ	6
2.1.2.1. Osteoprogenitör Hücreler.....	6
2.1.2.2. Osteoblastlar.....	7
2.1.2.3. Osteoklastlar.....	8
2.1.2.4. Osteositler	8
2.1.3. KEMİK DOKUSU TİPLERİ	9
2.1.3.1. Primer Kemik Dokusu.....	9
2.1.3.2. Sekonder Kemik Dokusu	9
2.1.4. KEMİKLEŞME TİPLERİ.....	10
2.1.4.1. İntramembranöz Kemikleşme	10
2.1.4.2. Endokondral Kemikleşme	11
2.1.5. KEMİK BÜYÜME VE GELİŞİMİ	11
2.1.5.1. Şekillendirme (Modelling).....	11
2.1.5.2. Remodelling (Yeniden Şekillendirme)	12

2.1.6. KEMİK İYİLEŞMESİ	12
2.1.6.1. Enflamasyon Evresi (1-4 gün)	14
2.1.6.2. Onarım Evresi (2-40 gün)	14
2.1.6.3. Osteoid Doku Oluşumu (12-21 gün).....	15
2.1.6.4. Geçici Kallusun Kalsifikasyonu (21. günden sonrası).....	15
2.1.7. KIRIK ONARIMI	15
2.1.7.1. Kırık Tipleri ve Sınıflaması	18
2.1.7.2. Kırık Tedavisi.....	19
2.1.7.3. Kırık İyileşmesi Bozuklukları	22
2.1.7.4. Kırık İyileşmesinin Kontrolü	22
2.1.7.5. Kırık İyileşmesini Bozan Faktörler	23
2.1.7.6. Titanyum Mini Plak-Vida Osteosentezi	23
2.2. PLATELET RICH FIBRİN (PRF, TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN)	24
2.2.1. PRF'nin Hazırlanması.....	26
2.2.2. PRF'nin Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanım Alanları	27
2.2.3. PRF ve Büyüme Faktörleri	28
2.2.4. PRF'nin Kemik İyileşmesi Üzerine Etkileri	30
2.3. HYALURONİK ASİT	31
2.3.1. Hyaluronik Asidin Yapısı	33
2.3.2. Bulunduğu Doku ve Organlar	33
2.3.3. Hyaluronik Asit Sentezi	34
2.3.4. Biyomedikal Formları ve Tıbbi Kullanımları	34
2.3.5. Kemik Metabolizması Üzerine Etkisi	35
2.3.6. Hyaluronik Asitin Diş Hekimliğinde Kullanımı	37
2.3.7. Çalışmada Kullanılan Hyaloss® Matrix	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	40
3.1. Gereç	40
3.2. Yöntem.....	41
3.2.1. Deney Hayvanları ve Grupları	41
3.2.1.1. Deney Grupları.....	42
3.2.2. Cerrahi Prosedür	43
3.2.3. PRF Uygulaması	46
3.2.4. HA Uygulaması.....	49

3.2.5. Postoperatif Bakım.....	50
3.2.6. Radyolojik Değerlendirme	51
3.2.7. Histolojik Preparatların Hazırlanması.....	53
3.2.8. Histolojik Değerlendirme.....	53
3.2.9. İstatistiksel Değerlendirme	54
4. BULGULAR.....	55
4.1. Grupların Gözlemsel Bulguları.....	55
4.1.1. K2 Grubu.....	55
4.1.2. K6 Grubu.....	55
4.1.3. HA2 Grubu.....	55
4.1.4. HA6 Grubu.....	56
4.1.5. PRF2 Grubu	56
4.1.6. PRF6 Grubu	56
4.2. Histopatolojik Bulgular.....	56
4.2.1. Kontrol Grubu	56
4.2.2. HA Grubu.....	58
4.2.3. PRF Grubu	59
4.3. İstatistiksel Bulgular	61
4.3.1. Endokondral Kemikleşme.....	61
4.3.2. İntramembranöz Kemikleşme	63
4.3.3. Fibrozisin İstatistiksel Analizi	64
4.3.4. İltihap Bulgusunun İstatistiksel Analizi.....	66
4.3.5. Radyolojik Bulguların İstatistiksel Analizi.....	67
5. TARTIŞMA	71
KAYNAKLAR	85
ETİK KURUL KARARI	113
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	114
ÖZGEÇMİŞ	115

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 4-1: Endokondral Kemikleşmenin Gruplara Göre Değerlendirilmesi.....	61
Tablo 4-2: Endokondral Kemikleşmenin Post Hoc Karşılaştırılması.....	62
Tablo 4-3: İntramembranöz Kemikleşmenin Gruplara Göre Değerlendirilmesi.....	63
Tablo 4-4: İntramembranöz Kemikleşmenin Post Hoc Karşılaştırılması.....	64
Tablo 4-5: Fibrozisin Gruplara Göre Değerlendirilmesi	65
Tablo 4-6: Fibrozisin Post Hoc Karşılaştırılması	65
Tablo 4-7: İltihap Varlığının Gruplara Göre Değerlendirilmesi.....	66
Tablo 4-8: İltihap Varlığının Post Hoc Karşılaştırılması.....	66
Tablo 4-9: Radyolojik Bulguların Gruplara Göre Değerlendirilmesi.....	68
Tablo 4-10: Radyolojik Bulguların Post Hoc Karşılaştırılması.....	69

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Normal kemik yapısı (Kierszenbaum, 2002)	6
Şekil 2-2: Kemik hücrelerinin ve farklılaşma yollarının şematik olarak gösterilmesi (Kierszenbaum, 2002).....	7
Şekil 2-3: İntramembranöz kemikleşmenin şematik olarak gösterilmesi (Kierszenbaum, 2002)	10
Şekil 2-4: Endokondral kemikleşmenin şematik olarak gösterilmesi (Gartner ve James 2000)	11
Şekil 2-5: Kemik İyileşmesi Dönemleri A: İnflamasyon Dönemi B: Onarım Dönemi C: Yeniden Şekillenme Dönemi (Lienemann ve ark. 2012)	13
Şekil 2-6: Kırık iyileşmesi evrelerinin zamana bağlı dağılımı (Denny ve Butterworth 2000)	17
Şekil 2-7: Çalışmada kullanılan titanyum mikro plak ve vida sistemi	24
Şekil 2-8: Fibrin pıhtının şematik gösterimi, a:glikanik zincirler ve sitokinler ile ilişkili fibrin lifleri, b:fibrin ile ilişkili olan glikanik zincirler, c:glikoproteinler, d:fibrin liflerine intrinsek tutunmuş sitokinler, e:trombosit sitokinler (Kumar ve Shubhashini 2013)	25
Şekil 2-9: Santrifüj sonrası kırmızı kan hücreleri(a), trombositten zengin fibrin(b) ve trombositten fakir plazma(c).....	26
Şekil 2-10: Hyaluronik asidin kimyasal yapısı (PubChem).....	32
Şekil 2-11: Çalışmamızda kullanılan Hyaloss® matrix.....	38
Şekil 3-1: Çalışmamızda kullanılan gereçler	41
Şekil 3-2: Tibianın cerrahi operasyon için hazırlanması ve tibianın açığa çıkarılması ..	43
Şekil 3-3: Mikro plak-vida sisteminin rehber olarak uygulanması ve kortikotomi hattının belirlenmesi	44
Şekil 3-4: Mikro vidalar için frez ile vida deliklerinin oluşturulması	44
Şekil 3-5: Mikrovidanın tornavida ile vida deliğine yerleştirilmesi	45
Şekil 3-6: Kırık hattının fissür frez ile serum irrigasyonu altında hazırlanması.....	45
Şekil 3-7: Oluşturulan kırık modeli	46
Şekil 3-8: PRF eldesinde kullanılan santrifüj cihazı.....	46
Şekil 3-9: Deney hayvanından intrakardiyak yöntemle kan alınması	47
Şekil 3-10: Elde edilen PRF'nin PRF kutusu yardımı ile kırık alanına uygulanabilir forma dönüştürülmesi	47

Şekil 3-11: PRF kutusu	48
Şekil 3-12: PRF materyalinin kırık bölgesine uygulanması	48
Şekil 3-13: HA materyalinin kırık bölgesine uygulanması	49
Şekil 3-14: Kontrol, PRF ve HA grubunda operasyon alanının kapatılması.....	49
Şekil 3-15: Deneklere postoperatif pansuman yapılması	50
Şekil 3-16: Histolojik ve radyolojik değerlendirme için tibiaların çıkarılması	51
Şekil 3-17: Radyolojik ve histolojik değerlendirmeler için mikroplak ve vida sistemi tibialardan çıkarılması.....	52
Şekil 3-18: PRF2(a), HA2(b) ve K2(c) gruplarının ITK-Snap programında dekalsifiye hacimlerinin gösterimi	52
Şekil 3-19: PRF6(a), HA6(b) ve K6(c) gruplarının ITK-Snap programında dekalsifiye hacimlerinin gösterimi	53
Şekil 4-7: 100x büyütmede 2. haftada sakrifiye edilen kontrol grubunda kırık alanının ucundan (ince ok) başlayan oldukça belirgin fibrozis (kalın ok) ve endokondral kemikleşme (yıldız) alanları	57
Şekil 4-8: 40x büyütmede 6. haftada sakrifiye edilen kontrol grubunda kırık fragmanları uçlarından başlayan intramembranöz kemikleşme (ince ok) ve endokondral kemikleşme alanları (yıldız) ile arada yağlı normosellüler kemik iliği (kalın ok) alanları.....	57
Şekil 4-9: 100x büyütmede 2. haftada sakrifiye edilen HA grubunda kırık alanı uçlarından (ince ok) başlayan intramembranöz (kalın ok) ve endokondral kemikleşme (yıldız) alanları.....	58
Şekil 4-10: 100x büyütmede 6. haftada sakrifiye edilen HA grubunda kırık alanını dolduran intramembranöz kemik yapımı (yıldız) ve konak kemik (kalın ok).....	59
Şekil 4-11: 100x büyütmede 2.haftada sakrifiye edilen PRF grubunda kırık alanı komşuluğundan başlayan intramembranöz kemikleşme alanları (kalın ok) ve arada küçük vasküler alan kesitleri (yıldız).....	60
Şekil 4-12: 100x büyütmede 6.haftada sakrifiye edilen PRF grubunda kırık alanının neredeyse tamamını dolduran intramembranöz kemikleşme(ince ok) belirgin iken azalan endokondral kemikleşme alanları(yıldız)	60
Şekil 4-13: Endokondral Kemikleşmenin Gruplara Dağılımının Grafik Gösterimi (%)	61
Şekil 4-14: İntramembranöz Kemikleşmenin Gruplara Dağılımının Grafik Gösterimi (%)	63
Şekil 4-15: Fibrozisin Gruplara Dağılımının Grafik Gösterimi (%).....	64

Şekil 4-16: Radyopak Hacmin Gruplara Dağılımının Grafik Gösterimi (%)..... 67

Şekil 4-17: Radyolusent Hacmin Gruplara Dağılımının Grafik Gösterimi (%)..... 67



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

μ	Mikron
μm	Mikrometre
AP	Anteroposterior
BMP	Bone Morphogenetic Protein, Kemik Morfojenik Proteini
BMSC	Bone Marrow Stromal Cell, Kemik İliği Stromal Hücreleri
BT	Bilgisayarlı Tomografi
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	Kalsiyum Hidroksiapatit
CDGF	Cartilage Derived Growth Factor, Kartilaj Kökenli Büyüme Faktörü
ECDGF	Endothelial Cell Derived Growth Factor, Endotelial Hücre Kaynaklı Büyüme Faktörü
ECGF	Endothelial Cell Growth Factor, Endotelial Hücre Kaynaklı Büyüme Faktörü
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
EGF	Epidermal Growth Factor, Epidermal Büyüme Faktörü
EUTY	En Uzun Trabeküler Yapı
FDA	U.S. Food and Drug Administration, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FGF	Fibroblast Growth Factor, Fibroblast Büyüme Faktörü
g	Gram
H&E	Hematoksilen - Eozin Boyama
HA	Hyaluronik asit
HARLEC	Hyaluronic Acid Receptor on Liver Endothelial Cells, Karaciğer Endotel Hücreleri Hyaluronik Asit Reseptörü
HAS	Hyaluronan Sentaz
IGF	Insulin Like Growth Factor, İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IL	İnterlökin
i.m.	İntramüsküler
kg	Kilogram
KIBT	Konik Işınlı Bilgisayarlı Tomografi

M-CSF	Macrophage Colony Stimulating Factor, Makrofaj Koloni Oluşturucu Faktör
MDGF	Macrophage Derived Growth Factor, Makrofaj Kaynaklı Büyüme Faktörü
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
nm	Nanometre
OPG	Osteoprogenitör
PDGF	Platelet Derived Growth Factor, Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PGE1	Prostaglandin E1
PGE2	Prostaglandin E2
PRF	Platelet Rich Fibrin
PRP	Platelet Rich Plasma
RANKL	Receptor Activator of Nuclear Factor kappa-B Ligand, Nükleer Faktör kappa B Ligand Reseptörü
RHAMM	Receptor for Hyaluronan-Mediated Motility, Hyaluronan Aracılı Motilite Reseptörü
rpm	revolutions per minute, dakikadaki devir sayısı
TDU	Toplam Dikey Uzunluk
TGF- β :	Transforming Growth Factor Beta, Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta
TKF:	Triklasyum Fosfat
TNFR:	Tumor Necrosis Factor Receptor, Tümör Nekrotizan Faktör Reseptörü
TP508	Thrombin Peptid 508
TYU	Toplam Yatay Uzunluk
TZF	Trombositten Zengin Fibrin
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor, Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

ÖZET

Akyıldız, S (2017). Sıçan Tibialarında Oluşturulan Kırık Modelinde PRF ve Hyaluronik Asit Uygulamalarının Histopatolojik ve Radyolojik Olarak Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız Diş Çene Cerrahisi ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Travma, cerrahi operasyonlar, enfeksiyon ya da maligniteler gibi nedenlerle meydana gelen kırık, geçmişte olduğu gibi günümüzde de tıp ve diş hekimliği alanında karşılaşılan problemler arasındadır. Kemik defektlerinin iyileşmesi amacıyla çeşitli kemik greftleri veya kemik yerine geçen biyomateryallerin kullanımı üzerine araştırmalar devam etmektedir. Kemik yapının tamirinde uygun malzemenin seçimi tedavi sürecinin başarısını derinden etkilemektedir. Temel amaç, hızlı ve kayıpsız iyileşmenin sağlanması olmalıdır. Günümüzde kırık iyileşmesini hızlandırmak için birçok işlem gerçekleştirilmektedir. Bunlar; lokal ve sistemik ilaç uygulamaları; trombositten zengin fibrin ve plazma uygulamaları, D vitamini alımı, kalsiyum fosfat, fibrin yapıştırıcılar, kemik morfojenik proteinler, büyüme faktörleri, hormonlar, hiperbarik oksijen tedavisi ve fiziksel stimülasyon gibi işlemlerdir.

Çalışmamızda, sıçan tibialarında oluşturulan kırık modelinde PRF ve HA uygulamalarının etkisinin 2 ve 6. haftalarda radyolojik ve histomorfometrik olarak yeni kemik yapısına etkisi araştırılmıştır. Araştırmamızda kontrol, PRF ve HA olmak üzere 3 ana grup ve toplamda 6 alt grup incelenmiştir. Çalışma verileri değerlendirilirken normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi, ikili değerlendirmelerin Mann Whitney U testi kullanılmıştır.

Çalışmamızın sonucunda, PRF ve HA materyallerinin tek başlarına kırık modelinde uygulanmasının kontrol grubuna göre kemik iyileşmesini hızlandırdığını gözlemledik. HA ve PRF'nin etkileri karşılaştırıldığında; erken dönem kemik iyileşmesinin karşılaştırıldığı analizlerde PRF materyalinin, geç dönem kemik iyileşmesinin karşılaştırıldığı analizlerde HA materyalinin daha iyi kemik iyileşmesi sağladığı sonucuna varılmıştır. Yapılan histomorfometrik ve radyolojik analizler benzer sonuçlar içerse de radyolojik değerlendirme sonuçlarının histolojik değerlendirme sonuçlarını daha geriden takip ettiğini gözlemledik.

Anahtar Kelimeler: PRF, Hyaluronik Asit, Kırık Modeli, Radyolojik Değerlendirme, Histomorfometrik Değerlendirme

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 21495

ABSTRACT

Akyıldız, S (2017). Histopathological and Radiological Evaluation of PRF and Hyaluronic Acid Applications in Fracture Model of Rat Tibia. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Oral and Maxillofacial Surgery. PhD Thesis. İstanbul.

Trauma, surgical operations, infection or malignancies are among the problems encountered in the field of medicine and dentistry. Research is continuing on the use of various bone grafts or bone substitute biomaterials to heal bone defects. The choice of the appropriate material for bone repair is profoundly influencing the success of the treatment process. The main goal should be to provide rapid and optimum healing. Today, many procedures are being performed to accelerate fracture healing. Local and systemic drug applications, platelet rich fibrin and plasma applications, D vitamin intake, calcium phosphate, fibrin glue, bone morphogenic proteins, growth factors, hormones, hyperbaric oxygen therapy and physical stimulation were studied.

In our study, the effect of PRF and HA applications on the fracture model of rat tibiae were investigated at 2 and 6 weeks after surgery, radiologically and histomorphometrically, for the evaluation of new bone formation. In present study, 3 main groups and totally 6 subgroups were examined, such as control, PRF and HA. When examining the study data, Kruskal Wallis test is used in intra-groups comparisons of parameters not having normal distribution, Mann Whitney U test were used in binary evaluations.

As a result of present study, it was demonstrated that the application of PRF and HA materials alone in the fracture model accelerated bone healing compared to the control group. Early bone healing effects of the PRF and late bone healing effect of the HA showed better bone healing in the comparison of the PRF and the HA groups. Despite the analysis of the radiology and histomorphometry showed similar results; the radiological findings were followed by histopathological results.

Key Words: PRF, Hyaluronic Acid, Fracture Model, Radiological Evaluation, Histomorphometric Evaluation

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 21495

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Travma, cerrahi operasyonlar, enfeksiyon ya da maligniteler gibi nedenlerle meydana gelen kırık, geçmişte olduğu gibi günümüzde de tıp ve diş hekimliği alanında karşılaşılan problemler arasındadır.

Kemik defektlerinin iyileşmesi amacıyla çeşitli kemik greftleri veya kemik yerine geçen biyomateryallerin kullanımı üzerine araştırmalar devam etmektedir. Kemik yapının tamirinde uygun malzemenin seçimi tedavi sürecinin başarısını derinden etkilemektedir. Temel amaç hızlı ve kayıpsız iyileşmenin sağlanması olmalıdır.

Günümüzde kırık iyileşmesini hızlandırmak için birçok işlem gerçekleştirilmektedir. Bunlar; lokal ve sistemik ilaç uygulamaları; trombositten zengin fibrin ve plazma uygulamaları, D vitamini alımı, kalsiyum fosfat, fibrin yapıştırıcılar, kemik morfojenik proteinler, büyüme faktörleri, hormonlar, hiperbarik oksijen tedavisi ve fiziksel stimülasyon gibi işlemlerdir (Jones 2005, Leisner ve ark. 2002).

Büyüme ve farklılaşma faktörleri başta trombositler olmak üzere birçok hücreden salgılanabilmektedir. Bu faktörler lokal veya sistemik olarak hücrelerin büyümesini, fonksiyonunu, fenotipik özelliklerini ve matriks sentezini etkileyebilmektedirler.

Günümüzde pek çok büyüme veya farklılaşma faktörü tek başına veya kombine olarak kemik rejenerasyonunu arttırmak amacı ile kullanılmaktadır. Bunlar arasında en yaygın olarak kullanılanlar PDGF (trombosit kaynaklı büyüme faktörü), IGF (insülin benzeri büyüme faktörü), TGF- β (dönüştürücü büyüme faktörü β), VEGF (vasküler endotelial büyüme faktörü), EGF (epidermal büyüme faktörü), FGF (fibroblast büyüme faktörü) ve BMP (kemik morfojenik protein) olarak sayılabilir. Mevcut koşullarda, bunlar pahalı tedavi alternatifleri olduğu için kullanımları sınırlıdır.

Kemik iyileşme sürecini hızlandırmaya ve işlem sonrası komplikasyonları azaltmaya yönelik tekniklerden birisi de son yıllarda uygulanan ve uygulanma sıklığı artan platelet rich fibrin (PRF, trombositten zengin fibrin) uygulamasıdır.

PRF'nin, yüksek oranda PDGF ve TGF- β içermesi ve bu büyüme faktörleri salınımının anjiogenezin en üst seviyede olduğu, kemik yapımının başladığı 7-28 gün boyunca devam etmesi, iyileşmenin ilerleyen safhalarında makrofajların aktivasyonunu

ve kemotaksisini sağlaması ve yara iyileşmesinde en önemli kriter olarak düşünülen pıhtının stabilizasyonunu sağlaması yara iyileşmesindeki önemini göstermektedir (Dohan ve ark. 2006a, Dohan ve ark. 2006c).

Büyüme ve farklılaşma faktörlerinin önemli bir kısmını içeren ve hastanın kendi kanından elde edilebilen PRF'nin direkt olarak kullanılması veya başka bir materyal ile karıştırılarak kemik rejenerasyonunda kullanılması son dönemlerde birçok araştırmacı tarafından incelenmektedir. PRF; son yıllarda ortopedi, plastik cerrahi, oral ve maksillofasiyal cerrahi gibi kemik iyileşmesi ile ilgili branşlarda yaygın olarak kullanılmaktadır.

Hyaluronik asit (HA), doku morfogenezinde, hücre göçünde, farklılaşmada ve yapışmada baskın bir rol oynayan hücre dışı matrisin temel bileşenlerinden biridir (Aslan ve ark. 2006).

Hyaluronat veya hyaluronan olarak da bilinen hyaluronik asit (HA); hücrelerin migrasyonu ve doku oluşumu ve tamiri sırasında farklılaşması da dahil olmak üzere bir dizi embriyolojik ve yara iyileştirici özelliği olan yinelenen bir disakkarid biriminin endojen olarak salgılanan, yüksek moleküler ağırlıklı düz zincirli bir polisakaritidir. Tüm dokularda ekstrasellüler boşlukta bulunur ve tüm türlerde örnek kimyasal yapıya sahiptir, hücrese plazma zarında sentezlenir (Pirnazar ve ark. 1997, Wight ve ark. 1992 Fraser ve ark. 1997).

Vücutta birçok dokunun ekstrasellüler matriksinin ana komponentlerinden biri olan hyaluronik asit (HA), diş hekimliği ve çeşitli tıp alanlarında kemik defektlerinde iyileşmeyi artırmak amacı ile kullanılan, çevre dokulara zarar vermeden metabolize olabilen biyoaktif ve biyouyumlu bir materyaldir.

HA'nın, artmış mezenkimal hücre farklılaşması ve migrasyonu ile in vitro osteoblastik kemik oluşumunu arttırdığı yakın zamanda yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Lokal olarak uygulanan yüksek molekül ağırlıklı HA'nın in vivo olarak mezenkimal ve kas hücrelerinin farklılaşmasını ve migrasyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Genel olarak, doku tamirinde HA'nın yüksek konsantrasyonda bulunduğu tespit edilmiştir (Sasaki ve Watanabe. 1995).

Yapılmış olan literatür taramalarında PRF ve HA uygulamalarının tek başlarına kemik iyileşmesine etkileri gösterilmiştir, fakat kırıklarda bu iki materyalin karşılaştırmalı etkilerinin bilinmediği saptanmıştır.

Kaynaklarda yer alan çalışmalarda bu uygulamaların kırık modeli üzerine etkinliğini açıklamakta yetersiz kaldığı görülmüştür. Bu çalışmanın amacı; lokal olarak kullanılabilen ve içerdikleri büyüme faktörleri nedeniyle kemik iyileşmesinde olumlu etkileri olan PRF ve hyaluronik asit materyallerinin, sıçan tibialarında oluşturulan kırık modelinde iyileşmeye etkilerinin radyolojik ve histopatolojik olarak kısa ve uzun dönemde karşılaştırmaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. KEMİK DOKUSU

Kemik dokusu, yapısında bulunan farklı hücrelerin ve ara maddenin üzerine organik ve inorganik tuzların çökmesiyle birlikte iskelet sisteminin yapıtaşını oluşturmakla beraber; biyomekanik, metabolik, hematopoetik işlevleri olan ileri derecede özelleşmiş bir bağ dokusudur. İskelet oluşturma ve iskelet kaslarına destek sağlama gibi mekanik görevi yanında birçok metabolizma olayına girmesiyle büyük önem taşır. Kalsiyum, fosfat ve diğer iyonların vücut sıvılarındaki konsantrasyonlarını sabit düzeyde tutabilmek için bu önemli iyonların kontrollü olarak salıverilmelerini ya da depolanabilmelerini sağlamaktadır (Soydan 1992, Junquiera ve ark. 1998). Gelişimini tamamlamış kemik dokusu dişin mine tabakasından sonra dentin ile birlikte vücudun en sert dokusudur ve insan iskeletinin en önemli yapıtaşını oluşturmaktadır (Cireli 1999). Kemik; bütünleşmiş birçok hücreden oluşan, metabolik ve biyolojik açıdan dinamik bir dokudur. Bu yönden kemiğin büyüme ve iyileşmesi çok sayıda biyokimyasal, biyomekanik, hücrenel, hormonal ve patolojik olayın zincirleme reaksiyonu gibi düşünülebilir (Junqueira 2003). Ayrıca kemik, kendisini yapısal olarak tamir edebilen, kütle, şekil ve yapısal özelliklerini mekanik gereksinimler doğrultusunda düzenleyebilen ve yaşam süresince istemli fiziksel aktivitelere direnç ve destek sağlayan bir sistemin temel ögesini oluşturmaktadır (Jee 2001).

2.1.1. KEMİĞİN KİMYASAL YAPISI

Kemik matriksi iki bölümde incelenir. Bunlar; organik matriks ve inorganik matrikslerdir. Organik matriksi kolajen ve esas (ana) madde yapar. Mineral matriks ise kalsiyum, fosfor ve diğer bazı elementlerden oluşur. Matrisin her iki bölümü de kemiğin fiziksel özelliklerinde önem taşır (Soydan 1992).

2.1.1.1. İnorganik Yapı

Kemik dokusunun %65'i inorganik yapıdan oluşur. Kolajen lifler arasında veya içinde yer alan iğne, tabaka ve çubuk şeklindeki küçük kristallerden meydana gelir. Büyük oranda saf olmayan ve kristal yapı içerisine dağılmış karbonat, sitrat, magnezyum, flor ve stronsiyum içeren hidroksiapatit $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ 'den oluşur. (Soydan 1992, Bloom ve ark. 1975, Gehron-Robey ve Boskey 1996). Hidroksiapatit kristalleri kolajen lif segmentlerine bitişiktir ve sıkıca bağlıdır. Bu yakın bağlanma

kemikte yırtılmayı önler; yani kristal ve kolajenin yerlerinden ayrılması engellenir. Böylelikle kemik yapısı gerilme ve sıkışmaya direnç kazanır (Guyton 1996, Junquiera ve ark. 1998).

2.1.1.2. Organik Matriks

Kemiğin organik matrisine osteoid madde denir. Osteoid madde erişkinlerde kemik ağırlığının %25'ini, hacim olarak da %38'ini oluşturur. Organik maddelerin %95'i kolajen, proteoglikanlar ve glikoproteinlerden oluşur. Organik maddeler arasında en çok osteokalsin bulunmaktadır. Bu protein, kemiğin lifsel çatısını oluşturur. Kemik dokusu kolajeni, üzerine mineral matriks çökeldiğinden, diğer kolajenler arasında özgün bir yer tutar ve osteokolajen adını alır (Soydan 1992, Dietz ve Bartholmes 1998).

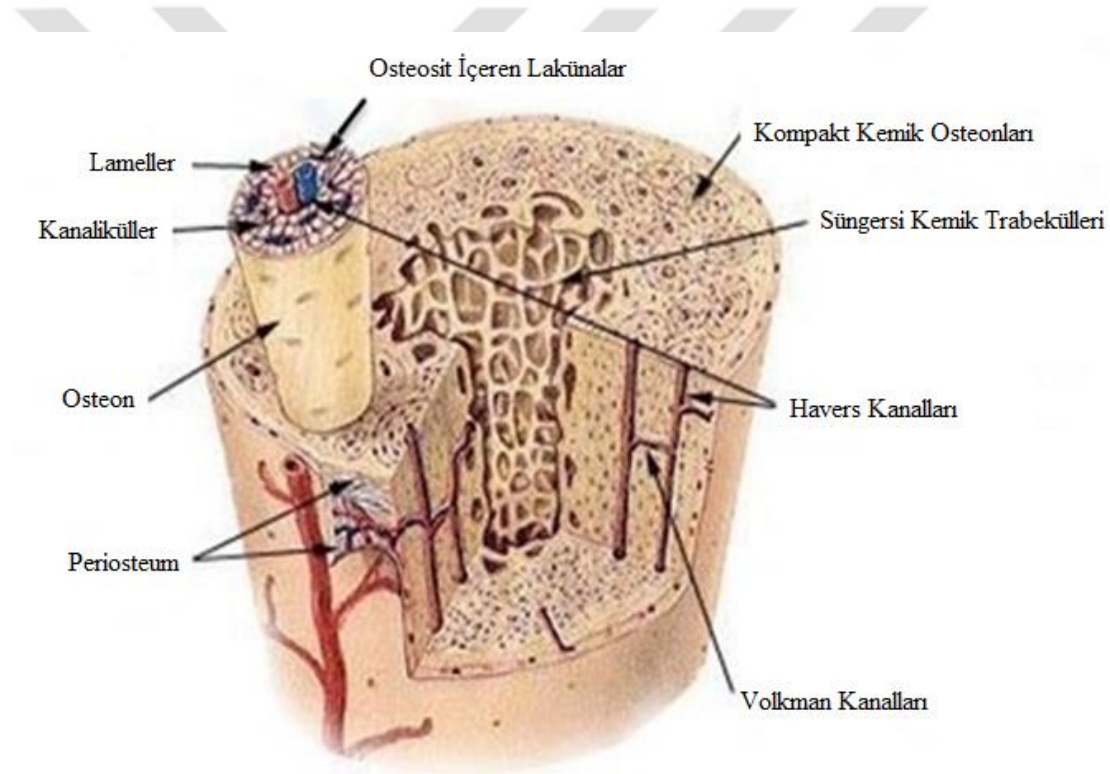
Kolajen; dokularda mekanik stabiliteyi sağlayan lifli bir proteindir. Transkripsiyondan sonra, kolajen molekülleri çeşitli intra ve ekstrasellüler işlemlerden geçer, bu da onun özgün yapısını ve stabilitesini sağlar (Dietz ve Bartholmes 1998). Kemik kolajeni diğer kolajenlerden farklılık gösterir, %90 tip I kolajenden oluşur (Şatan ve ark. 1998).

Kemiğin organik yapısını büyük oranda oluşturan kolajen liflerin sentezi mezenkimal orjinli osteoblastlarda meydana gelir. Osteoblastlar bir süre sonra, kendi oluşturdukları kemik matriksi tarafından sarılarak osteosit adını alır. Bu hücreler, artık devamlı kemik oluşturma yeteneklerini kaybetmiştir. Kemikte bulunan diğer büyük tip hücreler, çok çekirdekli osteoklastlardır. Bu hücreler, kemiğin sürekli şekil değiştirme (remodelling) işleminin bir parçası olan, kemik rezorpsiyonu ile ilgilidir. Kolajen lifleri arasında bulunan kemiğin esas maddesi çeşitli glikozaminoglikanlar, gliko ve mukoproteinlerden oluşmuştur. Ayrıca, bağ dokusunun hücre dışı ve liflerarası komponentlerini kapsar (Güven 1988).

Kolajen lifciklerin arasını esas madde doldurur. Esas madde daha çok osteosit boşlukları ve kanalcıklar çevresinde yoğunlaşır. Kimyasal yapısı değişik proteinkarbonhidrat bileşimi olan moleküllerdir. Esas maddenin kemikteki proteoglikan fraksiyonuna osteomükoid de denir (Soydan 1992).

2.1.2. KEMİK HÜCRELERİ

Morfoloji, fonksiyon ve karakteristik özelliklerine göre osteoprogenitör hücreler, osteoblastlar, osteoklastlar ve osteositler olarak 4 gruba ayrılmıştır. Osteoblast, osteosit ve osteoprogenitör hücrelerin her biri diğerine dönüşebilir, yani tek bir hücre tipinin farklı gelişim evrelerini temsil etmektedirler. Osteoklastlar ise dolaşımda bulunan bütün hücreleri içine alan hematopoetik hücre ailesine aittir ve monositlerden köken almaktadır. Osteoklastlar bu nedenle köken ve işlevine bağlı olarak sahip olduğu yapıyla diğer üç hücre tipinden oldukça farklı bir özelliğe sahiptir (Soydan 1992).

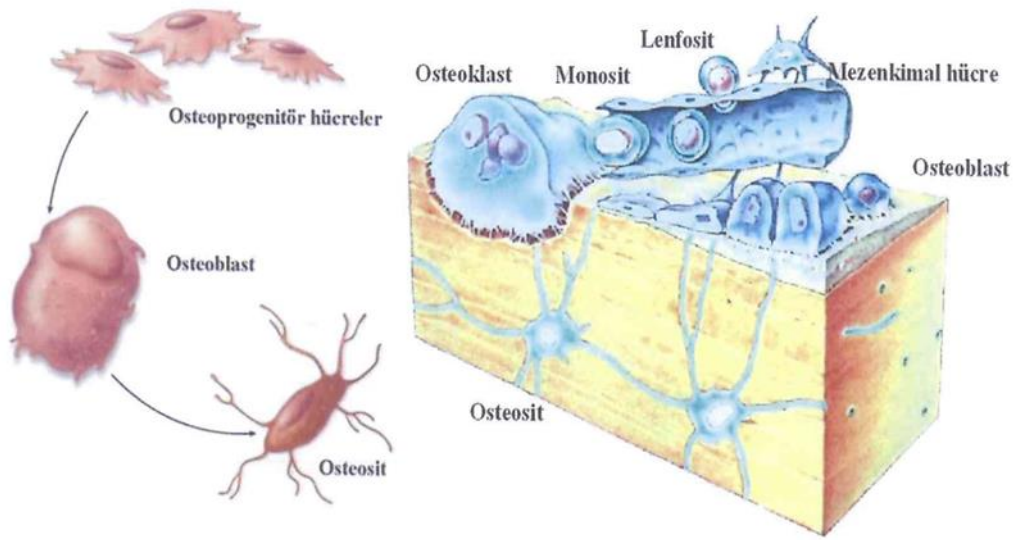


Şekil 2-1: Normal kemik yapısı (Kierszenbaum, 2002)

2.1.2.1. Osteoprogenitör Hücreler

Osteoprogenitör hücreler, oval çekirdekli, soluk sitoplazmalı ve soluk boyanan yassı hücrelerdir. Normal kemik gelişiminde aktiflerdir. Yine erişkinlerde kırık iyileşme sırasında aktifleşirler. Bölünüp çoğalırken osteoblast ve osteoklastlara farklılaşırlar (Paker 1993).

Osteoprogenitör hücreler kemiğin dış ve iç yüzeylerini örten periosteum ve endosteumda bulunurlar ve osteoblastlara dönüşerek kemik yapımını sağlarlar. Bu hücreler yaşamları boyunca çoğalabilme özelliğine sahip olup henüz spesifik bir doku hücrelerine farklılaşmamış hücrelerdir. Farklılaşmamış kök hücre grupları oluşturdukları gibi, geçiş hücrelerine farklılaşarak kemik, kıkırdak, ligament, tendon ve yağ gibi bağ dokusu hücreleri de oluşturabilirler. Osteoprogenitör hücrelerin, periost ve peritrabeküler yumuşak doku dahil olmak üzere birden fazla kaynağı olabilir (Şekil 2-2) (Soydan 1992).



Şekil 2-2: Kemik hücrelerinin ve farklılaşma yollarının şematik olarak gösterilmesi (Kierszenbaum, 2002)

2.1.2.2. Osteoblastlar

Osteoblastlar kemik yapıcı hücreler olup %90 oranında tip I ve az miktarda tip V kolajen salgılamalarının yanı sıra kemik mineralizasyonu için önemli olan, glikoproteinleri, proteoglikanları, osteokalsin, osteonektin, osteopontin, osteoprotegerin, interlökin (IL), kemik morfojenik protein (BMP), dönüştürücü büyüme faktörü (TGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) gibi sitokinleri salgırlar (Junquiera ve ark. 1998). Kemik yapıcı görevleri sona erdiğinde, yeni sentez edilmiş matris içinde kalarak osteositlere dönüşür ve osteoid adını alan, yeni ancak henüz kalsifiye olmamış matrisi oluştururlar (Şekil 2-2) (Soydan 1992, Baron 1999).

2.1.2.3. Osteoklastlar

Osteoklastlar şekil ve çekirdek sayıları değişkenlik gösteren, kemik iliğindeki monosit ya da monosit benzeri hücrelerden kaynaklanan çok çekirdekli dev hücrelerdir (Şekil 2-2) (Guyton ve Hall 1996, Leeson ve ark. 1981). Kemik rezorpsiyonundan sorumlu olan osteoklastlar sıklıkla kemik yüzeyinin Howship boşluklarında bulunurlar. Histolojik olarak kemik emilimi osteoklastlara bitişik kemik bölümünde gerçekleşir. Osteoklastlar villusa benzer çıkıntılarını kemiğe doğru uzatarak salgıladığı proteolitik enzimler ve asitler aracılığı ile organik matriksi ve kemik tuzlarını eritirler. Ayrıca küçük kemik matriks ve kristal parçalarını fagosite ederek oluşan ürünleri kana verirler. Osteoklastlar osteoblastlarla beraber kemiğin mekanik etkenlere bağlı olarak şekillenmesinde rol oynar (Jee 2001).

Büyümekte olan kemikler dışında normalde kemiğin depolama ve absorpsiyon hızları birbirine eşit olduğundan kemiğin toplam kitlesi sabit kalır. Bifosfonatlar, kalsitonin ve östrojen ile etkileri azalırken paratiroid, tiroksin ve D vitamini ile etkisi artar (Guyton 1996, Fleish 1997).

2.1.2.4. Osteositler

Osteositler, gelişimini tamamlamış kemiğin başlıca hücreleridir. Geliştiği osteoblasttan daha küçüktür. Osteoblastlardan gelişen osteositler, matriks lamelleri arasında bulunan lakünalar içerisinde her lakünada sadece bir osteosit olacak şekilde bulunurlar. İnce silindirik matriks kanalcıklarıyla sarılı olan osteositlerin sitoplazmik uzantıları komşu osteositlerin sitoplazmik uzantıları aracılığı ile temas oluşturup, besin maddelerinin bu yapılar aracılığı ile hücreden hücreye geçişini sağlarlar. Osteositler ile kan damarları arasında oluşan bazı moleküler değiş tokuş işlemleri, osteositler uzantıları ile kemik matriksi arasında bulunan çok az miktarda ekstraselüler madde aracılığı ile de gerçekleşir. Bu hücreler kemik matriksinin devamlılığı için aktif rol oynarlar. Osteositlerin ölümünün ardından matriks rezorpsiyonu oluşur (Junquiera ve ark. 1998, Parker 1993).

Osteositlerin işlevine yönelik başlıca iki varsayımdan ilki, osteositlerin, osteoblastların olgun şekilleri olduğu ve canlı kaldıkları süre içinde buldukları matrisin devamlılığını korudukları yönündedir. Osteositlerin kemik içindeki işlevlerine ilişkin ikinci varsayım ise, osteoliz yaparak kan kalsiyum düzeyini dengelediğidir (Soydan 1992).

2.1.3. KEMİK DOKUSU TİPLERİ

Kolajen liflerin doku içindeki dağılımına göre primer ve sekonder olmak üzere iki tip kemik vardır (Soydan 1992).

2.1.3.1. Primer Kemik Dokusu

Embriyonal süreçte gözlenen ve ilk oluşan kemik şeklidir. Zamanla yetişkindeki kemik şekli olan lamelli kemiğe dönüşür. Primer kemik dokusu yetişkindeki kemiğin bilinen mekanik özelliklerini taşımaz. Hücreden oldukça zengin olan bu tip kemikte organik matriks belli bir düzen göstermez (Junquiera ve ark. 1998, Soydan 1992).

2.1.3.2. Sekonder Kemik Dokusu

Kemik dokusunun gelişimi sürecinde primer kemiğin yerinde matriksi lamelli düzenleme gösteren sekonder kemik gelişir. Post-natal kemik iskeletinin tümüne yakınına oluşturur. Mikroskopik özelliğini 3-7 mikrometre kalınlığındaki lameller oluşturur. Sekonder kemik makroskopik yönden spongioz (süngerimsi) ve kompakt (kortikal) kemik olmak üzere iki tip düzenlenme gösterir (Soydan 1992).

Kortikal kemik, yapısında mikroskopik kanallar barındıran yoğun ve kütleli bir kemiktir. Erişkin bir bireyin iskeletsel yapısının yaklaşık %80'i kompakt kemikten meydana gelir. Kompakt kemik içerdiği havers sistemi (osteon) ile biyofonksiyonel kuvvetlere cevap verir. Bir havers sistemi yaklaşık 4-20 kanaldan meydana gelir ve endost ile örtülü her kanal içinde kan damarları, sinirler ve gevşek bağ dokusu bulunur. Yine havers sistemi yatay ya da oblik seyreden Volkman kanalları aracılığı ile periost, kemik iliği boşlukları ve kendi aralarında iletişim kurmaktadır (Bloom 1975, Erkoçak 1980, Gordon 1998).

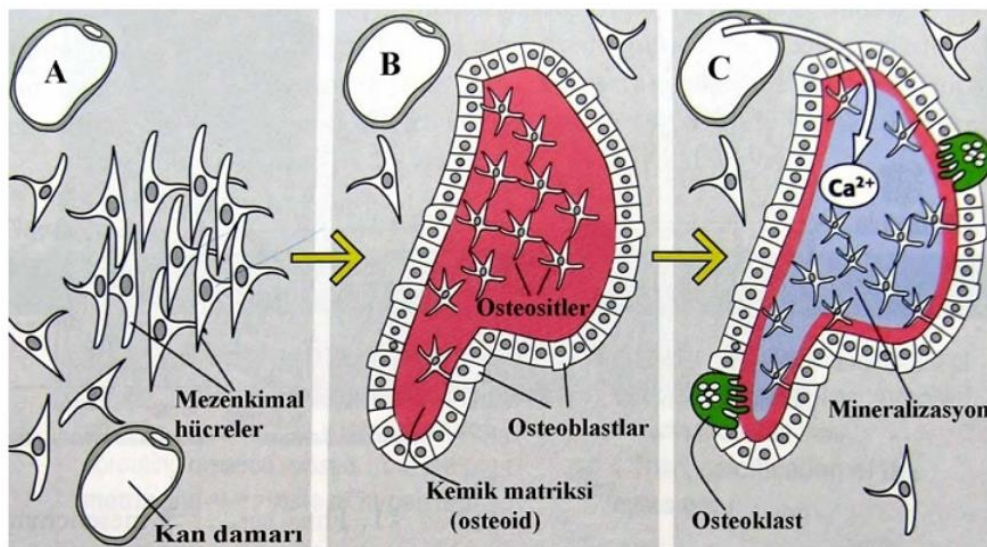
Humerus, femur ve tibia gibi uzun kemikler kemiğin makroskopik yapısının incelenmesinde klasik birer örnektirler. Tipik bir erişkin uzun kemik, ortasında silindirik yapıdaki diyafiz ve her iki ucunda yuvarlak yapıdaki epifizlerden oluşur. Diyafiz temel olarak kortikal kemikten oluşurken; epifiz ve metafiz çevresinde ince bir kortikal kemik bulunan geniş bir kansellöz kemik yapıdan oluşur (Parfitt 1995).

2.1.4. KEMİKLEŞME TİPLERİ

Kemik; osteoblastların salgılandıkları matriksin doğrudan doğruya mineralizasyonu (intramembranöz kemikleşme) ya da önceden var olan kıkırdak matriks üzerine yeni kemik matriksinin çökmesi (endokondral kemikleşme) olmak üzere iki şekilde gelişir. İlk kemikleşme mezenkim içinde gelişir. Endokondral kemikleşme ise bir hyalin kıkırdak modelin yerinde meydana gelir. Her iki yolla ortaya çıkan kemik dokusu primer ya da olgunlaşmamış (immatür) kemik dokusudur. Primer kemik dokusu geçicidir ve bir süre sonra yerini sekonder kemik dokusu (lameller kemik) almaktadır (Junquiera ve ark. 1998, Soydan 1992).

2.1.4.1. İntramembranöz Kemikleşme

Bağ dokusunun içindeki kemik oluşumuna, bu yerlerde bağ dokusu membrana benzediğinden intramembranöz kemikleşme denir (Şekil 2-3). Frontal ve pariyetal kemiklerin tamamı ile oksipital ve temporal kemikler, mandibula ve maksillanın bazı kısımları intramembranöz kemikleşme ile meydana gelir. Kısa kemiklerin büyümesinde ve uzun kemiklerin kalınlaşmasında intramembranöz kemikleşmenin rolü vardır. Mezenkim yoğunlaşması içinde kemikleşmenin başladığı ilk noktalara primer kemikleşme merkezi adı verilir. Birçok kemikleşme merkezinin birbirleriyle birleşmesi ile spongioz kemik oluşur. Trabeküller fazla bir kalınlaşma göstermez. Aradaki bağ dokusu giderek kan yapıcı dokuya dönüşür. Kompakt kemik, önce spongioz kemik geliştikten sonra gelişmeye devam eder (Junquiera ve ark. 1998, Paker 1993).

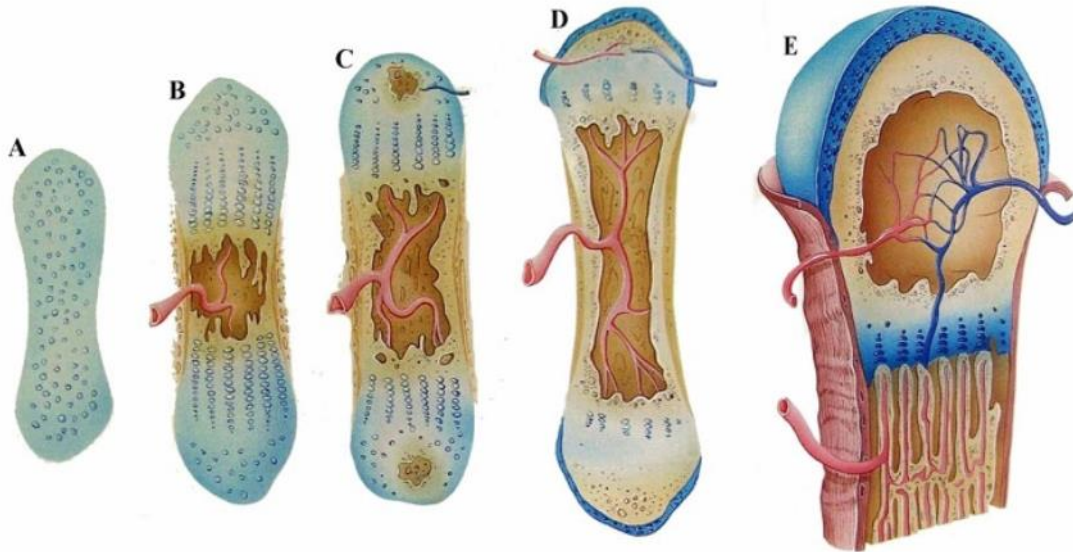


Şekil 2-3: İntramembranöz kemikleşmenin şematik olarak gösterilmesi (Kierszenbaum, 2002)

2.1.4.2. Endokondral Kemikleşme

Endokondral kemikleşmede öncekinden farklı olarak önce mezenkim doku kemiğin yetişkin şeklinin küçük bir hiyalin kıkırdak modelini oluşturur ve kemikleşme bu kıkırdak model içinde başlar (Şekil 2-4). Kemiğin kıkırdak model içinde gelişmesi için önce bu kıkırdak dokunun yıkılması gerekir. Kıkırdak yıkımı ve kemik yapımının yan yana seyretmesi nedeniyle endokondral kemik oluşumu daha karmaşık seyreder. Kıkırdak modellerin kemikleşmesi, diafiz kıkırdağı orta yerinden çepeçevre saracak biçimde kuşatan, bir periostal kemik halkası oluşumu ile başlar. Periostal kemik halkası perikondral ve endomembranöz bir kemikleşmeyle oluşur (Soydan 1992).

Endokondral kemikleşme temelde iki aşamadan oluşur. İlk aşama, kemik modelindeki kondrositlerin hipertrofisi ve harabiyeti; ikinci aşama ise, farklılaşmamış mezenkim hücrelerinin kıkırdağı rezorbe etmeleri ve osteoblastların oluşumudur (Junquiera ve ark. 1998, Soydan 1992).



Şekil 2-4: Endokondral kemikleşmenin şematik olarak gösterilmesi (Gartner ve James 2000)

2.1.5. KEMİK BÜYÜME VE GELİŞİMİ

2.1.5.1. Şekillendirme (Modelling)

Büyüme ve şekillendirme birbirlerine eşlik eden olgulardır. Yerel etmenler, büyümeyi fonksiyonel ve mekanik olarak ihtiyaç duyulan mimari yapı doğrultusunda yönlendirirler. Şekillendirme, geniş kemik yüzeylerinde kemik yapım ya da yıkım

olaylarını içine alır. Şekillendirme kemiklerin ve eklemlerin büyüklük, şekil, hacim, anatomi ve büyümesini kontrol eder. Korteks ve ilik kavitelerinin genişlemesi, uzun kemiklerin uç kısımlarının şekillendirilmesi, trabeküllerin kayması ve kraniyal boşluğun genişlemesi şekillendirme olgusunun birer sonucudur. Fiziksel konturun değişen mekanik şartlara uyumu şekillendirme işlevleriyle elde edilir. Doğumdan olgunlaşma dönemine uzanan süreçte kemikleri etkileyen kuvvetler 20 kat artarken şekillendirme işlevleri sayesinde kemikler sürekli güçlendirilir ve mikro-makro hasarlardan korunur (Dedeoğlu 2004).

2.1.5.2. Remodelling (Yeniden Şekillendirme)

Kemiğin yeniden şekillendirilmesi ile biyomekanik ve metabolik olarak çevre şartlarında varlığını sürdürebilen kemik üretimi elde edilir. Metafizde oluşan olgunlaşmamış kemik, yapısal olarak olgun kemikten daha kalitesizdir. Bununla birlikte ilerleyen yaşla birlikte erişkin bireylerde kemik kalitesi düşer. Eksilen kemiğin yerine konması veya yenilenmesi; kalitesi düşük olan kemiğin yerine, sırasıyla yıkım ve yeni lameller kemik yapımıyla gerçekleşen yeniden şekillendirme ile olur. Kemiğin yeniden şekillendirme işlemlerinin ürünleri katlanmış sement çizgileri, sekonder osteonlar, trabeküler katmanlar ve dokular arası yapraklardır.

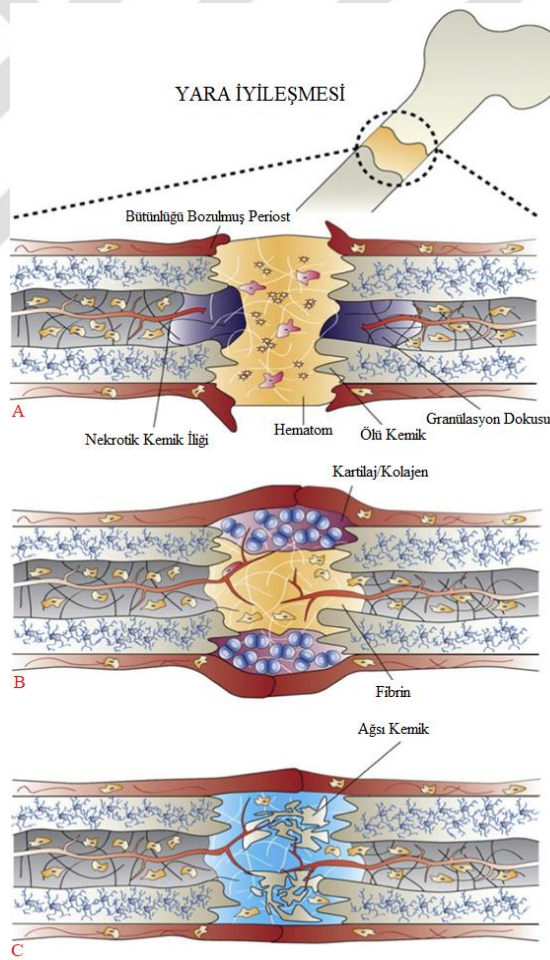
İnsanlarda iki-üç yaşından sonra primer kemik emilerek yerini ikincil kemiğe bırakır. Birincil süngersi yapıdan ikincil süngersi yapıya geçişte remodellinge bağlı kemik kaybı şeklinde tanımlanan aşırı miktarda madde kaybı olur. Bu geçiş sırasında kemiğin mimarisinde meydana gelen değişimler dikkati çeker. Birincil kemiğin yerini alan ikincil kemik sürekli olarak yok edilir ve yeni kuşak kemikle yer değiştirir, yeniden şekillendirme olgusu bireyin hayatı boyunca devam eder. Yeniden şekillendirme mikro hasarların giderilmesinde, ölü veya aşırı mineralleşmiş kemiğin yenilenmesinde ve yerel baskılar karşısında kemiğin mikro-mimari yapısının düzenlenmesinde yardımcı olur (Dedeoğlu 2004).

2.1.6. KEMİK İYİLEŞMESİ

Kemikte meydana gelen herhangi bir hasar sonucunda, kemik iliği boşluğunda, kortekste, periosteumda ve kemiği saran yumuşak dokularda farklı reaksiyonlar oluşur (Şekil 2-5). Oluşan hasarın lokalizasyonuna, tipine ve tedavi metoduna bağlı olarak bu

reaksiyonlar aynı anda veya daha sonra gelişebilir. Kemik iyileşmesi çeşitli biyolojik ve mekanik faktörlerden etkilenir. Kemik kan akımı kemik iyileşmesinin ana belirleyicisidir (Zhang ve ark. 2005). Kemik kan akımı; besinleri kemik yaralanması olan yere getirir. Hasar bölgesinde oluşan damar yaralanmasına bağlı olarak gelişen ilk tepki kemik kan akımında bir azalmanın oluşmasıdır. Saatler ya da günler içinde kemik kan akımı artar. İkinci haftada kan akımı miktarı zirve yapar ve 3-5 ayda normale döner (Junqueira ve ark. 1998).

Hasar olduğu anda, kemik iliğinin normal yapısı bozulur. Kallus dokusu çevresindeki kan damarları kaybolur, kemik iliği hücresel içeriği yeniden organize olur. Yüksek hücresel yoğunluğa sahip alanlarda endotelial hücreler polimorfik hücrelere dönüşürler ve bu hücreler 24 saat içerisinde osteoblastik özellik göstererek yeni kemik üretmeye başlarlar (Junqueira ve Carneiro 2003).



Şekil 2-5: Kemik İyileşmesi Dönemleri A: İnflamasyon Dönemi B: Onarım Dönemi C: Yeniden Şekillenme Dönemi (Lienemann ve ark. 2012)

2.1.6.1. Enflamasyon Evresi (1-4 gün)

Kemikte meydana gelen hasar sonucunda, bölgedeki kan damarları zarar görür ve kanama oluşur. Hasar oluştuktan sonra periost, çevredeki kaslar ve damarlar yırtılır ve kan, lenf ve doku sıvılarından oluşan sıvı karışımı bölgede hematoma oluşturur. Bu hematoma, kemik iyileşmesinin erken döneminde kritik öneme sahip hücresel faaliyetlerin başlamasını sağlayan interlökin ve sitokinler gibi faktörler içerir. Bu tip sitokinlerin salınımlarının devam etmesi defekt alanında kemik köprüsünün oluşumunu sağlayan fibroblastların, endotelial hücrelerin ve osteoblastların bölgede faaliyetlerinin başlamasını sağlarlar (Hall ve Miyake 1995). Bu esnada trombositler de mezenkimal hücrelerin bölgeye göç etmesini sağlayarak, hücre proliferasyonu ve farklılaşmasında önemli rol oynayan dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- β) ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) salınımı gerçekleşir. Enflamatuar hücreler (makrofajlar, monositler, lenfositler ve polimorfonükleer hücreler) ve fibroblastlar, prostoglandin etkileşimi ile kemiğe infiltre olurlar. Bu gelişmelerle hasar bölgesinde granülasyon dokusu oluşumu, vasküler doku ve mezenkimal hücre göçü oluşur (Altunalmaz 2004).

2.1.6.2. Onarım Evresi (2-40 gün)

Bu mekanizmada rol oynayan hücreler mezenkimal kökenli, çok yönlü gelişim gücüne sahip (pluripotent) hücrelerdir. Çoğunlukla kırık bölgesindeki granülasyon dokusunun içinden, ayrıca periosteumun osteojenik tabakası ve az miktarda da endosteumdan köken alırlar. Bu hücreler farklılaşmaya başladığında, ilk değişikliğe uğrayan hücreler, kılcal damarlar vasıtasıyla hematoma içine giren fibroblastlardır. Üçüncü günde hasar bölgesinde, yoğun mezenkimal hücre vardır. Periosteal ve endosteal osteojenik hücrelerle, fibrin matriksteki fibroblastların çoğalıp farklılaşmasıyla, bu granülasyon dokusu oluşur (Kılıçoğlu 2002). Bu dokunun içindeki makrofajlar oluşan debris temizlemeye yardım ederler. Granülasyon dokusu, makrofajların rezorbe ettiği sahalara doğru yayılır. Periosteum ve endosteumdan gelişen fibroblastlar bölgeye göç ederler. Bazı fibroblastlar, kolajen fibrilleri salgılayarak bazı fibroblastlar ise kondroblastlara farklılaşarak kartilaj sentezleyip fibrokartilaj bir yapı olan yumuşak kallusu oluştururlar.

Hücre farklılaşması sonucunda fibroblastlar osteoblastlara dönüşür ve yeni kemik dokusu oluşmaya başlar (Hall ve Miyake 1995).

2.1.6.3. Osteoid Doku Oluşumu (12-21 gün)

Osteoblastlar arasında yarı katı bir madde olan osteoid dokusu oluşmaya başlar. Bu yarı katı maddeye kalsiyum tuzlarının çökmesiyle sert kallus ve iç taraftaki yumuşak kallus bölgesinde de endokondral kemikleşme süreci ile kırık dokudan yavaş yavaş kemik doku oluşumu başlar, sert kallus büyür ve defekt hattının hareketliliği azalır. Bu dönemde kemik kallusu normal kemiğe göre daha zayıftır ve tam gücünü yeniden şekillenme evresinde kazanır.

Bunun sonucunda defekt hattının hareketliliği azalır ve kemik sahasında şişkinlik oluşur (Hall ve Miyake 1995).

2.1.6.4. Geçici Kallusun Kalsifikasyonu (21. günden sonrası)

Osteoit dokunun mineralizasyonu, sert kallus dokunun oluşumu ve yapısal sağlamlık için gereklidir. Kalsiyum tuzları, osteoid dokunun üzerine tam olarak çöker ve lameller kemik oluşmaya başlar. Bu dönemde hareketlilik azalmıştır. Bölge daha sonra periosteum ile kaplanır ve tamir işlemi tamamlanmış olur.

Bundan sonra kemikte remodelling meydana gelir. Kallusun yerleşimine göre kansellöz veya kompakt kemiğe dönüşür (Hall ve Miyake 1995).

2.1.7. KIRIK ONARIMI

Kemiğin anatomik bütünlüğünün kemiğin dışından veya içinden gelen kuvvetlerle bozulmasına kırık denir. Bu durumda bozulan kemik bütünlüğünün yeniden sağlanmasına yönelik fizyolojik reaksiyonlar oluşur. Kemik, yeniden yapılanmayla iyileşir ve iyileşme sırasında skar dokusu oluşturmaz. Kırık iyileşmesi, kırık olduğu andan itibaren başlar, düzenli kemik doku oluşumu ile kırık uçları birleşinceye kadar devam eder (Kılıçoğlu 2002).

Kırık iyileşmesi ve dolayısıyla yeni kemik oluşumu oldukça karmaşık bir sistem ile kontrol edilmektedir. Sistemin bu denli detaylı organizasyonu, dolaylı olarak birçok araştırmaya konu olmasına rağmen, henüz bir fikir birliği sağlanamamıştır. Bu bir bakıma normaldir, çünkü iki kırık ve arasında yeni bir kemik köprü oluşmasının, matriks oluşumu, mineralizasyon ve remodeling gibi evreleri birbirlerine karşı

çalışıyormuş gibi görünen farklı hücrelerin ve farklı hormonlardan oluşan bir sistemin bütün halinde çalışması sonucunda gerçekleşmektedir (Çetnus ve ark. 2000).

Kırık iyileşmesi, temelde bir bağ dokusu iyileşmesi şeklinde olur. Yumuşak doku iyileşmesinden farkı, osteoblast ve osteoklastların aktiviteleri ile özelleşmiş kalsifiye kemik dokusu oluşumudur (Altunatmaz 2004). Kemikte kırık meydana gelir veya herhangi bir nedenle bütünlük bozulursa, ayrılan parçanın dolaşımı da bozulmaktadır (Kekilli ve ark. 2005).

Kırık oluşumu ile birlikte kırık bölgesinde enflamasyon başlar ve yaklaşık olarak 14-21 gün devam eder (Şekil 2-6). Enflamasyon, kallus şekillenmesini başlatmada önemli rol oynar ve kemik formu ya da kırık oluşuncaya kadar devam eder. Kemiğin rejenerasyonunda, parathormon, kalsitonin, D vitamini metabolitleri ve alkalın fosfataz gibi birçok faktör rol oynar ve bunların kan plazmasındaki seviyeleri artar (Altunatmaz 2004).

Hematom, kırık iyileşmesi için gerekli iki önemli faktörü sağlar. Birincisi, oluşan hematom ya da pıhtı, kemik ucu ve komşu yumuşak dokuların arasını doldurarak kırık bölgesinde çok az da olsa mekanik sağlamlık sağlar. Hematomun ikinci önemli özelliği ise; kırık bölgesine matriks oluşumunu başlatan, osteoblastlara ve kondroblastlara dönüşen, olgunlaşmamış osteoblast ve kondrosit hücrelerini getirmesidir. Yara bölgesinde oluşan hematomdan IL-1 (interlökin-1), IL-6 (interlökin-6), PDGF, TGF β ve VEGF (venöz endotelyal büyüme faktörü) gibi büyüme faktörleri salgılanır (Junquiera ve ark. 1998, Kılıçoğlu 2002, Altunatmaz 2004, Barnes ve ark. 1999).

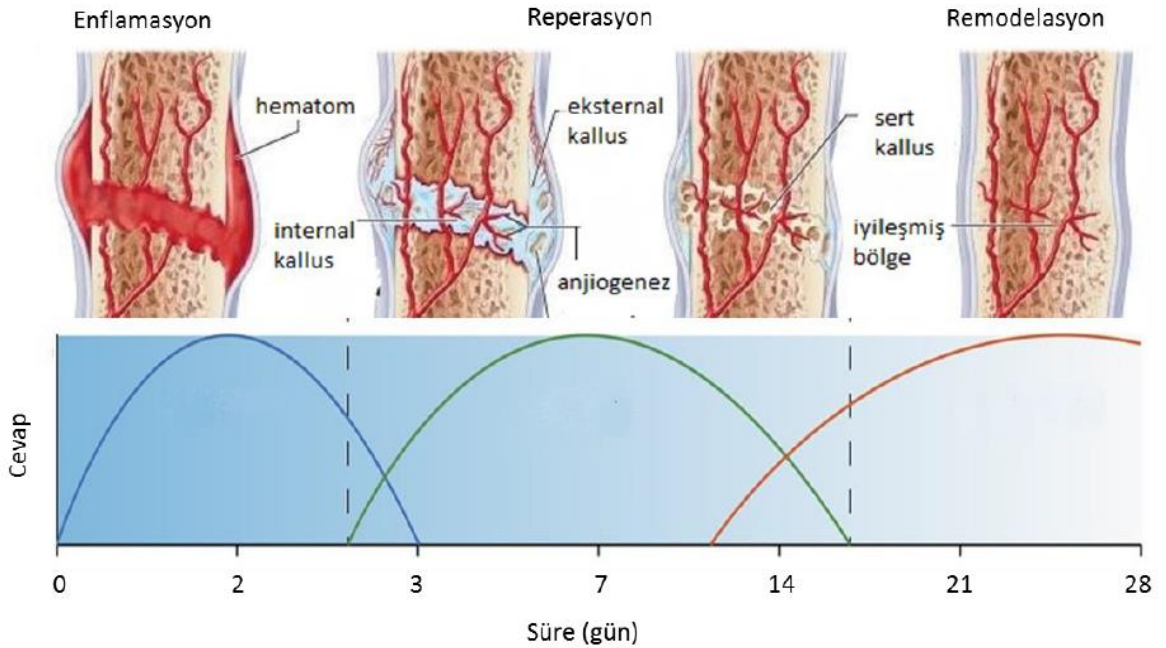
İkinci aşama yenilenme fazı olarak adlandırılır (Şekil 2-6). Osteogenezis devam eder ve kırık bölgesinde kallus oluşumu sürer (Altunatmaz 2004). Kırığın bağ dokusunda ortaya çıkan küçük kırık parçacıklarının endokondral kemikleşmesi yoluyla primer kemik (yumuşak kallus) oluşur. Kırık kallusun farklı bölgelerinde (periost-external ve medulla-internal) aynı zamanlarda intramembranöz ve endokondral kemikleşme meydana gelir (Barnes ve ark. 1999).

Kırık bölgesindeki pıhtının oluşturduğu fibrin ağları ve fibroblastlardan salgılanan kolajenler genç granülasyon dokusunu meydana getirir. Bir hafta sonra osteoblast ve kondroblastların da kırık bölgesine gelmesiyle yumuşak fibröz kallus şekillenir. Başlangıçta yumuşak olan kallus daha sonra, osteoblastlardan osteoid

üretilmesi ve kondroblastların da osteoblastlara dönüşmesiyle ortama kalsiyum tuzlarının (hidroksiapatit) da çökmesi sonucu ön kallus (fibrokartilagenöz) halini alır. Oluşan bu yeni kallus serttir (sekonder kemik) ancak hala dayanıksızdır. Fibrokartilagenöz dokunun yerini zamanla kemiksi kallus alır. Bu aşamaya 4-6 haftada ulaşılır. Kırık bölgesi, kallus ile köprülendiği zaman üçüncü faz olan yeniden şekillenme aşaması başlar. Böylece, içinde havers sistemi bulunan lamellar kemik yapısı oluşur (Altunatmaz 2004).

Kemikleşme ilerledikçe kırık parçaların hareketi giderek azalır ve kırık bölgesinde daha sağlam bir yapı elde edilir ki, bu sağlamlık derecesi, kırık bölgesinin başarılı iyileşmesinde belirleyici rol oynamaktadır. Kallusun primer kemik dokusu zamanla rezorbe olur ve yerini sekonder kemiğe bırakır ve böylece kemiğin özgün yapısı yeniden oluşur (Junquiera ve ark. 1998, Appel ve ark. 2002).

Kırık iyileşmesinde, kemik iyileşene kadar, doğru konumda iyileşmenin sağlanabilmesi için kemik fragmanlarını stabil hale getirmek amacıyla ilave desteğe ihtiyaç duyulmaktadır. Bu destek iyileşme süreci boyunca, alçı-atel-sargı- bandajlar, iç (internal) fiksatorler, dış (external) fiksatorlerle sağlanmaktadır (Kar 1997).



Şekil 2-6: Kırık iyileşmesi evrelerinin zamana bağlı dağılımı (Denny ve Butterworth 2000)

2.1.7.1. Kırık Tipleri ve Sınıflaması

A-Kırık hattının, kemiği çevreleyen cilt yolu ile dış ortamla ilişkide olup olmamasına göre:

- Kapalı kırıklar
- Açık kırıklar

B-Kırık sayısına göre:

- Tek kırık hattı
- Birden fazla kırık hattı

C-Kırığı oluşturan kuvvete göre:

- Direkt mekanizma ile olan kırıklar
- İndirekt mekanizma ile olan kırıklar
- Direkt ve indirekt mekanizma kombinasyonu ile olan kırıklar

D-Kemik dokunun sağlamlığına göre:

- Normal kemikte (travmatik) kırık
- Hastalıklı kemikte (patolojik) kırık
- Stress (yorgunluk) kırığı

E-Kırığın derecesine ve kırık hattına göre:

a) Ayrılmış (deplase) kırıklar

- Transvers kırık
- Oblik kırık
- Spiral kırık
- Kopma kırığı
- Parçalı kırık

b) Ayrılmamış (non-deplase) kırıklar

- Çatlak (fissür, linear kırık)
- Yeşil ağaç (green stick) kırığı

- Torus (Buckle) kırığı
- Çökme kırıkları
- Kompresyon (sıkışma) kırıkları
- Dişlenmiş (impakte) kırıklar
- Epifizin ayrılmamış kırıkları

F-Kırılan kemiğin histolojik yapısına göre:

- Spongios bölge kırıkları
- Kortikal bölge kırıkları

G- Kırığın kemikteki anatomik lokalizasyonuna göre:

- Epifiz bölgesi kırıkları
- Cisim kırıkları
- Distal bölge kırıkları
- Proksimal bölge kırıkları (Us 2005).

2.1.7.2. Kırık Tedavisi

Kırık tedavileri günümüze kadar değişik araştırmacılar tarafından farklı şekillerde yapılmıştır. Milattan önce 400'lü yıllarda kırık segmentlerinin redüksiyonu ve immobilizasyonu tarif edilmiştir. Kırık parçalarını el yardımı ile redükte edilerek komşu dişlerin etrafı keten ip veya altın tellerle bağlanmış kırığın immobilizasyonu sağlanmıştır. İntra-oral sabitlemenin yanı sıra extra-oral olarak da deri bandajlar kullanılmıştır. Bandajlar halen günümüzde Barel bandajı olarak kullanılmaktadır. Daha sonra da bu teknik uygulanmış ve işlem sonrasında hastalara, yara bölgesini şarap ve yağ ile ovması, konuşmaması ve sadece sıvı yiyecekler yemesi önerilmiştir (Mukerji ve ark. 2006).

Modern tıptaki gelişmelerle beraber, oral anatomi, fonksiyon, operatif ve restoratif tekniklerde gelişmeler sağlanmış, uygulaması kolay olan ligatür ve bandaj teknikleri tarif edilmiştir. Ligatürlemenin kırık parçaların rijid pozisyonda kalmasında

etkili olmadığını düşünülerek, fildişinden bir blok dental splint olarak kullanılmıştır (Mukerji ve ark. 2006).

19. yüzyıla gelindiğinde ise kırık segmentlerin stabilizasyonunu sağlamak amacıyla transmandibular veya sirkummandibular tel fiksasyon teknikleri ile intraoral ve extraoral splintlerin daha gelişmiş modelleri kullanılmaya başlanmıştır. 19. yüzyılın ortalarında mandibula oblik kırıklarının tedavisinde ilk olarak sirkumferansiyel tel uygulanmış, daha sonra bu teknik geliştirilerek tel sütürleri her iki kırık fragmanda delik oluşturarak segmentler birbirine bağlanmıştır (Mukerji ve ark. 2006).

Ciddi disloke kırıklar için kişiye özel hazırlanan metal splintler geliştirilmiş, bu teknik sayesinde alçı model üzerinde okluzyon ayarlaması yapıp, kırık parçalar splint içine yerleştirilerek ağızda etkili bir redüksiyon sağlanmıştır (Mukerji ve ark. 2006).

Mandibulanın immobilizasyonu için, halen günümüzde de arch bar olarak kullanılan tel ligatür splint geliştirilmiş, deplase olmuş segmentleri yeniden eski konumlarına getirip demir tellerle dişlere adapte ederek stabilizasyon sağlanmıştır (Mukerji ve ark. 2006).

İlerleyen yıllarda birçok splint varyasyonu ve intermaksiller fiksasyon tekniği rapor edilmiştir. Bunlar arasında en çok dikkat çeken Dr Robert H. Ivy' nin 1922'de tarif ettiği IVY loop tekniğidir (Rowe 1971).

İntraoral tekniklerle rijit fiksasyonun, kompleks fasiyal kırıkların tedavisinde yeterli stabiliteyi sağlamadığı görülmüş ve ekstraoral fiksasyon yöntemleri geliştirilmiştir. Uzun kemiklerdeki kırıkların perkutanöz vidalama yöntemi ile tedavisi ilk olarak 1897'de tarafından gerçekleştirilmiş olmasına rağmen; mandibular kırık tedavisinde Kirschner tellerinin kullanılması ancak 1930'lu yılların ilk yarısında başlamıştır (Mukerji ve ark. 2006).

Modern travmatoloji ise osteosentezin gelişimi ile başlamıştır. İlk osteosentez plağı kullanılmış fakat biyolojik olarak uyumlu olmadığı için geliştirilmesi gerekliliği ifade edilmiştir (Mukerji ve ark. 2006).

Plak uygulamalarının ilki özel olarak sadece mandibulaya göre tasarlanmıştır. Mini plak osteosentezi ise ilk olarak 1973'te uygulanmış ve 1975'te Champy ve Lodde tarafından geliştirilmiştir (Champy ve Lodde 1976, Michelet ve ark. 1973).

Maksillofasiyal bölgedeki kırıklarda kullanılan tedavi yöntemleri,

- 1) Kapalı redüksiyon
- 2) İntraoral rijit olmayan açık redüksiyon
- 3) Ekstraoral açık redüksiyon ve rekonstrüksiyon kemik plakları ile internal fiksasyon
- 4) İntraoral açık redüksiyon ve lag vida kullanılarak internal fiksasyon

Bugüne kadar plak lokalizasyonu için birçok teknik tanımlanmıştır (Haug ve ark. 2001, Fedok ve ark. 1998). 1944'te kırık kemiklerin fiksasyonu için kassal gerilim kuvvetlerinin en büyük olduğu yerin uygun fiksasyon noktaları olduğu bildirilmiştir (Renton ve Wiesenfeld 1996). Bu düşünce doğrultusunda Champy ve arkadaşları tarafından mandibular angulus kırıklarında en uygun plak lokalizasyonun mandibulanın üst sınırı olduğu yapılan biyomekanik deneylerle gösterilmiştir (Champy ve Lodde 1976). Bu teknik birçok klinik çalışma ile desteklenen ve günümüzde de en çok tercih edilen tedavi yaklaşımlardandır (Renton ve Wiesenfeld 1996, Ellis 1999, Choi ve ark. 2001).

Bütün bu tekniklerde kullanılan materyaller günümüz teknolojisi ilerledikçe farklılıklar göstermiştir. Fiksasyon materyalleri yani plak ve/veya vidalar, paslanmaz çelik, titanyum ve vitalyum gibi çeşitli metallerden üretilmiştir. Bir dönem en çok kullanılan materyal olan paslanmaz çeliğin orta düzeyde gücü ve sertliği sayesinde kolaylıkla bükülerek kemiğe uyumlanabilmesi en önemli özelliğidir. Ancak bu işlem sırasında oluşan çatlaklar, doku içerisinde paslanmaz çeliğin korozyonuna neden olması önemli bir dezavantajdır. Günümüzde en yaygın kullanılmakta olan materyal, saf ya da alaşım olarak bulunabilen titanyumdur. Titanyum biyouyumlu bir materyaldir ve minimal doku reaksiyonuna neden olur (Orringer ve ark. 1998, Simon ve ark. 1978, Iizuka ve Lindqvist 1992, Eppley ve Prevel 1997).

2.1.7.3. Kırık İyileşmesi Bozuklukları

Psödoartrozis: Kırık uçları arasında yumuşak doku(kas parçası, bağ dokusu, fasya) girecek olursa, kemikte iyileşme olmaz. Kırık aralığında fibröz bir birleşme olur ve kırık uçları hareketliliğini korur. Bu duruma ‘yalancı eklem’ psödoartroz adı verilir.

Ankiloz: Eğer bir eklem bölgesi kırığının iyileşmesinde meydana gelen yeni kemik dokusu eklem iki parçasını birleştirecek olursa bu duruma ankiloz denir.

Disloke durumda iyileşme: Fikse edilemeyen, yanlış fikse edilen kırıklarda ortaya çıkan kusurlu bir iyileşme durumudur.

Kırık bölgesi osteomyeliti: Açık ve iyi fikse edilememiş kırıklarda ya da gerektiği halde yetersiz ve etkisiz antibiyoterapi sonunda ortaya çıkabilir. Bunun sonucunda madde kaybına bağlı sekeller görülebilir.

2.1.7.4. Kırık İyileşmesinin Kontrolü

Kırık iyileşmesi sırasında osteoblast ve osteoklastlar iyileşme için yeterli miktarlarda değildir. Bu dönemde kırık iyileşmesi öncü ve destek hücreleri, kılcal damar, lenf ve sinir sistemi ve yerel aracılı mekanizmalarla sağlanır. Kırık sahasında yerel olarak üretilen ya da kan dolaşımı ile bölgesel seviyelerde kemik dengesini koruyabilen kenetleyici faktörlere ihtiyaç vardır. Bu faktörler arasında prostoglandinler ve kemik uyarıcı faktörler sayılabilir. Güçlü vazodilatatör olan prostoglandinler hücre çoğalmasını hızlandırır. PGE1 ve PGE2 yeni kemik yapımını artırır. PGF'nin de kemik gelişimini hızlandığı hakkında görüşler vardır.

Kemik uyarıcı faktörler arasında TGF β , fibroblast büyüme faktörü (FGF), PDGF, interlökinler, plazma fibronektini, somatomedin C, endotelial büyüme faktörü (EGF), kartilaj kökenli büyüme faktörü (CDGF), makrofaj kaynaklı büyüme faktörü (MDGF), endotelial hücre büyüme faktörü (ECGF) sayılabilir. TGF- β ; hücre dışı matriks bileşenlerinden olan kolajen, fibronektin ve proteoglikanların oluşumunu artırır, granülasyon dokusu oluşumunu etkiler. FGF, kırık ve fibroblastlar için mitojeniktir. PDGF, fibroblast çoğalmasını, mezenkimal hücre mitozunu, monosit ve makrofajların kırık bölgesine göçünü artırır. Fibroblast ve kemik hücreleri için mitojeniktir (Kılıçoğlu 2002). Kemik morfogenetik proteinleri (BMP) ise; farklılaşmamış mezenkimal hücreler ve osteoblastik öncül hücreler üzerinde mitojen etkisi yapar, kemik hücrelerinde alkalın

fosfataz aktivitesini artırır, mezenkimal hücreler ve monositler için kemotaktik hücre gibi davranırlar (Dedeoğlu 2004).

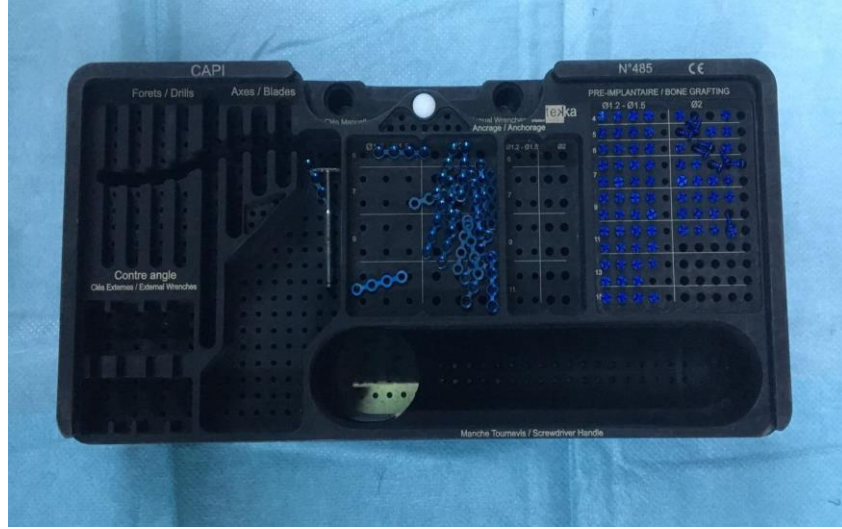
Kırık iyileşmesi kontrolünde etkin olan bu faktörlerin kırık iyileşmesini hızlandırmak amacı ile kullanılmasına ilişkin çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Birçok rekombinant büyüme faktörleri, düzenleyici peptidler ve küçük moleküller kırık tamirinin stimülasyonu amacı ile kullanılmıştır. Bu moleküller içinde kemik morfogenetik proteini 2 (BMP-2), kemik morfogenetik proteini 4 (BMP-4) ve kemik morfogenetik proteini 7 (BMP-7); deneysel kırık tamiri modellerinde olumlu etki göstermişlerdir. Son yıllarda kırık iyileşmesini hızlandırmak amacı ile sentetik peptidlerin kullanımı da gündeme gelmiştir (Wang ve ark. 2005).

2.1.7.5. Kırık İyileşmesini Bozan Faktörler

Yüksek enerjili travmalar sonrası çevre yumuşak dokuların hasarlanması, kırık deplasmanının derecesi, Kırık hattına yumuşak dokuların girmesi, kırık hattının beslenmesinin damarsal olarak bozulması, cerrahi esnasında aşırı disseksiyon yapılması ve kırığın şekli ,açık kırık olması, kemik temasının iyi sağlanamaması (redüksiyonun başarısızlığı), yetersiz tespit, kırık bölgesinde enfeksiyon olması, ileri yaş, eklemiçi kırıklar, beslenme ve metabolizmayı etkileyen hastalıklar (diyabet, malignensi, kansızlık, malabsorbsiyon), kemoterapi, radyoterapi, sigara kullanımı ve kortikosteroid kullanımı kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkilemektedir (Us 2005).

2.1.7.6. Titanyum Mini Plak-Vida Osteosentezi

Titanyum, reaksiyona girmeyen ve biyouyumlu bir materyaldir, yüksek biyomekanik özellikleri ve sertliğinin yanı sıra kolay şekillendirilebilir. Piyasada bulunan titanyum materyaller, titanyum ve oksijen içerir. Bugün titanyum, oksijen içeriğine göre I–IV arasında sınıflandırılır. Titanyum canlı doku ve kemikle kolaylıkla kaynaşır. Kemikle oluşturulan bu kaynaşmaya osseointegrasyon adı verilir ve her iki doku arasındaki bu kaynaşma oldukça kuvvetlidir. Titanyum ve kemik arasındaki bağ, bağlanma yüzeyi boyunca ve ona dik gelen kuvvetlere karşı koyar. Titanyum kraniyofasiyal cerrahide kullanılan diğer metallere göre (paslanmaz çelik, vityum) en iyi korozyon direnci gösteren materyaldir. Her ne kadar kemiğe oranla çok daha yüksek olsa da metallere oranla daha düşük elastik modülüse sahiptir. Ayrıca manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve bilgisayarlı tomografi (BT) etkileşimi açısından daha uyumludur (Prein ve Berton 1998).

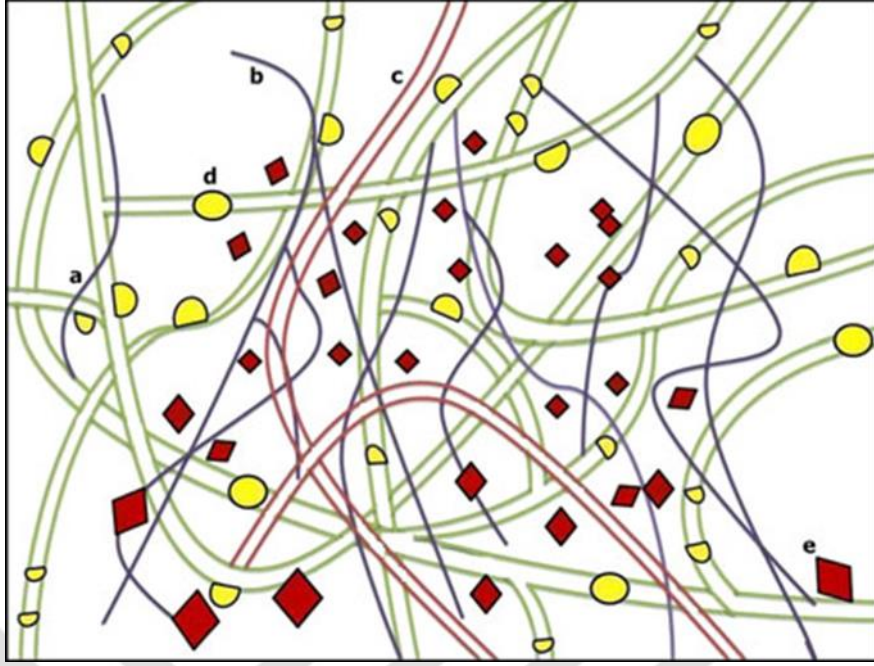


Şekil 2-7: Çalışmada kullanılan titanyum mikro plak ve vida sistemi

Titanyum plak-vida osteosentezinde amaç, kırık uçlarının fonksiyon sırasında hareketini engelleyecek veya minimuma indirecek rijitlikte bir fiksasyon sağlamaktır (Şekil 2-7). Bu amaçla daha geniş tek bir plağı bikortikal vidalar ile sabitlemenin yanı sıra geniş bir plak ve bir mini plak kombinasyonu ile de kırık hattında fragmanlar arasında rijidite sağlanmaktadır (Sauerbier ve ark. 2008).

2.2. PLATELET RICH FIBRIN (PRF, TROMBOSİTEN ZENGİN FİBRİN)

Platelet Rich Fibrin (PRF) ilk defa Fransa'da Choukroun tarafından, ikinci kuşak trombosit konsantrasyon ürünü olarak tanımlanmıştır. PRF doğal kan dokusundan elde edilen, yapısında bol miktarda trombosit ve lökosit içeren fibrin yapısıdır (Şekil 2-8). Platelet Rich Plasma (Trombositten zengin plazma) (PRP) tekniğinden farklı olarak antikoagülan ve trombin kullanılmaması tekniği daha basit, hızlı ve ekonomik hale getirmiştir (Dohan ve ark. 2009, Koçyiğit ve ark. 2012). PRF hazırlanması esnasında trombin kullanılmaması elde edilen fibrin dokusunun doğal fibrin çatısına sahip olmasını ve büyüme faktörlerinin proteolizinin önlenmesini sağlamaktadır (Ling ve ark. 2009, Koçyiğit ve ark. 2012).



Şekil 2-8: Fibrin pıhtının şematik gösterimi, a:glikanik zincirler ve sitokinler ile ilişkili fibrin lifleri, b:fibrin ile ilişkili olan glikanik zincirler, c:glikoproteinler, d:fibrin liflerine intrensek tutunmuş sitokinler, e:trombosit sitokinler (Kumar ve Shubhashini 2013)

Yapılan çalışmalarda PRP'nin içerdiği büyüme faktörlerini çok hızlı bir şekilde salgıladığı bunun sonucunda da trombinin çevre dokularda toksik etki gösterebileceği bildirilmiştir. PRP ve PRF'nin içerdiği büyüme faktörü miktarı benzer olmasına karşın PRF içerdiği büyüme faktörlerini çevreye daha yavaş salgılamaktadır. PRP 7 gün süre ile büyüme faktörü salgılamasına karşılık PRF 14 gün süre ile aktif bir şekilde büyüme faktörü salgıladığı bildirilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda PRF'nin etki süresinin PRP'ye oranla daha uzun sürmesinin PRF'nin kemik rejenerasyonunda daha etkili olduğunu göstermektedir (Ling ve ark. 2009).

PRF içerdiği büyüme faktörlerinin yanı sıra yapısında nötrofil ve lökosit de içermektedir. İçeriği sayesinde yara iyileşmesini hızlandırmakla birlikte immün sistemi de desteklediği bildirilmektedir (Choukroun ve ark. 2006b, Dohan ve ark. 2006c).

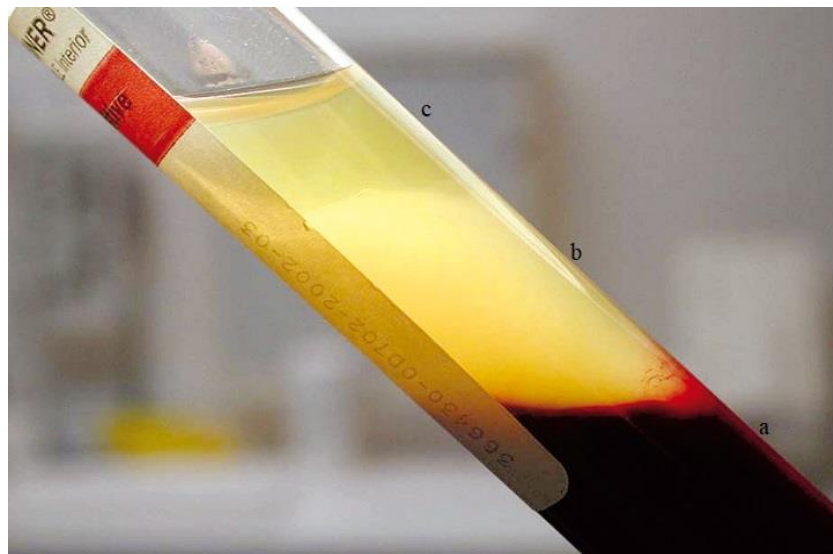
PRF'nin içerdiği yüksek miktardaki büyüme faktörleri sayesinde; oral ve maksillofasial cerrahide yapıştırıcı, greft materyali ya da membran olarak kullanımı önerilmektedir (Şençimen ve ark. 2009).

2.2.1. PRF'nin Hazırlanması

Choukroun'un PRF'si, alınan venöz kanın 10 mL' lik kuru cam tüplere veya cam kaplı plastik tüplere toplanarak 3000 rpm devirde 10 dakika boyunca santrifüj (Process Protocol, Nice, France) edilmesiyle elde edilir. Trombosit aktivasyonu ve fibrin polimerizasyonunu sağlamak için sığır trombini, heparin, kalsiyum klorid ve EDTA gibi antikoagülan kullanımına gerek yoktur. Antikoagülanların yokluğunda birkaç dakika içerisinde tüpe komşu trombositlerde, trombosit aktivasyonu ve fibrin polimerizasyonu uyarılır ve koagülasyon süreci başlar (Choukroun ve ark. 2006a).

Santrifüj sonunda tüp içerisinde 3 katman oluşmaktadır. Tüpün en üstteki kısmında trombositten fakir plazma, ortada PRF pıhtı, en alt tabakada ise kırmızı kan hücreleri birikmektedir. PRF, steril bir penset yardımıyla tüpün uç kısmına doğru çekilir ve kırmızı kan hücre tabakasından ayrıldıktan sonra steril bir metal kabın içerisine aktarılır (Dohan ve ark. 2006b).

Çıplak gözle bakıldığında, PRF'nin ana gövdesinin sarı bir fibrin pıhtı tabakasından oluştuğu görülür. Pıhtının uç kısmındaki kırmızı kan hücrelerinden oluşan kırmızı bölge ile sarı fibrin pıhtı arasında "buffy coat" olarak adlandırılan beyaz renkli bir tabaka bulunur. Bu bölge geniş ve yoğun kümeler halinde bulunan fibrin ve trombositlerden oluşur. Fibrin yapı histolojik olarak incelendiğinde ise dağılmış hücresel elemanların, fibrin ağın çok kalın paralel lifler halinde bulunması nedeniyle ayırt edilemediği belirtilmiştir (Şekil 2-9) (Dohan ve ark. 2006a).



Şekil 2-9: Santrifüj sonrası kırmızı kan hücreleri(a), trombositten zengin fibrin(b) ve trombositten fakir plazma(c)

Fibrin pıhtı ve kırmızı kan hücreleri tabakası birleşiminin ilk 2 mm'lik kısmında pıhtı boyunca trombosit ve lökosit dağılımı homojen dağılım gösterirken pıhtı içerisindeki trombosit ve lökosit dağılımı eşit değildir. Trombosit ve lökositler, fibrin pıhtı ve kırmızı kan hücre tabakası arasındaki tabakada yoğunlaşmaktadır. Bu nedenle PRF pıhtının uç kısmında bir miktar kırmızı kan hücre tabakası bırakılarak daha çok sayıda trombosit ve lökosit toplanabilir. Bu, PRF'nin kırmızı renkli kısmının da klinik uygulamalarda etkili olabileceğini göstermektedir (Dohan ve ark. 2011).

Bu tekniğin başarısı kanın toplanma ve santrifüje aktarılma hızına bağlıdır. Yavaş ve yetersiz kan alma işlemi, toplanan kan örneğinin hemen pıhtılaşmaya başlamasına ve zayıf mekanik özelliklere sahip, stabil olmayan PRF benzeri küçük bir kan pıhtısının oluşmasına sebep olacaktır. Bu yapının bilinmeyen seviyelerde büyüme faktörü ve hücre içeriğine sahip olabileceği de belirtilmiştir. Bu PRF benzeri yapıyı alttaki kırmızı kan hücre tabakasından ayırmanın kolay olmadığı ve üründe fazla miktarda kırmızı kan hücresi bulunduğu belirtilmiştir (Dohan ve ark. 2011).

2.2.2. PRF'nin Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanım Alanları

PRF içerdiği immün sistem elemanları ve salgıladığı büyüme faktörleri sayesinde oral ve maksillofasiyal cerrahide, doku iyileşmesini hızlandırmak amacıyla, diş çekimi sonrasında, kist enükleasyonu sonrasında, kemik defektlerinin greftlenmesinde greft materyali ya da membran olarak kullanılmaktadır (Choukroun ve ark. 2006a, Choukroun ve ark. 2006b).

PRF'nin Diş Çekimi Sonrasında Kullanımı

Diş çekiminden sonra soket içerisindeki PRF ile doldurulması, nörovaskülarizasyon ve epitelizasyonun hızlanmasını sağladığı düşünülmektedir. Yapılan klinik çalışmalarda PRF'nin soketin daha hızlı iyileşmesini sağladığı, PRF kullanılan olgularda iyileşme esnasında ağrı, şişlik, alveolit, iltihabi komplikasyonların daha az gözlemlendiği ya da hiç gözlenmediği bildirilmiştir (Choukroun ve ark. 2006b, He ve ark. 2017, Yerge ve ark. 2017).

PRF'nin Kist Enükleasyonu Sonrasında Kullanımı

Kist enükleasyonundan sonra kist kavitesinin içerisinde kan pıhtısı oluşmakta ve iyileşme başlamaktadır. Kan pıhtısı içerisinde büyüme faktörü miktarı PRF'ye oranla çok daha azdır. Kist enükleasyonundan sonra kist kavitesi boş bırakıldığında kist

kavitesi 6-12 ay içerisinde tamamen iyileşmektedir. Kist enükleasyonundan sonra kist kavitesi kan pıhtısına oranla daha iyi organize olan PRF, kök hücrelerin alana yönlendirilmesini sağladığını ve PRF ile doldurulursa kavitenin 6-12 ay yerine 2 ay gibi kısa bir sürede iyileştiğini bildiren sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Choukroun ve ark. 2006b, Vidhale ve ark. 2015).

PRF'nin Membran Olarak Kullanımı

PRF yapısı gereği membran olarak kullanılabilir. Fibrin matrikste hapsedilmiş sıvıların uzaklaştırılması ile yüksek dirençli otolog membranlar elde edilmektedir. Fibrin dokusunun membran olarak kullanılacağı durumlarda PRF genellikle ıslak iki gaz tampon arasında ya da PRF kutusu ile sıkıştırılarak genişletilir ve membran olarak kullanılmaya hazır hale getirilir. Rekonstrükte edilen bölgede greftin ekspoz olmasına rezorpsiyonu hızlandırmaktadır. Ayrıca greft materyalinin üzerinin fibrin dokusu ile örtülmesi, greftin ekspoz olmasını dolayısıyla rezorpsiyonu önleyeceği, yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Şençimen ve ark. 2009, Lingeshwaran ve ark. 2017, Arabacı ve ark. 2017).

PRF'nin Greft Materyali ile Kombine Olarak Kullanımı

PRP gibi PRF de greft materyalleri ile kombine olarak kemik defektinin tamirinde kullanılabilir. Yapılan bir çalışmada tavşan kalvaryası üzerinde oluşturulan defekt alanı PRF ile ipek böceklerinden elde edilen bir protein karıştırılarak kapatılmıştır. Diğer tarafta oluşturulan defekt ise boş bırakılmıştır. Çalışmanın sonucunda operasyondan 6 hafta sonra alınan bilgisayarlı tomografi (BT) ve histomorfometrik analizlerde iyileşme açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamış ancak 1 hafta sonra yapılan değerlendirmelerde PRF ile rekonstrükte edilen alanda kemik iyileşmesinin diğer tarafa oranla istatistiksel olarak anlamlı biçimde hızlandığı gözlemlenmiştir (Lee ve ark. 2010, Kapustecki ve ark. 2016).

2.2.3. PRF ve Büyüme Faktörleri

PRF içinde cerrahi sonrası enflamasyonu ve iyileşme mekanizmalarını kontrol edecek çok sayıda hemostatik regülatör bulunmaktadır.

İnterlökin 1 β (IL-1 β): IL-1, aktive olmuş makrofajlar, notrofiller, endotelial hücreler, fibroblastlar, keratinositler ve Langerhans hücreleri tarafından salınır. İnflamasyon kontrolündeki ana mediatördür (Eşrefoğlu 2004, Ackermann 1999). İki

farklı genden gelişen α ve β olmak üzere iki farklı türü vardır. IL-1 β daha yaygın formudur. IL-1 salınımını; TNF- α , interferonlar ve bakteriyel endotoksinler kontrol eder. IL-1'in temel görevi, T- hepler lenfositlerinin stimülasyonudur. TNF- α ve IL-1 beraber çalışırsa, osteoklast aktivasyonu sağlarlar ve kemik formasyonunu azaltırlar (Kwan Tat ve ark. 2004).

İnterlökin 6 (IL-6): IL-6; IL-1 β ve TNF- α ' ya bağlı enflamatuvar bir sitokindir (Tiggelman ve ark. 1995). Aktive olmuş monositler, fibroblastlar ve endotelial hücrelerden salınırlar. Ayrıca az da olsa makrofajlar, T ve B lenfositler, granülositler, mastositler, kondrositler ve osteoblastlar da IL-6 salınımı yaparlar. IL-1; bakteriyel endotoksinler ve TNF- α 'nın ve PDGF' ler ise IL-6 salınımını stimüle ederler. IL-6, kendi salınımını artırma veya azaltma yeteneğine de sahiptir (Kamimura ve ark. 2003).

B lenfositleri için farklılaşma faktörü iken, T lenfositleri için aktivatördürler. IL-2 varlığında matür ve immatür T lenfositlerini, sitotoksik T lenfositlerine çevirirler. (Heinrich ve ark. 2003, Nishimoto ve Kishimoto 2004).

Tümör nekroz faktör α (TNF- α): TNF- α , bakteriyel endotoksin agregasyonuna karşı enflamatuvar cevap olarak ilk salınan sitokinlerden biridir. Monositler/makrofajlar, nötrofiller, polimorfonükleer lökositler ve T lenfositleri tarafından salınırlar. Salınımı IL-6 ve TGF- β tarafından kontrol edilir (Aggarwal ve ark. 2002).

İnterlökin 4 (IL-4): Aktive olmuş T hücreleri tarafından salınırlar. Aktive olmuş B hücrelerinin proliferasyonunu ve diferansiasyonunu desteklerler. Etkileri çevredeki diğer sitokinlere bağlıdır (Keegan ve Zamorano 1998, Kay ve Pittner 2003).

İnflamasyon sırasında temel görevi enflamasyonu modere ederek iyileşmeyi desteklemektir. Örneğin fibroblastlardan fibriler kollojen sentezini artırırken, IL-1 β 'dan da, MMP-1 ve MMP-3 sentezini azaltır. IL-1 β kaynaklı tüm sinyalleri nötralize eder (Hayashi ve ark. 2000).

Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF): Vasküler büyüme düzenleyicileri arasındaki en güçlü moleküldür. Endotelial hücrelerin proliferasyonu, migrasyonu, spesifikasyonu ve yaşam döngüsü üzerinde etkin bir rolü vardır (Harry ve Paleolog 2003, Ruhrberg 2003). İnflamatuvar sitokinler (IL-1 β , IL-6 ve TNF- α) ve iyileştirici sitokinler (IL-4 ve VEGF) PRF pıhtısı içinde yüksek miktarda

bulunmaktadır. Bu sitokinlerin miktarındaki artış, lökosit sayısındaki artışa bağlıdır. PRF elde ederken gerçekleşen yavaş aktivasyon işlemi ile lökosit degranülasyonu artmaktadır (Dohan ve ark. 2006c). Bu sebeple PRF'nin immün sistemi stimüle eden ve enflamasyonu kontrol eden bir etkisi bulunmaktadır.

2.2.4. PRF'nin Kemik İyileşmesi Üzerine Etkileri

Kemik iyileşmesi, fibrin ağı oluştuktan sonra, degranüle olan trombositlerden PDGF ve TGF- β salınması ile başlar. PDGF kemik iliği kök hücrelerinde mitogenezi ve endosteal osteoblastların sayılarını arttırarak greft alanında toplanmalarını başlatır. Endotelial hücre mitozunu uyararak, greft alanına öncü vasküler hücrelerin anjiogenezi de başlatır. TGF- β ise; fibroblast ve preosteoblastları mitoz için aktive ederek sayıca artışlarını, farklılaşarak olgun osteoblastlara dönüşümlerini sağlar. TGF- β salınımının devam etmesi vasküler gelişimi desteklemek üzere, osteoblastları etkileyerek kemik matriksi oluşumunu, fibroblastları etkileyerek kolajen matriks oluşumunu arttırır. Bu aktiviteler yaranın kapatılmasının hemen ardından gerçekleşir. Üçüncü günde damarlar greft içine penetre olmaya başlar ve 14-17 günde kemik iyileşme alanında damar ağı tamamen oluşur. Çok sayıda hücre iyileşirken ve rejenerasyon olurken gereken enerjiyi en aza indirmek için sürecin ilk aşamaları oldukça hızlı ilerler (Yu ve ark. 1997, Marx ve ark. 1998).

Büyüme faktörlerinden olan PRF bu hücrelerin sayıca artmasını ve aktivite kazanmalarını sağlar. Trombositlerin ömrü 5 günden azdır ve bu süre içerisinde büyüme faktörlerinin işlev sürecini direkt etkilemektedir. İyileşme ve kemik rejenerasyon aktivitesi iki mekanizma ile devam eder. Birincisi kemik iliği kök hücrelerinin aktivasyonu ile osteoblastlardan TGF- β salınımıdır. İkinci ve daha sık görülen mekanizma ise; makrofajların kemotaksis ile alana gelip trombositlerle yer değiştirmesi ve üçüncü günden sonra büyüme faktörlerinin ana kaynağı olmasıdır. Makrofajlar PDGF'nin etkisi ile grefte tutunurlar, greft ile sağlıklı komşu doku arasında oksijen değişimi olur. PDGF'nin etkisi azalarak yerini makrofaj kaynaklı büyüme faktörlerine ve anjiogenik faktörlere bırakır. Bu büyüme faktörleri PDGF ile aynı etkiye sahiptir, aradaki tek fark trombositlerden değil, makrofajlardan salınmalarıdır. Kemik iliği kök hücreleri, otokrin bir etki ile kendi kendilerini uyararak, TGF- β salgılamaya devam eder (Pierce ve ark. 1992, Okuda ve ark. 2003).

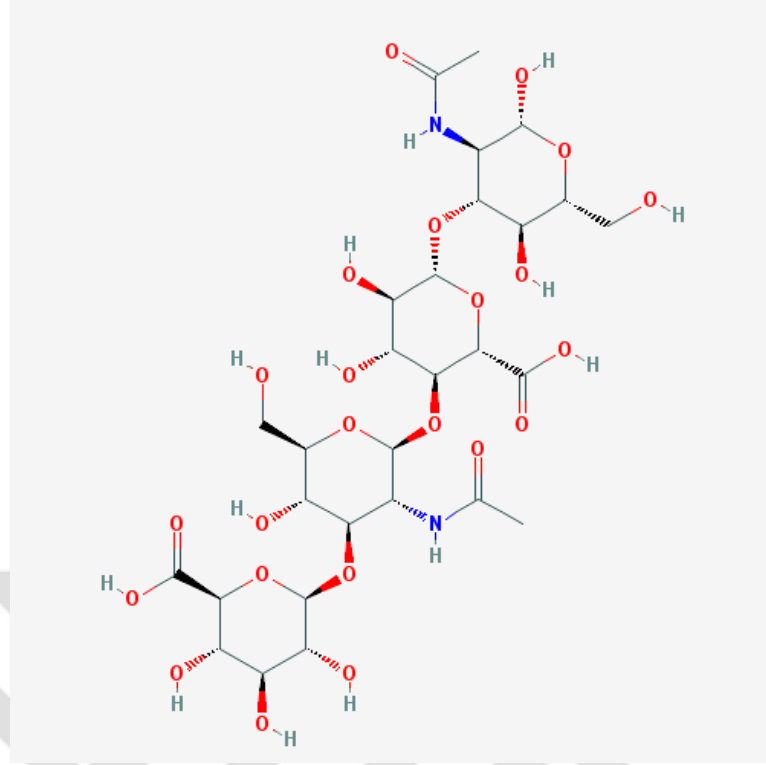
Dördüncü haftada revaskülarize olan greft, makrofaj aktivitesi için gerekli olan oksijen değişimine son verir. Makrofajlar alandan ayrılırken, olgunlaşmamış osteoid doku oluşmuştur. Kemik greftinin havers sistemini içeren olgun lameller kemiğe dönüşmesinde ise kemik morfogenetik protein (BMP) olarak adlandırılan ve osteoid dokudan salınan proteinler rol oynamaktadır. Yeni oluşan kemik ağından salınan BMP'ler komşu kemik hücrelerinin sayıca artarak osteoblasta farklılaşmasını ve aktif olarak kemik ağı sentezini ve mineralizasyonunu sağlar (Öztürk ve Bozkurt 2005, Lynch ve ark. 1999).

PRF membran, periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde, açık yaraların oral ortamdan korunmasında, mukoza kenarlarının dikiş ile birbirine yaklaştırılmadığı durumlarda ve sert ve yumuşak doku iyileşmesini hızlandırması için uygun klinik sonuçlar ortaya koymuştur. Bazı klinik çalışmalarda, maksiller sinüs ogmentasyonlarında PRF membranının kullanıldığını ve umut verici sonuçlar elde edildiğini bildirmiştir. PRF membran, yara iyileşmesine yardımcı olur, cerrahi alanı korur, yumuşak doku onarımını stimüle eder, kemik grefti ile karıştırıldığında, alana kök hücre göçünü sağlar ve osteoprogenitör hücrelerin greft materyalinin merkezine göç etmesini sağlayarak bir biyolojik bağlayıcı olarak işlev görebilir (Naik ve ark. 2013).

PRF, protein kinazın salınımını artırarak, osteoprotegerin (OPG) üretimini uyarır ve osteoprotegerin, osteoblastların çoğalmasını sağlar. PRF osteoprotegerini ayarlayarak diş pulpa hücrelerinin osteojenik farklılaşmasını ve alkalın fosfatöz salınımını artırır. PRF ayrıca platelet kaynaklı büyüme faktörü ve periodontal rejenerasyonu destekleyen dönüştürücü büyüme faktörü gibi büyüme faktörlerini de serbest bırakır. Tüm bu mekanizmalarla PRF kemik iyileşmesini hızlandırır (Agrawal ve Agrawal 2014).

2.3. HYALURONİK ASİT

Karl Meyer tarafından, N-asetil glukozamin ve glukuronik asitten oluşan polisakkaride "hyaluronik asit" ismi verilmiştir. Hyaluronan, glikozaminoglikan ailesinin bir prototipidir. Balazs ve arkadaşları, bu polisakkaride hyaluronan ismini önermişlerdir (Balazs 1986).



Şekil 2-10: Hyaluronik asidin kimyasal yapısı (PubChem)

Hyaluronan, N-asetil glukozamin ve glukuronik asidin meydana getirdiği disakkarit ünitelerinden oluşan bir polisakkariddir (Şekil 2-10). Organizmada her yerde dağılmış olmasına rağmen, en yüksek oranda bağ dokusunda bulunur (Laurent 1987).

HA'nın doku hidrasyonu, proteoglikan organizasyonu, embriyonik gelişme, hücre değişimi ve hücre hareketi gibi pek çok biyolojik olayda hayati rol oynadığı gösterilmiştir (Abatangelo ve O'Regan 1995).

HA, eklem yüzeylerinin kayganlığında (lubrikasyonunda) önem taşır (Swann ve ark. 1974).

Hyaluronan, hücre membranında sentez edilir. Biyosentez hızı, büyüme faktörleri, hormonlar, enflamatuar mediatörler gibi çeşitli faktörler tarafından düzenlenir (Laurent 1987).

HA bağlayan proteinler “hyaladherinler” olarak isimlendirilir. Bunlar 2 büyük gruba ayrılır. Ekstrasellüler matrikste HA ile etkileşime giren ve HA bağlayan proteinler ilk grubu, hücre plazma membranlarında bulunan HA reseptörleri diğer grubu oluşturur. HA reseptörleri birkaç sınıfa ayrılmıştır; çeşitli hücre fonksiyonlarına aracılık

eden, çok sayıda izoforma sahip olan CD 44 ailesi, HA aracılığı ile motiliteye etki eden RHAMM (receptor for hyaluronan-mediated motility) reseptörleri, dolaşımdan HA'ın temizlenmesinde fonksiyonu olan karaciğer endotel reseptörleri (HA receptor on liver endothelial cells, HARLEC) HA'ın polimer uzunluğu arttıkça, reseptörlerine bağlanması da artar (Abatangelo ve O'Regan 1995).

2.3.1. Hyaluronik Asidin Yapısı

HA, ismini eski Yunancada cam anlamına gelen Hyalos kelimesinden almaktadır. Hyaluronik asit, moleküler yapısı 3-30 mikrometre uzunluğunda tekrarlayan N-asetilglukozamin disakkarid birimlerinden ve 1-4 halka pozisyonlarıyla glikozidik olarak birbirine bağlanmış glukoronik asitten oluşmuş bir polisakkariddir (Deniz 2005). 12500 disakkarid ünitesinin kombinasyonu, yaklaşık 5.000.000 molekül ağırlıklı hyaluronan molekülünü oluşturur (Balazs ve Denlinger 1993). Ortalama molekül ağırlığı 10×10^6 daltonudur. Deri, vitröz sıvı, kıkırdak ve göbek kordonu gibi bağ dokularında yüksek konsantrasyonlarda bulunur, ancak en büyük rezervuar 0,5-4 mg/mL konsantrasyonlarına eriştiği diartrodial eklem sinovyal sıvılarıdır (Weiss ve Band 1999). Kıkırdak yüzeyinde 1-2 mm kalınlığındaki bir tabakanın hyaluronik asit içerdiği bilinmektedir (Çağalgil ve ark. 2002). Hyaluronik asit sentezi hücre membranında yapılır ve ekstrasellüler dokuya salınır. Yarılanma ömrü 12 saattir. Eklem kıkırdağında ve sinovyal sıvıda hyaluronidaz aktivitesi olmadığı için atılımı lenfatik yoldan emilme ile sağlanır.

2.3.2. Bulunduğu Doku ve Organlar

HA, diğer glikozaminoglikanlar ile beraber ekstrasellüler matriksin temel zemin maddesini oluşturur (Junqueira ve Carneiro 2006). Ayrıca perisellüler ve intrasellüler alanlarda da mevcuttur (Aslan ve ark. 2006, Prince 2004).

Ekstrasellüler matrikste, ortamda bulunan glikoproteinlere; hücre yüzeyinde ise reseptörlere bağlı halde bulunur. Ortalama 70 kiloda olan bir yetişkinin vücudunda yaklaşık 15 gram HA mevcuttur. Tüm dokularda mevcut olan HA, vitröz humor, umblikal kordon, dermis, sinoviyal sıvı ve kalp kapaklarında yüksek miktarda bulunmaktadır. Akciğer, böbrek, beyin, karaciğer ve kas dokularında da belli miktarda bulunur. Kan ve lenf dolaşımında ise serbest halde ve en düşük oranda görülür (Stern 2004).

2.3.3. Hyaluronik Asit Sentezi

HA'nın sentezlenmesinde rol alan en önemli hücreler mezenkimal hücrelerdir. Fibroblastlar, kondrositler, sinoviyal hücreler ve karaciğer hücreleri başta olmak üzere vücutta hemen hemen bütün hücreler tarafından sentezlenir (Çakır ve ark. 2011). Hücre membranının iç kısmında yer alan bir tür özelleşmiş membran proteini olan enzimler tarafından üretilir. Bu enzimler hyaluronan sentaz (HAS) olarak adlandırılır. Sentezlenen HA, hücre zarındaki por benzeri yapılardan ESM'ye salınır (Necas ve ark. 2008, Laurent ve ark. 1992). HAS enzimleri HAS1, HAS2 ve HAS3 olmak üzere 3 adet enzim grubundan oluşmaktadır. HAS1 böbrek ve eklemlerde, HAS3 keratinosit hücrelerinde daha fazla bulunur. HAS2'nin ise vücutta hemen hemen her hücrede olduğu düşünülmektedir. HAS2 enzimi uzun HA zinciri (>1000 kDa) sentezleyebilirken HAS1 ve HAS3 enzimleri daha kısa zincirli (100-1000 kDa aralığında) HA sentezler (Noble ve ark. 2011, Dicker ve ark. 2014).

2.3.4. Biyomedikal Formları ve Tıbbi Kullanımları

HA, 1970-1980'li yıllarda göz cerrahisinde uygulanmak üzere 'Healon' adıyla piyasaya sürülmüştür. O tarihten günümüze ortopedi, dermatoloji, kardiovasküler cerrahi ve kanser teşhisi gibi tıbbın değişik alanlarında yararlanan bir biyomedikal ürün haline gelmiştir. Elde edildiği kaynaklar arasında horoz ibiği, umbilikal kordon, vitröz humor, deri ve tendon gelmektedir. A grubu streptokokların ekstraselüler kapsülünde de bulunan bu molekülün 1993 yılında streptokokların fermantasyonu ile elde edilmesi takibinde günümüzde HA üretimi temel olarak bakteriyel fermentasyon veya izolasyon yoluyla olmaktadır (Necas ve ark. 2008, Kutlubay ve ark. 2011).

HA, göz operasyonlarından sonra damla formunda oldukça sık kullanılır. Katarakt operasyonlarından sonra uygulanan HA içeren göz damlaları doku tamirini hızlandırır ve yer tutucu özelliği ile de ön odanın formunu korumasına yardımcı olur (Vigetti ve ark. 2014). Antiadeziv özelliği ile bakteri adezyonunu engelleyerek enfeksiyon riskini azaltır (Necas ve ark. 2008, Laurent ve ark. 1992).

HA, hacminin 1000 katı kadar su bağlama kapasitesi ile dermisin hacmini ve esnekliğini artırır (Necas ve ark. 2008, Kulubay ve ark. 2011). Bu nedenle cilt bakımı ürünlerinde sıkça kullanılır. Lokal olarak kullanılan formunun, epitel doku içine penetre olarak hem keratinosit proliferasyonunu hızlandırdığı hem de retinoik asit miktarını artırarak cildi nemlendirdiği gözlenmiştir. Bunun yanı sıra kozmetik amaçlı dolgu

maddesi olarak enjeksiyonu 2003 yılında FDA onayı almıştır. Kozmetik amaçlı olarak, suda çözünmeyen yapısı ile şeklini koruyan ve visköz özelliği ile cilt altına kolay uygulanabilen çapraz bağlı formları kullanılmaktadır (Ariyoshi ve ark. 2014).

Temporomandibuler eklem ve diğer eklemlerde oluşan osteoartroz olgularında eklem içinde görülen en erken değişikliklerden biri HA yapısını oluşturan proteoglikanların kondrositler tarafından salgılanmasının azalması ve MMP-3 enziminin artışı ile eklem yüzeylerindeki yıkımın artmasıdır (Huang ve ark. 2003). Osteoartroz görülen eklemlerde HA yoğunluğu ve molekül ağırlığında da azalma görülmüştür (Necas ve ark. 2008, Huang ve ark. 2003). HA miktarının azalmasıyla kıkırdak matriks dejenerasyonunun başladığı bildirilmiştir. Eklem aralığına HA enjeksiyonunun eklem yüzeyinde oluşan yıkımı durdurduğu, prostoglandin ve sitokin gibi mediatörleri bağlayarak antienflamatuar etki gösterdiği, büyüme proteinleri ve kondrositler ile bağlanarak dejenere olmuş kemikte rejenerasyonu başlattığı bildirilmiştir (Akgün ve Ögüt 2002). Enjekte edilen HA'nın ortamda uzun süre kalarak kondrositleri ve sinoviyositleri uyarıp HA salınımını tetiklediği görülmüştür (Yung ve Chan 2011). Günümüzde osteoartroz tedavisinde Orthovisc (Sodyum Hyaluronat), Synvisc (Hyalan G-F 20) ve Adant (Sodyum Hyaluronat) olmak üzere 3 preparat kullanılmaktadır. Orthovisc ve Synvisc horoz ibiğinden, Adant ise bakteri fermantasyonu ile elde edilir (Huang ve ark.2003). Ticari olarak temin edilen HA, yapısında bir takım değişiklikler oluşturularak kullanılmaya hazır hale getirilir. Yapısında geliştirilen çapraz bağlar ile düşük molekül ağırlıklı veya yüksek molekül ağırlıklı olarak üretilmesi, kısa veya uzun dönemde rezorbe olması, jel veya lifsi yapıda üretilerek manipülasyonunun kolaylaşması sağlanmaktadır.

2.3.5. Kemik Metabolizması Üzerine Etkisi

Kırık oluşumundan sonra 3-5 gün içerisinde oluşan granülasyon dokusu içinde yüksek molekül ağırlıklı HA bol miktarda ve dağınık bir şekilde bulunur. Kırık iyileşmesi, granülasyon dokusunu takiben yumuşak kallus ve sert kallus oluşumu ile devam eder. Bu nedenle granülasyon dokusunun organizasyonu büyük önem taşır. yüksek molekül ağırlıklı HA'nın, granülasyon dokusunun organize olmasında etkili bir faktör olduğu düşünülmektedir. Osteoprogenitör hücrelerin bulunduğu alanlarda yüksek molekül ağırlıklı HA yoğunluğunun olması, bu hücrelerin diferansiyasyonunda ve proliferasyonunda HA'nın rolü olduğunu düşündürmektedir. Osteoprogenitör hücrelerin

diferansiye olup fonksiyon görmelerinin ardından yüksek molekül ağırlıklı HA'nın fragmanlarına ayrılıp hücre içine alındığı düşünülmektedir. Kemik iyileşmesinin ilerleyen safhalarında osteositlerin sitoplazmalarında HA fragmanlarına rastlanmıştır. Fragmanlarına ayrılarak ortamda düşük molekül ağırlıklı olarak bulunan HA, anjiyogenik etkisi ile vaskülerizasyonda rol alır. Düşük molekül ağırlıklı HA ayrıca bölgeye enflamatuvar hücrelerin göç etmesini sağlayan faktörlerin başında gelmektedir. Kırık iyileşme evrelerini birbirinden ayırmak mümkün değildir. Bu nedenle iyileşmenin görüldüğü farklı alanlarda aynı zaman dilimi içerisinde HA'nın ve fragmanlarının rol aldığı görülmüştür. Kemik iyileşmesi sırasında HA'nın nasıl dağılım gösterdiğini araştıran bir başka çalışmada ise fare tibiasında endokondral iyileşme sırasında HA'nın hipertrofik bölgedeki lakünelarda bol miktarda görüldüğü ancak proliferasyon ve maturasyon bölgesinde bu kadar yoğun görülmediği saptanmıştır. Bu durumun nedeni olarak kondrositlerin HA sentezleyerek hidrostatik basınç oluşmasına ve lakünaların çevresinin genişlemesi gösterilebilir. Bu sayede kartilaj matriksinin oluşumunda önemli rolü olan kolajenaz ve proteaz gibi enzimlerin sentezi için uygun alan da elde edilmiş olur. HA'ya rezorbsiyon bölgesinde yer alan lakünelarda rastlanmamakla beraber bu bölgedeki osteoprogenitör hücrelerin sitoplazmalarında rastlanmıştır. HA'nın CD44 reseptörü aracılığı ile rezorbsiyon bölgesinde yer alan hücrelerce parçalandığı ve hücre içine alındığı düşünülmektedir. Rezorbsiyon bölgesinde osteoklast artışının, düşük molekül ağırlıklı HA'nın makrofaj hücrelerinin osteoklast hücrelerine dönüşümünü tetiklemesi sonucu olduğu düşünülmektedir (Ariyoshi ve ark. 2014).

HA'nın kemik metabolizması üzerine olan etkisi birçok hücre ve protein ile etkileşimi sonucu olmaktadır (Necas ve ark. 2008). Vücutta diğer dokularda olduğu gibi kemik dokusunda da bulunan HA; kondrosit, fibroblast, osteosit, osteoklast, osteoblast gibi hücreler ve osteopontin, kemik sialoproteini gibi proteinler ile etkileşime girerek fonksiyon görür ve etkisinin büyük bir kısmını CD44 reseptörü aracılığı ile gerçekleştirir. Bu reseptör; monosit, fibroblast, osteoblast, osteoklast ve osteosit gibi kemik yapımında aktif rol alan hücrelerin yüzeylerinde bulunabildiği gibi büyüme faktörleri, kolajen tip I, kolajen tip V, fibronektin, kalsitonin gibi proteinlerle de etkileşime geçebilmektedir. CD44 ve HA etkileşimi; reseptörü olduğu hücre tipine, HA'nın yoğunluğuna ve molekül ağırlığına bağlı farklılık gösterir (Pavasant ve ark. 1994, Luo ve ark. 2014).

HA'nın molekül ağırlığına bağlı olarak osteoklastik aktiviteyi hem artırıcı hem azaltıcı yönde etkisi olduğu düşünülmektedir (Ariyoshi ve ark. 2005). Yüksek molekül ağırlıklı HA'nın, M-CSF (macrophage colony-stimulating factor, makrofaj koloni uyarıcı faktör) yolağını osteoklastlar üzerinde bulunan reseptörlere bağlanarak engellediği belirtilmiştir. MCS-F yolağının engellenmesi ile RANKL (Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand) yolağının aktifleşmesini sağlayan enzimlerin salınımı bloke olur. Bu sayede yüksek molekül ağırlıklı HA'nın, osteoklastik matürasyonu engelleyerek kemik rezorpsiyonunu önlediği rapor edilmiştir (Chang ve ark. 2006).

2.3.6. Hyaluronik Asitin Diş Hekimliğinde Kullanımı

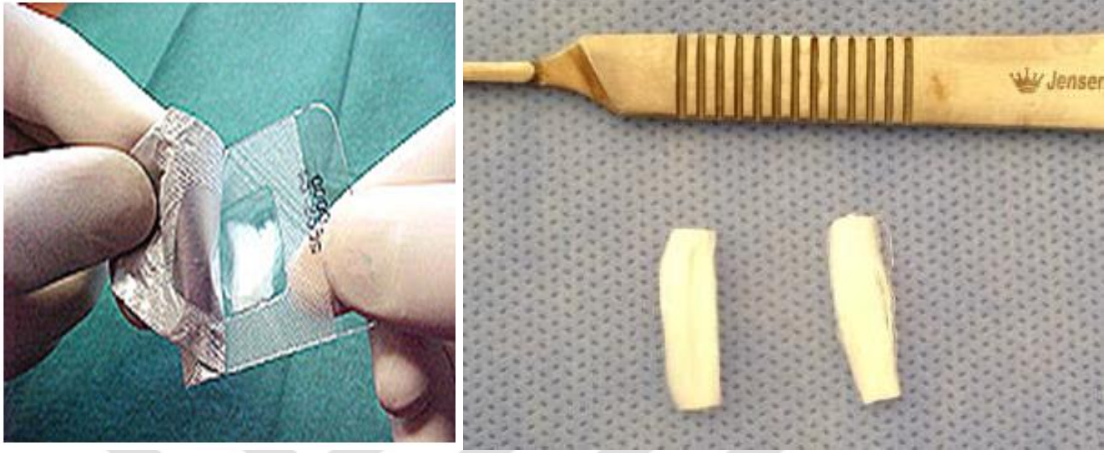
HA'nın biyokimyasal ve biyofiziksel özellikleri, HA'yı oftalmoloji, osteoloji ve dermatoloji gibi çeşitli tıbbi alanlarda yararlı bir klinik ajan haline getirmiştir. HA'nın klinik uygulamaları diş hekimliğinde de üzerinde çalışmalar yapılan bir konu haline gelmektedir.

HA esaslı ürünlerin gingivitis tedavisinde etkili sonuçları olduğu rapor edilmiştir. Jentsch ve ark.'nı yaptıkları klinik çalışma randomize çift kör olarak yapılmış, genel olarak HA jelin plak kaynaklı gingivitisin tedavisinde yararlı etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Bu yararlı etkilerin HA'nın antienflamatuar ve antiödematöz etkisiyle ilişkili olduğu düşünülmüştür. Periodontal tedavi sırasında HA jel uygulamalarının tek başına küretaj tedavisine göre farklı tedavi gruplarında klinik parametrelerin ve enflamatuvar belirteçlerin önemli ölçüde azalmasına katkı sağladığı gösterilmiştir (Jentsch ve ark. 2003).

HA'nın farklı moleküler ağırlık ve konsantrasyonlarının hücre çoğalması ve osteojenik farklılaşma üzerinde farklı etkiler gösterdiği belirtilmiştir. HA'nın vücut dokularında çok miktarda bulunabilmesi ve HA'nın kendine has biyolojik uyumluluğu, doku mühendisliği, tedavi alanlarında kullanımını çekici hale getirmiştir. Pek çok çalışma yapılmış olsa da, hücre çoğalması ve osteojenik farklılaşma üzerine yoğunlaşmayı sağlamak için yapılacak uzun takipli ve daha iyi tasarlanmış klinik çalışmalar, HA'nın diş hekimliğinde klinik etkinliğine dair daha detaylı bilgiler sağlayacaktır (Zhao ve ark. 2016).

2.3.7. Çalışmada Kullanılan Hyaloss® Matrix

Hyaloss™ matrix; özellikle kemik greftlemesine ilişkin işleme sorunlarına yönelik tasarlanmış, serbest liflerden oluşan, jelleşerek biyolojik olarak çözünen bir tamamlayıcıdır (Şekil 2-11).



Şekil 2-11: Çalışmamızda kullanılan Hyaloss® matrix

Hyaloss® matrix tamamıyla, doğal olarak var olan bir ekstrasellüler matriks molekülü hyaluronik asidin türevidir olan HYAFF'tan oluşur. Hem otolog hem de allojenik kemik greftlerinin, kemik boşluğu ve kemik yapısının eksik olduğu yerlerde uygulanmasının, periodontolojideki kemik defekti ve kemik restorasyonu tedavilerinde altın standart olarak kabul görmesi, dental kemik rekonstrüksiyonunda etkili olduklarını ortaya koymaktadır.

Hyaloss® matrix'in kan veya steril serum fizyolojik ile teması ile hızlı jelleşme özelliği sayesinde, kemik grefti uygulaması daha iyi hale getirilebilir. Küçük patiküllü kemik greftleri ile karıştırılmasıyla macun haline gelmesi işleme ve uygulamayı kolaylaştırır. Amalgam elde etmek için jelleşen liflerin kullanımı, cerrahın uygun kıvamda bir kemik macunu hazırlamasını sağlar, uygulama alanında işleme ve tutunumu geliştirir. Hyaloss® matrix birkaç gün içinde biyoemilir ve doğal kemik rekonstrüksiyonu sürecini etkilemez.

Hyaloss® matrix'i oluşturan HYAFF liflerinin ana karakteri şu şekildedir:

- Tam biyouyumluluk: Kullanılan polimer, ekstrasellüler matriksin temel bileşenlerinden biri olan hyaluronik asidin esteridir. Spontan degradasyon sonrası

polimer, transplantasyon alanını hyaluronik asit ile zenginleştiren ana molekülü serbest bırakır.

- İşleme ve uygulama kolaylığı

Çalışmada hyaluronik asidin bir türevi olan, HYAFF'tan elde edilmiş Hyaloss® matrix formunu kullandık. Ürün İtalya'da üretilmiş olup, gama ışınlanması ile steril edilmiştir.



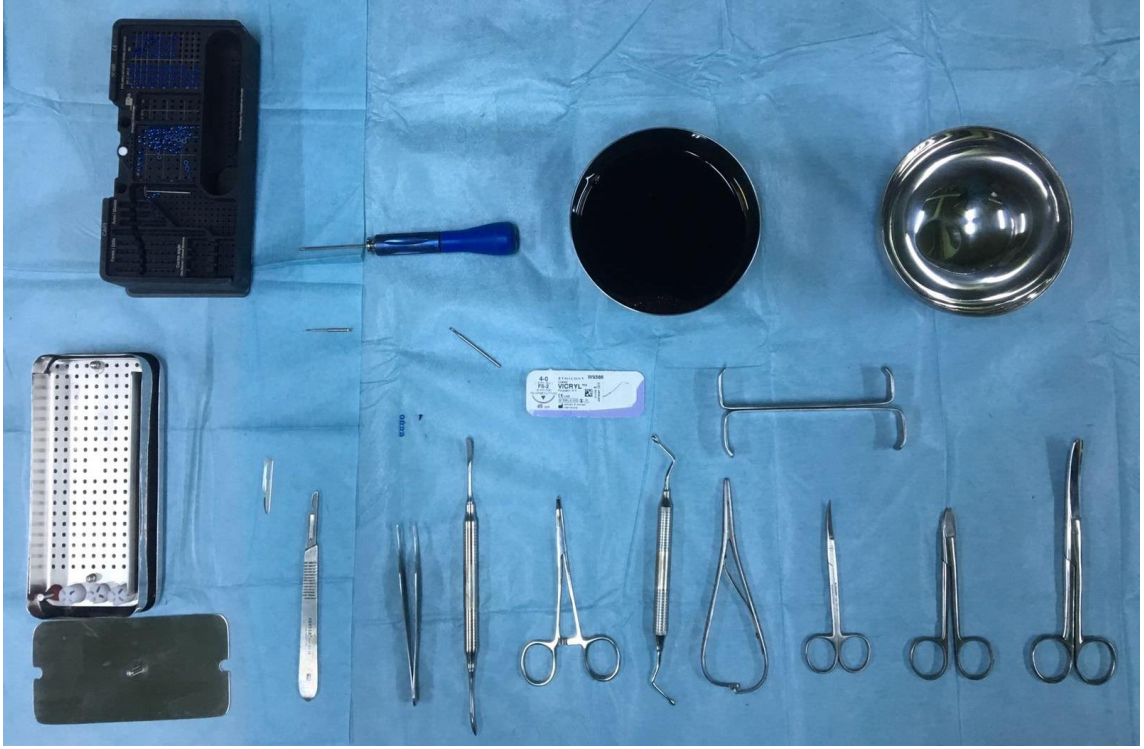
3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Çalışmada kullanılan gereçler şunlardır (Şekil 3-1):

- o 23 adet Sprague-Dawley cinsi 250-300 g ağırlığında yetişkin erkek sıçan
- o Rompun® flakon (Ksilazin Hidroklorür, Bayer Türk Kimya Sanayi Limited Şirketi, Türkiye)
- o Ketalar® flakon (Parke Davis, Karlsruhe, Almanya)
- o Sefazol® flakon i.m. 250 mg, 2 ml (Sefazolin Na, Mustafa Nevzat İlaç San. A.Ş. İstanbul, Türkiye)
- o Mikro plak (dört delikli, 0,6 mm kalınlık 2 mm genişlik ve 12 mm uzunluk) (Dna Medikal Akademi, İstanbul, Türkiye)
- o Mikro vida (1 mm çap ve 2 mm uzunluk) (Dna Medikal Akademi, İstanbul, Türkiye)
- o Tornavida (Dna Medikal Akademi, İstanbul, Türkiye)
- o Çelik fissür frez (kesici kısmı 1.2 mm çap ve 4 mm uzunlukta)
- o Taşınabilir motor ve piyasemen (Micro NX, Kore)
- o Ostralos PRF Santrifüj Cihazı (Ostralos Ltd, Auckland, Yeni Zelanda)
- o Hyaloss® matrix (Anika Therapeutics–İtalya)
- o Ameliyat seti
- o 3.0 ipek dikiş ipliği (Doğsan Tıbbi Malzeme San.A.Ş., Trabzon, Türkiye)
- o İnsülin enjektörü
- o 5 cc'lik enjektör
- o 10 cc'lik kan alma tüpleri
- o % 0.9 serum fizyolojik
- o Poviodeks batikon antiseptik solüsyon
- o Formaldehit (% 10'luk formol)

- o Formik asit
- o Hematoksilen-Eosin doku boyası
- o Olympus BX60 Işıık Mikroskobu



Şekil 3-1: Çalışmamızda kullanılan gereçler

3.2. Yöntem

3.2.1. Deney Hayvanları ve Grupları

Çalışmada deneklerin ameliyatları, İ.Ü. Prof. Dr. Aziz Sancar Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda, kemik dokularının histopatolojik incelemeleri İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Anabilimdalı'nda, kemik dokularının radyolojik incelemeleri İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Oral Diagnoz ve Radyoloji Anabilimdalı'nda yapıldı.

Proje kapsamındaki hayvan deneyleri için İ.Ü. Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü, Deney Hayvanları Etik Kurulu onayı alındı.

Çalışmada kullanılan 23 adet Sprague-Dawley cinsi 250-300 g ağırlığında yetişkin erkek sıçanlar deney süreleri boyunca $21\pm 10^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta, bağıl nem oranı $\%50\pm 10$, ışık periyodu 12 saat aydınlık 12 saat karanlık standardını sağlayacak şekilde ortamda, ameliyat sonrası her kafeste ikişer denek olacak şekilde muhafaza edildi. Deney hayvanları, İstanbul Yem Sanayii tarafından üretilen $\%21$ protein içeren standart sıçan yemi ve distile su ile beslendi.

Çalışma grupları; kontrol grubu, HA deney grubu ve PRF deney grubu olmak üzere 3 ana gruba ayrıldı. Tamamına bilateral olarak tibiada kırık modeli oluşturulan 3 ana grup da sakrifikasyon sürelerine göre 2 alt gruba ayrıldı.

3.2.1.1. Deney Grupları

Kontrol Grubu: 6 hayvandan (12 örnek) oluşan bu grupta kırık fragmanları arasına herhangi bir materyal uygulanmayacaktır.

K2 (14.gün (2 hafta) histolojik değerlendirme grubu): 3 hayvandan (6 örnek) oluşan bu grup post-op 2. haftada sakrifiye edilecektir.

K6 (42.gün (6 hafta) histolojik değerlendirme grubu): 3 hayvandan (6 örnek) oluşan bu grup post-op 6. haftada sakrifiye edilecektir.

Platalet Rich Fibrin(PRF) deney grubu: 8 hayvandan (16 örnek) oluşan bu gruba operasyon sırasında kırık fragmanları arasına, elde edilen PRF materyali uygulanacaktır.

PRF2 (14.gün (2 hafta) histolojik değerlendirme grubu): 4 hayvandan (8 örnek) oluşan bu grup post-op 2. haftada sakrifiye edilecektir.

PRF6 (42.gün (6 hafta) histolojik değerlendirme grubu): 4 hayvandan (8 örnek) oluşan bu grup post-op 6. haftada sakrifiye edilecektir.

Hyaluronik Asit(HA) deney grubu: 8 hayvandan (16 örnek) oluşan bu grupta kırık fragmanları arasına, Hyaluronik Asit (Hyaloss matriks, HYAFF-11™) uygulanacaktır.

HA2 (14.gün (2 hafta) histolojik değerlendirme grubu): 4 hayvandan (8 örnek) oluşan bu grup post-op 2. haftada sakrifiye edilecektir.

HA6 (42.gün (6 hafta) histolojik değerlendirme grubu): 4 hayvandan (8 örnek) oluşan bu grup post-op 6. haftada sakrifiye edilecektir.

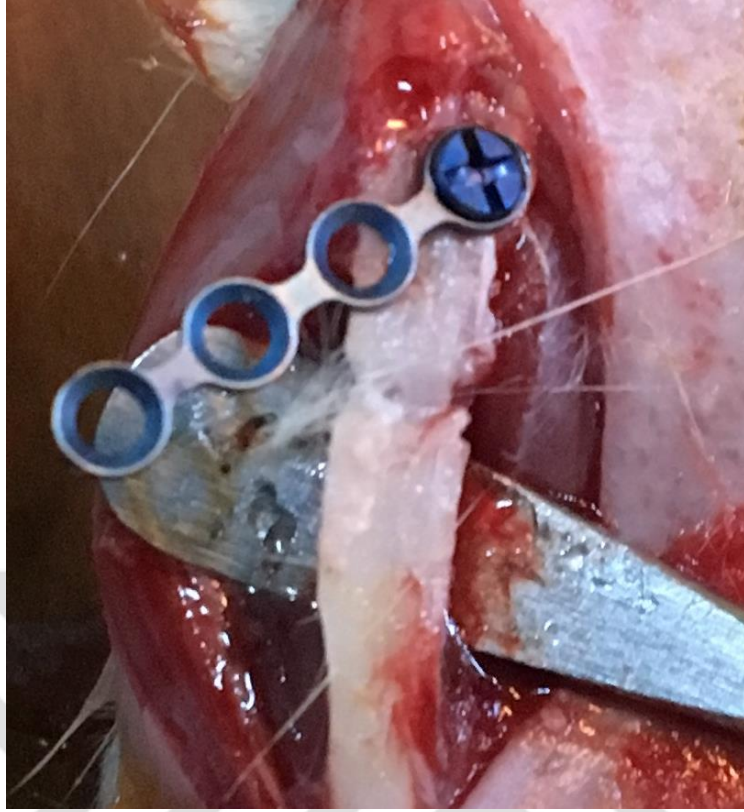
3.2.2. Cerrahi Prosedür

Deneklere 70 mg/kg ketamin ve 13 mg/kg ksilazin'in intraperitoneal uygulaması ile genel anestezi sağlandı. Ardından enfeksiyonu önlemek amacı ile 10 mg/kg sefazolin intramüsküler (i.m.) olarak uygulandı (Çakarer ve ark. 2010). Standart postürde tespit edilen deneklerin sağ ve sol bacaklarının medial yüzleri tıraşlanıp povidon iyot solüsyonu ile silindi (Şekil 3-2). Bacaklar fleksiyon pozisyonuna getirilerek tibianın medial yüzeyine ulaşmak amacıyla 20 - 25 mm. uzunluğunda longitudinal yönde cilt, cilt altı kesisi yapıldı (Şekil 3-2). Künt disseksiyon ile yumuşak dokular ekarte edilerek ve periost sıyrılarak tibianın medial yüzeyine ulaşıldı.



Şekil 3-2: Tibianın cerrahi operasyon için hazırlanması ve tibianın açığa çıkarılması

Kırık hattının tam pozisyonunun belirlenmesi için mini plak sisteminin bir vidası tibiaya yerleştirildi ve plağın tam ortasına gelecek şekilde kırık hattı işaretlendi (Şekil 3-3). Frez ile kemikteki mikro vida yuvaları hazırlandı (Şekil 3-4). 1.0 mm çapındaki ve 2.0 mm uzunluğundaki mikro vidalar yuvalara tamamen sıkmadan yerleştirildi (Şekil 3-5). Serum fizyolojik irrigasyonu altında tur motoru piyasamenine takılan çelik fissür frez (1,2mm çap) ile 1500 rpm'den düşük devirde kortikotomi yapıldı ve osteotomi, fissür frez ile serum fizyolojik irrigasyonu altında tamamlandı (Şekil 3-6). Segmentlerin birbirinden tamamen ayrıldığı görüldükten sonra mikrovidalar tamamen sıkılarak sabitlendi (Şekil 3-7). Kontrol grubunda kırık hattı boş bırakıldı, deney gruplarında kırık hattına biyomateryaller yerleştirildi. Ameliyat sahası flep repoze edilerek 3.0 ipek dikiş ile kapatıldı. Her bir denek ayrı metal kafeste uyanma odasına alındı.



Şekil 3-3: Mikro plak-vida sisteminin rehber olarak uygulanması ve kortikotomi hattının belirlenmesi



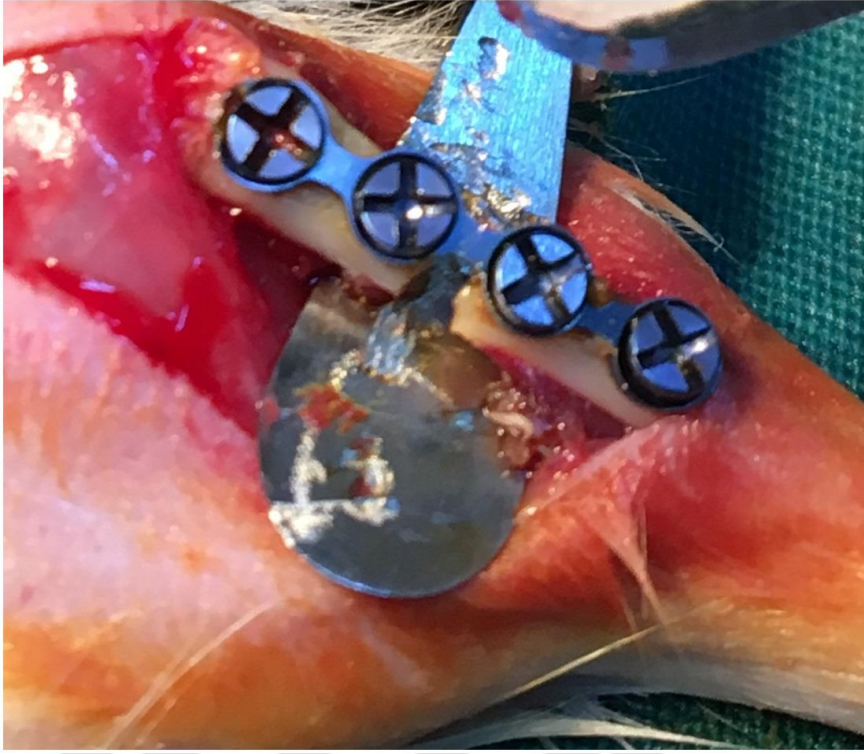
Şekil 3-4: Mikro vidalar için frez ile vida deliklerinin oluşturulması



Şekil 3-5: Mikrovidanın tornavida ile vida deliğine yerleştirilmesi



Şekil 3-6: Kırık hattının fissür frez ile serum irrigasyonu altında hazırlanması



Şekil 3-7: Oluşturulan kırık modeli

3.2.3. PRF Uygulaması

2. deney grubunda oluşturulan defekt sahasına uygulanması amacıyla, genel anestezi altına alınan 1 deney hayvanından intrakardiyak yöntemle eksanguinasyon yapılarak alınan kan (Şekil 3-9) 10 ml'lik tüplere toplanarak 10 dakika boyunca 3000 rpm' de santrifüj edilerek uygulanacak PRF materyalleri hazırlandı (Dohan ve ark. 2006b).

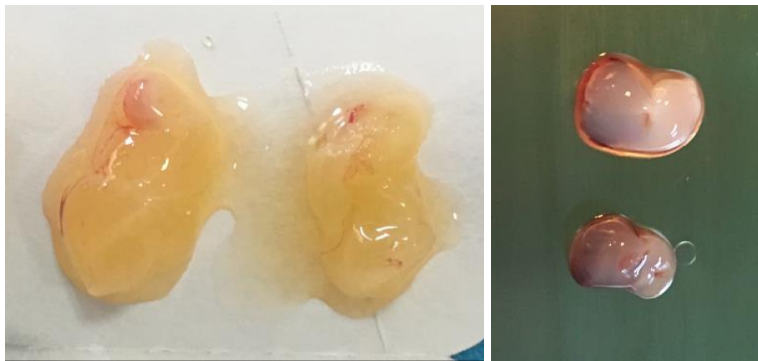


Şekil 3-8: PRF eldesinde kullanılan santrifüj cihazı



Şekil 3-9: Deney hayvanından intrakardiyak yöntemle kan alınması

Tüpün orta kısmında oluşan PRF steril bir penset yardımıyla tüp içerisinden çıkartılmış, steril bir makas yardımıyla kırmızı kan hücrelerinden kesilerek ayrılmıştır. Elde edilen PRF materyali PRF kutusu (Şekil 3-10 ve 11) yardımı ile defekt alanlarına uygulanabilir inceliğe gelmeleri sağlandı. Bir denek hayvanının intrakardiyak kanından elde edilen PRF materyali 8 farklı deneye uygulanacağından PRF kutusu üzerinde 8 eşit parçaya ayrıldı. Aynı anda PRF deney grubundaki deneklerin kemik kesileri yapıldı ve elde edilen PRF materyalleri kırık fragmanları arasına uygulandı (Şekil 3-12).



Şekil 3-10: Elde edilen PRF'nin PRF kutusu yardımı ile kırık alanına uygulanabilir forma dönüştürülmesi



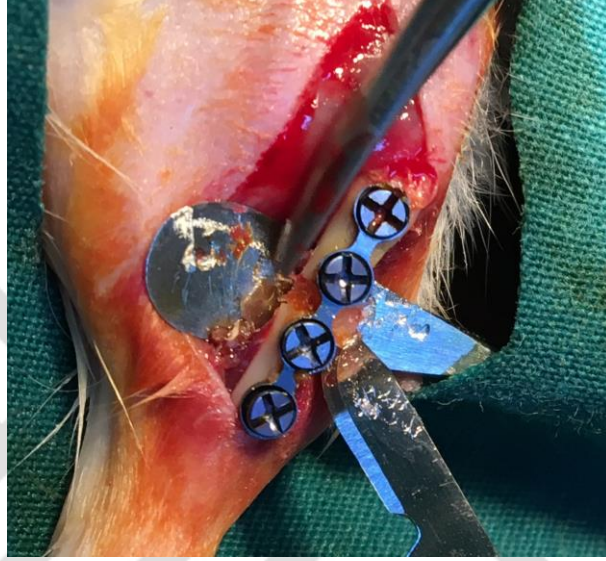
Şekil 3-11: PRF kutusu



Şekil 3-12: PRF materyalinin kırık bölgesine uygulanması

3.2.4. HA Uygulaması

HA materyali, HA deney grubundaki deneklerin defektlerine uygulanmadan önce kutusundan çıkartıldı. İplik formunda olan materyal steril serum fizyolojik ile jel haline getirildikten sonra 8 deneğin kırık fragmanları arasına konulmak üzere 8 eşit parçaya ayrıldı. Aynı anda HA deney grubundaki deneklerin defektleri hazırlandı ve hazırlanan HA materyalleri defektlere uygulandı (Şekil 3-13).



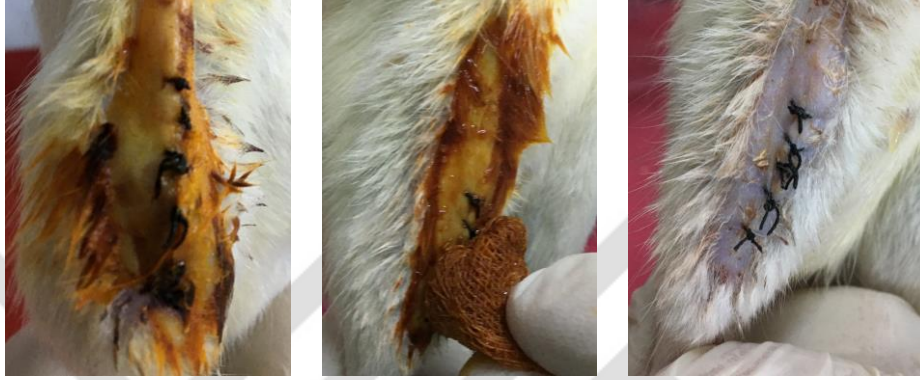
Şekil 3-13: HA materyalinin kırık bölgesine uygulanması



Şekil 3-14: Kontrol, PRF ve HA grubunda operasyon alanının kapatılması

3.2.5. Postoperatif Bakım

Ameliyattan sonraki beş gün, günde 1 kez olmak üzere 10 mg/kg sefazol i.m. olarak verilmeye devam edildi. Ameliyat sonrası beşinci güne kadar tüm deneklerin ameliyat sahalarına povidon iyodür pansuman uygulandı. Klinik olarak tüm deneklerin operasyon sonrası 1, 2, 7, 14, 28 ve 42. günlerde fotoğrafları kaydedildi (Şekil 3-15).



Şekil 3-15: Deneklere postoperatif pansuman yapılması

3.2.6. Radyolojik Değerlendirme

Deney hayvanları 14 ve 42. günlerde yüksek doz anestezi madde enjeksiyonu ile sakrifiye edildikten sonra, cilt insizyonunu takiben tibialarına ve tibia üzerindeki defekt bölgelerine ulaşıldı. Tibialar defekt bölgeyi tam olarak içerecek şekilde çıkartıldı (Şekil 3-16) ve %10'luk tamponlanmış formaldehitte 1 hafta süre ile fikse edildikten sonra tibialardaki fazla yumuşak dokular temizlendi. Bilgisayarlı tomografi görüntüleri elde edilirken görüntülerde parlama ve rekonstrüksiyonlarda hata olmaması için bütün tibialardaki mikro plak ve mikro vidalar defekt alanlarına zarar verilmeden çıkarıldı (Şekil 3-17).



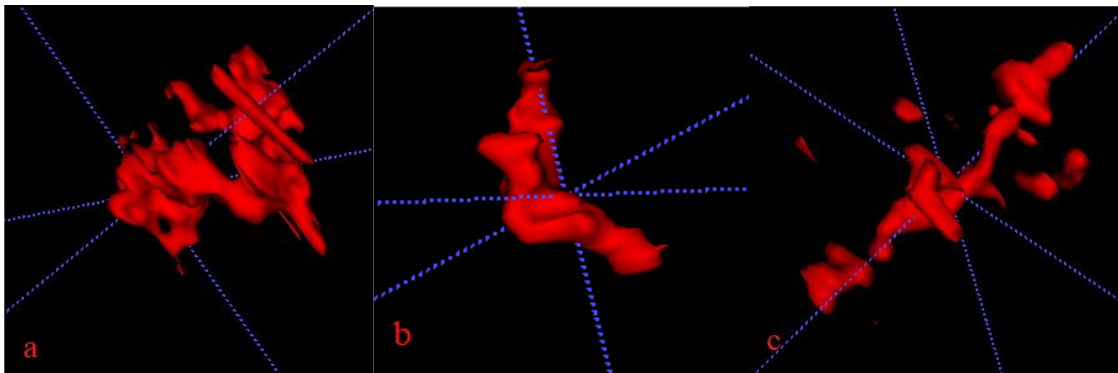
Şekil 3-16: Histolojik ve radyolojik değerlendirme için tibiaların çıkarılması

Tibiaların tamamının aynı pozisyonda bilgisayarlı tomografi cihazında görüntülenmesi sağlandı. Radyolojik değerlendirme sırasında Soredex OnDemand3D™ (by Cybermed Inc.) cihazı kullanıldı. Bütün tibiaların 50mm çap * 50mm boyutlarında görüntüleme alanı içerisinde bilgisayarlı tomografi görüntüleri elde edildi. Sonrasında yapılacak histolojik değerlendirme için tibialar tekrar formaldehit solüsyonu içerisine yerleştirildi.

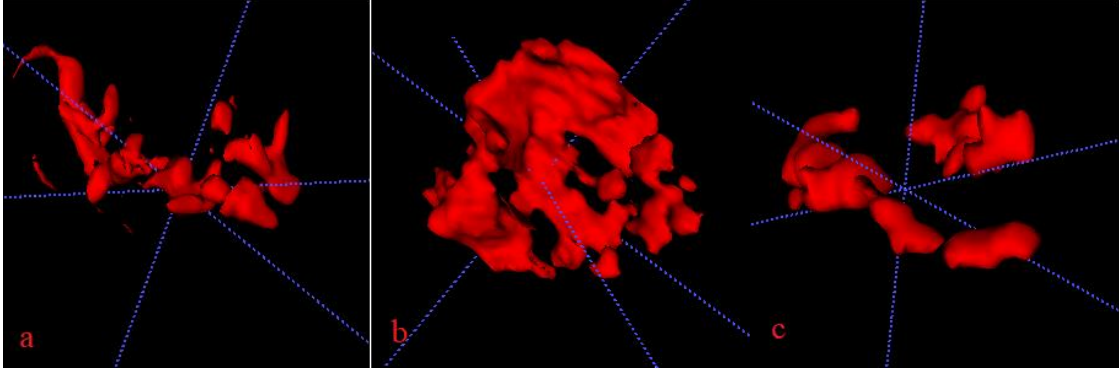


Şekil 3-17: Radyolojik ve histolojik değerlendirmeler için mikropalak ve vida sistemi tibialardan çıkarılması

Elde edilen konik ışınli bilgisayarlı tomografi (KİBT) görüntüleri İTK-Snap (Version 3.6.0, 2017, ABD) yazılımı kullanılarak üç aşamadan geçirildi: (1) segmentasyon, (2) hacimsel analiz ve (3) 3B yeniden yapılandırma. Bütün örneklerde kırık fragmanları arasındaki alanın tamamı ve radyolüsent görüntü veren alanlar boyanarak 3 boyutlu kontür segmentasyonları yapılarak hacimler oluşturuldu. Kırık alanının tamamından radyolüsent alan çıkarılarak radyopak alanlar elde edildi. Oluşturulan hacimler mm^3 cinsinden verilere dönüştürüldü ve istatistiksel analizlerde kullanılmak üzere kaydedildi. Ayrıca boyanan hacimlerden 3B görüntüler elde edildi (Şekil 3-18 ve 19).



Şekil 3-18: PRF2(a), HA2(b) ve K2(c) gruplarının İTK-Snap programında dekalsifiye hacimlerinin gösterimi



Şekil 3-19: PRF6(a), HA6(b) ve K6(c) gruplarının ITK-Snap programında dekalsifiye hacimlerinin gösterimi

3.2.7. Histolojik Preparatların Hazırlanması

Formaldehit solüsyonunda fikse edilen kemik dokuları %50 formik asit ve %20 sodyum sitrat çözeltilerinden hazırlanan solüsyonda dekalsifiye edildi. Bu çözeltiler üç günde bir yenilendi. Dekalsifikasyon işlemi biten tibialar rutin doku takibinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan hazırlanan 4µ incelikte kesitler lam üzerine yerleştirildikten sonra deparafinizasyon işlemine tabi tutuldu. Örnekler hematoksilin-eosin ile boyanarak Olympus BX60 ışık mikroskobunda farklı büyütme oranlarında incelendi.

3.2.8. Histolojik Değerlendirme

Bütün gruplardan 2 ve 6. haftalarda elde edilen kesitler ışık mikroskobu altında aşağıdaki değerlendirme kriterleri doğrultusunda histomorfometrik olarak değerlendirildi:

- Endokondral kemikleşme
- İntramembranöz kemikleşme
- Fibrozis

İncelememiz sırasında yeni kemik yapımı öncelikli kriter olarak alındı. Defektlerde yeni kemik alanı ölçülürken alanlar total defekt alanına bölünerek kemikleşme oranı elde edildi.

Çalışmamızda intramembranöz kemikleşme, endokondral kemikleşme ve fibrozis alanlarının yüzdesi histomorfometrik değerlendirme ile incelendi. Bu amaçla

Olympus AnalySIS FIVE (Soft Imaging System GmbH, Münster, Almanya) isimli görüntü analiz sistemi kullanıldı. Deney hayvanlarında kırık alanlarının standart olmayışından dolayı her denekte total defekt alanı ölçüldü ve diğer ölçülen alanlar total alana bölünerek oran elde edildi. Sonuçlar yüzde (%) ile ifade edildi.

İltihap, nekroz varlığı ve yabancı cisim reaksiyonu var ya da yok olarak değerlendirilmiştir.

3.2.9. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 21 (IBM SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) programı kullanıldı. Çalışmada elde edilen veriler nicel ve nitel değerlerden oluştuğundan, tanımlayıcı istatistik yöntemleri olarak ortalama, standart sapma, varyans ve ortanca değerlerinden yararlandı. Çalışma verileri değerlendirilirken değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi.

Shapiro-Wilk testi sonuçlarına göre 6. hafta radyolüsent ve radyopak hacim değişkenleri için gruplar arası karşılaştırmada Kruskal Wallis testi, normal dağılım gösteren diğer değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmasında Tek Yönlü Varyans Analizi (One-way ANOVA) testi kullanıldı. Farklılığa neden olan değişkenin tespitinde varyanslar homojen ise Tukey'in anlamlı fark testi, varyanslar homojen değil ise Tamhane'in T2 testi kullanıldı.

Normal dağılım göstermeyen değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Tamhane'in T2 düzeltilmeli Mann Whitney U testi kullanıldı. Normal dağılıma uyan değişkenlerin iki grup arası karşılaştırmalarında Bağımsız Örneklem t Testi, normal dağılıma uymayan değişkenlerin iki grup arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U testi kullanıldı. Normal dağılım gösteren bağımlı değişkenlerin değerlendirmesinde Eşleştirilmiş Örneklem t Testi kullanıldı. Nitel verilerin karşılaştırılmasında ise Fisher Freeman Halton test ve Fisher's Exact test kullanıldı (Freeman ve Halton 1951, Soper 2014).

Anlamlılık %95 güven aralığında $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Uygulanan çalışma modeli, deneklerin her iki tibiasında çalışılmış olmasına rağmen tüm deney hayvanları tarafından tolere edilmiş, çalışma sırasında deney hayvanı kaybı olmamıştır. Örneklerin 4 tanesinde fiksasyon vidalarında gevşeme olmuş ancak bu durum, deney protokolünü olumsuz etkilemeyeceğinden bu örneklere ait sonuçlar çalışma dahilinde değerlendirilmiştir.

4.1. Grupların Gözlemsel Bulguları

4.1.1. K2 Grubu

Bu grupta bulunan 3 deney hayvanının sağ ve sol bacaklarında aynı anda kırık modeli oluşturulmuş, kırık segmentleri arasına herhangi bir biyomateryal uygulanmamıştır. Elde edilen 6 örnek 2 hafta sonra sakrifiye edilmiştir. Bu gruptaki deney hayvanlarına operasyondan sonra 1, 2, 3, 4 ve 5. günlerde intramüsküler antibiyotik enjeksiyonu ve pansuman yapılmıştır. Hiçbir deney hayvanında enfeksiyon görülmemiş, denek kaybı olmamıştır.

4.1.2. K6 Grubu

Bu grupta bulunan 3 deney hayvanının sağ ve sol bacaklarında aynı anda kırık modeli oluşturulmuş, kırık segmentleri arasına herhangi bir biyomateryal uygulanmamıştır. Elde edilen 6 örnek 6 hafta sonra sakrifiye edilmiştir. Bu gruptaki deney hayvanlarına operasyondan sonra 1, 2, 3, 4 ve 5. günlerde intramüsküler antibiyotik enjeksiyonu ve pansuman yapılmıştır. Hiçbir deney hayvanında enfeksiyon görülmemiş, denek kaybı olmamıştır.

4.1.3. HA2 Grubu

Bu grupta bulunan 4 deney hayvanının sağ ve sol bacaklarında aynı anda kırık modeli oluşturulmuş, kırık segmentleri arasına hyaluronik asit uygulanmıştır. Elde edilen 8 örnek 2 hafta sonra sakrifiye edilmiştir. Bu gruptaki deney hayvanlarına operasyondan sonra 1, 2, 3, 4 ve 5. günlerde intramüsküler antibiyotik enjeksiyonu ve pansuman yapılmıştır. Hiçbir deney hayvanında enfeksiyon görülmemiş, denek kaybı olmamıştır.

4.1.4. HA6 Grubu

Bu grupta bulunan 4 deney hayvanının sağ ve sol bacaklarında aynı anda kırık modeli oluşturulmuş, kırık segmentleri arasına hyaluronik asit uygulanmıştır. Elde edilen 8 örnek 6 hafta sonra sakrifiye edilmiştir. Bu gruptaki deney hayvanlarına operasyondan sonra 1, 2, 3, 4 ve 5. günlerde intramüsküler antibiyotik enjeksiyonu ve pansuman yapılmıştır. Hiçbir deney hayvanında enfeksiyon görülmemiş, denek kaybı olmamıştır.

4.1.5. PRF2 Grubu

Bu grupta bulunan 4 deney hayvanının sağ ve sol bacaklarında aynı anda kırık modeli oluşturulmuş, kırık segmentleri arasına PRF uygulanmıştır. Elde edilen 8 örnek 2 hafta sonra sakrifiye edilmiştir. Bu gruptaki deney hayvanlarına operasyondan sonra 1, 2, 3, 4 ve 5. günlerde intramüsküler antibiyotik enjeksiyonu ve pansuman yapılmıştır. Hiçbir deney hayvanında enfeksiyon görülmemiş, denek kaybı olmamıştır.

4.1.6. PRF6 Grubu

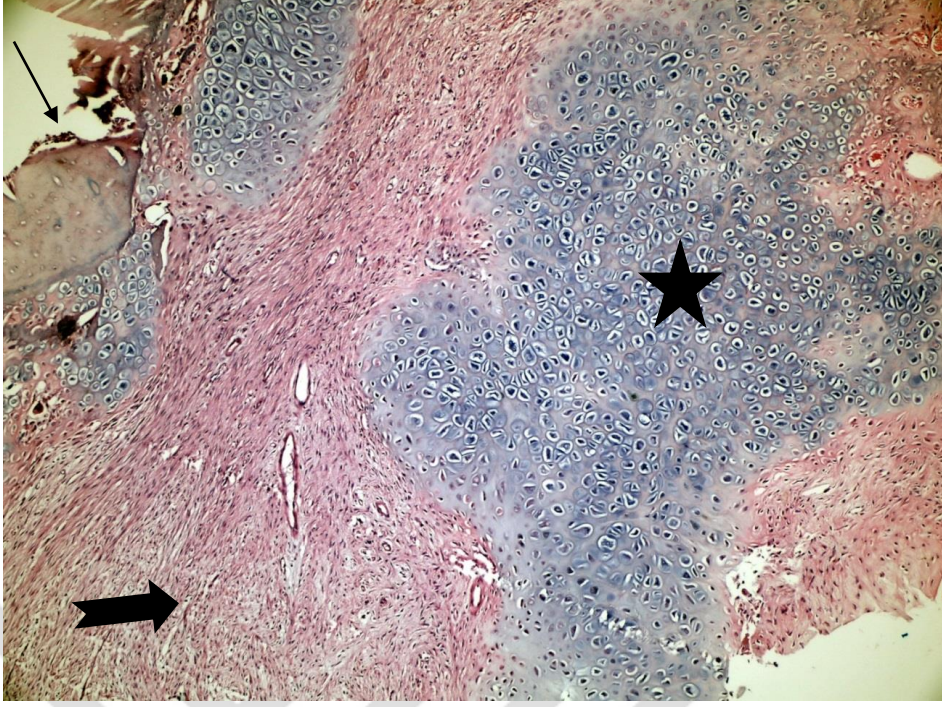
Bu grupta bulunan 4 deney hayvanının sağ ve sol bacaklarında aynı anda kırık modeli oluşturulmuş, kırık segmentleri arasına herhangi bir biyomateryal uygulanmamıştır. Elde edilen 8 örnek 6 hafta sonra sakrifiye edilmiştir. Bu gruptaki deney hayvanlarına operasyondan sonra 1, 2, 3, 4 ve 5. günlerde intramüsküler antibiyotik enjeksiyonu ve pansuman yapılmıştır. Hiçbir deney hayvanında enfeksiyon görülmemiş, denek kaybı olmamıştır.

4.2. Histopatolojik Bulgular

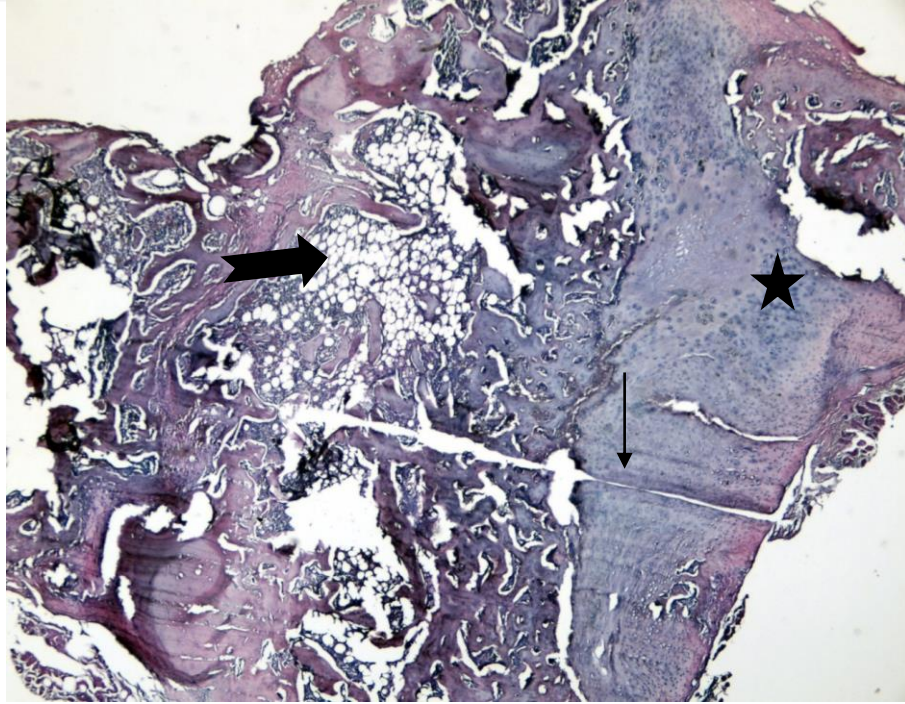
Çalışmamızda kontrol ve deney grubu hayvanlarının histopatolojik incelemesinde, endokondral kemikleşme intramembranöz kemikleşme ve fibrozis alanları histomorfometrik olarak ölçülmüş, değerlendirilmek üzere bu üç değişkenin her birinin toplam alana oranları veri olarak kaydedilmiştir.

4.2.1. Kontrol Grubu

Kontrol grubundaki 2 ve 6. haftalarda sakrifiye edilen deneklerin hiçbirinde nekroz, yabancı cisim reaksiyonu gözlenmemiştir. 2. haftada sakrifiye edilen deneklerde değişen oranlarda endokondral ve intramembranöz kemikleşme izlenmiştir. 6. haftada sakrifiye edilen deneklerde bu bulgulara ek olarak fibrozisin belirginleştiği görülmüştür (Şekil 4-7 ve 8).



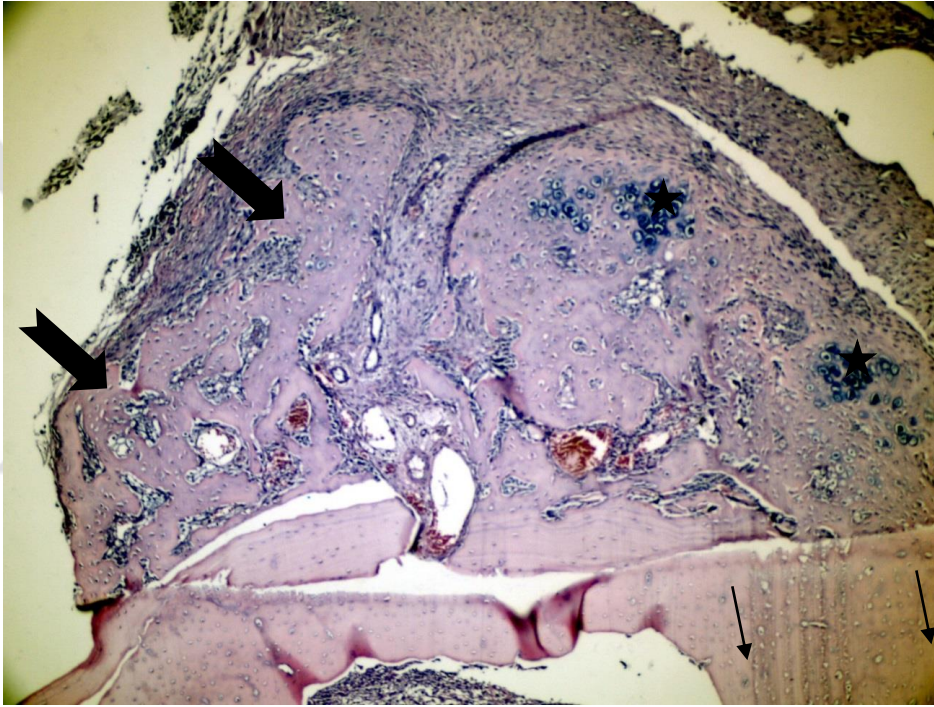
Şekil 4-1: 100x büyütmede 2. haftada sakrifiye edilen kontrol grubunda kırık alanının ucundan (ince ok) başlayan oldukça belirgin fibrozis (kalın ok) ve endokondral kemikleşme (yıldız) alanları



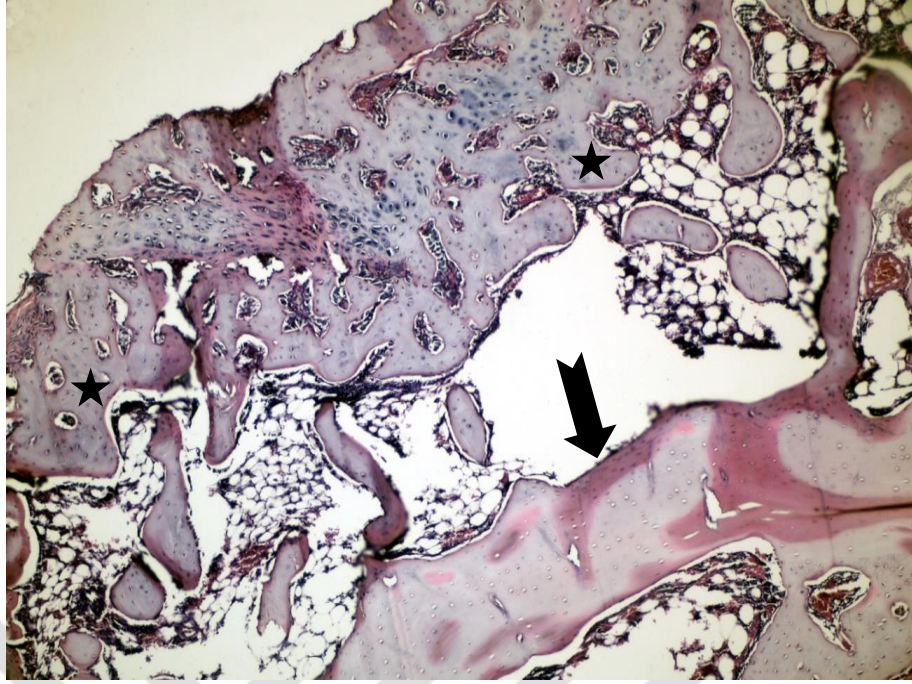
Şekil 4-2: 40x büyütmede 6. haftada sakrifiye edilen kontrol grubunda kırık fragmanları uçlarından başlayan intramembranöz kemikleşme (ince ok) ve endokondral kemikleşme alanları (yıldız) ile arada yağlı normosellüler kemik iliği (kalın ok) alanları

4.2.2. HA Grubu

HA grubunda 2 ve 6. haftalarda sakrifiye edilen deneklerin hiçbirinde nekroz ve yabancı cisim reaksiyonu gözlenmemiştir. HA2 grubunda bir deney hayvanında hafif derecede iltihabi reaksiyon görülmüştür. 2 ve 6. haftalarda farklı oranlarda endokondral ve intramembranöz kemikleşme izlenmiştir. Özellikle HA6 grubunda endokondral kemikleşme alanları artık yerini intramembranöz kemikleşmeye bırakmıştır (Şekil 4-9 ve 10).



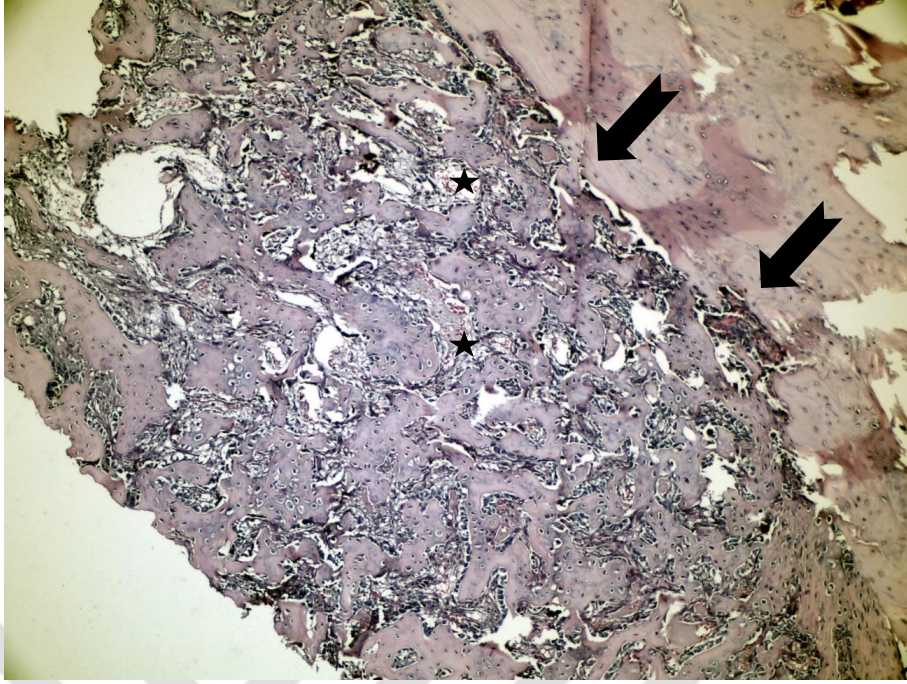
Şekil 4-3: 100x büyütmede 2. haftada sakrifiye edilen HA grubunda kırık alanı uçlarından (ince ok) başlayan intramembranöz (kalın ok) ve endokondral kemikleşme (yıldız) alanları



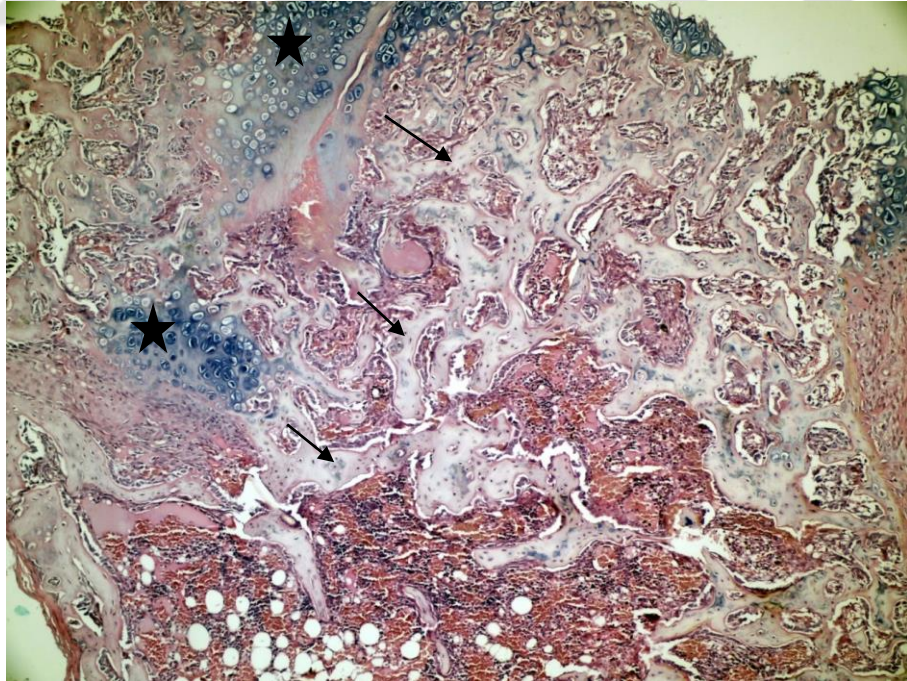
Şekil 4-4: 100x büyütmede 6. haftada sakrifiye edilen HA grubunda kırık alanını dolduran intramembranöz kemik yapımı (yıldız) ve konak kemik (kalın ok)

4.2.3. PRF Grubu

PRF grubunda 2 ve 6. haftalarda sakrifiye edilen hiçbir denekte nekroz ve yabancı cisim reaksiyonu izlenmemiştir. PRF2 grubunda bir örnekte, PRF6 grubunda üç örnekte hafif derecede iltihap reaksiyon gözlenmiştir. 2 ve 6. hafta gruplarında değişen oranlarda endokondral kemikleşme, intramembranöz kemikleşme ve fibrozis gözlenmiştir. 6. haftada fibrozis çok daha belirgin izlenmekte ve kemik talaşları gözlenmektedir (Şekil 4-11 ve 12).



Şekil 4-5: 100x büyütmede 2.haftada sakrifiye edilen PRF grubunda kırık alanı komşuluğundan başlayan intramembranöz kemikleşme alanları (kalın ok) ve arada küçük vasküler alan kesitleri (yıldız)

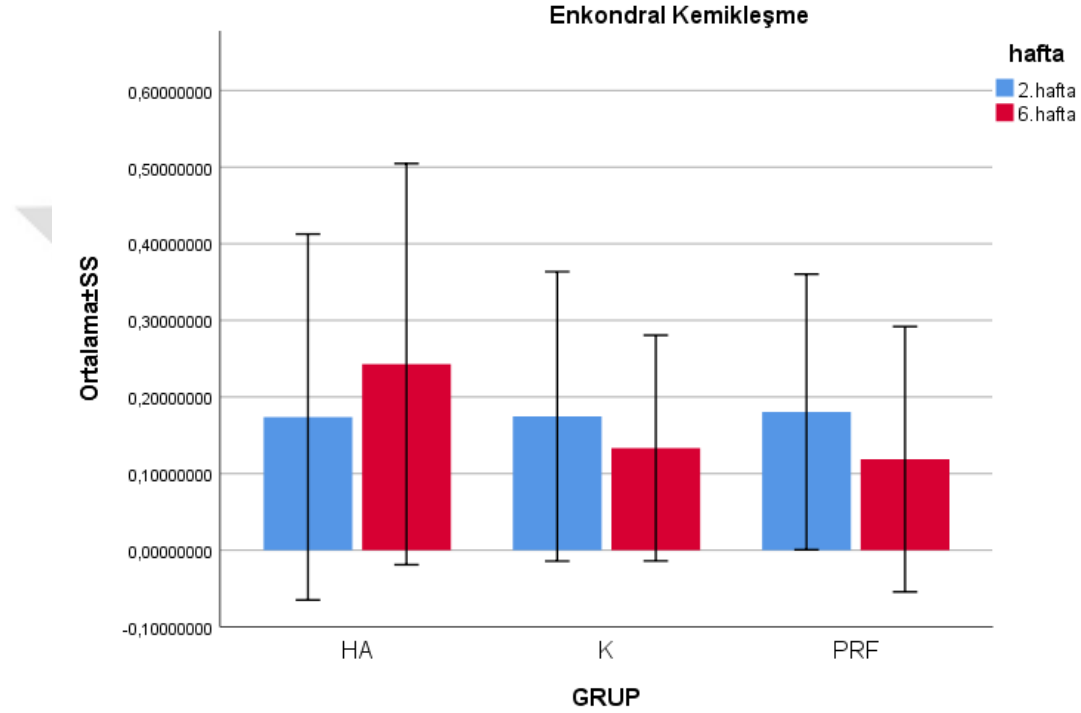


Şekil 4-6: 100x büyütmede 6.haftada sakrifiye edilen PRF grubunda kırık alanının neredeyse tamamını dolduran intramembranöz kemikleşme(ince ok) belirgin iken azalan endokondral kemikleşme alanları(yıldız)

4.3. İstatistiksel Bulgular

Olympus AnalySIS FIVE (Soft Imaging System GmbH, Münster, Almanya) isimli görüntü analiz sistemi kullanılarak histomorfometrik ölçüm yapılan endokondral kemikleşme, intramembranöz kemikleşme ve fibrozis değerleri yüzde olarak hesaplandı (Şekil 4-13, 14 ve 15).

4.3.1. Endokondral Kemikleşme



Şekil 4-7: Endokondral Kemikleşmenin Gruplara Dağılımının Grafik Gösterimi (%)

Tablo 4-1: Endokondral Kemikleşmenin Gruplara Göre Değerlendirilmesi

		K	HA	PRF	¹ F	¹ p
		Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS		
Endokondral kemikleşme	2.hafta	17,47±9,44	17,38±11,94	18,05±9,00	0,01	0,990
	6.hafta	13,33±7,36	24,29±13,09	11,88±8,66	3,404	0,055

¹Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ²Bağımsız Örneklem t Testi *p<0,05 Ort±SS: Ortalama±Standart Sapma

K: Kontrol, HA: Hyaluronik asit, PRF: Trombositten Zengin Fibrin

Çalışmamızda endokondral kemikleşme açısından, kontrol, HA ve PRF gruplarında 2. hafta ve 6. hafta ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Endokondral kemikleşme açısından kontrol, HA ve PRF grupları ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 4-1).

Tablo 4-2: Endokondral Kemikleşmenin Post Hoc Karşılaştırılması

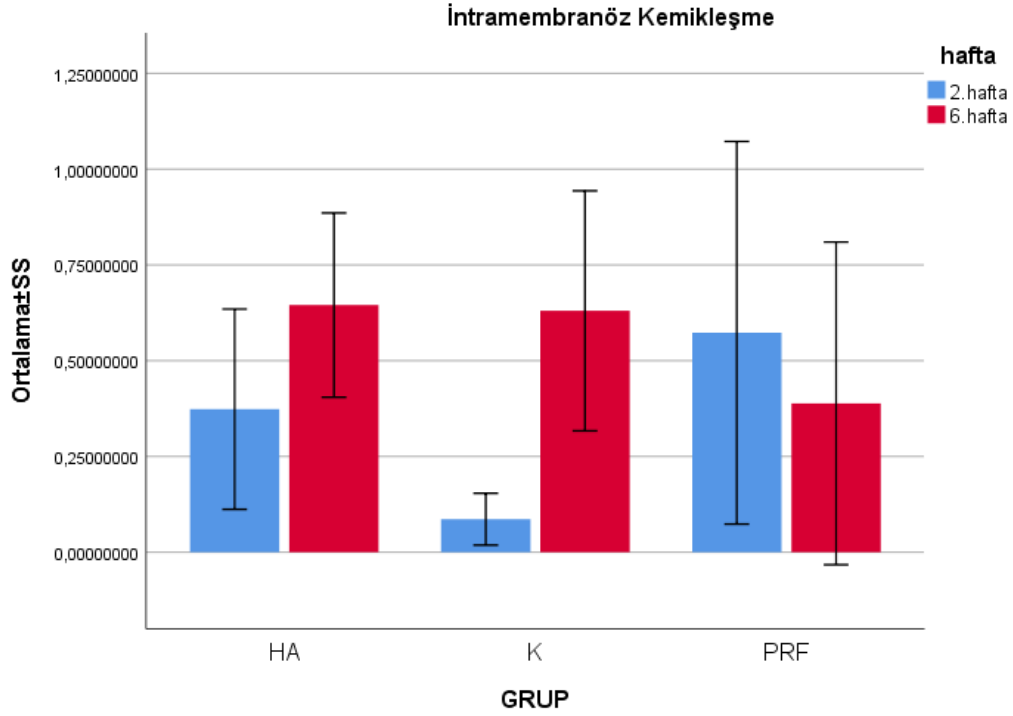
		2.hafta	6.hafta
		¹ p	¹ p
Endokondral kemikleşme	K / HA	1,000	0,673
	HA / PRF	1,000	0,497
	PRF / K	1,000	1,000

¹Tamhane's T2 testi *p<0,05

K: Kontrol, HA: Hyaluronik asit, PRF: Trombositten Zengin Fibrin

Yapılan Post Hoc istatistiksel analizlere göre endokondral kemikleşme açısından; K2, HA2 ve PRF2 grupları arasında ve K6, HA6 ve PRF6 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 4-2).

4.3.2. İntramembranöz Kemikleşme



Şekil 4-8: İntramembranöz Kemikleşmenin Gruplara Dağılımının Grafik Gösterimi (%)

Çalışmamızda intramembranöz kemikleşme açısından, K6 grubu ortalamasının K2 grubu ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,001$). HA6 grubu ortalamasının HA2 grubu ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p=0,001$) (Tablo 4-3).

Tablo 4-3: İntramembranöz Kemikleşmenin Gruplara Göre Değerlendirilmesi

		K	HA	PRF	¹ F	¹ p
		Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS		
İntramembranöz kemikleşme	2.hafta	8,63±3,39	37,34±13,07	57,28±24,97	13,729	<0,001*
	6.hafta	63,01±15,66	64,50±12,02	38,85±21,05	5,681	0,012*
	² T	8,312	4,327	1,596		
	² p	<0,001*	0,001*	0,133		

¹Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ²Bağımsız Örneklem t Testi

* $p<0,05$ Ort±SS: Ortalama±Standart Sapma

K: Kontrol, HA: Hyaluronik asit, PRF: Trombositten Zengin Fibrin

Tablo 4-4: İnamembranöz Kemikleşmenin Post Hoc Karşılaştırılması

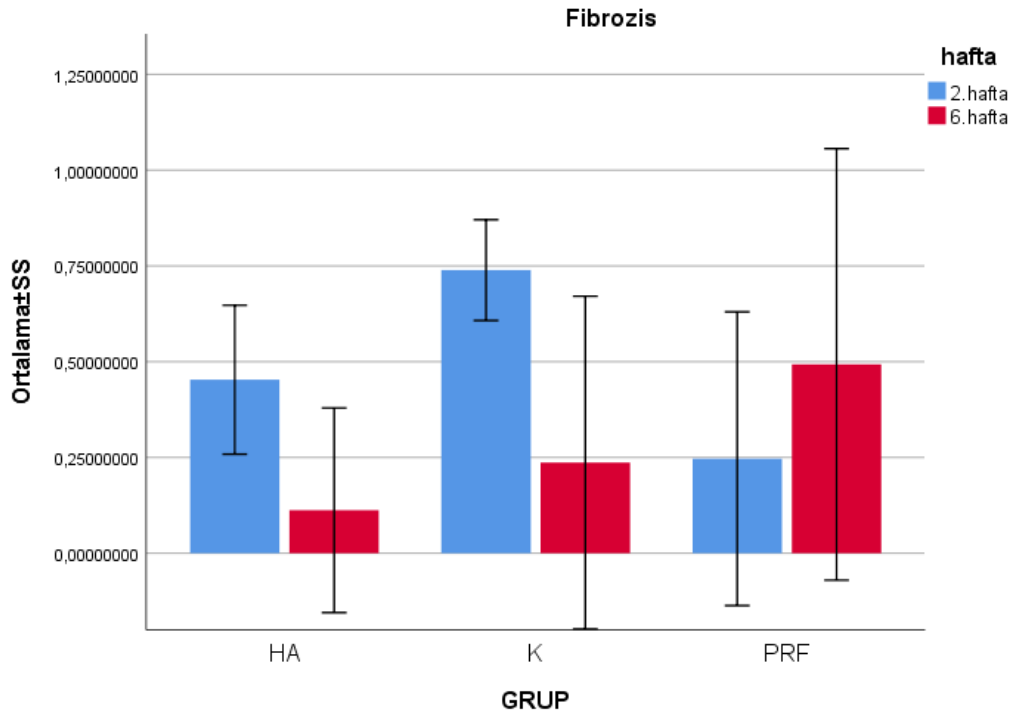
		2.hafta	6.hafta
		¹ p	¹ p
Intramembranöz kemikleşme	K / HA	0,005*	1,000
	HA / PRF	0,673	0,167
	PRF / K	0,012*	0,366

¹Tamhane's T2 testi *p<0,05

K: Kontrol, HA: Hyaluronik asit, PRF: Trombositten Zengin Fibrin

İnamembranöz kemikleşme açısından; HA2 grubu ortalaması K2 grubu ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (**p=0,005**). PRF2 grubu ortalaması K2 grubu ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (**p=0,012**). K6, HA6 ve PRF6 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 4-4).

4.3.3. Fibrozisin İstatistiksel Analizi



Şekil 4-9: Fibrozisin Gruplara Dağılımının Grafik Gösterimi (%)

Çalışmamızda fibrozis açısından, K6 grubu ortalamasının K2 grubu ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,001$). HA6 grubu ortalamasının HA2 grubu ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,001$) (Tablo 4-5).

Tablo 4-5: Fibrozisin Gruplara Göre Değerlendirilmesi

		K	HA	PRF	¹ F	¹ p
		Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS		
Fibrozis	2.hafta	73,90±6,58	45,28±9,72	24,67±19,16	22,895	<0,001*
	6.hafta	23,66±21,71	11,21±13,36	49,28±28,16	6,210	0,008*
	² T	5,426	5,834	2,043		
	² p	<0,001*	<0,001*	0,060		

¹Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ²Bağımsız Örneklem t Testi

* $p<0,05$ Ort±SS: Ortalama±Standart Sapma

K: Kontrol, HA: Hyaluronik asit, PRF: Trombositten Zengin Fibrin

Tablo 4-6: Fibrozisin Post Hoc Karşılaştırılması

		2.hafta	6.hafta
		¹ p	¹ p
Fibrozis	K / HA	<0,001*	0,987
	HA / PRF	0,274	0,089
	PRF / K	0,001*	0,708

¹Tamhane's T2 testi * $p<0,05$

K: Kontrol, HA: Hyaluronik asit, PRF: Trombositten Zengin Fibrin

Fibrozis açısından; K2 grubu ortalaması HA2 grubu ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Yine K2 grubu ortalaması PRF2 grubu ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,001$). K6, HA6 ve PRF6 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 4-6).

4.3.4. İltihap Bulgusunun İstatistiksel Analizi

Çalışma gruplarında iltihap; haftalara göre 2. haftada 4 örnekte ve 6. haftada 3 örnekte; gruplara göre kontrol grubunda 1 örnekte, HA grubunda 2 örnekte ve PRF grubunda 4 örnekte olmak üzere toplam 7 örnekte görülmüştür. Çalışma kapsamında iltihap var ya da yok olarak değerlendirilmiştir (Tablo 4-7).

Tablo 4-7: İltihap Varlığının Gruplara Göre Değerlendirilmesi

		K	HA	PRF	¹ p
		İltihap varlığı(N)	İltihap varlığı(N)	İltihap varlığı(N)	
İltihap	2.hafta	1	2	1	0,632
	6.hafta	0	0	3	0,085
	² Z	1,483	1,000	1,118	
	² p	0,394	0,721	0,442	

¹Fisher'in genişletilmiş Freeman-Halton istatistiksel analiz testi ²Mann Whitney U testi

N: İltihap görülen örnek sayısı *p<0,05

K: Kontrol, HA: Hyaluronik asit, PRF: Trombositten Zengin Fibrin

Fisher'in genişletilmiş Freeman-Halton istatistik analizine göre 2. haftada sakrifiye edilen K2, HA2 ve PRF2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. 6. haftada sakrifiye edilen K6, HA6 ve PRF6 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 4-8).

Tablo 4-8: İltihap Varlığının Post Hoc Karşılaştırılması

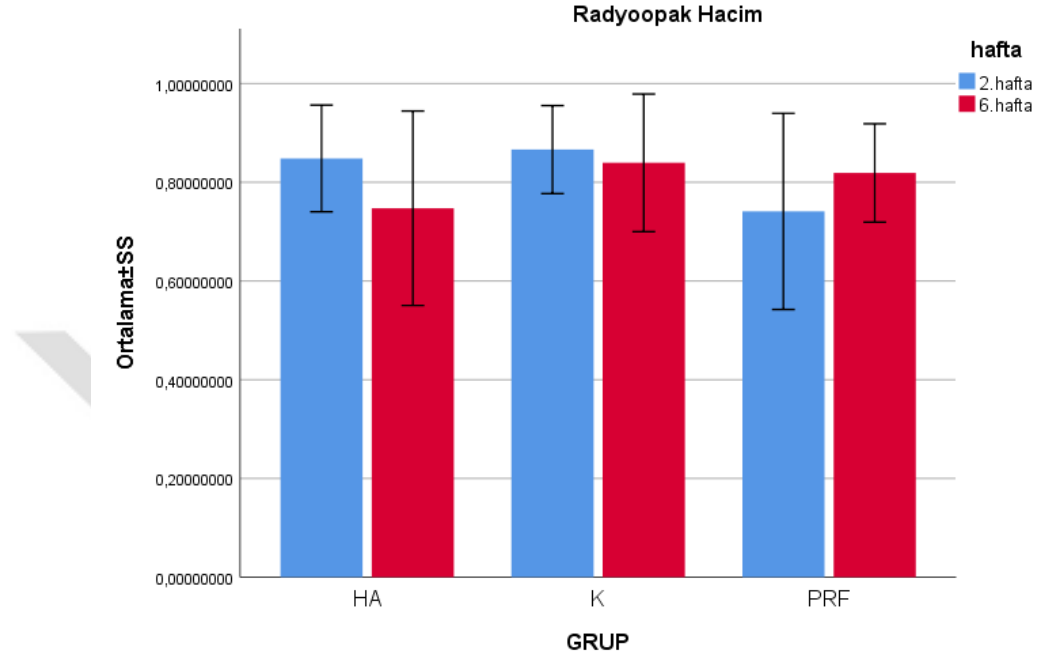
		2.hafta		6.hafta	
		² (Z)	² p	² (Z)	² p
İltihap	K / HA	0,906	0,573	0,000	1,000
	HA / PRF	0,000	1,000	1,861	0,234
	PRF / K	0,906	0,573	1,631	0,282

²Mann Whitney U Testi *p<0,05

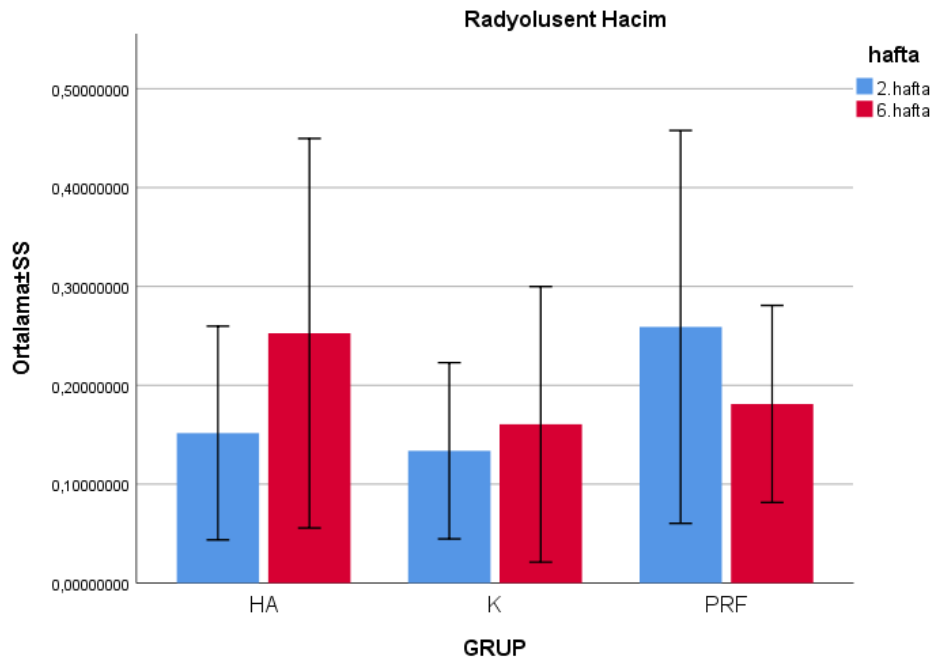
K: Kontrol, HA: Hyaluronik asit, PRF: Trombositten Zengin Fibrin

4.3.5. Radyolojik Bulguların İstatistiksel Analizi

Örneklere ITK-Snap (Version 3.6.0, 2017, ABD) yazılımı kullanılarak elde edilen radyolüsent ve radyopak hacim ölçümleri istatistiksel analizlerde yüzde olarak kullanılmıştır (Şekil 4-16 ve 17).



Şekil 4-10: Radyopak Hacmin Gruplara Dağılımının Grafik Gösterimi (%)



Şekil 4-11: Radyolüsent Hacmin Gruplara Dağılımının Grafik Gösterimi (%)

Çalışmamızda radyoopak hacim ölçümleri açısından 6. haftada sakrifiye edilen kontrol, HA ve PRF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmezken; 2. haftada sakrifiye edilen kontrol, HA ve PRF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür (**p=0,007**) (Tablo 4-9).

Çalışmamızda radyolusent hacim ölçümleri açısından 6. haftada sakrifiye edilen kontrol, HA ve PRF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmezken; 2. haftada sakrifiye edilen kontrol, HA ve PRF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür (**p=0,007**) (Tablo 4-9).

Tablo 4-9: Radyolojik Bulguların Gruplara Göre Değerlendirilmesi

		K	HA	PRF		
		Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS		
Radyoopak Hacim	2.hafta	86,62±4,46	84,83±5,40	74,10±9,93	F=6,535 ¹	¹ p=0,007*
	6.hafta	83,94±6,97	74,73±9,85	81,89±4,98	x ² =3,963 ²	² p=0,138
	³ Z	0,320	2,100	2,205		
	³ p	0,818	0,036*	0,027*		
Radyolusent Hacim	2.hafta	13,38±4,46	15,17±5,40	25,90±9,93	F=6,535 ¹	¹ p=0,007*
	6.hafta	16,06±6,97	25,27±9,85	18,11±4,98	x ² =3,963 ²	¹ p=0,138
	³ Z	0,320	2,100	2,205		
	³ p	0,818	0,036*	0,027*		

¹Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ²Bağımsız Örneklem t Testi ³Mann Whitney U testi x²: Ki kare değeri

*p<0,05 Ort±SS: Ortalama±Standart Sapma

K: Kontrol, HA: Hyaluronik asit, PRF: Trombositten Zengin Fibrin

Radyoopak ve radyolusent hacim ölçümleri açısından, K2 ve K6 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 4-9).

Radyoopak hacim ölçümleri açısından, HA2 grubu ölçümleri HA6 grubu ölçümlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (**p=0,036**). Radyolusent hacim ölçümleri açısından, HA6 grubu ölçümleri HA2 grubu

ölçümlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (**p=0,036**) (Tablo 4-9).

Radyopak hacim ölçümleri açısından, PRF6 grubu ölçümleri PRF2 grubu ölçümlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (**p=0,027**). Radyolusent hacim ölçümleri açısından, PRF2 grubu ölçümleri PRF6 grubu ölçümlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (**p=0,027**) (Tablo 4-9).

Tablo 4-10: Radyolojik Bulguların Post Hoc Karşılaştırılması

		2.hafta		6.hafta	
		¹ Z	¹ p	¹ Z	¹ p
Radyopak Hacim	K / HA	0,645	0,519	1,678	0,093
	HA / PRF	1,995	0,046	1,680	0,093
	PRF / K	2,324	0,020	0,258	0,796
Radyolusent Hacim	K / HA	0,645	0,519	1,678	0,093
	HA / PRF	1,995	0,046	1,680	0,093
	PRF / K	2,324	0,020	0,258	0,796

¹Mann Whitney U test

*p<0,05

K: Kontrol, HA: Hyaluronik asit, PRF: Trombositten Zengin Fibrin

Yapılan Post Hoc istatistiksel analizlere göre radyopak ve radyolusent hacim ölçümleri açısından ; K6, HA6 ve PRF6 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 4-10).

Radyopak hacim ölçümlerine göre HA2 grubu ölçümleri PRF2 grubu ölçümlerine göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur (**p=0,046**). Radyolusent hacim ölçümlerine göre PRF2 grubu ölçümleri HA2 grubu ölçümlerine göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur (**p=0,046**) (Tablo 4-10).

Radyopak hacim ölçümlerine göre K2 grubu ölçümleri PRF2 grubu ölçümlerine göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur (**p=0,020**). Radyolüsent hacim ölçümlerine göre PRF2 grubu ölçümleri K2 grubu ölçümlerine göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur (**p=0,020**) (Tablo 4-10).



5. TARTIŞMA

Kırık iyileşmesi, osteojenik hücrelerin birbirini takip eden iltihap ve migrasyon safhaları ile kemik yapımı ve yeniden şekillenme aşamalarından oluşan dinamik bir süreçtir (Sasaki ve Watanabe 1995). Bu süreci hızlandırmak, birçok çalışmanın konusu olmuştur.

Çalışmamıza uygun deney hayvanı seçiminde, kolay üretilebilir olması, barınma olanaklarının ve bakımlarının kolay olması, beslenme ve bakım masraflarının ucuz olması, metabolizmaları hızlı olduğundan iyileşme ve deney sürelerinin kısa olması, deneylerin kolay tekrarlanabilir olması, histopatolojik hazırlık ve inceleme süreçlerinin hızlı olması gibi etkenlerden dolayı deney hayvanı olarak sıçan tercih edilmiştir (Harvey ve ark. 2011, Ren ve ark. 2004). Ayrıca dişi deney hayvanlarında hormonal değişikliklerin kemik iyileşmesi mekanizmasında meydana getirebileceği bilinmeyen etkilerden kaçınmak amacıyla erkek sıçan kullanılmıştır (Mehta ve ark. 2011).

Sıçan tibialarında oluşturulan kırık modeli çalışmalarında ağırlıklı olarak ketamin hidroklorür ve ksilazin kombinasyonu ile genel anestezi sağlandığı görülmüş, ketamin hidroklorür ve ksilazin uyguladığımız çalışmamızda operasyon sırasında ya da sonrasında anesteziye bağlı denek kaybı ile karşılaşılmamıştır.

Sakrifikasyon sürelerini belirlerken uyguladığımız PRF ve HA materyallerinin etki süreleri göz önünde bulundurulmuştur. Toffler ve ark. 2009 yılında yaptıkları PRF çalışmasında üç boyutlu fibrin matriks yapısından intrensek sitokinlerin 7-11. gün boyunca salınmaya devam ettiğini bildirmişlerdir. Dohan ve ark. 2009 yılında yaptıkları in-vitro PRF çalışmasında fibrin yapının içinde bulunan üç temel büyüme faktörünün (TGF β -1, PDGF-AB; VEGF) ve trombospondin-1'in 20. dakikadan itibaren salınmaya başladığını ve 7 gün boyunca devam ettiğini rapor etmişlerdir. HA çalışmalarında, HYAFF®11 gibi orta ve yüksek molekül ağırlıklı hyaluronik asit olarak kabul edilen ajanların sert ve yumuşak doku üzerinde düşük molekül ağırlıklı hyaluronik asit ajanlarına oranla moleküler olarak daha uzun etki süresi olduğu bildirilmiştir (Shewale ve ark. 2017). Biz de çalışmamızda hem PRF hem de HA uygulanan deney gruplarda kısa dönem ve uzun dönem etkileri gözlemleyebilmek için sakrifikasyon sürelerini 2 ve 6. hafta olarak belirledik.

Literatürde sıçanlarda oluşturulan kırık modelinde tek ya da çift tibiada planlanmış çalışmalar mevcuttur. Denek sayısını artırmamak adına çalışmamızda her denek hayvanlarının tibiasında bilateral kırık oluşturulmuştur. Literatürle uyumlu olarak deney hayvanlarının, çalışma modelini iyi şekilde tolere ettiği gözlenmiştir.

Oluşturulan sıçan modeli çalışmalarında radyolojik inceleme tekniği olarak farklı sistemler kullanılmıştır. Alzahrani ve ark. 2016 yılında yaptıkları kırık iyileşmesini gözlemledikleri fare çalışmasında her tibiadan mikro BT görüntüsü almış, elde ettiği verileri doku hacmi başına kemik hacmi (kemikleşen hacim bölü tüm doku hacmi), trabeküler kalınlık ve yapısal model indeksi gibi iyileşme değişkenlerini elde etmek için kullanmıştır. Briteno-Vazquez ve ark. 2015 yılında sıçan tibialarında oluşturdukları kırık modelinde, kemik konsolidasyonu ölçümü için AP radyografi (anteroposterior radyografi) almış ve iyileşmeyi değerlendirmek için Montoya Skalası'nı kullanmıştır. Kerimoğlu ve ark. 2013 yılında sıçan tibialarında oluşturdukları kırık modelinde lateral radyografileri Lane-Sandhu Skalası'na göre skorlayıp iyileşmeyi değerlendirmişlerdir. Son ve ark. 2012 yılında sıçan tibialarında oluşturdukları kırık modelinde AP ve lateral radyografi almışlar ve kemik iyileşmesini skorlamışlardır. Çalışmamızda, farklı skorlama metodlarını kullanmak yerine kantitatif bulgular elde etmek adına, elde edilen bilgisayarlı tomografi görüntülerinin üç boyutlu rekonstrüksiyonları ITK-Snap programı kullanarak 2 farklı gözlemci tarafından kemik iyileşmesini skorladık.

Yapılan literatür araştırmalarında, deneysel çalışmalarda yapılan radyografik değerlendirmenin kırık iyileşmesinin gözlemlenmesi için tek başına yeterli olamayacağı, histopatolojik değerlendirmelerin diğer değerlendirme yöntemlerini desteklemesi gerektiği görülmüştür. İşler ve arkadaşlarının sıçan tibiaları üzerinde farklı materyalden üretilmiş fiksasyon vidalarının kemik iyileşmesi üzerine etkilerini değerlendiren doktora tezi çalışmasında, Güven'in sıçan mandibulaları üzerinde kanama durdurucuların sert ve yumuşak dokuların erken ve geç dönem doku iyileşmesini değerlendirdiği doktora tezi çalışmasında ve Çakarer'in yine sıçan tibiaları üzerinde yaptığı distraksiyon osteogenezisin kemik iyileşmesi üzerine etkilerinin değerlendirildiği doktora tezi çalışmasında histopatolojik olarak iltihap, fibrozis, yeni kemik oluşumu, iyileşme bulguları, nekroz ve yabancı cisim reaksiyonu sonuçları elde edilmiş ve değerlendirilmiştir (İşler ve ark. 2010, Güven 2012, Çakarer ve ark. 2008).

Biz de çalışmamızda kemik iyileşmesini histopatolojik olarak değerlendirmek için endokondral kemikleşme, intramembranöz kemikleşme ve fibrozis ölçümlerini ve iltihap varlığını değerlendirdik. Bu değerlendirmenin kalitatif değerlerden çok kantitatif yani nicel veriler üzerinden yapılabilmesi için histomorfometrik değerlendirme metodunu tercih ettik.

Çalışmamızda çelik fissür frez ile yaptığımız osteotomide, tibialarda frez kalınlığı kadar bölgenin tam tibia çapı kadar bir hacimde çalışma alanı sağladık. Tibia çapları farklı ağırlıktaki sıçanlara göre değişiklik gösterdiğinden tüm deneklerde ağırlıkları ve tibia çaplarıyla orantılı olarak çalışma alanları elde ettik. Literatürlerde kalvaryal, femoral ve tibial osteotomilerin trefin frezlerle, kemik testeresi ve kemik keskesi ile, çelik veya elmas rond ve fissür frezler yardımıyla gerçekleştirildiği görülmüştür. Oluşturulan tibial kırık sıçan modellerinde ise, paslanmaz çelik disk ve frezler ile kırık modeli oluşturulduğu görülmüştür (Petridis ve ark. 2015, Vögelin ve ark. 2005, Çakarer ve ark. 2008, İnal ve ark. 2014, Paiva ve ark. 2016, Giordano ve ark. 2012, Kerimoğlu ve ark. 2013). Biz de çalışmamızda kırık modeli oluşturmak için steril serum fizyolojik irrigasyonu altında paslanmaz çelik fissür frez kullandık.

Oluşturulan kırık modeli çalışmalarında tibia ya da femurları stabil hale getirmek için çeşitli yöntemler kullandıkları görülmüştür. Yaygın olarak intramedullar kirschner teli ve mini plak-vida fiksasyonu yöntemleri tercih edilirken (Kerimoğlu ve ark. 2013, Vögelin ve ark. 2005, Paiva ve ark. 2016, Miles ve ark. 2011, Son ve ark. 2012, Heybeli ve ark. 2002, Takikawa ve ark. 2001, Shimizu ve ark. 2015, Fung ve ark. 2014), bazı yazarlar herhangi bir fiksasyon yöntemi kullanmamayı tercih etmişlerdir (Giordano ve ark. 2012). Çalışmamızda fiksasyon vidalarının çeşitli sebeplerle kaybedilmesi durumunda kırık modelinin stabilitesinin bozulması söz konusu olduğundan 2 delikli sistem yerine 4 delikli mikro plak-vida sistemini tercih ettik.

Son yıllarda kemik defektlerinin ve kırıkların onarımında içinde yüksek konsantrasyonda büyüme faktörleri yer alan trombosit konsantrasyonlarının kullanılabilir hale geldiği görülmektedir (Dohan ve ark. 2006a, 2006b ve 2006c; Pripatanont ve ark. 2013). 2001 yılından itibaren trombosit zengin plazma yerini Choukroun tarafından oral maksillofasiyal cerrahide kullanılmak amacıyla geliştirilen PRF'ye bırakmaya başlamıştır (Choukroun ve ark. 2006a).

Literatür taramalarında, yapılan histolojik ve histomorfometrik analizlerde, PRP'nin kemik iyileşmesini önemsenecek derecede artırmadığı ileri sürülmüş (Mooren ve ark. 2010, Saluja ve ark. 2011) ve PRP içinde osteoblast diferansiyasyonunu arttıran kemik morfogenetik proteini bulunmadığı için de PRF kullanımını yaygın olarak desteklenmiştir (Dohan ve ark. 2006a). PRP'nin içerisindeki büyüme faktörlerinin salınımı için trombin ve/veya kalsiyum sitrat gibi biyokimyasal ajanlara ihtiyaç duyması ve bu durumun kontolsüz salınımına neden olması, kullanılan bu biyokimyasal ajanların mitojenik aktiviteyi artırarak kemik iyileşmesi için temel görevi üstlenen osteoblastların aktif görev yapmasını engellemesi, PRP eldesi için çift santrifüj işlemi gerekmesi PRP'nin dezavantajlarından. Öte yandan PRF'nin, büyüme faktörleri salınımı için ek biyokimyasal ajana ihtiyaç duymaması, üç boyutlu iskelet yapısı sayesinde salınan büyüme faktörlerinin etkinliğinde artış olması gibi avantajları bulunmaktadır. Biz de çalışmamızda, PRF'in PRP'ye olan bu üstünlüğünü göz önüne alarak PRF kullanmayı tercih ettik.

PRF elde edilmesi araştırmacılara göre santrifüj hızı ve zamanına bağlı olarak farklılıklar gösteren bir protokoldür. Birbirinden farklı bu santrifüj protokollerinin hepsinde, doğal pıhtılaşma mekanizmasının yarattığı, lökosit ve trombosit zengin pıhtının, kanın herhangi bir biyokimyasal modifikasyonuna gerek kalmadan elde edilmesi sağlanır. Santrifüj işlemlerinden sonra üç boyutlu bir fibrin matriks olarak oluşan trombosit zengin fibrin pıhtısı nazik bir şekilde tüpten alınarak kullanılır. PRF membran elde edilmesinde ise yine araştırmacılara göre değişen farklı metodlar söz konusudur. Raja ve Naidu (2008) iki gaz tampon arasında minimal parmak basıncıyla sıkıştırıp suyunu çıkararak hazırladıkları PRF membranın kalınlığına dikkat etmeden kullanılacak bölgeye göre tek kat ya da çift kat şeklinde yerleştirirken, Toffler ve ark. (2009) membran elde edilmesinde özel PRF kutusu kullanmışlardır. Toffler ve ark. (2009) membranın cerrahi sahaya uygulama süresinin uzadığı durumlarda nemini muhafaza etmek ve kemik grefti ile birlikte uygulanacağı durumlarda kutunun alt kısmında toplanan sıvıdan greftin nemlendirilmesi amacıyla PRF kutusunun kullanılabilceğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda Raja ve Naidu'nun tanımladığı şekilde 2700 rpm'de 12 dakika santrifüj ederek hazırladığımız PRF materyallerini kullandık. Toffler ve ark.'nın çalışmalarında kullandığı özel PRF kutusunu kullanarak hazırladığımız PRF materyalinin oluşturduğumuz kırık hattına uygulama aşamasının

daha kolay olmasını ve boşluk kalmayacak şekilde kırık segmentleri arasına uygulanmasını amaçladık (Raja ve Naidu 2008, Toffler ve ark. 2009).

Dülgeroğlu ve Metineren, PRF'nin kemik iyileşmesi üzerine etkilerini inceledikleri sıçan çalışmasında, PRF'yi dört adet donör sıçandan elde etmişler ve deney grubu sıçanlara uygulamışlardır (Dülgeroğlu ve Metineren 2017). Du ve ark. sıçanlarda oluşturdukları periodontal defektlerde PRF'nin etkinliğini değerlendirdikleri çalışmada, donör olarak belirledikleri sıçanlardan kardiyak ponksiyon yöntemiyle elde ettikleri kan ile PRF elde etmişler ve oluşturdukları çalışma modeline göre diğer sıçanlarda kullanmışlardır (Du ve ark. 2017). Knapen ve ark. oluşturdukları tavşan modelinde PRF için, PRF uygulanacak her denekten 2ml kan elde etmişlerdir (Knapen ve ark. 2015). Kökdere ve ark., oluşturdukları tavşan modeli çalışmasında PRF elde etmek için her deneğin marjinal kulak veninden kan almışlardır (Kökdere ve ark. 2015). Ayrıca PRP'nin doku iyileşmesi üzerine etkilerinin değerlendirildiği birçok sıçan çalışmasında trombosit konsantrasyonunun elde edilmesi için donör hayvanlar kullanıldığı, bunun çalışma modelinde hiçbir olumsuz etki oluşturmadığı yazarlar tarafından belirtilmiştir (Güzel ve ark. 2015, Son ve ark. 2015, Simman ve ark. 2008). Biz de çalışmamızda bu literatürler doğrultusunda, bir adet deneğin eksanguinasyon yöntemiyle intrakardiyak kanını PRF eldesi için kullandık.

Dallari ve ark. yaptıkları tibial veya femoral birleşme gözlenmeyen 113 ortopedik kırık vakasında PRF'nin iyileşmeyi hızlandırdığını düşündükleri retrospektif çalışmada, PRF materyalini kırık bölgesine uygularken ikinci bir işlem den geçirmemişler, elde edilen PRF'yi kemik iliği stromal hücreleri (bone marrow stromal cells-BMSC) ile karıştırıp kırık bölgesine uygulamışlardır (Dallari ve ark. 2016). Cortese ve ark. zigomatikomaksiller bölgedeki kırıkların tedavisinde farklı yaklaşımları değerlendirdikleri çalışmalarında, PRF'nin osteoblast tutulumunu artırma etkisinden faydalanmak için PRF matriksi kırık bölgesinde titanyum meş ile birlikte uygulamışlardır. PRF matriksi geleneksel yöntemlerle elde etmişler ve kırık bölgesine uygulama esnasında herhangi bir işlem den geçirmemişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre farklı cerrahi yaklaşım yöntemleri ve kullandıkları PRF matriks, post-operatif komplikasyonları azaltmış, sert ve yumuşak doku iyileşme süresini kısaltmış, hasta konforunu arttırmıştır (Cortese ve ark. 2016). Çalışmamızda kırık bölgesine elde ettiğimiz PRF materyalini uygularken yanında başka herhangi bir biyokimyasal

materyal kullanmayacağımız ve kırık bölgesi etrafına membran gibi koruyucu bir biyomateryal uygulamayacağımız için, uygulama sırasında PRF'nin rijit bir formda kalması, iyileşme esnasında kırık bölgesinden uzaklaşmaması için PRF kutusu kullanarak daha az akışkan, elastisitesi daha yüksek, uygulaması daha kolay, yapısal bütünlüğü daha zor bozulan bir materyal elde etmeyi amaçladık.

PRF'nin sert ve yumuşak doku iyileşmesinde etkileri değerlendirilen çalışmalar incelendiğinde; Kumar Patel ve ark., klinik hastaları üzerinde yürüttüğü periodontal kemik içi defektlerin iyileşmesinde PRF'nin etkinliğini inceledikleri çalışmalarında, 4 haftalık klinik sonuçlara göre PRF'nin kemikiçi defektlerde istatistiksel olarak daha iyi iyileşme sağladığını bulmuşlardır (Kumar Patel ve ark. 2017). Baslarlı ve ark., çekim soketlerinde PRF' in etkinliğini görmeyi amaçladıkları klinik çalışmasında, 20 hastada aynı seansta çift taraflı yirmi yaş diş çekimi gerçekleştirmişler ve randomize olarak bir çekim soketine PRF uygularken diğer çekim soketi normal iyileşmeye bırakılmıştır. İyileşmeyi 30. ve 90. günde değerlendirdikleri bu çalışmanın sonucunda PRF nin kemik iyileşme sürecini hızlandırdığını belirtmişlerdir (Baslarlı ve ark. 2015).

Knapen ve ark., PRF'nin kısa (bir hafta), orta (beş hafta) ve uzun (oniki hafta) dönem kemik iyileşmesi üzerine etkilerini inceledikleri kemik ogmentasyonu amaçladıkları tavşan modeli çalışmasında; histolojik olarak gruplar arasında PRF grubunun kemik kantitesi olarak yüksek sayısal değerler elde ettiğini ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamadıklarını belirtmişlerdir (Knapen ve ark. 2015). Kökdere ve ark., PRF'nin kemik iyileşmesi üzerine etkisini değerlendirdikleri tavşan modeli çalışmasında, 30 ve 60 günlük iyileşme sürelerini değerlendirmişler ve PRF ve kontrol grupları arasında histomorfometrik olarak defekt bölgesindeki osteoblast ve osteoklast sayıları arasında ve yeni kemik yapımı alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmamışlardır (Kökdere ve ark. 2015). Lee ve ark. yaptıkları bir tavşan modeli çalışmasında, tavşan tibiasına implant yerleştirdikten sonra etrafında defekt oluşturulmuş ve oluşturulan defekt PRF kullanılarak greftlenmiştir. Yapılan histomorfometrik analiz sonucunda PRF ile greftlenen grupta yeni kemik oluşumu PRF kullanılmadan greftlenen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. PRF kullanılan grupta kemik implant temas yüzeyi, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Lee ve ark. 2012). Çalışmamızın histomorfometrik verileri

değerlendirildiğinde; intramembranöz kemikleşme PRF2 grubunda K2 grubundan anlamlı derecede yüksek bulunurken, endokondral kemikleşme PRF2 grubunda K2 grubundan sayısal olarak yüksek olmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Toplam kemik yapımı açısından değerlendirildiğinde bu sonuçlar Baslarlı ve ark., Kökdere ve ark. ve Lee ve ark.'nın çalışma sonuçları ile benzerlik göstermekte ve PRF uygulanan 2. haftada sakrifiye edilen deney gruplarında kontrol grubuna göre daha fazla kemikleşme olduğunu göstermektedir.

6. haftada sakrifiye edilen, PRF6 grubunda ise K6 grubuna göre histomorfometrik olarak; sayısal olarak kontrol grubundan daha iyi kemik iyileşme sonuçları verse de istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Yine PRF6 grubu ile PRF2 grubu arasında benzer bir istatistiksel sonuç bulunmaktadır. Bu sonuçlar Kökdere ve ark. ve Baslarlı ve ark.'nın yaptıkları çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. Yazarlar bu sonucu, PRF'nin erken dönemde daha fazla büyüme faktörü salınımı yapması ile açıklamaktadırlar (Öncü ve ark. 2016, Toffler ve ark. 2009, Su ve ark. 2009, Dohan ve ark. 2009).

Çalışmamızda, PRF'nin erken dönem etkilerini histomorfometrik olarak literatürle benzer şekilde yüksek olarak gözlemledik. Bu bağlamda, PRF erken dönemde yumuşak kallus oluşumunu artırmakta ancak yumuşak kallusun sert kallusa geçiş sürecini bu süreçte uzatmaktadır. Bu düşünceyle paralel olarak PRF6 grubunda yüksek fibrozis değerleri görmekteyiz.

Dülgeroğlu ve Metineren, PRF'nin uzun kemikler üzerindeki iyileşmesini değerlendirdikleri sıçan çalışmasında PRF grubunun radyolojik ve histolojik olarak istatistiksel olarak daha hızlı iyileştiği sonucuna varmışlardır (Dülgeroğlu ve Metineren 2017). Du ve ark., sıçanlarda oluşturdukları periodontal defektlerde PRF'nin ve aspirin/PRF kompleksinin alveolar kemik iyileşmesi üzerine etkilerini değerlendirmişler ve hem radyolojik hem de histolojik olarak; aspirin/PRF kompleksinin PRF'ye göre ve PRF'nin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha hızlı alveolar kemik iyileşmesi sağladığı sonucuna varmışlardır (Du ve ark. 2017). Bu ve buna benzer histolojik analizler ile radyolojik değerlendirme de yapılan çalışmalarda sadece radyografik değerlendirme tercih etmemelerini radyolojik verilerin ancak kemik yoğunluğunun belli bir değerin üzerine çıkınca görüntü vermesine bağlamışlardır. Çalışmamızda bu sonuçla paralel olarak PRF deney gruplarında radyolojik kemik iyileşmesi sonuçlarının

histolojik kemik iyileşmesi sonuçlarına göre daha az kemik iyileşmesi gösterdiğini, radyolojik kemik iyileşmesini gösteren verilerin histolojik kemik iyileşmesini gösteren verilere göre daha geriden geldiğini gördük.

Radyolojik bulgular değerlendirildiğinde ise; PRF6 grubunun PRF2 grubuna göre daha radyopak görüntü verdiğini, istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verdiğini gördük. Ancak PRF6 grubunun, K6 ile radyolojik olarak istatistiksel bir farklılık oluşturmadığını tespit ettik. PRF2 grubunun K2 grubundan daha radyolüsent görüntü vermesi, Du ve ark. ve Dülgeroğlu ve Metineren'in çalışmaları ile benzerlik göstermekte, radyolojik verilerin histomorfometrik veriler kadar kemik iyileşmesi sonuçlarını yansıtmamaktadır.

Çalışmamızda PRF deney grubunda elde ettiğimiz radyolojik bulgular histomorfometrik bulgular ile sayısal olarak benzerlik göstermekte ancak deney ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturacak sonuçlar göstermemektedir.

Hyaluronik asit, sinovyal sıvı ve diğer bütün dokuların ekstrasellüler matriksinde doğal olarak bulunan lineer bir polisakkarittir (Ballini ve ark. 2009, Stern ve ark. 2006). Dokular ve türler için antijenik bir özelliği yoktur. Bu nedenle alerjik ve immünolojik reaksiyonlarda düşük potansiyel etkiye sahiptir (Benedetti ve ark. 1999). Yapılan çalışmalarda biouyumlu olarak tanımlanan HA'nın aynı zamanda bakteriyostatik ve antienflamatuvar özelliklerinin olduğu belirtilmiştir (Casale ve ark. 2016, Uchida ve ark. 2011, Şimşek 2004, Hunt ve ark. 2001, Kopp ve ark. 1987). Çalışmamızda HA uygulanan deney grubunda yara yerinde enfeksiyon veya lokal alerjik reaksiyon gözlenmemesinin HA'nın bakteriyostatik ve antienflamatuvar özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Yapılan in vitro kültür çalışmalarında, HA'nın doza ve molekül ağırlığına bağlı olarak osteoblastları stimüle ederek, kemik greft materyallerinin osteoindüktif ve osteojenik özelliklerini geliştirebileceği rapor edilmiştir (Huang ve ark. 2003). Mezenkimal progenitör hücrelerin HA'nın oluşturduğu iskelet yapıya bağlanarak proliferasyona uğradıkları yine in vitro olarak yapılan histopatolojik araştırmalar ile kanıtlanmıştır (Oakes ve ark. 2003, Radice ve ark. 2000). Pilloni ve Bernard, yaptıkları çalışmada hyaluronik asidin osteogenezisin in vitro sisteminde kalsifikasyona ve kemik formasyonuna olan etkisini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Çalışma sonucunda

araştırmacılar, uygun molekül ağırlıktaki hyaluronik asidin, optimal konsantrasyonda, tek başına osteoblast farklılaşmasını ve kemik formasyonunu uyardığını vurgulamışlardır (Pilloni ve Bernard 1998).

Pirnazar ve arkadaşları, üç farklı molekül ağırlığına sahip rekombinant hyaluronik asidin seçilmiş oral ve oral olmayan bakteriler üzerindeki bakteriostatik ve bakteriosidal etkilerini araştıran bir çalışma yapmışlardır. Uygulanan HA'nın, test edilen tüm bakteri zincirlerinde molekül ağırlığına ve konsantrasyonuna bağlı olarak değişik bakteriostatik etkiler gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Orta molekül ağırlığına sahip hyaluronik asidin en iyi bakteriostatik etkiyi bazı türdeki bakteri zincirleri üzerinde gösterdiği, yüksek molekül ağırlıklı hyaluronik asidin ise test edilen tüm bakteri zincirlerindeki büyümeyi inhibe ederek en iyi bakteriostatik etkiyi gösterdiğini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, test edilen tüm bakteri kültürleri üzerinde hyaluronik asidin konsantrasyon ve molekül ağırlığından bağımsız olarak herhangi bir bakteriosidal etki göstermediğini kanıtlamışlardır. Bu çalışmanın sonucunda araştırmacılar yüksek molekül ağırlıklı hyaluronik asidin yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda cerrahi yaralarda bakteri kontaminasyonunu minimize etmede yararlı olduğunu gözlemlemişlerdir (Pirnazar ve ark. 1997). Çalışmamızda kullandığımız HYAFF®11, molekül ağırlığı olarak orta ve yüksek molekül ağırlıklı HA olarak kabul edilmektedir. HA grubunda iltihap diğer çalışma gruplarına göre daha az oranda görülmekte yara iyileşmesinin erken dönemlerinde bu durum, çalışmamız açısından olumlu bir etki teşkil etmektedir. HA grubunda kemik iyileşmesi açısından istatistiksel olarak daha yüksek sonuçlar elde etmemizde yüksek molekül ağırlıklı HA kullanımının etkisi olduğu düşüncesindeyiz.

Literatür taramalarında in vivo ve klinik çalışmalar da bulunmaktadır. Sehdev ve ark. periodontal kemik içi defektleri, membran ve HA ile birlikte membran kullanarak periodontal cerrahiye tabi tutmuşlar ve HA kullanılan deney grubunda radyolojik açıdan istatistiksel anlamlı derecede iyi iyileşme sonuçları elde etmişlerdir. Bu çalışmada klinik, kemik içi periodontal defektlerin iyileşmesi değerlendirildiğinden, radyolojik değerlendirme dışında bir yöntem tercih edememişlerdir (Sehdev ve ark. 2017). Doğan ve ark. yaptıkları klinik çalışmada hastalara rutin kemik grefti ve kemik greftiyle beraber HA kullanarak sinüs lift operasyonu yapmışlar, operasyondan dört ay sonra implantlar yerleştirilirken de trefin frez ile biyopsi yaparak kemik iyileşmesini

değerlendirmişlerdir. Sonuçta yeni kemik yapımı açısından radyolojik ve histomorfometrik açıdan istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmuşlar, HA uygulanan sinüs bölgesinde daha hızlı yeni kemik oluşumu tespit etmişlerdir (Doğan ve ark. 2017). Göçmen ve ark., yaptıkları klinik çalışmada HA'nın çekim soketlerinde antioksidan ve antienflamatuvar etkilerini gözlemlemişlerdir. Enflamatuvar reaksiyon, kolajen içeriği ve klinik ağrı skalası gibi ölçümler yaparak, HA'nın çekim soketlerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verdiğini bulmuşlardır (Göçmen ve ark.2015).

Aslan ve ark. periodontal defektlerin tedavisinde HA'nın etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarında defekt sahasında, kemik grefti ile kombine HA kullanılan grupta, sadece kemik grefti kullanılan gruba göre histopatolojik olarak istatistiksel olarak daha fazla kemik yapımı olduğunu rapor etmişlerdir (Aslan ve ark. 2006). Radhi ve ark. tavşanlarda yaptıkları çalışmada, 1, 2, 3 ve 6. haftalarda HA'nın TGF- β seviyeleri üzerine etkilerini gözlemlemişlerdir. TGF- β düzeyi bütün sakrifikasyon aralıklarında kontrol değerlerinden anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Ayrıca osteoblast ve osteosit sayıları HA uygulanan defektlerde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (Radhi ve ark. 2015). Bu çalışmalarla paralel olarak çalışmamızda, HA2 grubunda erken dönem kemik iyileşmesi K2 grubuna göre daha iyi sonuçlar vermiştir.

Ayanoğlu ve ark., tavşan tibialarında 5mm çapında kemik defektleri oluşturmuş; bu defektleri kontrol, HA ve greft ile birlikte HA grupları olarak belirlemişlerdir. Belirlenen 3 ve 6 haftalık sakrifikasyon sürelerine göre, yapılan histolojik değerlendirmeler sonucu HA içeren grupların sayısal olarak daha iyi kemikleştiği ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığını, radyolojik değerlendirmelerde ise kontrol grubuna göre deney gruplarının daha iyi kemikleştiğini, istatistiksel olarak yine anlamlı bir sonuca rastlanmadığını belirtmişlerdir. (Ayanoğlu ve ark. 2015). Çalışmamızın histomorfometrik değerlendirmelerinde kemik iyileşmesi açısından HA6 ve HA2 gruplarının kontrol gruplarına göre daha iyi kemikleştiğini gördük. Bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde ettik. Sakrifikasyon sürelerine göre kemik iyileşmesi değerlendirildiğinde HA6 grubunda HA2 grubuna göre daha iyi kemik iyileşmesi gözlemledik, Ayanoğlu ve ark. ile istatistiksel olarak anlamlı benzer sonuçlar elde ettik.

Chang ve ark. kalvaryal defektlerde HA ve HA ile hidroksiapatit-beta trikalsiyum fosfat biyomateryallerinin kemik iyileşmesini tavşan modelinde incelemişler, HA ile birlikte hidroksiapatit ve beta-trikalsiyum fosfat uygulanan deney grubunun boş bırakılan kontrol ve sadece hidroksiapatit ve beta-trikalsiyum fosfat uyguladıkları deney gruplarına göre anlamlı derecede daha iyi kemikleşme gösterdiklerini bulmuşlardır. Çalışma sonuçlarına göre radyolojik değerlendirme sonuçları histopatolojik değerlendirme sonuçlarını daha geriden takip etmekte, mikroskopik olarak kemik yapımı %30-40'ı geçmeden radyolojik olarak izlenememektedir. (Chang ve ark. 2016). Mermerkaya ve ark. tavşan tibialarında oluşturdukları kırık modelinde, kırık bölgesini HA membran, HA membran ve HA kaynaklı meş ile çevrelemişler ve HA'nın büyüme faktörlerinden zengin yapısının kırık iyileşmesine etkilerini değerlendirmişlerdir. Sintigrafik görüntüleme sonucu HA kaynaklı meş uygulanan grubun sadece HA membran uygulanan gruba göre istatistiksel olarak daha yoğun kemik yapımına sahip olduğunu bulmuşlardır. Çalışmada konvansiyonel radyografik teknikleri tercih etmemelerini bu radyolojik verilerin ancak kemik yoğunluğunun belli bir değerin üzerine çıkınca görüntü vermesine bağlamışlar ve HA'nın bağ dokusu hasarını iyileştirme kapasitesinin çalışma sonuçlarına olumlu etkisinden bahsetmişlerdir (Mermerkaya ve ark. 2016). Çalışmamızın radyolojik verileri değerlendirildiğinde; histomorfometrik olarak yüksek sonuçlar elde ettiğimiz HA6 ve HA2 grubu sonuçlarının radyolojik verilerce desteklenmediğini, Chang ve ark. ve Mermerkaya ve ark. nın çalışmalarıyla benzer şekilde sonuçlandığını gördük. Radyolojik verilerin ancak belirli bir kemik yoğunluğuna ulaştıktan sonra yüksek iyileşme skorları oluşturacağını düşünmekteyiz.

Literatürde hyaluronik asidin kemik iyileşmesinde tek başına kullanıldığı az sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmamızda mevcut literatürlerden farklı olarak HA'nın tek başına, herhangi bir biyomateryal olmaksızın, kırık iyileşmesindeki etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Kim ve ark. köpeklerde yürüttüğü çalışmada önce endo-perio lezyon oluşturmuşlar, daha sonra test ve kontrol grubu oluşturarak HA'nın kemik iyileşmesi üzerine etkilerini gözlemlemişlerdir. Üç aylık iyileşme periyodundan sonra yapılan histomorfometrik analizlerde mineralize kemik hacmi HA grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuş, test grubunda daha yüksek osteoblast sayısı kaydedilmiştir. Çalışmacılar bu sonuçları, iyileşme bölgesinde kemik iyileşmesini geciktirecek herhangi bir greft materyali

olmamasına, HA'nın osteoindüktif etkisine, HA'nın kemik morfojenik protein-2 (BMP-2) ve osteopontin salınımını arttırmasına bağlamışlardır (Kim ve ark. 2016). Bu çalışmayla paralel olarak çalışma modelimizde, HA'yı tek başına kırık hattında kullandığımız için kontrol grubundan daha iyi kemik iyileşmesi skorları gözlemlediğimizi düşünmekteyiz.

Sandhu ve ark. periodontal defektlerde yeni kemik yapımına HA ve PRF'nin etkisini radyolojik ve klinik olarak değerlendirdikleri olgu raporunda, furkasyon defektini yüksek molekül ağırlıklı HA olan Gengigel ile doldurmuşlar, otolog elde ettikleri PRF'yi membran olarak HA'nın üzerine uygulamışlardır. 6. ay kontrollerde cerrahi olarak furkasyon alanını yeniden açmışlar ve radyolojik olarak değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda HA'nın fibrin pıhtı ile etkileşime girerek yara yerinde kemik iyileşmesi için bir iskelet oluşturduğunu; enflamatuvar cevabı salınımını hızlandırdığı proenflamatuvar sitokinler ile hızlandırdığı; kemotaksis, hücre proliferasyonu ve mezenkimal hücre farklılaşmasını hızlandırarak anjiyogenesis safhası üzerinde olumlu etki meydana getirdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca membran olarak kullanılan PRF'nin, kök hücrelerin taşınması ve büyüme faktörlerinin salınımı için yapısal bir iskelet oluşturduğunu belirtmişlerdir. Defekt alanında PRF ve HA'nın birlikte kullanımının, istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek yeni kemik yapımını sağladığını belirtmişlerdir (Sandhu ve ark. 2015). Ancak biz çalışmamızda PRF ve HA materyallerini birlikte kullanmadık.

PRF ve HA'nın kemik iyileşmesinin karşılaştırıldığı literatürde sadece bir çalışma bulunmaktadır. Bunun yanında HA ve PRP'nin etkilerini karşılaştıran, intraartiküler enjeksiyonlarının eklem fonksiyonuna olan etkilerinin değerlendirdiği çok sayıda ortopedi çalışması bulunmaktadır. HA ve PRP'nin etkilerini karşılaştıran bu çalışmalar değerlendirildiğinde; PRP'yi HA'ya üstün gören çalışmalar (Raeissadat ve ark. 2015, Saturveithan ve ark. 2016, Lana ve ark. 2016) bulunmaktadır.

Sindel ve ark., yeni kemik yapımını değerlendirdikleri ve sıçan kalvaryasında gerçekleştirdikleri deneysel çalışmada; demineralize kemik grefti, HA, PRF ve kontrol grupları oluşturmuşlardır. 8 mmlik kritik defekt oluşturdukları çalışma modelinde sıçanları 21. günde sakrifiye etmişler ve histomorfometrik olarak kemik iyileşmesini değerlendirmişlerdir. Toplam yatay uzunluk (TYU), toplam dikey uzunluk (TDU) ve en uzun trabeküler yapı (EUTY) gibi değişkenler histomorfometrik olarak ölçülmüş ve

değerlendirilmiştir. PRF uygulanan grupta bütün değişkenler sayısal olarak HA ve kontrol gruplarından yüksek bulunmuş; EUTY değişkeni PRF grubunda HA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. EUTY değişkenini, immatür kemiğin matür kemiğe dönüşümünü gösteren bir değişken olarak tanımlamışlar ve PRF'nin HA'ya göre daha yüksek matür kemik içermesini, PRF'nin içeriğindeki büyüme faktörlerinin ve bu faktörlerin salınım sürelerinin uzun olmasının ve immatür kemiğin matür kemiğe dönüşümünü hızlandırmasının bu sonuca sebep olduğunu belirtmişlerdir (Sindel ve ark. 2017). Çalışmamızda PRF ve HA'nın kemik iyileşmesini karşılaştırdığımız istatistiksel değerlendirmelere göre; histomorfometrik açıdan istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmasa da sayısal olarak PRF2 grubu HA2 grubundan daha iyi kemikleşmiştir. Radyopak ve radyolüsent hacim ölçümlerini değerlendirdiğimiz istatistiksel analizlerde; HA2 grubunun PRF2 grubuna göre daha iyi kemikleştiği, istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek sonuçlar verdiği bulunmuştur. Bu sonuçlar Sindel ve ark. histomorfometrik olarak erken dönem kemik iyileşmesini değerlendirdikleri çalışmaları ile uyumludur (Sindel ve ark. 2017).

Histomorfometrik olarak PRF6 ve HA6 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmezken; sayısal olarak HA6 grubu PRF6 grubundan daha yüksek ortalamaya sahiptir. Radyopak ve radyolüsent hacim değerlendirmeleri açısından HA6 ve PRF6 grubu ölçümlerinde istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır. Literatürde bu sonucu değerlendirebileceğimiz benzer herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak 2. hafta sonuçları ile farklılık gösteren sonuçlar elde etmemizi; PRF'nin içerdiği büyüme faktörleri ve kırık bölgesinde oluşturduğu üç boyutlu iskelet yapı sayesinde yumuşak kallus oluşumunu hızlandırması ile erken dönem kemik iyileşmesine olan etkisine bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

İleriye yönelik yapılacak olan benzer çalışmalarda, örnek sayısının artırılmasının, elde edilen bulguların istatistiksel olarak anlamlı sonuçlara dönüşmesi yönünde olumlu bir etkiye sahip olacağını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda, endokondral kemikleşmenin intramembranöz kemikleşmeden daha fazla gözlenmesinin; kırık stabilizasyonunda kullandığımız mikro plak ve vida sisteminin, ince yapıda olması ve esnekliği sebebiyle, sakrifikasyon sürelerine kadar günlük hareketlerine devam eden deneklerin tibialarının mikrohareketlere ve mikrovasküler bozukluklara maruz kalması ile açıklanabileceği düşüncesindeyiz.

SONUÇLAR

1. Literatürde erken ve geç dönemde, HA ve PRF materyallerinin kırık iyileşmesi üzerine etkilerinin karşılaştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.
2. Sıçanlarda oluşturduğumuz bilateral tibia kırık modeli denekler tarafından iyi şekilde tolere edilmiş, çalışmamızda denek kaybına rastlanmamıştır.
3. Çoğu çalışmada başka bir biyomateryal ile birlikte kullanılan PRF, kırık hattında tek başına kullanıldığında da erken dönemde yeni kemik yapımına katkı sağlamıştır.
4. Yara iyileşmesinin erken ve geç dönemlerinde; enflamasyon önleyici özelliği, yara bölgesinde fibrozisi azaltması ve büyüme faktörlerinin yara bölgesinde etkinliğini artırması ile kırık iyileşmesinde etkili bir molekül olan HA, kırık hattında tek başına kullanıldığında yeni kemik yapımına katkı sağlamaktadır.
5. PRF ve HA'nın kırık iyileşmesine olan etkileri karşılaştırıldığında, erken dönem kemik iyileşmesinde PRF'nin; geç dönem kemik iyileşmesinde ise; HA'nın diğer gruplara göre daha yüksek oranda iyileşme sonuçları vermiştir.
6. Yeni kemik yapımını değerlendirdiğimiz, histomorfometrik ve radyolojik analizlerde; radyolojik bulguların her iki biyomateryalin değerlendirilmesinde de histomorfometrik bulguları daha geriden takip ettiğini düşünmekteyiz.
7. Daha fazla örnek üzerinde çalışma yapılması durumunda kemik iyileşmesini değerlendirebileceğimiz bazı değişkenler üzerinde istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edebileceğimizi düşünmekteyiz.
8. Çalışmamızın, PRF ve HA'nın kırık iyileşmesi üzerine etkilerinin daha detaylı olarak araştırılacağı çalışmalar için başlangıç olabileceği düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

- Abatangelo, G, O'Regan, M. (1995). Hyaluronan biological role and function in articular joints. *European journal of rheumatology and inflammation*, 15(1): 9-16.
- Acar, A.H., Yolcu, Ü., Gül, M., Keleş, A., Erdem, N.F., Altundağ Kahraman, S. (2015). Micro-computed tomography and histomorphometric analysis of the effects of platelet-rich fibrin on bone regeneration in the rabbit calvarium. *Archives of oral biology*, 60(4): 606-614.
- Ackermann, K.L. (1999). *The Sinus Bone Graft*. Chicago: Quintessence Publishing, 1-45.
- Aggarwal, B.B., Shishodia S., Ashikawa, K., Bharti, A.C. (2002). The role of TNF and its family members in inflammation and cancer: lessons from gene deletion. *Current drug targets. Inflammation and allergy*, 1(4): 327-341.
- Agrawal, M., Agrawal, V. (2014). Platelet Rich Fibrin and its Applications in Dentistry- A Review Article. *National Journal of Medical and Dental Research*, 2:(3): 51-58.
- Akgün, I., Ögüt, T. (2002). Osteoartrit tedavisinde viskosuplementasyonun yeri. *Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği Dergisi*, 1(2): 60-65.
- Al Nashar, A., Ahmad, I., Khedder, Y., Al-Khatib, O. (2017). Evaluation the effect of hyaluronic acid on bone healing process an experimental study in the rabbits. *European journal of pharmaceutical and medical research*, 4(1): 98-101
- Altunatmaz, K. (2004). Kırık iyileşmesinin biyolojisi ve biyolojik osteosentez. *İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 30: 141-147.
- Alzahrani, M.M., Rauch, F., Hamdy, R.C. (2016). Does Sclerostin Depletion Stimulate Fracture Healing in a Mouse Model. *Clinical orthopaedics and related research*, 474(5): 1294–1302.
- Anitua, E., Sanchez, M., Nurden, A.T., Zalduendo, M.M., de la Fuente, M., Azofra, J., Andia, I. (2007). Platelet-released growth factors enhance the secretion of hyaluronic acid and induce hepatocyte growth factor production by synovial fibroblasts from arthritic patients. *Rheumatology*, 46(12): 1769-1772.

- Appel, T.R., Pöttsch, B., Müller, J., Von Lindern, J.J., Berge, S.J., Reich, R.H. (2002). Comparison of three different preparations of platelet concentrates for growth factor enrichment. *Clinical Oral Implants Research*, 13(5): 522–528.
- Arabacı, T., Köse, O., Albayrak, M., Çiçek, Y., Kızıldağ, A. (2017). Advantages of Autologous Platelet-Rich Fibrin Membrane on Gingival Crevicular Fluid Growth Factor Levels and Periodontal Healing: A Randomized Split-Mouth Clinical Study. *Journal of periodontology*, 28: 1-11.
- Ariyoshi, W., Okinaga, T., Knudson, W., Nishihara, T. (2014). High molecular weight hyaluronic acid regulates osteoclast formation by inhibiting receptor activator of NF- κ B ligand through Rho kinase. *Osteoarthritis and Cartilage*, 22: 111-120.
- Ariyoshi, W., Takahashi, T., Kanno, T., Ichimiya, H., Takano, H., Koeski, T., Nishihara, T. (2005). Mechanisms involved in enhancement of osteoclast formation and function by low molecular weight hyaluronic acid. *Journal of Biology and Chemistry*, 280: 18967-18972.
- Aslan, M., Şimşek, G., Dayı, E. (2006). The effect of hyaluronic acid- supplemented bone graft in bone healing: Experimental study in rabbits. *Journal of Biomaterials Applications*, 20: 209-220.
- Ayanoğlu, S., Esenyel, C.Z., Adanır, O., Dedeoğlu, S., İmren, Y., Esen, T. (2015). Effects of hyaluronic acid (Hyalonect) on callus formation in rabbits. *Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği Dergisi*, 49(3): 319-325.
- Bae, M.S., Ohe, J.Y., Lee, J.B., Heo, D.N., Byun, W., Bae, H., Kwon, Y.D., Kwon, I.K. (2014). Photo-cured hyaluronic acid-based hydrogels containing growth and differentiation factor 5 (GDF-5) for bone tissue regeneration. *Bone*, 59: 189-198.
- Balazs, E A. (1986). Nomenclature of hyaluronic acid, *Biochemical Journal*, 235: 903.
- Balazs, EA, Denlinger, JL. (1993). Viscosupplementation: a new concept in treatment of osteoarthritis. *The Journal of Rheumatology*, 20(39): 7-9.
- Ballini, A., Cantore, S., Capodiferro, S., Grassi, F.R. (2009). Esterified hyaluronic acid and autologous bone in the surgical correction of the infra-bone defects. *International Journal of Medical Sciences*, 6: 65-71.

- Bancroft, J.D., Stevens, A. (1996). *Theory and Practice of Histological Techniques*. 4. Edition Churchill Livingstone, New York. 1996; Chapter 15: 309-339.
- Barnes, G.L., Kostneuk, P.J., Gerstenfeld, L.C. and Einhorn, T.A. (1999). Perspective: growth factor regulation of fracture repair. *Journal of Bone and Mineral Research*, 14: 1805-1815.
- Baron, R. (1999). *Anatomy and ultrastructure of bone: Primer on the Metabolic Bone Disease and Disorder of Mineral Metabolism* 4th Ed., Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins.
- Baslarlı, O., Tumer, C., Ugur, O., Vatankulu, B. (2015). Evaluation of osteoblastic activity in extraction sockets treated with platelet-rich fibrin. *Medicina oral, patología oral y cirugía buccal*, 20(1): 111-116.
- Benedetti, L., Cortivo, R., Berti, A., Pea, F., Mazzo, M., Moras, M. (1999). Biocompatibility and biodegradation of different hyaluronan derivatives (HYAFF) implanted in rats. *Biomaterials*, 14: 1154-1160.
- Bloom, W., Fawcett, DW. (1975). *A textbook of histology*. 10th ed, W.B. Saunders Philadelphia, chapter 10.
- Boot, W., Gawlitta, D., Nikkels, P.G.J., Poursan, B., Van Rijen, M.H.P., Dhert, W.J.A., Vogely, H.Ch. (2017). Hyaluronic Acid-Based Hydrogel Coating Does Not Affect Bone Apposition at the Implant Surface in a Rabbit Model. *Clinical orthopaedics and related research*, 475(7): 1911-1919.
- Breiman, L. (2001). Random forests. *Machine learning*, 45(1): 5-32.
- Briteno-Vazquez, M., Santillan-Diaz, G., Gonzalez-Perez, M., Gallego-Izquierdo, T., Pecos-Martin, D., Plaza-Manzano, G., Romero-Franco, N. (2015). Low power laser stimulation of the bone consolidation in tibial fractures of rats: a radiologic and histopathological analysis. *Lasers in medical science*, 30(1): 333-338.
- Burd, D.A.R., Greco, R.M, Regauer, S., Longaker, M.T., Siebert, M.T., Garg, H.G (1991). Hyaluronan and wound healing: a new perspective. *British Journal of Plastic Surgery*, 44: 579-584.
- Burdick, J.A., Glenn, D.P. (2011). Hyaluronic Acid Hydrogels for Biomedical Applications. *Advanced Materials*, 23: 41-56.

- Burg, K.J., Porter, S., Kellam, J.F., (2000). Biomaterial developments for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 21(23): 2347-2359.
- Çağalgil, Ş., Karsan, O., Cerrahoğlu, L., Uğur, M., Süleyman, H., Gündoğdu, C., Erdoğan, F. (2002). Ratlarda oluşturulan deneysel artrit modelinde intraartiküler hyalüronik asit ve metil prednisolon asetatın kıkırdak üzerine etkileri. *Romatizma*, 17(2): 112-117.
- Çakarar, S., Olgaç, V., Aksakallı, N., Tang, A., Keskin, C. (2010). Acceleration of consolidation period by thrombin peptide 508 in tibial distraction osteogenesis in rats. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 48(8): 633-636.
- Çakır, M., Durmuşlar, M.C. (2014). The effect of platelet rich plasma and growth factors on bone healing. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 24(2): 336-342.
- Çakır, O., Kazancıoğlu, H.O., Ak, G. (2011). Diş hekimliğinde hyalüronik asidin yeri. *İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 45(1): 37-41.
- Cao, J.J., Singleton, P.A., Majumdar, S., Boudignon, B., Burghardt, A., Kurimoto, P., Wronski, T.J., Bourguignon, Y.W., Halloran, B.P. (2005). Hyaluronan increases RANKL expression in bone marrow stromal cells through Cd44. *Journal of Bone and Mineral Research*, 20(1): 30-40.
- Casale, M., Moffa, A., Vella, P., Sabatino, L., Capuano, F., Salvinelli, B., Lopez, M.A., Carinci, F., Salvinelli, F. (2016). Hyaluronic acid: Perspectives in dentistry. A systematic review. *International journal of immunopathology and pharmacology*, 29(4): 572-582.
- Caselles, V., Kimmel, R., Sapiro, G. (1997). Geodesic active contours. *International journal of computer vision*, 22(1): 61-79.
- Çetnus, E., Akgümüş, M., Cever, İ., Atay, Ç.F., Bakars, S. (2000). Kırık iyileşmesi üzerine kalsitonin hormonunun etkisi. *Journal of Arthroplasty Arthroscopic Surgery*, 11(2): 179-183.
- Chakkalakal, D.A., Strates, B.S., Mashoof, A.A., Garvin, K.L., Novak, J.R., Fritz, E.D., Mollner, T.J., McGuire, M.H. (1999). Repair of segmental bone defects in the rat: an experimental model of human fracture healing. *Bone*, 25(3): 321-332.

- Champy, M., Lodde, J.P. (1976). Mandibular synthesis. Placement of the synthesis as a function of mandibular stress. *Revue de stomatologie et de chirurgie maxillo-faciale*, 77: 971–976.
- Chang, E.J., Kim, H.J., Ha, J., Kim, H.J., Ryu, J., Park, K.H., Kim, U.H., Lee, Z.H., Kim, H.M., Fisher, D.E., Kim, H.H. (2006). Hyaluronan inhibits osteoclast differentiation via toll-like receptor 4. *Journal of Cell Science*, 120: 166-176.
- Chang, Y.L., Lo, Y.J., Feng, S.W., Huang, Y.C., Tsai, H.Y., Lin, C.T., Fan, K.H., Huang, H.M. (2016). Bone Healing Improvements Using Hyaluronic Acid and Hydroxyapatite/Beta-Tricalcium Phosphate in Combination: An Animal Study. *BioMed research international [electronic resource]*, 8301624.
- Chen, W.H., Lo, W.C., Hsu, W.C., Wei, H.J., Liu, H.Y., Lee, C.H., Tina Chen, S.Y., Shieh, Y.H., Williams, D.F., Deng, W.P. (2014). Synergistic anabolic actions of hyaluronic acid and platelet-rich plasma on cartilage regeneration in osteoarthritis therapy. *Biomaterials*, 35(36): 9599-9607.
- Choi, B.H., Yi, C.K., Yoo, J.H. (2001). Clinical evaluation of 3 types of plate osteosynthesis for fixation of condylar neck fractures. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 59: 734-737.
- Choukroun, J., Diss, A., Simonpieri, A., Girardi M.O., Schoeffler, C., Dohan, S.L., Dohan, A.J.J., Mouhyi, J., Dohan, D.M. (2006a). Platelet rich fibrin: A second generation platelet concentrate. Part V: Histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 101: 299-303.
- Choukroun, J., Diss, A., Simonpieri, A., Girardi M.O., Schoeffler, C., Dohan, S.L., Dohan, A.J.J., Mouhyi, J., Dohan, D.M. (2006b). Platelet rich fibrin: A second generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 101: 56-60.
- Cireli, E. (1999). Genel Histoloji Hücre ve Dokular 6. Baskı, İzmir: Ege Üniversitesi.
- Cortese, A., Caggiano, M., Carlino, F., Pantaleo, G. (2016). Zygomatic fractures: Technical modifications for better aesthetic and functional results in older patients. *International journal of surgery*, 33(1): 9-15.

- Cowin, S.C. (2001). *Bone Mechanics Handbook 2nd Ed.*, Boca, Raton, London, New York, Washington: CRC Press, 1: 1-68.
- Criminisi, A., ve Shotton, J. (2013). *Decision forests for computer vision and medical image analysis*. Springer Science & Business Media.
- Dallari, D., Rani, N., Sabbioni, G., Mazzotta, A., Cenacchi, A., Savarino, L. (2016). Radiological assessment of the PRF/BMSC efficacy in the treatment of aseptic nonunions: A retrospective study on 90 subjects. *Injury*, 47(11): 2544-2550.
- Dedeoğlu, R.K. (2004). DBM ve Beta trikalsiyum fosfatın deneysel kemik defektlerinde ayrı ayrı ve birlikte kullanıldıklarında iyileşme üzerine olan etkilerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi, İstanbul.
- Del Rossi, A.J., Cernaianu, A.C., Vertrees, R.A., Wacker, C.J., Fuller, S.J., Cilley Jr, J.H., & Baldino, W.A. (1990). Platelet-rich plasma reduces postoperative blood loss after cardiopulmonary bypass. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 100(2): 281-286.
- Deniz, E. (2005). Diz osteoartritinde denge-koordinasyon egzersizlerinin, intraartiküler hyalüronik asit uygulamasının ve fizik tedavinin ağrı, fonksiyonel kapasite, proprioseptif bozukluk ve yaşam kalitesi üzerine kısa dönemdeki etkinliklerinin karşılaştırılması. Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Şefliği, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Uzmanlık tezi, İstanbul.
- Denny, H.R., Butterworth, S.A. (2000). *Guide To Canine and Feline Orthopaedic Surgery*. 4th Ed. London: Blackwell Science, 3-17.
- Dicker, K.T., Gurski, L.A., Bhatt, SP., Witt, RL., Jia, X. (2014). Hyaluronan: A simple polysaccharide with diverse biological functions. *Acta Biomaterialia*, 10: 1558-1570.
- Dietz, G., Bartholmes, P. (1998). *Calcium Hydroxide and Bone Regeneration. Odontological Aspects of Induced Osteogenesis in Experimentat and Clinical Practice*. München: ISBN 3-924943-07-9.

- Doğan, E., Dursun, E., Tosun, E., Bilgic, E., Akman, A.C., Orhan, K., Celik, H.H., Korkusuz, P., Caglayan, F. (2017). Evaluation of hyaluronic matrix efficacy in sinus augmentation: a randomized-controlled histomorphometric and micro-computed tomography analysis. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 46(7): 931-937.
- Dohan, D.M, Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S.L., Dohan, A.J., Mouhyi, J., Gogly, B. (2006a). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 101(3): 45-50.
- Dohan, D.M, Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S.L., Dohan, A.J., Mouhyi, J., Gogly, B. (2006b). Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 101(3): 37-44.
- Dohan, D.M, Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S.L., Dohan, A.J., Mouhyi, J., Gogly, B. (2006c). Platelet rich fibrin: a second generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a few feature for platelet concentrates? *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 101: 51-55.
- Dohan, D.M., Del Corso, M., Diss, A., Mouhyi, J., Charrier, J.B. (2011). Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane. *Annals of Maxillofacial Surgery*, 1: 53-57.
- Dohan, D.M., Diss, A., Odin, G., Doglioli, P., Hippolyte, M.P., Charrier, J.B. (2009) In vitro effects of Choukroun's PRF (platelet rich fibrin) on human gingival fibroblasts, dermal prekeratinocytes, preadipocytes and maxillofacial osteoblasts in primary cultures. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 108: 341-352.
- Du, J., Mei, S., Guo, L., Su, Y., Wang, H., Liu, Y., Zhao, Z., Wang, S., Liu, Y. (2017). Platelet-rich fibrin/aspirin complex promotes alveolar bone regeneration in periodontal defect in rats. *Journal of periodontal research*. doi: 10.1111/jre.12485.
- Duan, X., Sandell, L.J., Chinzei, N., Holguin, N., Silva, M.J., Schiavinato, A., Rai, M.F. Therapeutic efficacy of intra-articular hyaluronan derivative and platelet-rich

plasma in mice following axial tibial loading. *Public Library of Science one*, 13;12(4):e0175682.

Dülgeroğlu, T.C., Metineren, H. (2017). Evaluation of the Effect of Platelet-Rich Fibrin on Long Bone Healing: An Experimental Rat Model. *Orthopedics*, 40(3): 479-484.

Ellis, E. (1999). Treatment method for fractures of mandibular angle. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 28: 243-252.

Eppley, B.L., Prevel, C.D. (1997). Nonmetallic fixation in traumatic midfacial fractures. *Journal of Craniofacial Surgery*, 8: 103-109.

Eren, S. (2016). Greft uygulanan kemik defektlerinde hyaluronik asidin kemik iyileşmesi üzerine etkisinin deneysel olarak araştırılması. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi, İstanbul.

Erkoçak, A. (1980). Genel Histoloji. Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, 236-257.

Eşrefoğlu, M. (2004). Genel ve Özel Histoloji. Malatya, Pelikan Yayıncılık, ISBN: 9789758778386.

Fedok, F.G., Van Kooten, D.W., DeJoseph, L.M., McGinn, J.D., Sobota, B., Levin, R.J., Jacobs, C.R. (1998). Plating techniques and plate orientation in repair of mandibular angle fractures: an in vitro study. *Laryngoscope*, 108: 1218-1224.

Feng, G., Chang-Qing, Z., Yi-Min, C., Xiao-Lin, L. (2015). Systemic administration of sclerostin monoclonal antibody accelerates fracture healing in the femoral osteotomy model of young rats. *International immunopharmacology*, 24: 7–13.

Fijnheer, R., Pietersz, R.N., Korte, D.D., Gouwerok, C.W., Dekker, W.J., Reesink, H.W., Roos, D. (1990). Platelet activation during preparation of platelet concentrates: a comparison of the platelet-rich plasma and the buffy coat methods. *Transfusion*, 30(7): 634-638.

Fini, M., Motta, A., Torricelli, P., Giavaresi, G., Nicoli Aldini, N., Tschon, M., Migliaresi, C. (2005). The healing of confined critical size cancellous defects in the presence of silk fibroin hydrogel. *Biomaterials*, 26(17): 3527-3536.

- Fleisch, H. (1997). Bisphosphonates in Bone Diseases. From the Laboratory to the Patient. 3rd ed, Parthenon Publishing Group, New York, chap 1.
- Fraser, J.R., Laurent, T.C., Laurent, U.B. (1997). Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *Journal of internal medicine*, 242(1): 27-33.
- Freeman, G.H. and Halton, J.H. (1951). Note on an exact treatment of contingency, goodness of fit and other problems of significance. *Biometrika*, 38: 141-149.
- Fung, C.H., Cheung, W.H., Pounder, N.M., de Ana, F.J., Harrison, A., Leung, K.S. (2014). Investigation of rat bone fracture healing using pulsed 1.5 MHz, 30 mW/cm(2) burst ultrasound - Axial distance dependency. *Ultrasonics*, 54: 850–859.
- Gartner L.P., James L.H. (2000). *Color Atlas of Histology*, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Chap 4: 73.
- Gehron-Robey, P., Boskey, A.L. (1996). *The Biochemistry Of Bone*, In Osteoporosis, Marcus, E, Feldman, D., and Kelsey, J., Editions., Academic Press, San Diego, chap 4.
- Gibbs, D.M., Black, C.R., Dawson, J.I., Oreffo, R.O. (2016). A review of hydrogel use in fracture healing and bone regeneration. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, 10(3): 187-198.
- Giordano, V., Albuquerque, R.P., Amaral, N.P., Chame, C.C., Souza, F., Apfel, M.I.R. (2012). Supplementary vitamin C does not accelerate bone healing in a rat tibia fracture model. *Acta ortopedica brasileira*, 20(1): 10–12.
- Göçer, H., Onger, M.E., Kuyubaşı, N., Çıraklı, A., Kır, M.C. (2016). The effect of teicoplanin on fracture healing: An experimental study. *Joint Diseases and Related Surgery*, 27(1): 16-21.
- Göçmen, G., Aktop, S., Tüzüner, B., Göker, B., Yarat, A.. (2017). Effects of hyaluronic acid on bleeding following third molar extraction. *Journal of applied oral science*, 25(2): 211-216.
- Göçmen, G., Atalı, O., Aktop, S., Sipahi, A., Gönül, O. (2016). Hyaluronic Acid Versus Ultrasonic Resorbable Pin Fixation for Space Maintenance in Non-Grafted Sinus Lifting. *Journal of oral and maxillofacial surgery*, 74(3): 497-504.

- Göçmen, G., Gönül, O., Oktay, N.S., Yarat, A., Göker, K. (2015). The antioxidant and anti-inflammatory efficiency of hyaluronic acid after third molar extraction. *Journal of cranio-maxillo-facial surgery*,43(7): 1033-1037
- Gordon, B. (1998). *The chemistry and Biology of Mineralized Tissue*. New York: Gordon and Breach, chap 2.
- Griffin, X.L., Smith, C.M., Costa, M.L. (2009). The clinical use of platelet-rich plasma in the promotion of bone healing: a systematic review. *British journal of accident surgery*, 40(2): 158-162.
- Güven, G. (2012). Hemostatik ajan olan Ankaferd Blood Stoper (ABS)' ın kemik ve yumuşak doku yarası üzerine erken ve geç dönem etkilerinin histopatolojik olarak araştırılması. Doktora tezi.
- Güven, Y. (1988). Kıkırdak, Kemik ve Diş Biyokimyası. İ. Ü. Dişhekimliği Fakültesi Biyokimya Bilim Dalı Ders notları.
- Guyton, A.C., Hall J.E. (1996). *Tıbbi Fizyoloji*. 9.baskı, Nobel.
- Güzel, Y., Karalezli, N., Bilge, O., Kacira, B.K., Esen, H., Karadag, H., Toker, S., Göncü, R.G., Doral, M.N. (2015). The biomechanical and histological effects of platelet-rich plasma on fracture healing. *Knee surgery, sports traumatology, arthroscopy*, 23(5): 1378-1383.
- Hall, B.K., Miyake, T. (1995). Divide, accumulate, differentiate: cell condensation in skeletal development revisited. *The International Journal of Developmental Biology*, 39: 881-893.
- Harry, L.E., Paleolog, E.M. (2003) From the cradle to the clinic: VEGF in developmental, physiological, and pathological angiogenesis. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews*, 69(4): 363-374.
- Harvey, E.J., Giannoudis, P.V., Martineau, P.A., Lansdowne, J.L., Dimitriou, R., Moriarty, T.F. (2011). Preclinical Animal Models in Trauma Research. *Journal of Orthopaedic Trauma*, 25: 488-493.
- Haug, R.H., Fattahi, T.T., Goltz, M. (2001). A biomechanical evaluation of mandibular angle fracture plating techniques. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 59: 1199-1210.

- Hayashi, Y., Kobayashi, M., Kuwata, H., Atsumi, G., Deguchi, K., Feng Wei, X., Kudo, I., Hasegawa, K. (2000). Interferon gamma and interleukin 4 inhibit interleukin 1 beta induced delayed prostaglandin E(2) generation through suppression of cyclooxygenase- 2 expression in human fibroblasts. *Cytokine*, 12: 603- 612.
- He, Y., Chen, J., Huang, Y., Pan, Q., Nie, M. (2017). Local Application of Platelet-Rich Fibrin During Lower Third Molar Extraction Improves Treatment Outcomes. *Journal of cranio-maxillofacial surgery*, doi: 10.1016/j.joms.2017.05.034.
- Heinrich, P.C., Behrmann, I., Haan, S., Hermanns, H.M., Muller-Newen, G., Schaper, F. (2003). Principles of interleukin (IL) 6 type cytokine signaling and its regulation. *The Biochemical journal*, 374(1): 1-20.
- Henkel, j., Woodruff, M.A., Epari, D.R., Steck, R., Glatt, V., Dickinson, I.C., Choong, P.F., Schuetz, M.A., Hutmacher, D.W. (2013). Bone Regeneration Based on Tissue Engineering Conceptions – A 21st Century Perspective. *Bone research*, Sep 25;1(3): 216-248.
- Heybeli, N., Yesildag, A., Oyar, O., Gulsoy, U.K., Tekinsoy, M.A., Mumcu, E.F. (2002). Diagnostic Ultrasound Treatment Increases the Bone Fracture–Healing Rate in an Internally Fixed Rat Femoral Osteotomy Model. *Journal of Ultrasound in Medicine*, 21 (12): 1357-1363.
- Hollinger, J.O., Kleinschmidt, J.C. (1990). The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. *The Journal of craniofacial surgery*, 1(1): 60-68.
- <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>
- Huang, L., Cheng, Y.Y., Koo, P.L., Lee, K.M., Qin, L., Cheng, J.C., Kumta SM. (2003). The effect of hyaluronan on osteoblast proliferation and differentiation in rat calvarial-derived cell cultures. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 66(4): 880-884.
- Hunt, D.R., Jovanovic, S.A., Wikesjö, U.M., Wozney, J.M., Bernard, G.W. (2001). Hyaluronan supports recombinant human bone morphogenetic protein-2 induced bone reconstruction of advanced alveolar ridge defects in dogs. A pilot study. *Journal of periodontology*, 72(5): 651-658.

- Iizuka, T., Lindqvist, C. (1992). Rigid internal fixation of fractures: an analysis of 270 fractures treated using the AO/ASIF method. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 21: 65-69.
- İnal, S., Kabay, S., Çaycı, M.K., Kuru, H.I., Altıkat, S., Akkaş, G., Değer, A. (2014). Comparison of the effects of dexketoprofen trometamol, meloxicam and diclofenac sodium on fibular fracture healing, kidney and liver: an experimental rat model. *British journal of accident surgery*, 45(3): 494-500.
- İşler, S.C., Demircan, S., Çakarer, S., Çebi, Z., Keskin, C., Soluk, M. (2010). Effects of folk medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper® on early bone healing. *Journal of Applied Oral Science*, 18(4): 409-414
- Jee W.S.S. (2001). *Integrated Bone Tissue Physiology: Anatomy and Physiology*. In: Cowin SC editor. *Bone Mechanics Handbook*. 2nd ed., Florida: CRC Press, 1-68.
- Jentsch, H., Pomowski R., Kundt, G., Gocke, R. (2003). Treatment of gingivitis with hyaluronan. *Journal of Clinical Periodontology*, 30: 159–164
- Jones, A.L. (2005). Recombinant human bone morphogenic protein-2 in fracture care. *Journal of Orthopaedic Trauma*, 19: 23-25.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J. (2003). *Basic Histology* 10th ed., New York: McGraw-Hill, 144-146.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J. (2006). *Kemik. İçinde: Temel Histoloji*. Yener Aytekin, Seyhun Solakoğlu Editörler. 10. Baskı, İstanbul: Nobel Matbaacılık, 135-145.
- Junquiera, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O. (1998). *Temel Histoloji*. 8.Baskı. İstanbul: Barış Kitabevi Ltd. Şti. 132-151.
- Kamimura, D., Ishihara, K., Hirano, T. (2003). IL 6 signal transduction and its physiological roles: the signal orchestration model. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, 149: 1-38.
- Kapustecki, M., Niedzielska, I., Borgiel-Marek, H., Rózanowski, B. (2016). Alternative method to treat oroantral communication and fistula with autogenous bone graft and platelet rich fibrin. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal*, 21(5): 608-613.

- Kar, N. (1997). Ekstremitte Travmaları (Acil Yaklaşım)", İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Eğitim Etkinlikleri Acil Hekimlik Sempozyumu, İstanbul, 16-17 Ekim.
- Kay, N.E., Pittner, B.T. (2003). IL-4 biology: impact on normal and leukemic CLL B cells. *Leukemia & Lymphoma*, 44 (6): 897-903.
- Keegan, A.D., Zamorano, J. (1998). Regulation of gene expression, growth, and cell survival by IL 4: contribution of multiple signaling pathways. *Cell Research*, 8(1): 1-13.
- Kekilli, E., Yağmur, C., Ertem, K., Türkbilen, B. (2005). Kemik greftlerinde nükleer tıp uygulamaları. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Science*, 25: 261-279.
- Kerimoğlu, G., Yuluğ, E., Kerimoğlu, S., Çıtlak, A. (2013). Effects of leptin on fracture healing in rat tibia. *Joint Diseases and Related Surgery*, 24(2): 102-107.
- Kerimoğlu, S., Livaoğlu, M., Sönmez, B., Yuluğ, E., Aynacı, O., Yazar, S. (2009). Effects of human amniotic fluid on fracture healing in rat tibia. *The Journal of surgical research*, 152(2): 281-287.
- Kierszenbaum, A.L. (2002). *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology*, 1st ed. Mosby Inc., St. Louis, Chap 5: 131.
- Kılıçoğlu, S.S. (2002). Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 55: 143-150.
- Kim, J.J., Song, H.Y., Ben Amara, H., Kyung-Rim, K., Koo, K.T. (2016). Hyaluronic Acid Improves Bone Formation in Extraction Sockets With Chronic Pathology: A Pilot Study in Dogs. *Journal of periodontology*, 87(7): 790-795.
- Kim, J.M., Kim, M.H., Kang, S.S., Kim, G., Choi, S.H. (2014). Comparable bone healing capacity of different bone graft matrices in a rabbit segmental defect model. *Journal of Veterinary Science*, 15(2): 289–295.
- Knapen, M., Gheldof, D., Drion, P., Layrolle, P., Rompen, E., Lambert, F. (2015). Effect of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) on bone regeneration: a study in rabbits. *Clinical implant dentistry and related research*, 17(1): 143-152.
- Koçyiğit, İ.D., Tunalı, M., Özdemir, H., Kartal, Y., Süer, B.T., (2012). İkinci nesil trombosit konsantrasyonunun klinik uygulamaları, *Cumhuriyet Dental Journal*, 15: 279-287.

- Kökdere, N.N., Baykul, T., Findik, Y. (2015). The use of platelet-rich fibrin (PRF) and PRF-mixed particulated autogenous bone graft in the treatment of bone defects: An experimental and histomorphometrical study. *Dental research journal*, 12(5): 418-424.
- Kopp, S., Carlsson, G.E., Haraldson, T., Wenneberg, B. (1987). Long-term effect of intra-articular injections of sodium hyaluronate and corticosteroid on temporomandibular joint arthritis. *Journal of oral and maxillofacial surgery*, 45(11): 929-935.
- Kumar Patel, G., Kumar Gujjari, S., Kumar, S.C. (2017). Platelet Rich Fibrin (PRF) in Regeneration of Intra-bony Defects- A Randomized Controlled Trial. *Journal of periodontology*, 18: 1-14.
- Kumar, K.A., Rao, J.B., Pavan Kumar, B., Mohan, A.P., Patil, K., Parimala, K. (2013). A prospective study involving the use of platelet rich plasma in enhancing the uptake of bone grafts in the oral and maxillofacial region. *Journal of maxillofacial and oral surgery*, 12(4): 387-394.
- Kumar, R.V., Shubhashini, N. (2013). Platelet rich fibrin: a new paradigm in periodontal regeneration. *Cell and tissue banking*, 14(3): 453-463.
- Kutlubay, Z., Engin, B., Serdaroğlu, S., Tüzün, Y. (2011). Hyalüronik asit dolgular. *Dermatoz*, 2(1): 255-260
- Kwan Tat, S., Padrines, M., Theoleyre, S., Heymann, D., Fortun, Y. (2004). IL 6, RANKL, TNF alpha/IL 1: interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 15: 49-60.
- Lacoste, E., Martineau, I., Gagnon, G. (2003). Platelet concentrates: effects of calcium and thrombin on endothelial cell proliferation and growth factor release. *Journal of periodontology*, 74(10): 1498-1507.
- Lana, J.F., Weglein, A., Sampson, S.E., Vicente, E.F., Huber, S.C., Souza, C.V., Ambach, M.A., Vincent, H., Urban-Paffaro, A., Onodera, C.M., Annichino-Bizzacchi, J.M., Santana, M.H., Belangero, W.D. (2016). Randomized controlled trial comparing hyaluronic acid, platelet-rich plasma and the combination of both in the treatment of mild and moderate osteoarthritis of the knee. *Journal of stem cells and regenerative medicine*, 12(2): 69-78.

- Laurent, P.C. (1987). Biochemistry of hyaluronan. *Acta oto-laryngologica. Supplementum*, 442: 7-24.
- Laurent, T.C., Robert, J., Fraser, E. (1992). Hyaluronan. *FASEB Journal*, 6: 2397-2404.
- Lee, E.H., Kim, J.Y., Kweon, H.Y., Jo, Y.Y., Min, S.K., Park, W.Y., Choi, J.Y., Kim, S.G., (2010). A combination graft of low molecular weight silk fibroin with Choukroun platelet rich fibrin for rabbit calvarial defect. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 109(5): 33-38.
- Lee, J.W., Kim, S.G., Kim, J.Y., Lee, Y.C., Choi, J.Y., Dragos, R., Rotaru, H. (2012). Restoration of a peri-implant defect by platelet-rich fibrin. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*, 113(4): 459-463.
- Leeson, T.S., Leeson, R.C. (1981). *Histology*. 4th ed, Philadelphia, London, Toronto: W.B.Saunders Company.
- Leisner, S., Shahar, R., Aizenberg, I., Lichovsky, D., Levin-Harrus, T. (2002). The effect of short-duration, high-intensity electromagnetic pulses on fresh ulnar fractures in rats. *Journal of veterinary medicine. A, Physiology, pathology, clinical medicine*, 49: 33-37.
- Li, H., Ge, Y., Zhang, P., Wu, L., Chen, S. (2012). The effect of layer-by-layer chitosan-hyaluronic acid coating on graft-to-bone healing of a poly(ethylene terephthalate) artificial ligament. *Journal of biomaterials science. Polymer edition*, 23(1-4): 425-438.
- Li, Q., Pan, S., Dangaria, S.J., Gopinathan, G., Kolokythas, A., Chu, S., Geng, Y., Zhou, Y., Luan, X. (2013). Platelet-rich fibrin promotes periodontal regeneration and enhances alveolar bone augmentation. *BioMed research international*, 2013:638043.
- Li, Q., Reed, D.A., Min, L., Gopinathan, G., Li, S., Dangaria, S.J., Li, L., Geng, Y., Galang, M.T., Gajendrareddy, P., Zhou, Y., Luan, X., Diekwisch, T.G. (2014). Lyophilized platelet-rich fibrin (PRF) promotes craniofacial bone regeneration through Runx2. *International journal of molecular sciences*, 15(5): 8509-8525.

- Lichtenfels, M., Colome, L., Braga-Silva, J. (2013). Effect of Platelet Rich Plasma and Platelet Rich Fibrin on sciatic nerve regeneration in a rat model. *Microsurgery*, 33(5): 383-390.
- Lienemann, P.S., Lutolf, M.P., Ehrbar, M. (2012). Biomimetic hydrogels for controlled biomolecule delivery to augment bone regeneration. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64(12): 1078-1089.
- Ling, H., Lin, Y., Hu, X., Zhang, Y., WU, H., (2009). A comparative study of platelet rich fibrin and platelet rich plasma on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblast in vitro. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 108: 707-713.
- Lingeshwaran, S., Theyagarajan, R., Namasivayam, A. (2017). Staged Approach for Advanced Gingival Recession: Free Gingival Autograft Followed by Coronally Advanced Flap with PRF Membrane. *Journal of clinical and diagnostic research*, 11(5): doi: 10.7860/jcdr/2017/25458.9768.
- Liu, J., Song, W., Yuan, T., Xu, Z., Jia, W., Zhang, C. (2014). A comparison between platelet-rich plasma (PRP) and hyaluronate acid on the healing of cartilage defects. *Public Library of Science one*, 12;9(5): 97293.
- Luo, N., Knudson, W., Askew, E.B., Veluci, R., Knudson, C.B. (2014). CD44 and Hyaluronan promote the bone morphogenetic protein 7 signaling response in murine chondrocytes. *Arthritis & Rheumatology*, 66(6): 1547-1558.
- Lynch, S.E., Genco, R.J., Marx, R.E. (1999). *Tissue Engineering*. Quintessence books, Illinois, 217-226.
- Malhotra, A., Pelletier, M.H., Yu, Y., Walsh, W.R. (2013). Can platelet-rich plasma (PRP) improve bone healing? A comparison between the theory and experimental outcomes. *Archives of orthopaedic and trauma surgery*, 133(2): 153-165.
- Marmotti, A., Bruzzone, M., Bonasia, D.E., Castoldi, F., Von Degerfeld, M.M., Bignardi, C., Mattia, S., Maiello, A., Rossi, R., Peretti, G.M. (2013). Autologous cartilage fragments in a composite scaffold for one stage osteochondral repair in a goat model. *European cells and materials*, 4(26): 15-31.

- Marx, R.E., Carlson, E.R., Eichstaed, R.M., Schimmele, S.R., Strauss, J.E., Georgeff, K.R. (1998). Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 85: 638-646.
- Maus, U., Andereya, S., Gravius, S., Siebert, C.H., Ohnsorge, J.A.K., Niedhart, C. (2008). Lack of Effect on Bone Healing of Injectable BMP-2 Augmented Hyaluronic Acid. *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery*, 128(12): 1461-1466.
- Mehta, M., Schell, H., Schwarz, C., Peters, A., Schmidt-Bleek, K., Ellinghaus, A., Bail, H.J., Duda, G.N., Lienau, J. (2011). A 5-mm femoral defect in female but not in male rats leads to a reproducible atrophic non-union. *Archives of orthopaedic and trauma surgery*, 131(1): 121-129.
- Meran, S., Thomas, D.W., Stephens, P., Enoch, S., Martin, J., Steadman, R., Phillips, A.O. (2008). Hyaluronan facilitates transforming growth factor-beta1-mediated fibroblast proliferation. *The Journal of Biological Chemistry*, 283: 6530-6545.
- Mermerkaya, M.U., Doral, M.N., Karaaslan, F., Huri, G., Karaçavuş, S., Kaymaz, B., Alkan, E. (2016). Scintigraphic evaluation of the osteoblastic activity of rabbit tibial defects after HYAFF11 membrane application. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, doi: 10.1186/s13018-016-0393-y.
- Meshram, V.S., Lambade, P.N., Meshram, P.V., Kadu, A., Tiwari, M.S. (2015). The autologous platelet rich fibrin: A novel approach in osseous regeneration after cystic enucleation: A pilot study. *Indian journal of dental research*, 26(6): 560-564.
- Michelet, F.X., Dessus, B., Benoit, J.P., Moll, A. (1973). Mandibular osteosynthesis without blocking by screwed miniature stellite plates. *Revue de Stomatologie et de Chirurgie Maxillo-faciale*, 74: 239-245.
- Miles, J.D., Weinhold, P., Brimmo, O., Dahners, L. (2011). Rat tibial osteotomy model providing a range of normal to impaired healing. *Journal of orthopaedic research*, 29(1): 109-115.
- Misch, C.E. (2007). *Contemporary implant dentistry*. Elsevier Health Sciences.

- Mooren, R.E., Dankers, A.C., Merckx, M.A., Bronkhorst, E.M., Jansen, J.A., Stoeltinga, P.J. (2010). The effect of platelet-rich plasma on early and late bone healing using a mixture of particulate autogenous cancellous bone and Bio-Oss: an experimental study in goats. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 39(4): 371-378.
- Mukerji, R., Mukerji, G., Mcgurk, M. (2006). Mandibular fractures: Historical perspective. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 44: 222-228.
- Nacopoulos, C., Dontas, I., Lelovas, P., Galanos, A., Vesalas, A.M., Raptou, P., Mastoris, M., Chronopoulos, E., Papaioannou, N. (2014). Enhancement of bone regeneration with the combination of platelet-rich fibrin and synthetic graft. *The Journal of craniofacial surgery*, 25(6): 2164-2168.
- Naik, B., Karunakar, P., Jayadev, M., Rahul Marshal, V. (2013). Role of Platelet rich fibrin in wound healing: A critical review. *Journal of conservative dentistry*, 16(4): 284-293.
- Necas, J., Bartosikova, L., Brauner P., Kolar J. (2008). Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. *Veterinarni Medicina*, 53(8): 397-411.
- Nevovius, E., Lemberger, M., Docherty Skogh, A.C., Hillborn, J., Engstrand, T. (2013). Alveolar bone healing accompanied by severe swelling in cleft children treated with bone morphogenetic protein-2 delivered by hydrogel. *Journal of plastic, reconstructive, and aesthetic surgery*, 66(1): 37-42.
- Niederdelmann, H., Schilli, W., Duker, J., Akuamo-Boateng, E. (1976). Osteosynthesis of mandibular fractures using lag screws. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 5: 117-121.
- Nishimoto, N., Kishimoto, T. (2004). Inhibition of IL 6 for the treatment of inflammatory diseases. *Current Opinion in Pharmacology*, 4(4): 386-391.
- Nizam, N., Eren, G., Akcalı, A., Donos, N. (2017). Maxillary sinus augmentation with leukocyte and platelet-rich fibrin and deproteinized bovine bone mineral: A split-mouth histological and histomorphometric study. *Clinical oral implants research*, doi: 10.1111/clr.13044.

- Noble, P.W., Liang, J., Jiang, D. (2011). Hyaluronan as an immune regulatory in human diseases. *Physiological Reviews*, 91(1): 221-264.
- Oakes, D.A., Lee, C.C., Lieberman, J.R. (2003). An evaluation of human demineralized bone matrices in a rat femoral defect model. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 413: 281-290.
- Ohba, S., Wang, W., Itoh, S., Takagi, Y., Nagai, A., Yamashita, K. (2012). Efficacy of platelet-rich plasma gel and hyaluronan hydrogel as carriers of electrically polarized hydroxyapatite microgranules for accelerating bone formation. *Journal of biomedical materials research*, 100(11): 3167-3176.
- Okuda, K., Kawase, T., Momose, M., Murata, M., Saito, Y., Suzuki, H., Wolff, L.F., Yoshie, H. (2003). Platelet-rich plasma contains high level of platelet-derived growth factor and transforming growth factor-B and modulates the proliferation of periodontally related cells in vitro. *Journal of periodontology*, 74: 849-857.
- Oliveira, P., Sperandio, E., Fernandes, K.R., Pastor, F.A.C., Nonaka, K.O., Renno, C.M. (2011). Comparison of the effects of low-level laser therapy and low-intensity pulsed ultrasound on the process of bone repair in the rat tibia. *Brazilian Journal of Physical Therapy*, 15(3): 200-205.
- Öncü, E., Bayram, B., Kantarci, A., Gülsever, S., Alaaddinoğlu, E.E. (2016). Positive effect of platelet rich fibrin on osseointegration. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal*, 21(5): 601-607.
- Öner, M., Dülgeroğlu, T.C., Karaman, I., Güney, A., Kafadar, I.H., Erdem, S. (2015). The Effects of Human Amniotic Fluid and Different Bone Grafts on Vertebral Fusion in an Experimental Rat Model. *Current therapeutic research*, 77: 35–39.
- Orringer, J.S., Barcelona, V., Buchman, S.R. (1998). Reasons for removal of rigid internal fixation devices in craniofacial surgery. *Journal of Craniofacial Surgery*, 9: 40-44.
- Oryan, A., Monazzah, S. and Bigham-Sadegh, A. (2015). Bone Injury and Fracture Healing Biology. *Biomedical and Environmental Science*, 28(1): 57-71.

- Öztürk, M.K., Bozkurt, F.Y. (2005). Periodontal rejenerasyonda yeni bir yaklaşım: Trombositten zengin plazma, Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 8: 119-127.
- Paiva, A.G., Yanagihara, G.R., Macedo, A.P., Ramos, J., Issa, J.P.M., Shimano, A.C. (2016). Analysis of fracture healing in osteopenic bone caused by disuse: experimental study. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 49(3).
- Paker, S. (1993). *Histoloji*. Baskı 2; Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı Yayın no: 32. Basımevi.
- Parfitt, A.M. (1995). Problems in the application of in vitro systems to the study of human bone remodelling. *Calcified Tissue International*, 56(1): 5-7.
- Patterson, J., Siew, R., Herring, S.W., Lin, A.S.P., Guldberg, R., Stayton, P.S. (2010). Hyaluronic acid hydrogels with controlled degradation properties for oriented bone regeneration. *Biomaterials*, 31(26): 6772-6781.
- Paul A. Yushkevich, Joseph Piven, Heather Cody Hazlett, Rachel Gimpel Smith, Sean Ho, James C. Gee, and Guido Gerig. (2006). User-guided 3D active contour segmentation of anatomical structures: Significantly improved efficiency and reliability. *Neuroimage*, 1;31(3): 1116-1128.
- Pavasant, P., Shizari, T.M., Underhill, C.B. (1994). Distribution of hyaluronan in the epiphysial growth plate: turnover by CD44-expressing osteoprogenitor cells. *Journal of Cell Science*, 107: 2669-2677.
- Petridis, X., Diamanti, E., Trigas, G.Ch., Kalyvas, D., Kittraki, E. (2015). Bone regeneration in critical-size calvarial defects using human dental pulp cells in an extracellular matrix-based scaffold. *Journal of cranio-maxillofacial surgery*, 43(4):483-490.
- Pierce, G.F., Tarpley, J., Yanagihara, D., Deuel, T.F. (1992). PDGF, TGF-B1, and basic Fibroblast Growth Factor in dermal wound healing. *American Journal of Pathology*, 140: 1375-1388.
- Pilloni, A., Bernard, G.W. (1998). The effect of hyaluronan on mouse intramembranous osteogenesis in vitro. *Cell and Tissue Research*, 294: 323-333.

- Pirnazar, P., Wolinsky, L., Nachnani, S., Haake, S., Pilloni, A. Bernard, G.W. (1997). Bacteriostatic Effects of Hyaluronic Acid, *Journal of Periodontology*, 70(4): 370–374.
- Prein, J., Berton, A.R. (1998). Scientific and technical Background. In: *Manual of Internal Fixation in the Cranio-Facial Skeleton*, Ed.: Prein, J., Berlin, Springer-Verlag Comp. 1st Ed. Chap 1.
- Prince, C.W. (2004). Roles of hyaluronan in bone resorption. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 5(12): 1-3.
- Pripatnanont, P., Nuntanaranont, T., Vongvatcharanon, S., Phurisat, K. (2013). The primacy of platelet-rich fibrin on bone regeneration of various grafts in rabbit's calvarial defects. *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery*; 41(8): 191–200.
- Radhi, I.H., Al-Ghaban, N.M. (2015). Evaluation the effect of hyaluronic acid on bone healing process in rabbits (Immunohistochemical study for TGF- β). *Journal of College of Dentistry of University of Baghdad*, 27(1): 111-116.
- Radice, M., Brun, P., Cortivo, R., Scapinelli, R., Battaliard, C., Abatangelo, G. (2000). Hyaluronan- based biopolymers as delivery vehicles for bone-marrow-derived mesenchymal progenitors. *Journal of biomedical materials research*, 50: 101-109.
- Raeissadat, S.A., Rayegani, S.M., Hassanabadi, H., Fathi, M., Ghorbani, E., Babae, M., Azma, K. (2015). Knee Osteoarthritis Injection Choices: Platelet- Rich Plasma (PRP) Versus Hyaluronic Acid (A one-year randomized clinical trial). *Arthritis and musculoskeletal disorders*, 7(8): 1-8.
- Raja, S.V., Naidu, M.E. (2008) Platelet-rich fibrin: evolution of a second-generation platelet concentrate. *Indian Journal of Dental Research*, 19: 42–46.
- Rampichová, M., Buzgo, M., Křížková, B., Prosecká, E., Pouzar, M., Štrajtová, L. (2013). Injectable hydrogel functionalised with thrombocyte-rich solution and microparticles for accelerated cartilage regeneration. *Acta chirurgiae orthopaedicae et traumatologiae Cechoslovaca*, 80(1): 82-88.
- Ren, Y., Van Maltha, J.C., Kuijpers-Jagtman, A.M. (2004). The rat as a model for orthodontic tooth movement-a critical review and proposed solution. *European journal of orthodontics*, 26: 483-490.

- Renton, T.F., Wiesenfeld, D. (1996). Mandibular fracture osteosynthesis: a comparison of three techniques. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 34: 166-173.
- Rhodes, N.P., Hunt, J.A., Longinotti, C., Pavesio, A. (2010). In Vivo Characterization of Hyalonect, a Novel Biodegradable Surgical Mesh. *Journal of Surgical Research*, 168(1): 31-38.
- Rodriguez, R., Kondo, H., Nyan, M., Hao, J., Miyahara, T., Ohya, K., Kasugai, S. (2011). Implantation of green tea catechin α -tricalcium phosphate combination enhances bone repair in rat skull defects. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterial*, 98(2): 263-271.
- Rowe, N.L. (1971). The history of the treatment of maxillo-facial trauma. *Annals of the Royal College of Surgeons of England*, 49: 329–349.
- Ruhrberg, C. (2003) Growing and shaping the vascular tree: multiple roles for VEGF. *Bioessays*, 25(11): 1052-1060.
- Saltz, R., Sierra, D., Feldman, D., Saltz, M.B., Dirrick, A., Vascomez, L.O. (1991). Experimental and clinical applications of fibrin glue. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 88: 1005-1017.
- Saluja, H., Dehane, V., Mahindra, U. (2011). Platelet-Rich fibrin: A second generation platelet concentrate and a new friend of oral and maxillofacial surgeons. *Annals of maxillofacial surgery*; 1(1): 53-57.
- Sandhu, G.K., Khinda, P.K., Gill, A.S., Kalra, H.S. (2015). Surgical re-entry evaluation of regenerative efficacy of bioactive Gengigel® and platelet-rich fibrin in the treatment of grade II furcation: A novel approach. *Contemporary clinical dentistry*, 6(4): 570–573.
- Sapna, N., Vandana, K.L. (2011). Evaluation of hyaluronan gel (GengigelVR) as a topical applicant in the treatment of gingivitis. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*, 2: 162–170.
- Sasaki, T. and Watanabe, C. (1995). Stimulation of Osteoinduction in Bone Wound Healing by High-molecular Hyaluronic Acid. *Bone*, 16(1): 9–15.
- Şatan, T., Sarban, S., Hersekli, M.A. Osteoporoz. Ankara, 1998.

- Saturveithan, C., Premganes, G., Fakhrizaki, S., Mahathir, M., Karuna, K., Rauf, K., William, H., Akmal, H., Sivapathasundaram, N., Jaspreet, K. (2016). Intra-articular Hyaluronic Acid (HA) and Platelet Rich Plasma (PRP) injection versus Hyaluronic acid (HA) injection alone in Patients with Grade III and IV Knee Osteoarthritis (OA): A Retrospective Study on Functional Outcome. *Malaysian orthopaedic journal*, 10(2): 35-40.
- Sauerbier, S., Schon, R., Otten, J.E., Schmelzeisen, R., Gutwald, R. (2008). The development of plate osteosynthesis for the treatment of fractures of the mandibular body – a literature review. *Journal of cranio-maxillofacial surgery*, 36(5): 251-259.
- Schemitsch, E.H. (2017). Size Matters: Defining Critical in Bone Defect Size! *Journal of orthopaedic trauma*, 31(5): 20-22.
- Schlegel, K.A., Donath, K., Rupprecht, S., Falk, S., Zimmermann, R., Felszeghy, E., Wiltfang, J. (2004). De novo bone formation using bovine collagen and platelet-rich plasma. *Biomaterials*, 25(23): 5387-5393.
- Sehdev, B., Bhongade, M.L., Ganji, K.K. (2016). Evaluation of effectiveness of hyaluronic acid in combination with bioresorbable membrane (poly lactic acid-poly glycolic acid) for the treatment of infrabony defects in humans: A clinical and radiographic study. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 20(1): 50-56.
- Şençimen, M., Gülses, A., Özkaynak, Ö., Varol, A., Okçu, K.M., Doğan, N. (2009). Trombositten zengin fibrin membran kaplı otojen kemik grefti ile tek taraflı alveol yarığı onarımı. *Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 33: 37-42.
- Sethian, J. A. (1999). *Level set methods and fast marching methods: evolving interfaces in computational geometry, fluid mechanics, computer vision, and materials science (Vol. 3)*. Cambridge university press.
- Sfeir, C., Ho, L., Doll, B.A., Azari, K., Hollinger, J.O. (2005). *Chp. Fracture Repair; Bone Regeneration and Repair: Biology and Clinical Applications*. Edited by: J. R. Lieberman and G. E. Friedlaender © Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- Shewale, A.R., Barnes, C.L., Fischbach, L.A., Ounpraseuth, S.T., Painter, J.T., Martin, B.C. (2017). Comparison of Low-, Moderate-, and High-Molecular-Weight

- Hyaluronic Acid Injections in Delaying Time to Knee Surgery. *The Journal of arthroplasty*, 32(10): 2952-2957.
- Shimizu, T., Akahane, M., Morita, Y., Omokawa, S., Nakano, K., Kira, T., Onishi, T., Inagaki, Y., Okuda, A., Kawate, K., Tanaka, Y. (2015). The regeneration and augmentation of bone with injectable osteogenic cell sheet in a rat critical fracture healing model. *Injury*, 46(8): 1457-1464.
- Simman, R., Hoffmann, A., Bohinc, R.J., Peterson, W.C., Russ, A.J. (2008). Role of platelet-rich plasma in acceleration of bone fracture healing. *Annals of plastic surgery*, 61(3): 337-344.
- Simon, B.R., Woo, S.L., McCarty, M., Lee, S., Akeson, W.H. (1978). Parametric study of bone remodeling beneath internal fixation plates of varying stiffness. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2: 543-556.
- Şimşek, G. (2004). Kemik defektlerinin iyileşmesinde hyaluronik asit ve heterojen kemik greftinin etkilerinin histopatolojik olarak incelenmesi. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Sindel, A., Dereci, Ö., Toru, H.S., Tozoğlu, S. (2017). Histomorphometric Comparison of Bone Regeneration in Critical-Sized Bone Defects Using Demineralized Bone Matrix, Platelet-Rich Fibrin, and Hyaluronic Acid as Bone Substitutes. *The Journal of craniofacial surgery*, 28(7): 1865-1868.
- Son, J., Kim, Y.B., Ge, Z., Choi, S.H., Kim, G. (2012). Bone healing effects of diode laser (808 nm) on a rat tibial fracture model. *In Vivo*, 26(4): 703-709.
- Son, S.P., Sarkar, S.K., Nguyen-Thuy, B.L., Paladhin, A.R., Kim, B.R., Jung, I.H., Lee, B.T. (2015). Platelet-rich plasma encapsulation in hyaluronic acid/gelatin-BCP hydrogel for growth factor delivery in BCP sponge scaffold for bone regeneration. *Journal of biomaterials applications*, 29(7): 988-1002.
- Soper, D.S. (2014). Fisher's Exact Test Calculator for a 2x3 Contingency Table [Software]. Available from <http://www.danielsoper.com/statcalc>.
- Southwood, L.L., Frisbie, D.D., Kawcak, C.E., Ghivizzani, S.C., Evans, C.H., McIlwraith, C.W. (2004). Evaluation of Ad-BMP-2 for enhancing fracture healing

- in an infected defect fracture rabbit model. *Journal of orthopaedic research*, 22(1): 66-72.
- Soydan, N. (1992). Genel Histoloji. İ. Ü. Dişhekimliği Fakültesi. İstanbul: İ.Ü.Basımevi ve Film Merkezi, ISBN 975-404-276-4.
- Stern, R. (2004). Hyaluronan catabolism: a new metabolic pathway. *European Journal of Cell Biology*, 83: 317-325.
- Stern, R., Asari, A.A., Sugahara, K.N. (2006). Hyaluronan fragments: an information-rich system. *European Journal of Cell Biology*, 85: 699-715.
- Strauss, E., Schachter, A., Frenkel, S., Rosen, J. (2009). The efficacy of intra-articular hyaluronan injection after the microfracture technique for the treatment of articular cartilage lesions. *The American journal of sports medicine*, 37(4): 720-726.
- Suzuki, K., Anada, T., Miyazaki, T., Miyatake, N., Honda, Y., Kishimoto, K.N., Hosaka, M., Imaizumi, H., Itoi, E., Suzki, O. (2013). Effect of addition of hyaluronic acids on the osteoconductivity and biodegradability of synthetic octacalcium phosphate. *Acta Biomaterialia*, 9(5): 1-13.
- Swann, A.D, Radin, E.L, Nazimiec, M., Weisser, P.A., Curran, N., Lewinnek, G. (1974). Role of hyaluronic acid in joint lubrication, *Annals of the Rheumatic Diseases*, 33: 318.
- Sze, J.H., Brownlie, J.C., Love, C.A. (2016). Biotechnological production of hyaluronic acid: a mini review. *3 Biotech*, 6(1):67.
- Takikawa, S., Matsui, N., Kokubu, T., Tsunoda, M., Fujioka, H., Mizuno, K., Azuma, Y. (2001). Low-intensity pulsed ultrasound initiates bone healing in rat nonunion fracture model. *Journal of ultrasound in medicine*, 20(3): 197-205.
- Tayşi, N.M. (2016). Rezorbe olabilen tek ve çift kat uygulanan membranlar ve platelet rich fibrin' in (PRF) kemik iyileşmesi üzerine etkileri. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi, İstanbul.
- Thorwarth, M., Schultze-Mosgau, S., Kessler, P., Wiltfang, J., Schlegel, K. A. (2005). Bone regeneration in osseous defects using a resorbable nanoparticulate hydroxyapatite. *Journal of oral and maxillofacial surgery*, 63(11): 1626-1633.

- Tiggelman, A.M., Boers, W., Linthorst, C., Brand, H.S., Sala, M., Chamuleau, R.A. (1995). Interleukin 6 production by human liver (myo)fibroblasts in culture. Evidence for a regulatory role of LPS, IL-1 beta and TNF alpha. *Journal of Hepatology*, 23(3): 295-306.
- Toffler, M., Toscano, N., Holtzclaw, D. (2010). Osteotome-mediated sinus floor elevation using only platelet-rich fibrin: an early report on 110 patients. *Implant dentistry*, 19(5): 447-456.
- Toffler, M., Toscano, N., Holtzclaw, D., Corso, M.D., Dohan, D. (2009). Introducing Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) to the reconstructive surgery. *Journal of Implant and Advanced Clinical Dentistry*, 1: 22-31.
- Tsay, R.C., Vo, J., Burke, A., Eisig, S.B., Lu, H.H., Landesberg, R. (2005). Differential growth factor retention by platelet-rich plasma composites. *Journal of oral and maxillofacial surgery*, 63(4): 521-528.
- Türker, M., Aslan, A., Çırpar, M., Kochai, A., Tulmaç, O.B., Balcı, M. (2016). Histological and Biomechanical Effects of Zoledronate on Fracture Healing in an Osteoporotic Rat Tibia Model. *Joint Diseases and Related Surgery*, 27(1): 9-15.
- Turner, N.J., Kielty, C.M., Walker, M.G., Canfield, A.E. (2004). A novel hyaluronan-based biomaterial (Hyaff-11) as a scaffold for endothelial cells in tissue engineered vascular grafts. *Biomaterials*, 25(28): 5955-5964.
- Uchida, K., Otake, K., Inoue, M., Koike, Y., Matsushita, K., Tanaka, K. (2011). Bacteriostatic Effects of Hyaluronan-Based Bioresorbable Membrane. *Surgical Science*, 2: 431-436.
- Uğraş, A., Güzel, E., Korkusuz, P., Kaya, I., Dikici, F., Demirbaş, E., Çetinus, E. (2013). Glucosamine-sulfate on fracture healing. *Turkish journal of trauma and emergency surgery*, 19(1): 8-12.
- Us, A.K. (2005). Kırıklar hakkında genel bilgiler. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Bölümü Ders Notları, Ankara.
- Vidhale, G., Jain, D., Jain, S., Godhane, A.V., Pawar, G.R. (2015). Management of Radicular Cyst Using Platelet-Rich Fibrin & Iliac Bone Graft - A Case Report.

Journal of clinical and diagnostic research, Jun;9(6), doi: 10.7860/jcdr/2015/13368.6136

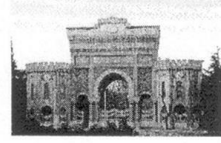
- Vigetti, D., Karousou, E., Viola, M., Deleonibus, S., De Luca, G., Passi, A. (2014). Hyaluronan: Biosynthesis and signaling. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2(1): 2452-2459.
- Vögelin, E., Jones, N.F., Huang, J.I., Brekke, J.H., Lieberman, J.R. (2005). Healing of a critical-sized defect in the rat femur with use of a vascularized periosteal flap, a biodegradable matrix, and bone morphogenetic protein. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*, 87(6): 1323-1331.
- Wang, H., Li, X., Tomin, E., Doty, S.B., Lane, J.M., Carney, D.H., Ryaby, J.T. (2005). Thrombin peptide (TP508) promotes fracture repair by up-regulating inflammatory mediators, early growth factors, and increasing angiogenesis. *Journal of Orthopaedic Research*, 23(3): 671-679.
- Watanabe, H., Cheung, S.C., Itano, N., Kimata, K., Yamada, Y. (1997). Identification of hyaluronan-binding domains of aggrecan. *The Journal of Biological Chemistry*, 31;272(44): 28057-28065.
- Weiss, C., Band, P. (1999). Basic principles underlying the development of viscosupplementation for treatment of osteoarthritis. *Clinical Rheumatology*, 56: 2-11
- Wight, T.N., Kinsella, M.G. and Qvarnström, E.E. (1992). The Role of Proteoglycans in Cell Adhesion, Migration and Proliferation, *Current Opinion in Cell Biology*, 4: 793–801.
- Xiong, Z., Wu, Zi-xiang, W., Zhang, Y., Gao, M., Yan, Y., Cao, P., Zang, Y., Lei, W. (2012). Locally Administrated Perindopril Improves Healing in an Ovariectomized Rat Tibial Osteotomy Model. *PLoS ONE*, 7(3): 33228.
- Yerke, L.M., Jamjoom, A., Zahid, T.M., Cohen, R.E. (2017). The Effect of Platelet-Rich Fibrin, Calcium Sulfate Hemihydrate, Platelet-Rich Plasma and Resorbable Collagen on Soft Tissue Closure of Extraction Sites. *Journal of functional biomaterials [electronic resource]*, 25;8(2): doi: 10.3390/jfb8020017.

- Yu, X., Hsieh, S.C., Bao, W., Graves, D.T. (1997). Temporal expression of PDGF regulatory effects on osteoblastic cells in mineralizing cultures, *American Journal of Physiology*, 272: 1709-1716.
- Yung, S., Chan, T.M. (2011). Patophysiology of the peritoneal membrane during peritoneal dialysis: the role of the hyaluronan. *Journal of Biomedicine and biotechnology*, 1-11.
- Zanchetta, P., Lagarde, N., Uguen, A., Marcorelles, P. (2012). Mixture of hyaluronic acid, chondroitin 6 sulphate and dermatan sulphate used to completely regenerate bone in rat critical size defect model. *Journal of cranio-maxillofacial surgery*, 40(8): 783-787.
- Zhang, X., Naik, A., Xie, C., Reynolds, D., Palmer, J., Lin, A. et al. (2005). Periosteal stem cells are essential for bone revitalization and repair. *Journal of musculoskeletal and neuronal interactions*, 5: 360-362.
- Zhao, N., Wang, X., Qui, L., Zhai, M., Yuan, J., Chen, J., Li, D. (2016). Effect of hyaluronic acid in bone formation and its applications in dentistry. *Journal of biomedical materials research*, 104(6): 1560-1569.
- Zhu, S.C., Yuille, A. (1996). Region competition: Unifying snakes, region growing, and Bayes/MDL for multiband image segmentation. *Pattern Analysis and Machine Intelligence, IEEE Transactions on*, 18(9): 884-900.

ETİK KURUL KARARI



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 2015/54

04.06.2015

Sayın: Prof. Dr. Sırmahan ÇAKAREL
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Karar No _____ 2015/54

Başvuru _____ : 22.05.2015

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, **Doktora Öğrencisi Dt. Servet AKYILDIZ**' a ait aşağıda çalışma materyali belirtilen "Sıçan Tibialarında Oluşturulan Kırık Modelinde Trombositten Zengin Fibrin (PRF) Ve Hyaluronik Asit Uygulamalarının Histopatolojik Ve Radyolojik Olarak Değerlendirilmesi" isimli projenin Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Sıçan
	Cinsiyeti	Erkek
	Sayısı	23
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi	Onaylandıktan sonra /Ekim 2015	

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ
İÜ HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIRIK
Üye

Prof. Dr. Ufuk ÇAKATAY
Üye

Prof. Dr. İlhan İLKILIÇ
Üye

Doç. Dr. Alper OKYAR
Üye

Yard. Doç. Dr. Altan ARMUTAK
Üye

Uzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Üye

Dr. Burak OLGUN
Mak. Yük. Müh.
Üye

Avukat Selma DEMİR
Üye

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

SIÇAN TİBİALARINDA OLUŞTURULAN KIRIK MODELİNDE PRF VE HYALURONİK ASİT UYGULAMALARININ HİSTOPATOLOJİK VE RADYOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 14	% 9	% 2	% 7
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 5
2	dent.ege.edu.tr İnternet Kaynağı	% 2
3	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	% 2
4	acikerisim.deu.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
5	www.dent.ege.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
6	library.cu.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
7	veteriner.istanbul.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
8	www.istanbulsaglik.gov.tr	