

(DOKTORA TEZİ)

**HİDROKSİAPATİT ESASLI KEMİK GREFTİ-
TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA
KOMBİNASYONUNUN TAVŞAN MAKSİLLASINDA
OLUŞTURULAN DENEYSEL KEMİK DEFEKTLERİNDE
KEMİK REJENERASYONU ÜZERİNE ETKİLERİNİN
HİSTOLOJİK AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ**

CANER ATALAY

**DANIŞMAN
PROF. DR. KORKUD DEMİREL**

**PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
PERİODONTOLOJİ PROGRAMI**


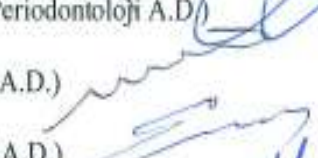



İSTANBUL-2011

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Periodontoloji Anabilim Dalı Periodontoloji Programında Dt.Caner Atalay tarafından hazırlanan "Hidroksiapatit Esaslı Kemik Grefti-Trombositten Zengin Plazma Kombinasyonunun Tavşan Maksillasında Oluşturulan Deneysel Kemik Defektlerinde Kemik Rejenerasyonu Üzerine Etkilerinin Histolojik Açıdan Değerlendirilmesi" başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

29 / 11 / 2011

Tez Sınav Jürisi

- | Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı) | İmzası |
|--|---|
| 1.Prof.Dr.Korkud DEMİREL (Danışman-İ.Ü. Diş Hek. Fak. Periodontoloji A.D.) |  |
| 2.Prof.Dr.Serdar ÇINTAN (İ.Ü. Diş Hek. Fak. Periodontoloji A.D.) |  |
| 3.Prof.Dr.Erhan FIRATLI (İ.Ü. Diş Hek. Fak. Periodontoloji A.D.) |  |
| 4.Doç.Dr. Vakur OLGAC (İ.Ü. Tıp Fak. Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi B.D.) |  |
| 5.Doç.Dr.Levent PİKDÖKEN (Gata Haydarpaşa Hastanesi Diş Hekimliği Bilimleri Merkezi Periodontoloji Bölümü) |  |

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 olmadığını beyan ederim.

Caner Atalay(İmza)

İTHAF

**Ad astra per aspera.
“Zorlukların içinden yıldızlara”*

Şükran borcumu asla ödeyemeyeceğim,
beni bugünlere getiren aileme ve yaşamım boyunca bana ışık veren tüm öğretmenlerime
ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden sürekli yararlandığım, desteğini her zaman hissettiğim danışmanım ve değerli hocam **Prof. Dr. Korkud DEMİREL'e**,

Tezime katkılarından dolayı tez izleme komitesindeki hocam

Prof. Dr. Erhan FIRATLI'ya,

Tezimin histolojik incelemelerini gerçekleştiren ve aynı zamanda tez izleme komitemde de yer alan **Doç. Dr. Vakur OLGAC'a**,

Değerli yardımı ve desteği sayesinde tezimin gerçekleşmesini sağlayan emekli öğretim üyesi **Prof. Dr. Ülker ÇÖTELİOĞLU'na**,

Tezimin uygulama aşamasında uygun koşullarda çalışabilmem için her türlü maddi ve manevi desteği veren İ. Ü. Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı başkanı **Prof. Dr. Mukaddes ÖZCAN'a** ve **anabilim dalındaki diğer öğretim üyelerine**,

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlanmama olanak veren emekli öğretim üyesi **Prof. Dr. Özen TUNCER'e** ve değerli hocalarım

Prof. Dr. Utku ONAN'a, **Prof. Dr. Hasan MERİÇ'e**, **Prof. Dr. Ahmet EFEOĞLU'na**, **Prof. Dr. Aslan GÖKBUGET'e**, **Prof. Dr. Gülden IŞIK'a**, **Prof. Dr. Serdar ÇİNTAN'a**, **Prof. Dr. Funda YALÇIN'a**,

Tezimin laboratuvar bölümünde destek ve yardımlarını gördüğüm, sıcak kalplerini de bana açan **Dr. Elif ERGÜL'e** ve **Dr. İbrahim AKYAZI'ya**,

Ameliyatlarıma asiste eden **Bülent ŞAR'a**, **Gözde OTÇU'ya**, **Dt. Görkem ÖZTEKİN'e**, **Dt. Gökhan KASNAK'a**, **Dr. Süleyman METİN'e**, **Dt. Seden AKSU'ya**, **Dt. Fatih VURAL'a**, **Dt. Mustafa YILMAZ'a**, İ. Ü. Dişhekimliği Fakültesi öğrencileri **Onur SAYDAM** ve **Serdar HEPŞENLER'e**,

İstatistiksel değerlendirmelerimde yardımcı olan **Dr. Ömer UYSAL'a** ve **Dr. Kadriye PEKER'e**,

Doktora eğitimim sırasında klinikteki yardımlarından dolayı **Dr. Duygu YAMAN'a**,

Bilimsel kaynaklara ulaşmamda gösterdiği yakın destekten ötürü **Dr. Huriye ÇOLAKLAR'a**,

Anabilim dalımızdaki **sevgili çalışma arkadaşlarıma**, **hemşirelerimize** ve **personelimize**,

İ. Ü. Dişhekimliği Fakültesi Öğrenci Araştırma Kulübü'nde bilimsel araştırma yapmanın keyfine varmamı sağlayan **Prof. Dr. Yegane GÜVEN** ve **Prof. Dr. Ferda DOĞAN'a**,

Mesleki yaşamımda ve kalbimde çok özel yerleri olan **Doç. Dr. Işık DEMİRÖZ** ve **Doç. Dr. Tezcan DEMİRÖZ'e**,

Yaşamımın her anında yanımda olan, bana güvenen, sonsuz maddi ve manevi destekleriyle beni bugünlere getiren **sevgili anneme**, **babama** ve **ailemin diğer üyelerine**,

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
RESİMLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. Kemiğin Yapısal Özellikleri	6
2.1.1. Kemik Morfolojisi.....	6
2.1.2. Kemik Histolojisi	6
2.1.3. Osteogenezis (Kemik Oluşumu)	8
2.1.3.1. İntramembranöz Kemik Oluşumu.....	8
2.1.3.2. Endokondral Kemik Oluşumu.....	9
2.1.4. Kemik Hücreleri.....	10
2.1.4.1. Kemik Hücrelerinin Kökeni	10
2.1.4.2. Osteoblastlar.....	10
2.1.4.3. Osteositler	11
2.1.4.4. Kemik Örtü Hücresi	11
2.1.4.5. Osteoklastlar.....	11
2.1.5. Kemik Matriksi	12
2.1.6. Kemik Yapım-Yıkım Döngüsü.....	12
2.1.7. Kemiğin Yeniden Şekillenmesi	13
2.2. Kemik İyileşmesi	13
2.2.1. Kemik İyileşmesini Etkileyen Faktörler	17
2.2.2. Lokal Faktörler.....	17
2.2.3. Sistemik Faktörler	17
2.3. Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu.....	18

2.3.1. Kemik greftleri.....	24
2.3.1.1. Kemik Rejenerasyonu ve Ogmentasyon Mekanizmaları.....	26
2.3.1.2. Greft Materyallerinin Sınıflandırılması.....	26
2.3.1.2.1. Otojen Kemik Greftleri.....	27
2.3.1.2.2. Allo greftler.....	28
2.3.1.2.3. Ksenogreftler.....	29
2.3.1.2.4. Alloplastlar.....	30
2.3.2. Membranlar.....	31
2.3.2.1. PTFE.....	32
2.3.2.2. Titanyum Destekli e-PTFE.....	32
2.3.2.3. Polimer Membranlar.....	33
2.3.2.4. Kollagen Membranlar.....	33
2.3.3. Kemik Morfojenik Proteinler.....	34
2.3.4. Trombositten Zengin Plazma.....	34
2.3.4.1. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü.....	36
2.3.4.2. Transforming Büyüme faktörü.....	36
2.3.4.3. Trombosit Kaynaklı Epidermal Büyüme Faktörü.....	36
2.3.4.4. Trombosit Kaynaklı Angiogenesis Faktörü.....	36
2.3.4.5. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü.....	37
2.3.4.6. Trombosit Faktör 4.....	37
2.3.4.7. TZP'nin Kemik Rejenerasyonuna Etki Mekanizması.....	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	42
3.1. Deney Hayvanları ve Araştırma Grupları.....	42
3.2. Cerrahi İşlem.....	43
3.3. TZP'nin Hazırlanması.....	44
3.4. Histolojik Değerlendirme.....	45
3.5. İstatistiksel Değerlendirme.....	47
4. BULGULAR.....	48
4.1. Histomorfometrik Değerlendirme.....	48
4.1.1. 15. Gün Bulguları.....	48
4.1.2. 30. Gün Bulguları.....	52
4.1.3. 60. Gün Bulguları.....	58
4.1.4. Kontrol Grubu (Grup İçi Değerlendirme).....	62

4.1.5. HA Grubu (Grup İçi Değerlendirme).....	65
4.1.6. HA-TZP Grubu (Grup İçi Değerlendirme).....	67
4.2. Trombosit Sayımı.....	69
5. TARTIŞMA.....	70
KAYNAKLAR.....	91
ETİK KURUL KARARI.....	110
ÖZGEÇMİŞ.....	111

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 4.1: 15. güne ilişkin değerler tablosu.....	49
Tablo 4.2: 30. güne ilişkin değerler tablosu.....	54
Tablo 4.3: 60. güne ilişkin değerler tablosu.....	59
Tablo 4.4: Kontrol (Grup içi karşılaştırma).....	64
Tablo 4.5: HA (Grup içi karşılaştırma).....	66
Tablo 4.6: HA-TZP (Grup içi karşılaştırma).....	68

RESİMLER LİSTESİ

Resim 4.1 15. gün HA.....	50
Resim 4.2 15. gün HA-TZP.....	51
Resim 4.3 15. gün Kontrol.....	52
Resim 4.4 30. gün HA.....	55
Resim 4.5 30. gün HA-TZP.....	56
Resim 4.6 30. gün Kontrol.....	57
Resim 4.7 60. gün HA.....	60
Resim 4.8 60. gün HA-TZP.....	61
Resim 4.9 60. gün Kontrol.....	62

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

- ACD-A: Adenozin sitrat dekstroz asit
- BF: Büyüme faktörü
- BMP: Kemik morfojenik protein
- BT: Bilgisayarlı tomografi
- CaCl₂: Kalsiyum klorür
- CPD: Sitrat fosfat dekstroz
- DDKKG: Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik grefti
- DKG: Dondurulmuş kemik grefti
- DKKG: Dondurulmuş kurutulmuş kemik grefti
- Dlx: Distal-less
- EDTA: Etilen diamin tetra asetik asit
- EGF: Epidermal büyüme faktörü
- FGF: Fibroblast büyüme faktörü
- HA: Hidroksiapatit
- HA-TZP: Hidroksiapatit-trombositten zengin plazma
- Hox: Homeobox
- IGF: İnsülin benzeri büyüme faktörü
- K: Kontrol
- KBD: Kritik boyutlu defekt
- Msx: Muscle-segment
- PDAF: Trombosit kaynaklı angiogenesis faktörü
- PDEGF: Trombosit kaynaklı epidermal büyüme faktörü
- PDGF: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
- PFGF: Trombosit kaynaklı fibroblast büyüme faktörü

PTFE: Poli tetra fluoro etilen

TCP: Tri kalsiyum fosfat

TFP: Trombositten fakir plazma

TGF: Transforming büyüme faktörü

TSP: Trombospondin

TZP: Trombositten zengin plazma

VEGF: Vasküler epidermal büyüme faktörü

YDR: Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu

YKR: Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu

ÖZET

Atalay C. Hidroksiapatit esaslı kemik grefti-trombositten zengin plazma kombinasyonunun tavşan maksillasında oluşturulan deneysel kemik defektlerinde kemik rejenerasyonu üzerine etkilerinin histolojik açıdan değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Periodontoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul, 2011.

Bu çalışmada, tavşan maksillasında oluşturulan deneysel kemik defektlerinde, alloplast kemik grefti-TZP kombinasyonunun kemik rejenerasyonuna etkisini değerlendirmek amaçlanmıştır. Bu amaçla otuz Yeni Zelanda tavşanı on beşerli iki gruba ayrılmıştır. Her hayvanın maksillasında 10 mm×5 mm×3 mm boyutlarında bilateral defektler oluşturulmuştur. Birinci grupta defektin biri HA kemik grefti ile doldurulmuş, diğer defekt kontrol amaçlı olarak boş bırakılmıştır. İkinci grupta defektin biri HA-kemik grefti-TZP ile doldurulmuş, diğer defekt boş bırakılmıştır. Hayvanlar 15. , 30. ve 60. günlerde sakrifiye edilmiştir. Kemik dolumu için 1-4 arasında değerler verilmiştir: % 1-30 dolum, 1 değeri; %31-60 dolum, 2 değeri; \geq %60 dolum, 3 değeri; tamamen dolmuşsa 4 değeri verilmiştir. İltihap, fibrozis, nekroz, yabancı cisim, kalan greft parametreleri de incelenmiş ve 1-4 arasında değerler verilmiştir. 15. , 30. ve 60. günlerin sonunda 1. ve 2. grupta kontrol grubuna göre daha fazla kemik oluşmuş olsa da, 1. grup ve 2. grup arasında kemik dolumu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (p=0,343). 15. , 30. ve 60. günlerin sonunda greft artıkları görülmüş ve 1. , 2. grup ile kontrol grubu arasında kalan greft ve yabancı cisim parametrelerine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark (p=0,025) görülmüştür. HA-TZP uygulanan grup ile kontrol grubu arasında 15. günde yeni kemik yapımı ve iltihap (p=0,046 ve p=0,039), 30. günde yeni kemik yapımı (p=0,046) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüş ancak zamanla aradaki fark kaybolmuştur. Yara iyileşmesi bütün gruplarda normal sınırlar içerisinde görülmüştür. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında HA-TZP kombinasyonu erken dönemde daha fazla alanda kemik oluşumuna olanak sağlamıştır. TZP, grefti uygulama kolaylığı sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler : Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu, trombositten zengin plazma, kemik greftleri, kemik iyileşmesi, büyüme faktörleri.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2992

ABSTRACT

Atalay C. Histological evaluation of bone regeneration of the surgically created defects in rabbit maxilla using hydroxyapatite bone graft- platelet-rich plasma combination. Istanbul University, Institute of Health Sciences, Department of Periodontology. PhD thesis. İstanbul. 2011.

The aim of this study was to assess bone regeneration in surgically created defects in the rabbit maxilla using alloplastic bone substitute with or without platelet rich plasma. 30 New Zealand white rabbits were divided in 2 groups of 15 animals each. Bilateral 10 mm ×5 mm×3 mm bone defects were created in the maxilla of each animal. Group 1 had one defect filled only with HA-bone graft while the other defect was left empty and served as control. Group 2 had one defect filled with HA-bone graft and PRP while the other defect was left empty. Animals were sacrificed at day 15, 30 and 60. Histological and histomorphometric analysis were performed to quantify the amount of new bone within the defects under light microscope. Bone filling, inflammation, fibrosis, necrosis, foreign bodies and graft remnants were assessed on scale from 1 to 4. At day 15, 30 and 60 bone fill in Group 1 and 2 was more compared with the control group, but there were no significant differences for bone fill between Group 1 and Group 2 ($p=0,343$). There were statistically significant differences for foreign material and graft remnants between the group 1, 2 and control group ($p=0,025$). Remnants of bone graft were observed at day 15, 30 and 60. There were statistically significant differences for inflammation and bone fill ($p=0,039$, $p=0,046$ respectively) at day 15 and for bone fill ($p=0,046$) at day 30 between HA-PRP and control group, but the differences faded away by time. Wound healing was observed in all groups within normal limits. Compared to control group, treatment with a combination of HA with PRP did lead to a significantly more bone regeneration at early time. PRP facilitates handling of the bone graft.

Key Words: Guided bone regeneration, platelet-rich plasma, bone grafts, bone healing, growth factors.

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No: 2992

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Uygulanan rejeneratif tedaviler sonucu yeni kemik oluşumunun sağlanması, hala periodontoloji ve implantolojinin ana hedeflerinden birisi olmaya devam etmektedir. Kemik oluşumunda görev alan hücrelerin doğasının anlaşılması, osteoblastların tavrını ve yerel kemik oluşumunu düzenleyen faktörler, farklı düzenleyici mekanizmaların birbirlerini karşılıklı olarak nasıl etkilediği uzun yıllardan beri kapsamlı araştırmaların konusu olmaktadır. Bu konuların tam olarak anlaşılması sonucu yeni kemik yapımını sağlamaya yönelik olarak biyolojik esaslı yeni tedaviler geliştirilecektir. Bu uygulamalar sadece diş hekimliği ile sınırlı kalmayıp, ortopedik cerrahi, maksillofasiyal cerrahi ve kranyofasiyal cerrahi alanlarında da önemli yer tutacaktır (61).

Periodontal ve maksillofasiyal rejenerasyonla ilgili araştırmalar hep o sihirli doldurucu materyalin elde edilmesine odaklanmıştır (66). Bu araştırmalar sonucu otojen kemik ve kemik iliğinin, allogreftlerin, ksenogreftlerin ve değişik sentetik materyallerin kullanıldığı farklı teknikler geliştirilmiştir. Ancak bu uygulamalardan elde edilen başarılar sınırlı kalmıştır. Daha etkin tedavi yaklaşımlarına olan gereksinim, biyolojik mediyatörlerin ve doku mühendisliği tekniklerinin kullanıldığı işlemlerin geliştirilmesini sağlamıştır. Büyüme faktörleri ve morfojenlerle yapılan ilk çalışmalar cesaret verici olmuştur (85, 86). Rekombinant DNA teknolojisinin kullanılması ile birlikte bu büyüme faktörlerinin bazıları ve morfojenler yeterli miktarda üretilebilmiştir (7, 27, 49, 142). Doku mühendisliği rekonstrüktif biyolojide yeni bir alan olup; mekanik, hücresel ve biyolojik mediyatörlerin kullanılması suretiyle özel bir dokunun rekonstrüksiyonunu ya da rejenerasyonunu sağlamaya yöneliktir.

Periodontal hastalıklar sonucu meydana gelen diş kayıpları önemli bir halk sağlığı sorunudur (59). Periodontal rejenerasyon; periodontal tedavi sonrasındaki iyileşmenin yeni kemik yapımı, yeni sement ve periodontal membran oluşumuyla sonuçlanması, uygulanan periodontal tedavilerin amacıdır. Periodontal rejenerasyon biyolojik olayların, farklı etkenlerin ve hücrelerin etkin rol oynadığı karmaşık bir süreç olduğu için, bu tedavilerle her zaman öngörülebilir sonuçlar elde edilememektedir (117). Periodontal tedavinin amacı sadece periodontal hastalığa bağlı enflamasyonu ve doku kayıplarını durdurmak olmayıp, aynı zamanda biyolojik olarak sağlıklı kabul edilebilecek bir ortam oluşturmaktır. Açısal kemik defektlerine derin cepler eşlik

etmekte ve bunlar mikroorganizmaların rekolonizasyonu açısından uygun ortamlar oluşturmaktadır. Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu uygulamaları sonucu bu defektlerde kemik dolumu gerçekleşmediği takdirde bu durum hem plak kontrolü açısından hem de estetik açıdan ciddi problem oluşturmaktadır (62).

Kemik içi implant uygulamalarının yoğunlaşması ile birlikte implant yerleştirilmesinde etkili olan faktörler önem kazanmıştır. Bu hastalarda sıklıkla rastlanan yumuşak ve sert doku kayıplarından ötürü implantlar arzulan ideal konumda yerleştirilememektedir veya arzulan estetik seviyeye ulaşamamaktadır. Osseoentegre implantlarda uzun dönemde başarılı olmanın ön koşulu implant yerleştirilecek bölgede yeterli miktarda sağlıklı kemik dokusunun olmasıdır. Protez odaklı implant tedavileri için alveol kemiğinin rekonstrüksiyonuna yönelik rejeneratif cerrahi tekniklerin uygulanmasını takiben öngörülebilir sonuçlar elde edilmiştir (95). Rejeneratif işlemler sinüs augmentasyonu, horizontal ve vertikal kret augmentasyonu, çekim boşluğunu muhafaza etme amaçlı olarak uygulanmaktadır. Vertikal kemik augmentasyonu anatomik sınırlamalar ve teknik zorluklardan ötürü klinisyeni zorlamaktadır. Nasal kavite, maksiller sinüs ve mandibuler sinir gibi anatomik oluşumlar uygun boyda implant yerleştirilmesini zorlaştırmaktadır. Çeneler arası mesafenin fazla olması kuron boyu ve formunu değiştirmekte, buna bağlı olarak protetik rekonstrüksiyonda arzulanmayan kuron-kök oranları ortaya çıkmaktadır. Estetik açıdan kabul edilemez protetik restorasyonlar ağız bakımı uygulamalarında da zorluklar yaratmakta ve uzun dönemde ağızda kalmaları tehlikeye girmektedir (121). Geçmişte çekim bölgesindeki kayıplar, rejeneratif işlemler ile müdahale edilmediği takdirde fibröz bağ dokusu veya skar oluşumu ile iyileşmiş ve çoğunlukla kemik dolumu gerçekleşmemiştir (72).

Melcher'e göre periodontal cerrahi sonrası yara bölgesini dolduran hücreler iyileşmenin niteliğini belirler (96). Epitel hücreleri, bağ dokusu hücreleri, kemik iliği hücreleri ve periodontal membrandan kaynaklanan hücrelerden yalnızca periodontal membrandan kaynaklanan hücreler rejenerasyon yapma kapasitesine sahiptir. 1980'lerin başında Nyman ve Karring'in ortaya attığı YDR konsepti, defekt bölgesine bariyer membran uygulayarak oraya sadece periodontal membran kaynaklı hücrelerin göç etmesi prensibine dayanmaktadır.

Bu prensip alveol kemiği defektlerinde yeni kemik oluşumunu sağlama amacı ile uygulanmış ve yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu tekniği ortaya çıkmıştır. 1994'te Schenk ve arkadaşları köpekler üzerinde yaptıkları bir çalışmada, membran ile üzeri örtülmüş defektlerde kemik rejenerasyonunun çekim sonrası kemik oluşumuna benzer şekilde oluştuğunu göstermişlerdir (127). Başarılı YKR için dört ana prensip geçerlidir: Yaranın primer olarak kapatılması, angiogenez, boşluk yaratma ve muhafaza etme, başlangıçtaki pıhtının stabilizasyonu (145).

Genelde bir greft maddesi ve membran ile birlikte uygulanan YKR kemik ogmentasyonunda en sık uygulanan yöntemdir. Fibroblastlar ve epitel hücreleri, kemik yapıcı hücrelere göre defekt bölgesine daha çabuk ulaşır, burada fibröz yapıda bir doku oluşturur. Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunun ardında yatan felsefe; pıhtı ile dolmuş olan defekt bölgesine epitel ve bağ dokusu hücrelerinin göç etmesini engelleyip, buraya sadece kemik yapıcı hücrelerin ulaşmasını sağlamaktır. Bu bölgeye uygulanan membran açığa çıkmadığı ve yeni kemik oluşuncaya dek bariyer fonksiyonunu gördüğü takdirde kök hücrelerin ve osteoprogenitör hücrelerin osteoblastlara dönüşmesi için optimal koşullar oluşur. Bu amaçla rezorbe olan veya rezorbe olmayan membranlar kullanılır (11).

Kemik greftleri YKR uygulamalarında membranın çökmemesi için destek sağlamak, ogmente edilen bölgede kemik yapımını uyarmak, ogmente edilen bölgeyi rezorpsiyondan korumak ve ogmentasyon yapılan bölgede yeni kemik oluşuncaya dek iskelet işlevi görmesi için kullanılır.

Greft materyallerinin seçiminde otojen kemik grefti altın standart olarak kabul edilmiş olmasına rağmen (89, 99), ikinci yara bölgesine sebebiyet vermesi, elde edilen greft miktarının sınırlı olması gibi nedenlerden dolayı allogreftler ve alloplastlar geliştirilmiştir.

Allogreftler ikinci bir operasyon bölgesine ihtiyaç duyulmaması, sınırsız miktarda olmaları gibi avantajlara sahip olmakla beraber düşük de olsa antijenik özelliklere sahiptirler. Greftin elde edildiği kadavranın yaşı, cinsiyeti, geçirmiş olduğu hastalıklar, doku bankasındaki üretim protokolleri greftin kalitesini etkilemektedir. Düşük de olsa allogreftlerde HIV bulunma olasılığından bahsedilmektedir (47).

Alloplastik kemik greftlerinin avantajı tamamen sentetik yapıda olduklarından dolayı hastalık transferi riski taşımamaları ve miktarının sınırsız olmasıdır. Bugün

kullanımda olan malzemeler üç grupta incelenmektedir: Kalsiyum fosfatlar, biyoaktif camlar ve polimerler. Bunlardan kalsiyum fosfatlar, özellikle hidroksiapatit ve beta-trikalsiyum fosfat kemiğin inorganik yapısına çok benzeyen içeriğinden ötürü en çok araştırılan materyaller olmuştur (63). Bugünde insan veya hayvan kaynaklı malzemeler ile ilgili tereddütte olan klinisyen ve hastalar için çok değerli bir alternatif olma özelliğini korumaktadırlar.

Bariyer membran uygulamalarındaki temel felsefe defekt bölgesine sadece o defekte özgü hücrelerin, YKR'de kemik oluşturabilecek hücrelerin, göç etmesini sağlamaktır. Membranlar ayrıca yarayı örtücü işlev görmekte ve oluşan pıhtıyı da korumaktadır (56). Bu amaçla rezorbe olan veya olmayan membranlar kullanılmaktadır.

Marx, trombosit zengin plazmayı az miktar plazma içinde otolog trombosit konsantrasyonu olarak tanımlamıştır ve otolog büyüme faktörleri açısından zengin bir kaynak olduğu düşünülmektedir. Marx ve arkadaşları tarafından ilk kez 1998'de mandibuler defektlerin rekonstrüksiyonunda otojen kemik greftleri ile birlikte kullanılmıştır (91). Bu çalışma sonunda kemik greftlerine TZP eklenmesi sonucu, yalnız kemik greftlerinin kullanımına oranla radyografide daha hızlı kemik gelişimi ve kemik yoğunluğu görülmüştür. Bu çalışmadan sonra TZP'nin kemik rejenerasyonu üzerine etkileri kapsamlı şekilde araştırılmıştır. Diş hekimliğinde TZP sinüs elevasyonu, kret ogmentasyonu, damak yarıkları, periodontal defektler ve çekim boşluklarının tedavisinde tek başına ya da kemik greftleri ile kombine şekilde uygulanmıştır. Birçok çalışmada TZP'nin kemik oluşumuna olumlu katkılarından söz edilirken (20, 138), bazı çalışmalarda ise kemik oluşumuna sınırlı katkıda bulunduğu veya hiçbir katkıda bulunmadığından söz edilmiştir (105, 114). Trombosit zengin plazmanın kemik oluşumuna katkısının içinde bulunan büyüme faktörlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bu çalışmada 1997'de Lundgren'in yapmış olduğu bir çalışma (83) model alınarak otuz adet Yeni Zelanda cinsi tavşanda, maksillalarının her iki tarafında, kesici dişler ile molar dişler arasındaki dişsiz bölgede biri deney diğeri kontrol grubu olmak üzere cerrahi defektler oluşturuldu. Bu bölgenin seçilmesinin nedeni bu bölgenin çiğneme esnasında en yoğun mekanik strese maruz kalan bölge oluşudur. Bu model ağız içi kemik defektlerinin iyileşmesi sırasındaki klinik durumun yansımaya olanak sağlamaktadır. İki gruba ayrılan tavşanların bir grubunda deney bölgesine sadece HA

esaslı kemik grefti uygularken, diğer grupta deney bölgesine HA esaslı kemik grefti ile tavşanın kulağında alın kandan hazırlanan TZP karıştırılıp uygulandı. Bu uygulamanın 15. , 30. ve 60. günlerinde kemik rejenerasyonu üzerine etkilerinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemiğin Yapısal Özellikleri

Kemik mineralize olmuş özel bir bağ dokusu olup, %33'ünü organik matriks oluşturmaktadır. Organik matriksin %28'i tip I kollajenden oluşurken, %5'inde osteonektin, osteokalsin, kemik morfojenik proteinler, kemik proteoglikan, kemik sialoprotein gibi non-kollagen proteinler oluşturmaktadır. Bu organik matriks zayıf kristalize olmuş hidroksiapatit tarafından kaplanmıştır. Hidroksiapatit kemiğin %67'sini oluşturur.

Kemik destek, koruma ve hareket gibi iskeletsel fonksiyonlarının yanı sıra, kalsiyum ve fosfor iyonları için önemli bir mineral deposudur. Bu sistemik olarak hormonal faktörler tarafından kontrol edilir. Lokal olarak da mekanik kuvvetler (dış hareketleri de dahil), büyüme faktörleri, sitokinler ve piezoelektrik koşullar tarafından kontrol edilir. Kemik en iyi baskı kuvvetlerine direnç gösterirken, en az gerilim kuvvetlerine direnç gösterir (136). Kemik bu fonksiyonlarının yanında kendisini tamir ve rejenere etme yeteneğine sahiptir.

2.1.1. Kemik Morfolojisi

Genel yapısına göre kemikler uzun kemikler ve yassı kemikler olmak üzere ikiye ayrılır. Uzun kemikler tibia, femur, radius, ulna, humerus gibi aksiyal iskeleti oluşturan kemiklerdir. Yassı kemikler ise sternum, scapula, pelvis ve bütün kafatası kemikleridir. Enine ve uzunlamasına yapılan kesitlerde yassı ve uzun kemiklerin aynı iç yapıya sahip oldukları görülmüştür.

2.1.2. Kemik Histolojisi

Genel görünümüne göre kemikler kompakt kemik ve spongiyöz (süngerli) kemik olmak üzere iki şekildedir. Kompakt kemik sert yapıdadır. Spongiyöz kemik ise kemik iliğinin bulunduğu boşlukları sınırlayan kemik trabekülleri ağından oluşur. Bu iç trabeküller kemik dıştaki kortikal kemik yapısına destek sağlar.

Femur gibi uzun kemiklerde diafiz olarak adlandırılan gövde kısmı kompakt kemikten oluşur. Uzun kemiklerin uçlarındaki epifiz spongiyöz kemikten oluşurken çevresinde ince bir tabaka kompakt kemik bulunur. Gelişmekte olan bireylerde epifiz diafizden kıkırdaksı epifizyel plaka ile ayrılır. Metafiz olarak adlandırılan, gittikçe

incelen geçiş bölgesi epifiz ve diafizi birbirine bağlar. Epifizyel plaka ve yanındaki spongiyöz kemik birlikte büyüme alanını oluştururlar. Bu bölge uzun kemiğin uzunlamasına büyümesinden sorumludur. Uzun kemiklerin uçlarındaki eklem yüzeyleri hyalin kıkırdak ile kaplıdır. Tendon ve ligamentlerin girdiği yerler ile eklem yüzeyleri dışında kemiklerin çoğu periost tabakası ile örtülüdür.

Periost osteojenik potansiyele sahip özelleşmiş bağ dokusu tabakasıdır. Diafizin ilik boşluğu ve spongiyöz kemik içindeki alanlar endost ile kaplanmıştır. Endostun da osteojenik potansiyeli vardır.

Yassı ve uzun kemiklerin yapılan histolojik incelemelerinde her iki grup kemiğinde ortak iç yapıya sahip olduğu görülür. Bütün kemiklerin dış yüzeyinde yoğun bir kompakt tabaka olup ortasında medullar bir kavite bulunur. Canlı kemikte bu medullar kavite sarı veya kırmızı kemik iliği ile kaplıdır. Bu kemik iliğinin içinden retiküler ağ yapısında trabeküler kemik ağı (spongiyöz) geçer.

Gelişmekte veya erişkin yapıda, kompakt veya kansellöz yapıda olmasına bakmaksızın mikroskopik incelemede kemiğin çepeçevre, konsantrik ve interstisyel tabaka olmak üzere üç tabakadan oluştuğu görülür:

- (1) Çepeçevre tabaka, lamel kemiğin en dış yapısını oluşturur.
- (2) Kompakt kemiğin en fazla kısmı konsantrik lamelden meydana gelir ve bu lamel kemiğin temel yapı birimi osteon'u oluşturur. Osteon silindir biçiminde bir kemik olup, genelde kemiğin uzun aksına paralel seyredir. Her osteon'un merkezinden Haversian kanalı geçmekte olup, Haversian kanalı kemik yüzeyini örten hücreler ile sınırlanmıştır. Haversian kanalları Volkmann kanalları ile birbirine bağlanır. Volkmann kanalları içinden kan damarları geçer. Bu kanallar kompakt kemik içinde zengin bir damar ağı oluştururlar.
- (3) İnterstisyel lameller konsantrik lameller arasına dağılmıştır ve bunlar arasındaki boşlukları doldururlar (136).

Kompakt kemiğin dış yüzeyi osteojenik bir bağ dokusu membranı, periost ile kaplıdır. Periost iki tabakadan oluşur. Kemik yüzeyine bakan iç tabakasında kemik hücreleri, bunların öncülleri ve zengin mikrovasküler yapı bulunur. Dış tabaka ise daha fibröz yapıda olup, Sharpey liflerinin gelişimini sağlar. Kompakt kemiğin iç yüzü ve

kansellöz kemiğin dış yüzü tek bir tabaka kemik hücrelerinden oluşan endost ile örtülüdür.

Yine kollagen fibrillerin seyrine göre kemik örgüsel kemik, lameller kemik ve paralel lifli kemik olmak üzere üç farklı tiptedir (78).

Örgüsel kemik asıl embriyolarda ve gelişmekte olan çocuklarda oluşur ve daha sonra yerini lameller kemik alır (139). Erişkinlerde kemik yapımının hızlandığı durumlarda da (kırık tamiri, Paget hastalığı, renal osteodistrofi, hiperparatiroidizm, fluorozis) örgüsel kemik görülür. Kollagen fibriller gelişigüzel seyredir. İnterfibriller boşluklar geniştir.

Lameller kemik daha kompleks bir yapıya sahiptir. Kollagen fibrillerin paralel seyrettiği matriks tabakalarından oluşur. Bir lameller yapı 3-5 µm genişliğindedir. Fibrillerin seyri bir lamelden diğerine farklılık gösterir.

Paralel lifli kemik kemik oluşumunun erken safhalarında görüldüğü gibi, periostal ve endostal kemik appozisyonu sırasında da görülür. Kollagen fibrilleri kemik yüzeyine paralel seyredir, ancak lameller düzenlemeye sahip değildir. Örgüsel kemiğin fizyolojik özelliklerinin çoğuna sahiptir.

2.1.3. Osteogenezis (Kemik Oluşumu)

Embriyoda kemik oluşumu iki şekilde görülür. İntramembranöz kemik oluşumunda ilkel bağ dokusu veya mezenkim içinde kemik dokusu direkt olarak oluşur. Endokondral kemik oluşumunda ise hyalin kıkırdağının yerine kemik dokusu dolar. Kemik matriksinin çökme mekanizması endokondral ve intramembranöz kemik oluşumunda aynıdır. Önce primer trabeküler ağ veya primer spongiosa oluşup sonra olgun kemiğe dönüşür. Yalnız endokondral kemikleşmede kıkırdağın yerine kemik matriksi gelir.

2.1.3.1. İntramembranöz Kemik Oluşumu

(1) Embryonik mezenkim hücreleri yoğun damarlanmış bağ dokusu hücrelerine dönüşür. Kollagen fibril içeren ekstrasellüler matriks içinde gömülü bulunan fibroblast benzeri mezenkimal hücreler biraraya gelir.

(2) Mezenkimal hücreler osteoblastlara dönüşür ve kemik matriksi salgılamaya başlar. Birçok kemikleşme merkezi oluşur ve bunlar anastamoz yapan trabekül ağı oluşturur (spongiyöz kemik veya primer spongiyöz).

(3) Yeni oluşmuş trabeküller içindeki kollagen ağları gelişigüzel dağıldığı için erken dönemdeki intramembranöz kemik örgüsel kemik olarak adlandırılır. Kemik matriksinin içine kalsiyum fosfat çöker. Osteoblastlar osteositlere dönüşür. En sonunda örgüsel kemik lameller kemiğe dönüşür. Eksternal ve internal bağ dokusu tabakalarla periost ve endostu oluşturmak için yoğunlaşırlar.

2.1.3.2. Endokondral Kemik Oluşumu

Bu mekanizmada kıkırdak şablonun yerini kemik doldurur. Endokondral kemikleşme sırasında da primer kemikleşme odağı oluşur. İntramembranöz kemikleşmeden farklı olarak kemikleşme merkezi kondrosit kökenlidir.

(1) Kıkırdağın merkezindeki kondrositler hipertrofik hale geçer ve tip X kollagen içeren matriks salgılar. Hipertrofik kondrositler tarafından salgılanan angiyojenik faktörler kan damarlarının oluşumunu başlatır.

(2) Osteoprogenitör hücreler ve hematopoetik hücreler yeni oluşan kan damarları ile beraber buraya gelirler. Bu olayların sonunda primer kemikleşme odakları oluşmaya başlar. Kemiğin ortasında matriksin kalsifiye olması sonucu hipertrofik kondrositlerde apoptosis gerçekleşir.

(3) Kan damarları daha önceden hipertrofik kondrositlerin bulunduğu boşluklara ilerleyerek anastamozlar yapar.

(4) Osteoprogenitör hücreler ve hematopoetik kök hücreler kalsifiye kıkırdağın çekirdeğine ilerlerler. Osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşür ve kemik matriksi çökeltmeye başlarlar.

(5) Gelişimin bu aşamasında diafizde primer kemikleşme merkezi oluşur. İkincil kemikleşme odakları daha sonra epifizlerde gelişir (69).

Hoxa-2, hoxd-13 ve hoxa-13, dlx-5, msx-1 ve msx-2 organogenezde çok görülen gelişimle ilgili genlerdir. Osteogenezise katılan transkripsiyon faktörlerinin çok geniş etki sahası bulunur. Ancak son çalışmalarda *core-binding factor a1* /PEBP2 α A/AML-3 kemikle ilgili transkripsiyon faktörü olarak tanımlanmıştır (31).

Komori ve ark.'nın yaptıkları araştırmanın sonuçlarına göre *core-binding factor a12*'nin çıkartılması sonucu kemikleşmiş dokular oluşmamaktadır (73).

2.1.4. Kemik Hücreleri

Her biri özgün fonksiyona sahip dört tip kemik hücresi bulunmaktadır:
1. Osteoblastlar. 2. Osteositler. 3. Kemik örtü hücresi. 4. Osteoklastlar.

2.1.4.1. Kemik Hücrelerinin Kökeni

Genel kural olarak kemik oluşturan hücreler mezenkimal kökenli iken osteoklastlar hematopoetik kökenlidir (74).

2.1.4.2. Osteoblastlar

Osteoblastlar organik matriksi, osteoid salgırlar. Mineralizasyondan sorumludurlar. Preosteoblastların farklılaşması sonucu oluştukları düşünülmektedir. Kemik yapımı durduğu zaman yüzey osteoblastları inaktif hale geçer. Bunlara örtü hücresi denir. Bu örtü hücreleri osteositler ile olan boşluk bağlantılarını muhafaza ederler.

Preosteoblastlar ve osteoblastlar, plazma membranlarının dış yüzeylerinde yüksek seviyede alkalın fosfataz salgırlar. Salgılanan fosfat; 1. Kemik matriksinin oluşumunu veya olgunlaşmasını stimüle eder. 2. Hidroksiapatit içindeki kemik mineral kristallerinin gelişimine katkıda bulunur. Osteoblastlar kemik mineralizasyonu için önemli olan tip I, tip V kollagen ve birçok non-kollagen protein salgırlar. Bunun yanı sıra birçok sitokin de salgırlar. Hangi tip sitokin ne miktarda salgılanacağı osteoblastların ve onların osteojenik öncüllerinin hangi durumda olduğuna bağlıdır.

Kemik hücresi gelişiminde önemli olan bir faktör de büyüme faktörleridir. Osteoblastlar kemik morfojenik protein ailesinin bir çok üyesini (BMP 2, BMP 7, TGF- β , IGF-1 ve IGF-2, PDGF ve FGF- β) salgırlar. IGF-1, TGF- β , PDGF belirgin şekilde kemik oluşumunu ve tamirini hızlandırır. Normal fizyolojik koşullar altında gerçekleşen kemik rezorpsiyonu sırasında İnterlökin 1, tümör nekrosis faktör alfa ve prostoglandin E2 tarafından stimüle edilen osteoblastlar İnterlökin 6 salgırlar. İnterlökin 6 osteoklastların rezorpsiyon etkinliğini artırır (136).

Kemik metabolizmasında önemli olan hormonlar paratiroid hormon, 1,25-dihidroksivitamin D, kalsitonin, östrojen ve glukokortikoidlerdir. Paratiroid

hormon ve D vitamini iki yönlü etki gösterir. Yüksek konsantrasyonlarda kemik rezorpsiyonunu artırırken, düşük konsantrasyonlarda kemik yapımını desteklerler. Kalsitonin ve östrojen kemik rezorpsiyonunu inhibe ederken, glukokortikoidler hem rezorpsiyonu hem de oluşumu (fakat birincil olarak oluşumu) inhibe ederler.

2.1.4.3. Osteositler

Lakünlerin içinde gömülü kalan osteoblastlara osteosit denir. Osteosite dönüşen osteoblast sayısı kemik oluşum hızına bağlıdır. Kemik oluşum hızı arttıkça her birimde olan osteosit sayısı daha fazladır. Genel kural olarak embriyonik (örgüsel) kemik ve tamir kemiği içindeki osteosit miktarı lameller kemiktekinden daha çoktur. Yaşamları boyunca osteositler etrafını çevreleyen matriksi rezorbe ederek osteositik lakün denilen bir boşluk oluştururlar. Bu lakünlerin dar uzantıları kanalikuliler oluştururlar.

Osteositler etraflarındaki osteositler, osteoblastlar ve kemik yüzeyindeki osteoblastlar ile ilişkilerini korurlar. Osteositler ve örtü hücreleri arasındaki bağlantıyı sağlayan boşluk bağlantıları sayesinde kemik matriksinin muhafazası ve canlılığı için gerekli olan osteoblast-osteosit kompleksi oluşturulmuş olunur. Osteoblast-osteosit kompleksinin en önemli fonksiyonu kanala kalsiyum pompalayarak kemiğin hipermineralize olmasını önlemektir (136).

2.1.4.4. Kemik Örtü Hücresi

Osteoblast ailesine ait olan üçüncü hücre tipidir. Kemik yüzeyini kaplayan inaktif osteoblastlar olarak düşünülmektedir. Yassı formdadır ve sitoplazmik organelleri azalmıştır. Bu hücre metabolizması ve protein sentezinin azaldığının göstergesidir. Bu nedenle bu hücelere inaktif osteoblastlar da denilir. Osteoklastları aktive edici faktör salgılayarak rezorpsiyonun başlamasında yer alırlar.

2.1.4.5. Osteoklastlar

Osteoklastlar çok çekirdekli hücrelerdir. Hematopoetik hücre ailesindedirler. Büyük ve çok çekirdekli hücrelerdir (74). Osteoklastların çekirdek sayısı ve hücre büyüklüğü ilgili kemiğin ne kadar mineralize olduğuna bağlıdır. Osteoblastlara tipik olarak kemik yüzeyinde kendi oluşturdukları, Howship lakünleri denilen boşluklar içerisinde rastlanır. Ana görevleri fizyolojik ve patolojik olaylarda kemik matriksini parçalamaktır. Üzerlerinde hücre yüzeyi reseptörleri bulunur. Büyüklükleri 30-100 µm olup, çekirdek sayısı 3-30 dur.

Osteoklastların uç kısmı mineralize yüzeye yapışır ve rezorbe edilecek alanı sızdırmazlık bölgesi ile kaplar. Bu alanın ortasında hücre yüzeyi birçok sitoplazmik katlanmaya bağlı olarak büyür ve dantel formunda sınır oluşturur. Hücre membranının büyümesi sonucu mineral kristallerini çözüp, kemik matriksini parçalamak için hidrojen iyonları ve proteolitik enzimler salgılanır.

2.1.5. Kemik Matriksi

Osteoblastların yaptığı makromoleküller, ekstrasellüler çevreye kemik matriksini (osteoid) oluşturmak amacı ile salgılanırlar. Osteoblastlardan belirli uzaklıkta, mineralizasyon sahasında osteoid mineralize kemiğe dönüşür.

Kemik matriksi su, mineral, kollagenler, nonkollagen proteinlerden oluşur. Kemiğin organik komponentinin büyük kısmını kollagen oluşturur. Tip I kollagen mineralize kemikteki esas kollajendir. Tip I kollagen tip V kollagenle beraber bağ dokusunun temel yapısal bütünlüğünü sağlayan lif demetlerini oluşturur. Bunun yanı sıra tip III ve tip XII kollagen de alveol kemiğinde bulunur (133).

Nonkollagen proteinler yaşa bağlı olarak farklı miktarlarda olsalar da bütün kemik tiplerinde görülür. Osteokalsin, kemik sialoprotein, osteonektin, osteopontin, proteoglikanlar, albumin, α 2HS-glikoprotein, immunglobulinler ve matriks gla protein bu gruba girer.

Doku onarımı esnasında mineralize matriks tarafından büyüme faktörleri salgılanır. Kemik matriksinde bulunan büyüme faktörleri IGF, PDGF ve TGF- β 'dir.

2.1.6. Kemik Yapım-Yıkım Döngüsü

Embriyonik dönemde ve erişkinlik öncesi dönemde kemik periostal yüzeyde hızla oluşur. Aynı anda endostal yüzeyde, periost üzerinde odak noktalarında ve kompakt kemik içindeki osteonlarda yıkıma uğrar. Kemik gelişimi esnasında kemik yapımı, kemik yıkımından daha hızlı seyredir. Yıkıma uğrayan eski kemiğin yerine yeni kemiğin gelmesine kemik yapım-yıkım döngüsü denir. Hızlı gelişim dönemlerinde çocuklardaki yıllık kemik yapım-yıkım döngüsü oranı %30-100 arasında değişir. Erişkinlik döneminde durma görülmez, ancak yüzdesi azalır. Kortikal kemiğin yıllık kemik yapım-yıkım döngüsü oranı %5 iken, trabeküler kemik ve kompakt kemiğin endostal yüzeyindeki oran %15'e yaklaşır. Kemik yapım-yıkım döngüsü yirmi beş yaşın üzerinde de devam eder, ancak yıkıma uğrayan kemik miktarı yavaş yavaş yapılan

kemik miktarını geçmeye başlar. Zamanla kemik kavitesi genişler, endost dalgalı bir hal alır. Korteks genişler ve net kemik kaybı ortaya çıkar (136).

2.1.7. Kemiğin Yeniden Şekillenmesi

Osteoblastlar ve osteoklastların rol aldığı, eski kemiğin rezorbe olduğu ve yerini yeni kemiğin aldığı olaylar dizisidir (54). Yaşam boyu devam eden bir süreçtir. Yeniden şekillenmenin amacı mikroskobik düzeydeki zararı tamir ederek kemik direncini arttırmak ve kalsiyum homeostazını korumaktır. Normal koşullarda rezorbe olan kemik miktarı kadar kemik yapımı gerçekleşir. İki tip kemiğin yeniden şekillenmesi vardır; 1. Kortikal kemiğin yeniden şekillenmesi, 2. Trabeküler kemiğin yeniden şekillenmesi.

Fizyolojik yeniden şekillenme, mekanik etkilerin ve sistemik endokrin hormonların başlattığı kemiğin yeniden şekillenmesi sürecidir. Buna karşılık patolojik yeniden şekillenmede örneğin romatoid artritte olduğu gibi, makrofaj ailesi hücreleri toplanarak enflamasyonla ilgili olan sitokinler salgılanır ve kemiğin yeniden şekillenme süreci gerçekleşir (50).

2.2. Kemik İyileşmesi

Bir doku yaralandığı zaman iyileşme orijinal dokunun şeklinden veya fonksiyonundan farklı olan doku oluşumu ile gerçekleşiyorsa, bu tip iyileşmeye onarım denir. İyileşme yaralanan dokunun morfolojisine ve fonksiyonuna sahip yeni doku oluşumu ile gerçekleşiyorsa buna doku rejenerasyonu denir (78).

Fizyolojik rejenerasyon ve reperatif rejenerasyon olmak üzere iki tip rejenerasyon vardır. Birçok doku veya organ sisteminde fizyolojik rejenerasyon görülmektedir. Sürekli olarak eski doku ve hücrelerin yerini yeni doku ve hücreler almaktadır. Kortikal ve trabeküler kemiğin yeniden şekillenmesi de rejenerasyondur. Reperatif rejenerasyon yaralanma veya hastalık sonucu dokular kaybedildiği zaman gerçekleşir.

Kemik orijinal yapısını tekrar kazanabilme kapasitesine sahiptir. Ancak yeterli kan dolaşımı, sağlam taban tarafından desteklenen mekanik stabilite gereklidir (11).

Kemik dokusunun iyileşmesi yaranın karakterine bağlı olarak hem onarım hem de rejenerasyon şeklinde gerçekleşmektedir. İyi sabitlenmiş, dar kemik kırığının (örneğin yeşil ağaç kırığı) iyileşmesi rejenerasyon şeklinde gerçekleşirken, kemikteki daha büyük defektler sıklıkla tamir şeklinde gerçekleşir.

Herhangi bir kemik lezyonu (kırık, defekt, bir implantın yerleştirilmesi, kan dolaşımının bozulması) sonucu büyüme faktörleri ve diğer sinyal gönderici moleküllerin salınması ile lokal kemik rejenerasyonu başlar. Kemik oluşumu, heterotopik ve ortotopik olarak iki şekilde görülür. Heterotopik kemik oluşumunda kemik oluşumu fizyolojik olarak kemik dokusunun bulunmadığı alanda başlar. Endokondral kemik oluşumunu taklit eder. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada BMP'ler subkütan yerleştirildikten üç dört gün sonra mezenkimal hücreler prolifer olmaya başlamıştır (119). Beşinci ve sekizinci günler arasında kırıkta gelişmeye başlamış ve bir gün içinde mineralize olmaya başlamıştır. Kalsifiye kırıkta damarlanması ve kemikleşmesi onuncu ve on birinci günlerde başlayıp devam etmiştir.

Ortotopik kemik oluşumunda ise osteoprogenitör hücreler kemik dokusu ile direkt temas halindedir. Uyaran sinyaller sonucu prolifer olup osteoblastlara dönüşürler.

Yara iyileşmesi dört safhadan oluşmaktadır:

1. Pıhtı oluşumu.
2. Yaranın temizlenmesi.
3. Doku oluşumu.
4. Dokunun şekillenmesi ve yeniden şekillenmesi.

Çekim yarasının iyileşmesi alveol kemiğindeki defektlerin iyileşmesi esnasında meydana gelen olaylar için uygun bir modeldir (5). Bir grup köpekte alt çenede premolar dişler çekilmiş ve farklı zamanlarda alınan biopsilerde çekim bölgelerinin iyileşmesi incelenmiştir. İlk olarak çekim boşluğu kan ile dolmuş ve pıhtı oluşmuştur. Daha sonra iltihabi hücreler pıhtı içerisine göç etmiş ve yaranın temizlenmesi süreci başlamıştır. Damarsal doku ve mezenkimal hücreler pıhtı içerisine göç etmiş ve granülasyon dokusu oluşmuştur. Granülasyon dokusunun yerini aşamalı olarak geçici bağ dokusu alır ve yeni örgüsel kemik oluşumu başlar.

Çekim sonrası kemik oluşumundaki önemli olaylar

Çekim sonrası kavite kan ile dolmaya başlar. Damarlardan kaynaklanan proteinler ve zarar gören hücreler fibrin ağı oluşumunu sağlayan bir dizi olayı başlatır. Trombositlerin aggregasyonu ve fibrin ağının beraber devreye girmesi ile oluşan pıhtı zarara uğrayan damarlara tampon yapar ve kanama durdurulur (0-24 saat). Pıhtı

hücresel hareketleri yöneten fiziki matriks işlevi görür ve iyileşme sürecinin devam etmesi için gerekli olan maddeler içerir. Pıhtı içerisinde mezenkimal hücreleri ve iltihabi hücreleri etkileyen maddeler bulunur. Bu maddeler farklı hücrelerin göç etmesini, proliferasyonunu, farklılaşmasını başlatır. Yara iyileşmesinin başlangıç aşamasında pıhtı oluşumu çok önemli olmasına rağmen yeni doku oluşumu için pıhtının uzaklaşması zorunludur. Çekimden birkaç gün sonra fibrinolizis başlar.

Yaranın Temizlenmesi: Nötrofil ve makrofajlar yara bölgesine göç ederek zarara uğramış dokuları ve bakterileri fagosite ederler (2. ve 3. gün). Böylece doku oluşumu başlamadan bölge temizlenmiş olur. Makrofajlar sadece yara bölgesinin temizlenmesinden sorumlu değildir. Aynı zamanda mezenkimal hücrelerin göç etmesini, proliferasyonunu ve farklılaşmasını sağlayan büyüme faktörleri ve sitokinler salgırlar. Yıkıntı ürünleri temizlenip yara steril hale geçtikten sonra nötrofillerin programlı ölümü (apoptosis) gerçekleşir ve bölgeden makrofajlar tarafından uzaklaştırılırlar. Daha sonra makrofajlar yara bölgesinden uzaklaşırlar. Çekim boşluğunda yara yüzeyine bakan travmatize kemiğin bir bölümü nekroze olur ve osteoklastik aktivite ile uzaklaştırılır.

Doku Oluşumu: Yara bölgesine çevreden göç eden mezenkimal hücreler, fibroblastlara benzer hücreler proliferasyon yapmaya başlarlar. Granülasyon dokusu pıhtının yerini almaya başlar (7. gün). Granülasyon dokusu erken dönemde görülen ve geç dönemde görülen olmak üzere iki kısımda incelenebilir. Erken dönemde görülen granülasyon dokusu büyük miktarda makrofaj, az miktarda kollagen lifleri, çok az mezenkimal hücre ve yeni oluşan damarlardan oluşur. Geç dönemde görülen granülasyon dokusunda çok az makrofaj, bol miktarda fibroblast benzeri hücre ve yeni oluşmuş damarlar görülür. Fibroblast benzeri hücreler büyüme faktörlerini salgılamaya, proliferasyona ve yeni ekstrasellüler matriksi yapmaya devam eder. Yeni oluşan damarlar hücrelerin sayısının artması için gerekli olan oksijen ve besinleri temin ederler. Mezenkimal hücreler tarafından matriks bileşenlerinin salgılanmasına fibroplazi denir. Yeni damar oluşumuna angiogenezis denir. Fibroplazi ve angiogenezis sonucu geçici bağ dokusu oluşur (14. gün).

Geçici bağ dokusunun kemik dokusuna dönüşümü kan damarları boyunca gerçekleşir. Osteoprogenitör hücreler göç edip, kan damarları etrafında toplanmaya başlarlar ve osteoblastlara dönüşürler. Osteoblastlar osteoid yığırlar.

Örgüsel kemik ilk oluşan kemik tipidir (30. gün). Kan damarları boyunca oluşumu iyi organize olmamış kollagen matriksi, mineralize matriks içerisinde gömülü kalmış çok sayıda osteoblast ve yük taşıma kapasitesinin düşük olması ile karakterizedir. Örgüsel kemik kan damarları boyunca parmaklı uzantılar şeklinde oluşur. Şekillenen örgüsel kemik kan damarlarını çevreler. Trabekül daha fazla örgüsel kemiğin yığılması ile kalınlaşır. Osteositler gömülü kalırlar ve ilk osteon seti, primer osteon oluşur. Örgüsel kemik ara sıra paralel kemiğin birikimi ile güçlendirilir.

Doku Şekillenmesi ve Yeniden Şekillenmesi: Başlangıçtaki kemik oluşumu çok hızlı bir süreçtir. Birkaç hafta içerisinde çekim boşluğu örgüsel kemik ile dolar. Örgüsel kemik sağlam bir yapı iskelesi, sağlam bir yüzey, hücre fonksiyonu ve matriks mineralizasyonu için kaynak sağlarken aynı zamanda osteoprogenitör hücreler içinde kaynaktır. Şekillenme ve yeniden şekillenme süreçleri sonunda örgüsel kemiğin yerini aşamalı olarak lameller kemik ve kemik iliği alır (60. gün). Yeniden şekillenme sırasında primer osteonların yerini sekonder osteonlar alır. İlk olarak örgüsel kemik osteoklastik aktivite sonucu belirli bir seviyeye dek rezorbe olur. Şekillenme ve yeniden şekillenme erken başlamasına rağmen çekim boşluğundaki örgüsel kemiğin yerini tamamen kemik iliğinin ve lameller kemiğin alması aylarca sürer (78).

Özetle:-Çekim sonrası kemik oluşumunda ilk yirmi dört saat içerisinde pıhtı oluşumu ve hemolizin başlaması.

-İki üç gün içerisinde pıhtının kontrakte olması ve yerini granülasyon dokusunun alması.

-Üçüncü günden sonra fibroblast yoğunluğunun artması ve yara kenarından epitel proliferasyonu.

-Birinci hafta sonunda soketin apikalinde osteoid oluşumu ve yaranın epitel ile örtülmesi.

-Birinci ay sonunda trabeküler yapıda kemik oluşumu ve yaranın epitel ile tamamen örtülmesi.

-İkinci ayın sonunda çekim boşluğu içerisinde kemik oluşumunun tamamlanması.

Kemik kayıplarının onarımı, kemik rejenerasyonunun incelenmesi için iyi bir modeldir. Kırıkların aksine defektler mekanik etkenlere ve kan dolaşımının bozulmasına daha az maruz kalır.

2.2.1. Kemik İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Kemik iyileşmesini etkileyen faktörler lokal ve sistemik faktörler olmak üzere iki ana grupta incelenir. Lokal ve sistemik faktörler nihai klinik sonuçlar üzerinde önemli etkilere sahiptir (140).

2.2.2. Lokal Faktörler

Travmanın şiddeti: Yaralanmanın şiddeti arttıkça kemik ve etrafındaki yumuşak dokular daha fazla zedeleneceğinden ötürü iyileşme güçleşecektir. Hafif yaralanmalar yumuşak eziklere neden olur ve kolay iyileşir.

Kemik tipi: Spongiyöz ve kompakt kemiğin iyileşme hızları farklıdır. Spongiyöz kemik daha stabil olup, kompakt kemiğe göre daha fazla yüzey alanına sahiptir.

Damarsal yaralanma: Damarlanma bölgenin kanla beslenmesini sağladığı için, damarlanma bozulduğu zaman iyileşme süreci gecikecektir.

Hareketsizlik derecesi: İyileşme sürecinin kesintiye uğramaması için kırık olan bölgede kemiğin hareketsizliği sağlanmalıdır. Süreç kesintiye uğradığı takdirde yumuşak doku ve kan desteği de ortadan kalkar.

Kemik morfojenik protein: Kemik morfojenik proteinler mezenkimal hücrelerin kemik hücrelerine dönüşmesini sağlarlar. Vücutta çok az miktarlarda oldukları halde, rekombinan DNA teknolojisi ile birçok BMP sentezlenmiştir.

Büyüme faktörleri: Kemiğin yeniden şekillenmesi esnasında salgılanan büyüme faktörleri osteoblast ve osteoklast mekanizmasını düzenleme yeteneğine sahiptir. Kemik travmaya maruz kaldıktan sonra iyileşme yanıtını başlatıp, kontrol edebilirler (118).

2.2.3. Sistemik Faktörler

Sigara: Sigaranın kırık iyileşmesini engellediği deneysel ve klinik olarak gösterilmiştir. Deneysel çalışmalarda nikotinin kallus oluşumu, kortikal yeniden şekillenme ve mekanik özellikler üzerindeki olumsuz etkileri gösterilmiştir (144). Nikotinin iyileşmeyi engelleyici etkisinin damarlanmayı bozmasından dolayı olduğu düşünülmektedir.

Osteoporoz: Osteoporoz özellikle trabeküler kemikte olmak üzere, kemik hacminde azalmaya neden olur. Osteoporoz sonucu trabekül sayısının ve kalınlığının azalması kemiğin mekanik özelliklerini bozar ve kırılma riskini artırır. Şimdiye dek

osteoporotik kemiğin sağlıklı kemikle aynı iyileşme potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir. Osteoporotik sıçanlarda yapılan bir çalışmada kırığın iyileşmesinin azaldığı gösterilmiştir (65).

Paratiroid hormon: Paratiroid hormon kalsiyum havuzuna kalsiyum akışını artırır ve vücuttaki kalsiyum seviyesini belli bir düzeyde tutar. Osteoblastlar paratiroid hormon reseptörüne sahip yegane kemik hücreleridir. Bu hormon osteoblastlar üzerindeki değişiklikleri başlatır.

D Vitamini: Bağırsak ve böbrekteki kalsiyuma bağlanan proteinleri uyarır ve aktif kalsiyum taşınmasını kolaylaştırır.

Kalsitonin: Kalsiyumun akut olarak arttığı durumlarda salgılanır. Kalsiyuma bağlı hücrel metabolik etkinliği inhibe eder (65).

Kemoterapi: Kemoterapi için kullanılan sitotoksik ilaçların kemik oluşumu üzerine olumsuz etkisi vardır. Deneysel çalışmalarda, methotrexatenin çok küçük dozlarda dahi kemik oluşma hızını ve trabeküler kemik hacmini azalttığı görülmüştür. Sıçanlarda methotrexate tedavisi sonrası kırıklar daha yavaş iyileşmekte ve kemiğin mekanik özellikleri daha zayıf olmaktadır.

Non-steroid antiinflamatuarlar: Ektopik kemik oluşumunu inhibe ettiği bilinmektedir. Bazı deneysel çalışmalarda bu ilaçların kırık iyileşmesini inhibe ettiğine dair bulgular elde edilmiştir.

Yaş: Yaş da kemik iyileşmesinde belirleyici bir faktördür. Yaşa bağlı olarak kemiğin iyileşme kapasitesinin azalmasının nedenlerinden biri de kemik içerisindeki mezenkimal kök hücre sayısının azalmasıdır. Kemik matriksi içindeki büyüme faktörlerinin seviyesinin de yaşla beraber azaldığına dair kanıtlar mevcuttur (79).

Elektriksel uyarı: Elektriksel uyarının da kemik iyileşmesi ve yeniden şekillenmesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (79).

2.3. Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu

1957'de Murray ve Roschlau yayınladıkları bir çalışmada, çevresindeki yumuşak dokulardan izole edilen bir kavitede yeterince osteoblast ve kan dolaşımı olduğu takdirde kavitenin kemik ile dolabileceğini göstermişlerdir (72). Boşluk korunmadığı takdirde içi fibröz bağ dokusu ile dolacaktır. Bu gözlemlerine ilaveten

greft uygulamalarında boşluğa kemik dolmadan greftin rezorbe olması gerektiğini, aksi takdirde boşluğa yerleştirilen kemik greftinin kemik oluşumunu bozabileceğini öne sürmüşlerdir.

Genelde bir greft materyali ile beraber uygulanan YKR rutin diş hekimliği uygulamalarında kemik ogmentasyonu için en sık kullanılan yöntemdir. Kemik daha yavaş gelişen bir doku olduğu için fibroblastlar ve epitel hücreleri kemikten daha önce hareket edip boşluğa yerleşmektedirler. Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunun altında yatan biyolojik mekanizma yara bölgesinden istenmeyen hücrelerin uzak tutulması, buna karşın bariyer membran altında bulunan pıhtı ile dolmuş boşluğa kemik hücrelerinin proliferasyonu sağlamaktır. Bariyer membran yeteri kadar önleyici görevini sürdürür ve ağız boşluğuna eksoze olmazsa, kök hücrelerin ve osteoprogenitör hücrelerin osteoblastlara dönüşmesi için gerekli optimal koşullar sağlanmış olur. Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu uygulamalarının çıkış noktası YDR uygulamalarıdır (52, 108).

Yapılan çalışmalar yeni bağ dokusu ataşmanı oluşumu için gerekli olan progenitör hücrelerin periodontal ligament içinde bulunduğunu göstermiştir (52, 108, 109). Bu nedenle iyileşme sırasında kök yüzeyinde periodontal ligament kaynaklı hücreler toplanırsa yeni bağ dokusu ataşmanı gerçekleşecektir.

Nyman ve ark.'nın üç maymunun alt ve üst çenesinde yaptıkları çalışmada (108), mukoperiostal flebin kaldırılmasından sonra üst çenede lateral kesicilerde ve alt çenede kanin dişlerinin bukkal ve aproksimal yüzeylerinde, kök yüzeyinin ortasından alveol kretinin iki milimetre apikalinde bulunan bölgeye kadar alveol kemiği çıkartılmıştır. Daha sonra kök yüzeyleri kürete edilerek sement dokusu uzaklaştırılmıştır. Açığa çıkan kök yüzeyini işaretlemek amacıyla çentikler hazırlanmıştır. İşaretlenen bölgenin üzerine flebi tekrar yerleştirmeden önce kürete edilen kök yüzeyinin üzeri iyileşme esnasında bağ dokusu hücreleri ile temasa geçmemesi amacıyla millipore filtre ile örtülmüştür. Altı ayın sonunda hayvanlar sakrifiye edilmiş ve histolojik kesitler alınmıştır. Kürete edilen kök yüzeylerinde kollagen liflerle gömülen yeni sement dokusu görülmüştür. Ancak bu tip iyileşme tüm kürete edilen kök yüzeyleri boyunca görülmemiş, yaranın apikal bölgesinde bağ dokusu ataşmanı ile sonuçlanmıştır. Bu deneyin sonuçları periodontal ligament hücrelerinin yeni bağ dokusu ataşmanı oluşturma kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir.

Gottlow ve ark.'nın 1984'te yaptıkları bir çalışmada maymunların dişlerinin kuronları kesildikten sonra üstleri membran ile örtülmüştür (52). Daha sonra membranla örtülen köklerin üstleri kapatılmıştır. Aradan üç ay geçtikten sonra membranların çöktüğü durumlarda kök yüzeyine bitişik olan bölgede dar bir boşluk olduğu, kök yüzeyinde yeni sement olduğu fakat yeni kemik oluşumunun dikkate alınmayacak kadar az olduğu görülmüştür. Buna karşın membranın çökmediği durumlarda kök yüzeyine bitişik olan bölgede daha geniş bir boşluk olduğu, kök yüzeyinde oluşan yeni bağ dokusu ataşmanına ilaveten önemli miktarda yeni kemik olduğu görülmüştür. Hatta daha önce kemik olmayan alanlarda da kemik olduğu görülmüştür. Bu araştırmanın sonuçları fiziksel bir bariyer kullanarak epitel hücreleri ve bağ dokusu hücrelerinin yara bölgesine göç etmesinin engellenmesi sonucu periodontal ligament hücrelerinin kök yüzeyinde yeniden yerleşebileceğini göstermiştir. Bu sonuçlardan sonra YDR prensipleri ortaya çıkmıştır. Bu gözlemlerin sonucu YDR prensiplerinin izole edilmiş bir boşluk yaratılarak kemik rejenerasyonunda da başarı ile uygulanabileceği düşüncesine sevk etmiştir.

İlk olarak Dahlin ve arkadaşları sıçan mandibulasında oluşturdukları defektlerde YDR prensiplerini uygulayarak kemik dolumu gerçekleştirdiğini göstermişlerdir (29). Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunun başarılı ve öngörülebilir sonuçlar vermesinden dolayı implant tedavilerinde uygulanması yaygınlaşmıştır. Daha önceden yeterli miktarda kemik olmayan bölgelerde yapılan implant uygulamalarında %95'ten daha fazla başarı oranı bildirilmiştir. Bununla beraber YKR ile başarılı sonuçlar elde etmek için klinik uygulamalar sırasında biyolojik prensiplere dikkat edilmelidir. Başarılı YKR uygulamaları için dört ana prensip geçerlidir:

- * Primer yara kapanması.
- * Angiogenez.
- * Boşluk yaratma ve muhafaza etme.
- * Pıhtı ve implant stabilizasyonu (145).

Primer Kapama

Primer yara iyileşmesi ve sekonder yara iyileşmesi şeklinde iki tip yara iyileşmesi vardır. Primer yara iyileşmesinde yara uçları doku orijinal şekline gelecek şekilde uç uca getirilir. Sekonder yara iyileşmesinde ise doku uçları tam olarak uç uca getirilemediğinden dolayı yara daha yavaş iyileşir, daha fazla kollagen yeniden

şekillenme gerekir ve çoğunlukla skar oluşur. Yara bölgesinin bakterilere ve mekanik yaralanmalara maruz kalmaması için uygun bir ortam oluşturabilmek için primer kapama YKR'nin temel cerrahi ilkesidir (44, 132). Yara uçlarının pasif konumda uç uca gelmesi yara iyileşmesinin daha az re-epitelizasyon, yara kontraksiyonu, kollagen oluşumu ve yeniden şekillenme ile gerçekleşmesini sağlar. Alttaki bağ dokusunun daha az ekspozite olmasına bağlı olarak daha az post-op sıkıntı görülür. Araştırmacıların birçoğu öngörülebilir YKR sonuçları elde etmek açısından implantların yerleştirilmesini takiben primer kapamanın gerekliliğini savunmuşlardır (51, 87).

Machtei, membranların açığa çıkmasının YKR ve YDR sonuçlarına etkisini incelediği bir meta analiz çalışması yapmıştır (87). Membranların açığa çıktığı YDR vakalarında, membranların açığa çıkmadığı vakalara göre 0,47 mm daha az ataşman kazancı sağlanmıştır. Buna karşın YKR uygulamalarında membranın açığa çıkmasının kemik oluşumuna önemli ölçüde olumsuz etkisi görülmüştür. Membranın açığa çıktığı vakalarda ortalama 0,56 mm kemik oluşumu gözlemlenirken, membranların açığa çıkmadığı durumlarda ortalama 3,01 mm yeni kemik oluşumu gözlemlenmiştir.

Simion ve ark.'nın (130) implant yerleştirilen bölgelerde membranın açığa çıkmasının YKR sonuçlarına etkisini incelediği bir çalışmada, membranın açığa çıktığı implantların etrafında %48,6 kemik oluşumu saptanmışken, membranların açığa çıkmadığı implantların etrafında %99,6 kemik rejenerasyonu görülmüştür. İmplantların yerleştirilmesini takiben altı ile sekiz ay sonunda membran açığa çıkmadığı takdirde kemik rejenerasyonu öngörülebilirdir.

Angiogenez

İmplantların etrafındaki yara iyileşmesi ağız boşluğunun diğer bölgelerindeki yara iyileşmesine benzer. Kemik rejenerasyonundaki olaylar dizisi, normal kemik oluşumundakilere benzer şekilde gerçekleşir. İmplant yüzeyi başlangıçta pıhtı oluşması için elverişli bir platform sağlar. Greft materyalleri ve membranların kullanılması için boşluk oluşturulur ve BMP'lerin salınımı ile osteogenezis başlatılır. İmplant yerleştirilmesini takiben membran-greft uygulaması sonucu oluşturulan boşlukta ve implant çevresinde pıhtı oluşur. Başlangıçta oluşan pıhtı nötrofil ve makrofajlar tarafından uzaklaştırılır ve birkaç gün içinde granülasyon tabakası oluşmaya başlar. Granülasyon tabakası damarlardan zengindir ve bu damar tabakası ileride oluşacak kemik dokusu için anahtar role sahiptir.

Buser ve ark. kortikal perforasyonlar oluşturmanın angiojenik ve osteojenik hücrelerin göç etmesini sağladığını bulmuşlardır (15). Dekortikasyonun birçok avantajı vardır. Kemik iliği ile iletişim halinde olma sonucu PDGF ve BMP gibi büyüme faktörleri periodontal rejenerasyonu ve implant çevresi kemik oluşumunu arttırmak için salınabilir. Kortikal kemikte oluşturulan perforasyonlar yeni oluşan kemikle mekanik bağlanma oluşturur. Daha büyük perforasyonlar oluşturulması sonucu kemik dolumu daha kısa sürede gerçekleşir, ancak toplam yeni oluşan kemik miktarında bir farklılık olmaz. Misch bukkal ve lingualde perforasyonlar oluşturulması sonucu kemik iyileşmesinin normalden iki ile on kat daha fazla olduğunu savunmuştur.

Shimoji ve ark.'nın seksen erkek sıçanda yaptıkları çalışmada hayvanların her iki femurunda yapılan çalışmada hayvanlar dört gruba ayrılmıştır. Yapılan ensizyondan sonra periost sıyrılmış ve birinci grupta kemik perforasyonu-kollagen sponge uygulanmış, ikinci grupta sadece perforasyon oluşturulmuş, üçüncü grupta sadece sponge uygulanmış ve dördüncü grup kontrol grubu olup hiçbir işlem uygulanmamıştır. On dördüncü ve yirmi sekizinci günlerde kemik perforasyonu-sponge uygulanan grupta diğer gruplara göre daha fazla kemik rejenerasyonu olduğu bildirilmiştir (129).

Boşluk Yaratılması ve Korunması

Kemik rejenerasyonu için boşluk oluşturulması YKR'nin temel ilkelerindedir. Boşluk yaratılması bir taraftan istenmeyen epitel hücreleri ve bağ dokusu hücrelerinin göç etmesini engellerken diğer yandan kemik yapıcı hücrelerin proliferasyonunu sağlamaktadır.

Çok fazla kemik rejenerasyonunun gerçekleşmesinin arzulandığı durumlarda membran kullanarak boşluk oluşturulması önemlidir. Polimeni ve ark. on bir Beagle cinsi köpekte tamamen iyileşemeyecek boyutta, supraalveolar, periodontal defektler oluşturmuşlardır. Altı köpekte yer tutucu olarak poröz e-PTFE bariyer kullanılmış, diğer beş köpekte herhangi bir uygulama yapmamışlardır. Sekizinci hafta sonunda hayvanlar sakrifiye edilmiş ve e-PTFE bariyer uygulanan grupta diğer gruba göre daha fazla kemik rejenerasyonu olduğu gözlemlenmiştir. Boşluğun korunması daha fazla alveolar kemik yapımı üzerinde önemli etkiye sahiptir (116).

Fritz ve ark.'nın çalışmasında on sekiz maymunun mandibulasında bilateral defektler oluşturulmuş ve bu defektler güçlendirilmiş e-PTFE membran ile örtülüp, membranlar mini vidalar ile sabitlenmiştir. Bir aydan önce eksoze olan membranların

çevresinde kemik yapımı gözlemlenmezken, iki ile on iki ay sonunda ekspozel olmadan çıkarılan membranların olduğu yerde önemli miktarda kemik yapımı (%90) görülmüştür. İki aydan on iki aya kadar kalan membranlar arasında kemik dolumu miktarında önemli fark görülmemiştir (43).

Stabilite

Bariyer membranın iki rolü sözkonusudur. Göç etmesi istenmeyen hücreleri engellerken diğer taraftan pıhtıyı stabilize eder. Yara iyileşmesinde başlangıçta pıhtı oluşması ve yara stabilizasyonu son derece önemlidir. Bunlar gerçekleştiği takdirde öngörülebilir yara iyileşmesi için gerekli olaylar dizisi gerçekleşecektir. Başlangıçtaki pıhtı, yara bölgesini temizlemek için gerekli hücrelerin yara bölgesine göç etmesini sağlayan sitokinler (İnterlökin 1, İnterlökin 8, Tümör nekrosis faktör) ve büyüme faktörleri (PDGF, IGF, FGF) açısından son derece zengin bir kaynaktır. Nötrofil ve monositler için PDGF önemli bir kemoatraktandır. Pıhtı başlangıçtaki bol damarlı granülasyon dokusunun öncülüdür. Granülasyon dokusunun yerinde daha sonra intramembranöz kemik oluşumu ve yeniden şekillenme gerçekleşecektir.

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu uygulamalarında ensizyonun başarısını etkileyen faktörler olarak hastaya ilişkin faktörler, aşırı ödem, flebin yerine pasif olarak oturması, defekt morfolojisi, defektin büyüklüğü ve açısı, membranın fikse edilmesi, kullanılan materyaller sayılmıştır. Yumuşak doku iyileşmesinin bozulması çoğunlukla membranın ekspozel olması ile sonuçlanmaktadır. Bu da rejenerel olan kemik miktarını %81'e kadar varan önemli oranda azaltmaktadır (28). Enfeksiyon ya da membranın erken rezorbe olması kemik rejenerasyonunun bozulmasında etyolojik faktörler olarak düşünülmüştür. Bu nedenle hangi tip rejeneratif işlem yapılırsa yapılsın yaranın minimum açılması esastır. Ensizyon şeklinin de cerrahi yara iyileşmesini etkilediği öne sürülmüştür.

Yapılan çalışmalarda ensizyon şeklinin osseoentegrasyonu etkilemediği görülmüştür. Ancak köpeklerde yapılan bir çalışmada parakrestal ensizyonun krestal ensizyona göre daha yavaş iyileştiği bildirilmiştir (124). Yine yapılan klinik çalışmaların sonunda krestal ensizyonlarda, parakrestal ensizyonlara göre post-op daha az ödem, enflamasyon ve ağrı görüldüğü bildirilmiştir (124).

İmplant tedavilerinde YKR uygulamaları eş zamanlı veya iki aşamalı olarak yapılmaktadır (57).

Eş zamanlı uygulamalar

Diş kayıplarından sonra alveol kemiğinde rezorpsiyon en çok erken dönemde görülmektedir. Bu nedenle kemik kaybından kaynaklanacak sorunları en aza indirmek için yeni çekim boşluklarına implant uygulamaları yapılabilmektedir. Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu implant çevresindeki kemik kayıplarını ogmente etme amacı ile yapılır. Eş zamanlı YKR uygulamalarında üç ön koşul gereklidir: 1) İmplantın doğru üç boyutlu konumda yerleştirilmesi. 2) İmplantın primer stabilitesinin iyi olması. 3) Defekt morfolojisinin kemik rejenerasyonu için uygun olması ve en az iki duvarlı olması (16). Eş zamanlı YKR uygulamalarının cerrahi işlem sayısını azaltma, tedavi süresini kısaltma, implantı ideal pozisyonda yerleştirme ve tedavi masraflarını azaltma gibi avantajları vardır.

İki aşamalı uygulamalar

İmplantın protetik tedavi için ideal konumda yerleştirilemediği veya primer stabilitenin sağlanamadığı durumlarda iki aşamalı YKR uygulamaları yapılmaktadır. Zitzmann ve ark.'nın YKR'nin başarısını etkileyen faktörleri araştırdığı bir çalışmada, yetmiş beş hastada yapılan implant uygulamalarında YKR için rezorbe membran ve ksenogreft kullanılmıştır. Bu çalışmada sigaranın, defekt morfolojisinin, implant yerleştirme zamanının, kemik kalitesinin, geçici restorasyon yapılmasının, maksilla veya mandibulada uygulama yapılmış olmasının YKR başarısına etkileri değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda elde edilen bulgulara göre maksillada (%96) mandibulaya (%78) göre daha fazla kemik dolumu görülmüştür. Geçici restorasyon yapılmış vakalarda daha fazla iyileşme görülmüştür. İmmediyat veya erken dönem implant uygulamalarında (%92) geç dönem uygulamalarına (%80) göre daha fazla kemik dolumu görülmüştür. Tip 1 kemik olan bölgelerde kemik dolununun (%64) daha az olduğu bildirilmiştir. Sigaranın mukoza irritasyonuna neden olmasına bağlı olarak sigara içenlerde daha az kemik dolumu görülmüştür. Bununla birlikte sigara, YKR başarısını etkileyen faktörler arasında istatistiksel anlam taşıyan bir risk faktörü değildir (155).

2.3.1. Kemik greftleri

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunda kemik greftleri çeşitli amaçlar için kullanılır:

- Membranın çökmesini önlemek için destek amaçlı,
- Alıcı bölgede kemik gelişimi için iskelet yapı olarak,
- Alıcı bölgede kemik gelişimini stimüle etmek için,
- Üstteki yumuşak dokuların uyguladığı basınca karşı mekanik koruma amaçlı,
- Ogmente edilen bölgeyi rezorpsiyondan koruma amaçlı (63).

Kemik greftlerini kullanma endikasyonları küçük peri-implant defektlerin greftlenmesinden büyük kayıpların rejenerasyonuna kadar geniş bir sahayı kapsar. Bu nedenle bazen tek bir greft materyali arzulanan amacı sağlayamaz. Başarılı ve öngörülebilir tedavi sonuçları elde etmek amacı ile iki veya daha fazla materyal beraber kullanılabilir.

Greft materyalinin kaynağına veya üretim yöntemine bakılmaksızın greft materyalinin sahip olması gereken bazı özellikler vardır. İmmünolojik reaksiyonlara neden olmamalı, hastalık transferi riski taşımamalı, doku uyumlu olmalıdır. Greftin geometrisi damarların gelişimini destekleyecek tarzda olmalıdır. Bu, greftin içinde kemik oluşumu için önemlidir. Materyal yalnız poröz yapıda olmamalı, aynı zamanda birbirleriyle bağlantılı makro porlara sahip olmalıdır. Optimal makro por büyüklüğü hakkındaki bilgiler çelişkili olmakla beraber 100-500 µm olduğuna inanılmaktadır. Makro porozite özellikle blok halinde kullanılan greft materyallerinin yeniden damarlanmasında önemlidir. İnce parçacıklı greftler kullanıldığı takdirde damarlanma greft partikülleri arasında gerçekleşecektir. Ogmente edilen bölgenin damarlanmasının engellenmemesi için greft materyali greftlenecek bölgeye çok sıkı bastırılmamalıdır.

Kemik greftlerinin yüzey özellikleri kimyasal bileşimi, mikro porozite, yüzey pürüzlülüğü, kristal büyüklüğü gibi faktörler tarafından belirlenir. Yüzey özellikleri başlangıçtaki protein adsorpsiyonu, osteoblast ve osteoklastların tutunması, osteoidin birikimi ve yeni oluşan kemiğin materyal yüzeyine direkt apozisyonu açısından büyük önem taşır (63).

Klinik uygulaması kolay olmalıdır. Klinik uygulama amacına yönelik olarak çabuk veya geç rezorbe olmalıdır. İleride implant yerleştirilecek çekim boşluklarına yapılan uygulamalarda, implantın canlı kemik içine yerleştirilebilmesi için greft maddesi yeni kemik oluşumu veya yeniden şekillenme esnasında rezorbe olabilmelidir.

Buna karşılık yumuşak doku desteği sağlamak amacı ile estetik bölgelerde yapılan çalışmalarda rezorpsiyon miktarı az olmalıdır.

2.3.1.1. Kemik Rejenerasyonu ve Ogmentasyon Mekanizmaları

Başarılı greft uygulamaları üç farklı mekanizma sonucu gerçekleşir. Osteogenezis, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon.

Osteogenezis: Otojen kemik grefti içerisinde canlı osteoblast hücreleri bulunur. Yeterli kan dolaşımı ve hücre canlılığı olduğu takdirde greft içindeki osteoblastlar yeni kemikleşme odakları meydana getirir.

Osteoindüksiyon: Defekt içerisindeki osteoprogenitör hücrelerin uyarılması sonucu bunlar osteoblastlara dönüşürler ve yeni kemik oluşturmaya başlarlar. Hücre mediyatörlerinin bu hücreleri uyarması ile aktif hale geçerler.

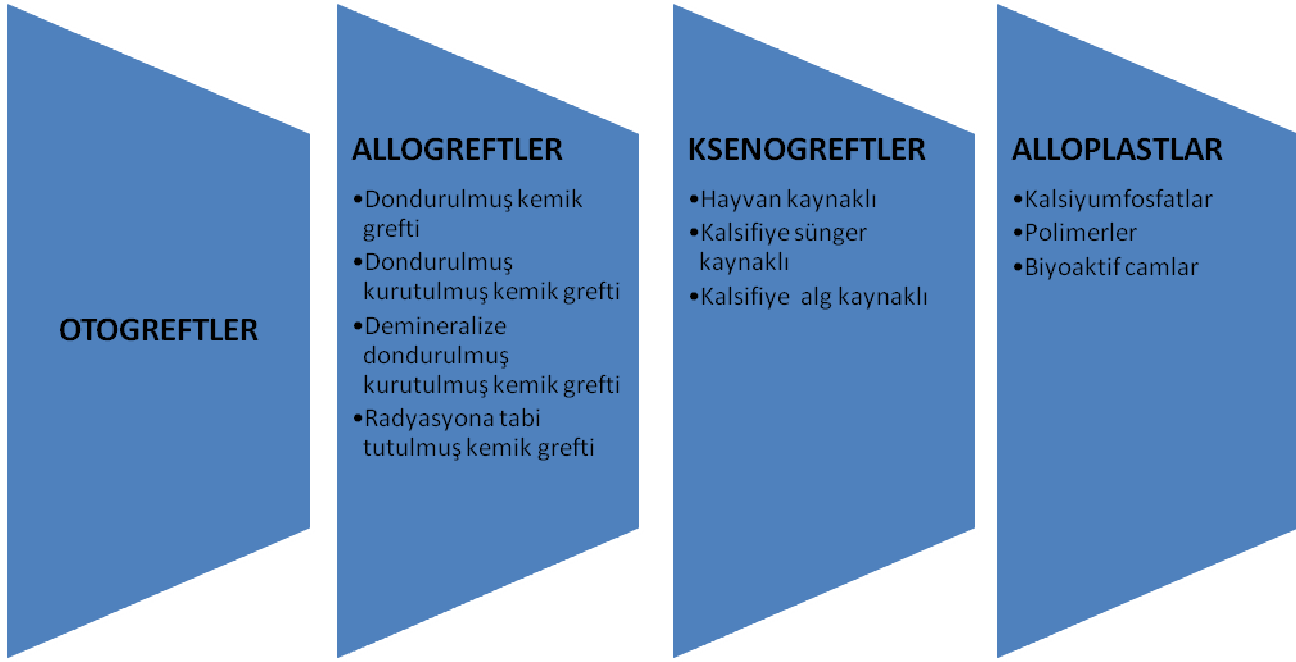
Osteokondüksiyon: Greft materyali kemik gelişimi için iskelet yapı işlevi görür. Defekt çevresinden gelen osteoblastlar tarafından kemik yapımı gerçekleşir. Var olan kemik ile defekt arasında köprü oluşturarak kemik yapımının gerçekleşmesini sağlarlar (47).

Herhangi bir kemik grefti uygulamasının başarılı olabilmesi için dört koşul gereklidir:

- Uygulama yapılan bölgede kemik yapıcı hücrelerin, osteoblastların bulunması,
- Grefti beslemek için yeterli kanlanmanın olması,
- İyileşme esnasında greftin stabil halde kalması,
- Flebin gerilmeden primer olarak kapatılması (17).

2.3.1.2. Greft Materyallerinin Sınıflandırılması

Kemik greftleri elde edilme kaynaklarına göre otojen, allojen, ksenojen ve alloplastik kemik greftleri şeklinde dört ana grupta incelenir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Kemik greftlerinin sınıflandırılması

2.3.1.2.1. Otojen Kemik Greftleri

Uzun zamandan beri altın standart olarak kabul edilen otojen kemik greftleri hala yegane osteojenik potansiyele sahip greft maddesidir. Otojen kemik greftlerinde ogmentasyon mekanizmalarının her üçü de görülmektedir. Ancak bunlar ayrı aşamalar halinde olmayıp, aşamalar birbirleriyle örtüşmektedir.

Otojen greftler ağız içi ve ağız dışı kaynaklı olabilmektedir. Ağız dışı kaynaklı olanlar iliyak bölge ve tibiadan elde edilir. Ağız içi kaynaklı olanlar ise ramus, ekzositozlar, mandibulada semfiz, maksillada tuber bölgesinden elde edilir. Mandibuladan alınan kemik greftleri iliak bölgeden alınanlara göre daha az rezorbe olurlar. Rezorpsiyon, e-PTFE veya kollagen membranlar kullanılarak azaltılabilir. Ağız içi kaynaklı kemik greftlerinde daha az morbidite görülür. Bununla birlikte ağız içi kaynaklı bölgelerden elde edilen greft miktarı ağız dışı kaynaklılara göre daha azdır. Otojen kemik greftlerinin ikinci bir operasyon bölgesi oluşması, morbidite görülmesi, elde edilen greft miktarının sınırlı olması gibi dezavantajları vardır.

2.3.1.2.2. Allogreftler

Diş hekimliğinde kullanılan allogreftler kadavradan elde edilir. Kullanıma hazır olmaları, cerrahi için gerekli sürenin azalması, ikinci bir operasyon bölgesine ihtiyaç duyulmaması, daha az kan kaybı, daha az komplikasyon görülmesi gibi avantajları bulunur. Antijenik özellikler taşıması, virüs transferi gibi dezavantajları bulunur. Dört tip allogreft vardır:

- Dondurulmuş kemik grefti (DKG).
- Dondurulmuş kurutulmuş kemik grefti (Liyofilize) (DKKG).
- Deminerale dondurulmuş kurutulmuş kemik grefti (DDKKG).
- Radyasyona tabi tutulmuş kemik grefti.

En fazla antijenik özelliğe taze allogreftler sahiptir. Dondurma veya dondurup-kurutma işlemleri greftin antijenik özelliklerini önemli ölçüde azaltır. Allogreftler osteojenik özelliğe sahip olmadıklarından ötürü kemik oluşumu daha yavaş gerçekleşir ve otojen kemikle yapılan uygulamalara göre daha az miktarda kemik hacmi elde edilir (47). Dondurulmuş kurutulmuş kemik grefti mineralize veya deminerale formda kullanılır. Demineralizasyon sonucu greftin mineral kısmı uzaklaştırılır ve içindeki kollagen ile büyüme faktörleri, özellikle BMP'ler açığa çıkar. Kemik morfojenik proteinler greftin osteoindüktif özelliğini artırır. Dondurulmuş kurutulmuş kemik grefti mineralize olduğundan DDKKG'ye göre daha hızlı sertleşir. Aşağıdaki durumlarda DKKG, DDKKG'ye göre daha etkilidir:

- Fenestrasyonların restorasyonunda,
- Minör kret ogmentasyonları,
- Yeni çekim boşluklarının doldurulmasında,
- Sinüs lift işlemlerinde.

Yapılmak istenen uygulamaya göre uygun büyüklükte kemik grefti seçilir. Partikül büyüklüğü 200-1000 µm değişen greft maddeleri ile yapılan uygulamalarda benzer sonuçlar elde edilmiştir. Periodontal defektlerde DKKG'lerin kullanımı sınırlıdır. Allogreftlerin içindeki non-kollagen proteinler ve BMP'ler, DDKKG'nin osteoindüktif özelliğinden sorumludur (47).

2.3.1.2.3. Ksenogreftler

Ksenogreftler; hayvan kaynaklı kemik mineralleri, kalsifiye sünger veya deniz yosunlarından elde edilmiş kemik benzeri minerallerden oluşur. Kimyasal işlemler sonrası organik kısmı uzaklaştırılarak immünolojik reaksiyon oluşturma veya hastalık transferi riski ortadan kaldırılır.

Sünger ve deniz yosunlarından elde edilen kemik benzeri mineraller

Farklı kalsifiye sünger türlerinin insandaki kansellöz kemiktekine benzer kalsiyum karbonat iskeletine sahip oldukları bulunmuştur. 20-600 µm çapında birbirlerine bağlı makroporlardan oluşur. Süngerdeki kalsiyum karbonat fosforla beraber gerçekleşen hidrotermal reaksiyon altında hidroksiapatite dönüşür. Süngerdeki HA kemiğin mineral bileşenine en yakın olduğu halde, araştırmalar diğer greft maddelerine göre osteokondüktif özelliğinin daha az olduğunu göstermiştir. İleri dönemde komplikasyonların sık görülmesinden ötürü bugün sünger kaynaklı HA YKR'de sadece onlay greft uygulamalarında kullanılmaktadır. Partikül halinde kullanıldığında granüller göç etmeye eğilimlidir. Ogmente edilen bölgede kalanlar çoğunlukla fibröz bağ dokusu tarafından enkapsüle edilir. Blok halinde kullanılanlarda ise ileride dehisens oluşma olasılığı vardır (63).

Deniz yosunlarının bir grubu da kalsiyum karbonattan oluşan kalsifiye bir iskelet yapıdan oluşmaktadır. Bu materyal 700 derecede amonyum fosfat ile girdiği reaksiyon sonucu florhidroksiapatite dönüşür. Birbirine paralel dizilmiş, 10 µm çapında porlardan oluşur ve birbirlerine mikro perforasyonlarla bağlanırlar. Porların konfigürasyonu damar gelişimi için ideal değildir. Enzimatik ve hücrel parçalanma sonucu, sünger kaynaklı HA'lara göre daha yavaş rezorbe olurlar.

Hayvanlardan elde edilen kemik mineralleri

Özellikle sığır kaynaklı kansellöz kemik insandaki kansellöz kemiğe benzer özellikler taşıdığı için kullanılmaktadır. Organik kısmı, ısı ile veya kimyasal ekstraksiyon yöntemi ile ya da her iki yöntem birlikte uygulanarak uzaklaştırılır. Bu sayede immünolojik reaksiyon riski veya hastalık transferi önlenmiş olunur. Yapım yöntemlerinin sığır kaynaklı kemik greftlerinin biyolojik etkisi üzerinde önemli bir etkisi olmakla beraber, doku ile uyumlu olup, osteokondüktif özelliktedirler. İki farklı yöntemle elde edilen sığır kaynaklı kemik greftleri çok farklı osteokondüksiyon ve rezorpsiyon özellikleri gösterirler (63).

2.3.1.2.4. Alloplastlar

Tamamen sentetik olmalarından dolayı hastalık taşıma riski yoktur. Son kırk yıl içerisinde klinik ve bilimsel alanda bu kadar dikkat çekmiş olmalarının altında yatan sebep, her materyalin özelliklerinin teorik olarak istenildiği gibi düzenlenebilmesidir. Materyallerin kimyasal bileşimi moleküler seviyeye dek kontrol edilebilmekte, damar gelişimi için makro porların büyüklüğü ve birbirlerine bağlanması uygun hale getirilebilmekte, kristal veya amorf fazda olması, blok veya granül halinde olması ayarlanabilmektedir. Bugün piyasada bulunan alloplastlar üç grup altında incelenmektedir. Kalsiyum fosfatlar, biyoaktif camlar ve polimerler. Kemığın inorganik fazına benzemelerinden ötürü kalsiyum fosfatlar, özellikle HA ve β -TCP en çok araştırılan materyaller olmuştur.

Hidroksiapatit osteokondüktif özellikte olup, rezorbe olmaz. Buna karşın TCP de osteokondüktif özellikte olmakla beraber çok çabuk rezorbe olur. Membran uygulanan kemik kayıplarında, TCP esaslı kemik greftlerinde kemik iyileşmesi HA esaslılara göre daha hızlı gerçekleşmektedir. Bunun nedeni TCP esaslı kemik greftlerinden parçalanma esnasında kalsiyum ve fosfor iyonlarının salgılanması ve bunların kemik yapımı için kullanılmış olmalarıdır. Trikalsiyumfosfatın rezorpsiyonu, kemik yapımı içi yer açmaktadır. Buna karşın daha zor kemik kayıplarında (lateral kret ogmentasyonu) TCP'nin rezorpsiyon hızının çok yüksek olması dolayısıyla TCP'nin yeni kemik oluşuncaya kadar yer tutucu olma özelliği ortadan kalkmaktadır (63).

Bu nedenle HA'nın yer tutucu ve TCP'nin rezorbe olma özelliklerinden yararlanmak amacıyla, HA ve TCP kombinasyonu bifazik kalsiyum fosfatlar araştırılmıştır.

Sert doku yerini tutan polimer (*Hard tissue replacement polimer*)

Bu polimer, kalsiyum hidroksit greft yüzeyine sahip mikro poröz kompozittir. Polimer çok yavaş rezorbe olur ve yaklaşık dört, beş yılın sonunda yeri kemik dokusu ile dolar. Aşağıdaki koşullarda etkili olduğu bildirilmiştir:

1. Çekim sonrası kret genişliğini korumak.
2. Çekim sonrası kret ogmentasyonu.
3. Gecikmiş ogmentasyon (Çekim üzerinden uzun zaman geçtikten sonra).
4. Periodontal kayıpların ve kemik kayıplarının tedavisinde.

Stahl ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada sadece kök yüzeyi düzleştirme ve kök yüzeyi düzleştirme ile sert doku yerini tutan polimerin birlikte kullanılmasının periodontal kemik kayıplarının tedavisine etkisini araştırmıştır. Sadece kök yüzeyi düzleştirme uygulanmış bölgede defekt dolumu %32,2 iken, kök yüzeyi düzleştirme ile beraber sert doku yerini tutan polimer uygulanan bölgede %60,8 defekt dolumu elde edilmiştir (46).

Melo ve ark.'nın (97) çalışmasında altmış dört sıçanın tibiasında defektler oluşturulmuş ve bu kayıplar biyoaktif cam, kalsiyum sülfat ve biyoaktif cam-kalsiyum sülfat kombinasyonu ile doldurulmuştur. Otuz günün sonunda sadece biyoaktif cam ile doldurulan defektlerde diğer gruptaki defektlere göre daha az kemik iyileşmesi görülmüştür .

2.3.2. Membranlar

Defekt olan bir bölgenin fiziksel olarak örtülüp, belli bir doku tipi tarafından iyileştirilmesi ve doku rejenerasyonunun bariyer membranlar tarafından gerçekleştirilmesi ilkesine dayalı uygulamalar 1950'lerden beri rekonstrüktif cerrahi ve nöral cerrahi işlemlerinde uygulanmaktadır. Rekonstrüktif kemik cerrahisinde kemik defektlerinin içinde yumuşak bağ dokusu gelişimini önlemek amacıyla bariyer membran kullanılmaktadır. Periodontal defektlerin ve implant çevresi defektlerin tedavisi amacıyla uygulanan YKR ve YDR işlemlerinde, implant yerleştirmeden önce veya implant yerleştirme esnasında kemik ogmentasyonu amacıyla bariyer membran kullanılması standart bir işlem haline gelmiştir.

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu işlemlerini başarı ile gerçekleştirebilmek amacıyla PTFE, e-PTFE, kollagen, dondurulmuş kurutulmuş fasya, dondurulmuş kurutulmuş duramater, poliglaktin 910, polilaktik asit, poliortoester, kalsiyum sülfat, mikro titanyum mesh gibi birçok farklı materyal kullanılmıştır (10, 81, 82, 100). Kişinin yaşamını tehdit eden herhangi bir hastalık veya yetersizlik olmadığı durumlarda kullanılan materyallerin neden olduğu yan etkiler en az seviyede olmalıdır.

Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu amaçlı kullanılan membranlarda belli kriterler aranmaktadır:

- Doku uyumlu olmalı,
- Göç etmesi arzulanan hücreleri engellemeli,

- Konak hücreleri ile bütünleşebilmeli,
- Uygulaması kolay olmalı,
- Yer tutucu özellikte olmalıdır (10, 57).

Rezorbe olmayan membranlar, çıkartılmaları için ikinci bir cerrahi işlem gerekmesi, çıkartılması sırasında dokulara zarar verilmesi, daha pahalı olmaları gibi dezavantajlara sahiptir. Bunun yanı sıra rezorbe olan membranlar daha iyi yumuşak doku iyileşmesi sağlaması, membranın konak dokuları ile bütünleşmesi, açığa çıktığı takdirde çabuk rezorbe olması, uygulama kolaylığı gibi avantajlara sahiptir. Rezorbe membranların yapımında sentetik esterler ve farklı hayvan kaynaklarından elde edilen kollagen kullanılmaktadır. Her ikisinin de farklı özellikleri vardır.

Membran açığa çıkmadığı takdirde, e-PTFE kullanılmış vakalarda rezorbe membran kullanılmış vakalara göre daha fazla kemik dolumu görülmüştür (155). Rezorbe olmayan membranlarda daha fazla kemik dolumu gerçekleşmesinin nedenleri:

- e-PTFE'nin daha iyi yer tutucu özellikte olması,
- Bariyer oluşturma zamanının kontrol edilebilir olması,
- Rezorbe olmamaları ve buna bağlı olarak kemik oluşumunu olumsuz yönde etkileyecek ürünlerin ortaya çıkmamasıdır.

Uygun defekt morfolojisinin olmadığı durumlarda rezorbe olan membranların yer tutucu özelliği yeterli değildir. Defekt sınırlarının membranı desteklemediği durumlarda arzulanan sonuçlar elde edilmemiştir.

2.3.2.1. PTFE

e-PTFE biyolojik ortamlarda stabilitesini koruyabilme özelliği ile karakterizedir. Konak dokuları ve mikroorganizmalar tarafından yıkıma uğratılmaya karşı dirençlidir ve immünolojik reaksiyonlara neden olmaz. İmplantlar ile beraber uygulanan membran uygulamalarında en sık rastlanan komplikasyonlardan biri membranın ekspozite olması ve enfeksiyondur. Yara iyileşmesi ile ilgili komplikasyonlara bağlı olarak, YKR sonucu elde edilen rejenere kemik miktarını azalttığı bildirilmiştir (130, 143, 154).

2.3.2.2. Titanyum Destekli e-PTFE

Büyük defektlerde veya suprakrestal alanda kemik oluşumunun arzulandığı durumlarda e-PTFE'ler greft materyalleri ile desteklenmedikçe yeterince yer muhafaza

etmezler. Bu gibi durumlarda titanyum destekli membranlar kullanılabilir. Titanyum destekli membranlar titanyum çerçeveli iki kat e-PTFE'den oluşur. Vertikal kret ogmentasyonlarında ve büyük defektlerin tedavisinde bu membranlar ile başarılı sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir (38, 121, 131).

2.3.2.3. Polimer Membranlar

Poliglolid, polilaktik veya her ikisinin kombinasyonu membran materyalleri olarak kullanılmıştır. Çok sıkı denetimler altında üretildikleri ve sınırsız miktarda olabildiklerinden ötürü kollagen membranlara göre avantajları vardır. Kollagen membranlara göre diğer bir avantajı Krebs siklusu sonucu karbondioksit ve suya dek parçalanabilirler.

Polimerlerin in vitro ve in vivo parçalanmasını etkileyen faktörler arasında yapısı ve kimyasal bileşeni, moleküler ağırlığı, şekli, yapım ve sterilizasyon süreçleri, hidroliz mekanizmaları gibi etkenler yer alır. Bu polimerlerin ortopedik ve maksillofasiyal cerrahi ile implant uygulamaları sırasında enflamasyon ve yabancı cisim reaksiyonu görülmüştür. Bu gibi durumlarda ilgili bölgenin açılıp temizlenmesi ve materyalin çıkartılması gerekmiştir (10).

2.3.2.4. Kollagen Membranlar

Kullanılmakta olan kollagen membranların çoğu tip I kollajenden ya da tip I ve III kollagen kombinasyonundan elde edilmiştir. Kollagen kaynakları olarak sığır tendonu, sığır dermisi, dana derisi ve domuz dermisi kullanılmıştır. Kollagen materyallerin kolay uygulanabilir olmaları, kemik oluşumu üzerinde direkt etki oluşturmaları, doku kalınlığını arttırabilmeleri, hemostaz, periodontal ligament fibroblastları ve gingival fibroblastların kemotaksisini sağlama, immünojenitelerinin az olması gibi avantajları vardır (10).

Kollagen membranların doku dostu olmakla beraber arzulanan mekanik özelliklere sahip oldukları bildirilmiştir. Makrofaj ve PMN'lerin enzimatik etkinlikleri sonucu biyolojik olarak çok hızlı parçalandıklarından ötürü yeterince uzun süre bariyer işlevi göremezler (153).

Kollagen membranların bariyer özelliğinin süresini uzatmak amacıyla ultraviyole radyasyon, glutaraldehit, difenilfosforil-azid gibi farklı çapraz bağlantılı yöntemler kullanılmıştır (14).

2.3.3. Kemik Morfojenik Proteinler

Kemik morfojenik proteinler TGF- β ailesinin bir üyesi olup; kemik yapımı, onarımı ve devamlılığının düzenlenmesinde önemli role sahiptirler. Otokrin veya parakrin mekanizmalar sayesinde hücre yüzey reseptörlerine bağlanırlar ve farklı hücre türleri üzerinde etkili olacak bir dizi olayı başlatırlar (55). Kemik morfojenik proteinlerin doğrudan veya dolaylı etkileri sonucu sitokinler ve büyüme faktörlerinin uyarılması sonucu osteoprogenitör mezenkimal hücreler farklılaşmaktadır (135). Kemik matriksi içinde depolanmaları sayesinde, şekillenme/yeniden şekillenme aşamasına osteoblastları ve osteoklastları aktive etmek suretiyle katılırlar.

Mikroçevresel koşullar, doz, taşıyıcı malzemeler, BMP'lerin etkisini ve yara iyileşmesi esnasındaki biyolojik sonucu etkileyen önemli parametrelerdir. Kırıkların iyileşmesinde, osteoporozun önlenmesinde, periodontal kayıpların tedavisinde ve alloplastik malzemelerin etrafında kemik oluşumunun artırılmasında kullanılmaktadırlar (60).

Yirmiden fazla BMP tanımlanmış olup, bunlardan birçoğunun kemik yapımını başlattığı gösterilmiştir. Taze kemikten elde edilen BMP miktarı sadece 1 μ g/kg olduğundan dolayı büyük defektlerin tedavisi için yeterli miktarda elde edilmesi güçtür. Bu nedenle tedavi için yeterli miktarlarda BMP elde edebilmek için rekombinant teknolojileri uygulanmaktadır. Bu amaçla recombinant human kemik morfojenik protein-2 ve recombinant human osteojenik protein-1, kemik kayıplarının tedavisi için üretilmiştir. Hayvan veya insan kavrularından elde edilen BMP'ler gibi immünolojik reaksiyona neden olmamaları ve hastalık taşıma riski taşımamaları önemli avantajdır (66).

Recombinant human kemik morfojenik protein-2, recombinant human osteojenik protein-1, recombinant human büyüme faktörü 5 ve recombinant human büyüme faktörü-7 kret ogmentasyonu, sinus lift işlemleri, periodontal rejenerasyon için kullanılmıştır (60).

2.3.4. Trombositten Zengin Plazma

Trombositler kemik iliğindeki megakaryositlerin sitoplazmik parçalanmasından doğarlar. Alyuvarlar gibi dolaşıma çekirdeksiz olarak girdiklerinden ötürü yaşam süreleri sınırlıdır. Yaşam süreleri yedi ile on gün arasındadır. Hücre çekirdeğine sahip olmamalarına rağmen metabolik olarak çok aktiftirler. Trombositler yaşamları süresince

büyüme faktörleri sentezlerler ve bunları pıhtılaşma esnasında salgırlar. Trombositlerin çapı 2 µm'dir. Yaralanma olan bölgede aktif hale geçip, fiziksel bariyer oluşturarak kan kaybının önüne geçerler ve trombin oluşumunu hızlandırarak pıhtılaşmayı arttırlar. Trombositler ayrıca iltihapsal mediyatörler de salgırlar. Lökosit ve endotel hücreleri ile birlikte hareket ederek iltihapsal reaksiyonu ayarlarlar. Hemostaz ve enflamasyonun yanı sıra yara iyileşmesi ve mineralize dokuların tamirinde de görev alırlar (53).

Çok sayıda psödopodiyal uzantıya (hücre membranı invajinasyonları) ve internal veziküle (depo granülleri) sahiptir. Yapısı genellikle deniz süngerine benzer. Veziküller üç tip granülden oluşur: Lizozomal, yoğun ve alfa. Lizozomal granüller sindirimle ilgili enzimleri depolamaya yarar. Yoğun granüller adenosin difosfatı depolayıp salgırlar. Adenosin difosfat diğer trombositleri toplayıp, aktive eder. Alfa granüller büyüme faktörlerinin depolandığı granüllerdir. Burada büyüme faktörleri inaktif formda bulunur. Trombosit kaynaklı büyüme faktörünün üç izomeri (PDGF_{aa}, PDGF_{bb} ve PDGF_{ab}), TGF'nin iki izomeri (TGF-β 1 ve TGFβ 2), IGF, VEGF ve EGF bulunur. Alfa granüllerde bol miktarda hücre adezyon molekülü vitronektin bulunur. Bu osteokondüksiyon ve osteointegrasyon için gereklidir. Trombositlerde BMP bulunmaz (94). Yara iyileşmesine katılmaları dolaşımda bulunan kandaki sayılarına bağlıdır.

Büyüme faktörlerinin salgılanması pıhtılaşma sayesinde gerçekleşir. Pıhtılaşma sonucu trombosit membran sisteminde yapısal değişiklik gerçekleşir ve alfa granülleri tarafından büyüme faktörleri salgılanır. Alfa granülleri trombosit yüzey membranına doğru göç eder ve onunla birleşir. Henüz tam hale gelmemiş büyüme faktörleri hücre membranı tarafından harekete geçirilir. Histon ve karbohidrat zincirlerinin eklenmesi ile büyüme faktörleri biyolojik olarak aktif hale geçer.

Trombositten zengin plazma kandaki normal trombosit sayısından daha yüksek sayılarda trombosit içeren otolog kandır (92). Kanda bulunan trombosit sayısı normalde 150 000-400 000'dir. Trombositten zengin plazma için gerekli minimum trombosit sayısı net olmamakla beraber, TZP içindeki trombosit sayısının 1 000 000'un üzerinde olması ya da başlangıçtaki trombosit sayısının dört ile yedi katına çıkması ile klinik uygulamalarda yararlı sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir (91).

Trombositten zengin plazma hastanın kendi kanından elde edildiği için hastalık bulaştırma riski yoktur. Aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden olmaz. Trombositten

zengin plazma içindeki büyüme faktörleri BMP'ler gibi osteoprogenitör hücrelerin farklılaşmasını sağlamaz, ancak çevredeki hücrelerin kemotaksisi, mitogenezi ve angiogenezi için uyarıcı etki yapar. Bu sayede kemiğin yeniden şekillenmesinin erken aşamalarında katalizör işlevi görür (45).

2.3.4.1. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü

Trombositler dışında monositler, makrofajlar ve endotel hücrelerde bulunur. Trombosit kaynaklı büyüme faktörünün etkisi diğer büyüme faktörlerinin varlığına bağlıdır. Angiojenik özelliklerine ilaveten kollagen ve matriks oluşumunu stimüle eder. PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C ve PDGF-D olmak üzere dört izoformu vardır.

2.3.4.2. Transforming Büyüme faktörü

Transforming büyüme faktörü- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3 kemik ve trombositlerde yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Hem otokrin, hem parakrin etki mekanizmasına sahiptir. Endokrin dolaşıma katılan TGF- β kronik fibrotik ve otoimmün hastalıkların patogenezinde rol oynar ve karsinogenez, ateroskleroz gibi hastalıkların tanısında marker olarak kullanılır.

Trombositler veya makrofajlar tarafından salgılandığında etrafındaki fibroblastlar, kök hücreleri, endotel hücreleri ve preosteoblastlar üzerinde etki gösterir. Fibronektin, glikozaminoglikan ve bağ dokusundaki kollagen yapımını, angiogenezi stimüle eder. Transforming büyüme faktörünün en önemli fonksiyonlarından biri de osteoblastların öncüllerinin kemotaksisi ve mitogenezidir.

2.3.4.3. Trombosit Kaynaklı Epidermal Büyüme Faktörü

Trombosit kaynaklı epidermal büyüme faktörü epidermal rejenerasyonu stimüle eder. Keratinosit ve dermal fibroblastları stimüle ederek yara iyileşmesini hızlandırır. Diğer büyüme faktörlerinin yapımını ve etkisini artırır.

2.3.4.4. Trombosit Kaynaklı Angiogenesis Faktörü

Trombosit kaynaklı angiogenesis faktörü in vivo damarlanmayı başlatır. Vasküler endotel hücrelerini doğrudan veya dolaylı stimüle eder. Hipoksinin başlaması ile yüksek miktarda salgılanır.

2.3.4.5. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü

İnsülin benzeri büyüme faktörü kırkırdak gelişimini, kemik matriksi oluşumunu, preosteoblastların ve osteoblastların çoğalmasını stimüle eder. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü ile beraber yara iyileşmesinin hızını ve kalitesini artırır.

2.3.4.6. Trombosit Faktör 4

Nötrofiller ve fibroblastlar için kemoatraktandır. Güçlü bir antiheparindir (123).

Son otuz yıl içinde TZP doku mühendisliği, yara iyileşmesi, kemik greftleme, travma cerrahisi ve angiogenez alanlarındaki çalışmalarda dikkat çekmeye başlamıştır. Yumuşak ve sert doku iyileşmesini hızlandırmak ve iyileşme sürecini kısaltmak amacıyla çok yaygın kullanıma girmeye başlamıştır. Kullanımının altında yatan felsefe içinde bol miktarda büyüme faktörleri bulunmasıdır. Bu faktörler hücre göçünü, tutunmasını, çoğalmasını ve farklılaşmasını sağlar, damarlanmayı başlatır (41, 46).

ELISA ile yapılan incelemelerde tam kandaki değerleri ile karşılaştırıldığında, TZP içinde TGF- β 'nin yedi kat, PDGF'nin otuz kat, EGF'nin on kat arttığı bildirilmiştir (47). Trombositten zengin plazma içindeki büyüme faktörlerinin rekombinant büyüme faktörlerinden farkı doğal olmalarıdır. Rekombinant büyüme faktörleri saf olmalarına rağmen tek tek üretilmektedirler ve yüksek dozlarda sentetik bir taşıyıcı ile nakledilmektedir. Trombositten zengin plazma içinde ise yedi büyüme faktörü bir arada bulunmakta olup, kan pıhtısı içinde nakledilmektedir (92).

Trombositten zengin plazma hazırlanırken antikoagülan olarak Adenozin Sitrat Dekstroz-A kullanılmaktadır. Tanı amaçlı laboratuvar testlerinde kullanılan etilen diamine tetraasetik asit trombosit membranlarına zarar verdiği için bu amaçla kullanılması önerilmemektedir. Sitrat fosfat dekstroz da trombosit metabolizmasını desteklemediği için, kullanılması önerilmemektedir.

Otolog kan alındıktan sonra, trombositleri ayrıştırıp yoğunlaştırmak amacı ile santrifüj işlemine tabi tutulur. İlk döndürme sonunda eritrositler tam kanın diğer unsurlarından (akyuvarlar, plazma ve trombositler) ayrılır. İkinci döndürme sonunda trombositler, akyuvarlar ve çok az miktarda kalan eritrosit plazmadan ayrılır.

Trombositten zengin plazmanın aktivasyonu için %10 CaCl₂ ve sığır trombinini ilave edilir. Trombositten zengin plazmaya daha fazla miktarda CaCl₂-sığır trombinini

solüsyonunun eklenmesi pıhtılaşmayı yavaşlatabileceği gibi, pıhtılaşmayı engelleyebilir.

İşlem esnasında trombosit hücreleri zarar görmemeli, TZP steril ve apirojen şekilde hazırlanmalıdır. Trombositleri otolog kandan düzgün bir şekilde elde edebilmek için çift santrifüj tekniği uygulanmalıdır. Trombositten zengin plazma hazırlandıktan sonra sekiz saat içerisinde kullanılabilir.

2.3.4.7. TZP'nin Kemik Rejenerasyonuna Etki Mekanizması

Pıhtı oluşmaya başladıktan sonra α - granülleri on dakika içinde parçalanmaya başlar ve içindeki büyüme faktörlerinin %90'ını bir saat içerisinde salgılar. Büyüme faktörleri hemen osteoprogenitör, endotel ve kök hücrelerinin transmembran reseptörlerine bağlanırlar. Pıhtının aselüler kısmında bulunan fibrin ve fibronektin ile alfa granüllerinden salgılanan vitronektin, grefti başlangıç matriksi gibi çevreler. Trombosit kaynaklı büyüme faktörünün üç izomeri osteoblast, endotel ve mezenkim kök hücrelerinin proliferasyonu için mitojen etki gösterir. Transforming büyüme faktörünün iki izomeri benzer mitojenik ve angiijenik etkiyi gösterirken diğer taraftan mezenkim kök hücrelerinin osteoblastlara dönüşmesini sağlar. Vasküler epidermal büyüme faktörü özel damar gelişimini hızlandırır. Epidermal büyüme faktörü ortamda epitel hücreleri olmadığı için etki göstermez (94).

Trombositten zengin plazmanın içinde normal pıhtıya göre daha fazla miktarda trombosit olduğu için, TZP daha hızlı ve daha çabuk hücreselel yanıt başlatır. Greft yerleştirildikten üç gün sonra osteoprogenitör hücrelerin mitozu ve kapiller damar gelişimi görülmeye başlanır. On yedinci ile yirmi birinci günler arasında greft içine kapiller penetrasyonu tamamlanmıştır ve osteoprogenitör hücrelerin sayısı artmıştır. Kemik greftinin iyileşmesi ilk üç hafta içerisinde tamamlanır ve damar gelişimi, hızlı hücreselel metabolizma, hücre proliferasyonu ile karakterizedir. Kemik greftinin stabilitesinin bozulması ve enfeksiyona açık olması bu aşamadır. Trombositlerin ömrü yedi ile on gün sonra sona erse de greft gelişimi üzerindeki etkisi sağlanmıştır. Bu dönemde kemik rejenerasyonunun hızını ve miktarını tayin ederler. Dolaşımdaki makrofajlar ve kandaki monositler hipoksik yapıda olan yara bölgesine göç ederler. Makrofajların hipoksik ortamları algılayan reseptörleri vardır. Yara bölgesine ulaşan makrofajlar salgıladıkları büyüme faktörleri ile kemik rejenerasyonunu düzenleyip, devam etmesini sağlarlar.

Üçüncü ve altıncı haftalar arasında osteoprogenitör hücreler yeterli osteoid yapacak kadar çoğalıp, farklılaşmışlardır. Osteoid yapımı grefti destekler ve çevresindeki kemik ile bağlantı kurar. Bu kemik rejenerasyonunun ikinci aşamasıdır. Damarlanmanın artması ile dokunun oksijenlenmesi artar ve bu şekilde makrofajların etkinliği azaltılarak yaranın hiperplazik olarak iyileşmesi engellenmiş olunur. Altıncı haftanın başlaması ile osteoidler rezorpsiyon, yeniden şekillenme döngüsünü geçirir. Osteoidi rezorbe eden osteoklastlar BMP'leri, ILG1'i ve ILG2'yi salgırlar. Bu sayede osteoblastlar ve mezenkimal kök hücreleri farklılaşarak lameller yapıya ve Haversian kanallarına sahip kemik yaparlar. Kemik rejenerasyonunun bu üçüncü aşaması greftin ağızda olduğu süre boyunca devam eder. Radyografide yoğun mineralize kemik olarak görülür (94).

Otojen kemik grefti defekt bölgesine daha fazla osteoprogenitör hücre göç etmesini sağladığından ötürü altın standart olarak kabul edilmekle beraber farklı türde bir kemik grefti kullanıldığı zamanda önemli miktarda kemik rejenerasyonu gerçekleşmektedir. Bunun için greft maddesinin fibrini adsorbe etmesi, greft partiküllerinin çok sıkı yerleştirilmemiş olması, greftin yüzeyi veya porozitesi ile osteokondüksiyonu desteklemesi gerekir. Kullanılmakta olan bütün kemik greftleri osteokondüksiyon mekanizması ile etki göstermektedir. Bunun nasıl bir mekanizma ile gerçekleştiği sinüs lift için uygulanan greftleme sırasında görülebilir.

Membran eleve edildikten sonra greft partikülleri sinüs boşluğuna yerleştirilir. Partiküller pıhtı içerisine gömülür. On dakika içerisinde trombositler degranüle olup büyüme faktörlerini salgılamaya başlarlar. Bu büyüme faktörlerinin bir kısmı kemik duvarı üzerindeki yaralanan kan damarları üzerinde ve sinüs membranının alt yüzeyinde etki gösterirler. Bu greft içine doğru damarlanmayı başlatır. Kemik ve greft maddesi arasındaki boşlukları, kemik partikülleri arasındaki boşlukları dolduran fibrin boyunca osteoprogenitör hücreler göç ederler. Fibrin greft partiküllerine yapışır. Daha sonra osteoprogenitör hücreler yapıştırıcı bir madde oluşturmak için fibrin boyunca ilerler.

Yüzeyi HA kaplı bazı implantlarda olduğu gibi kemik grefti partikülleri osseointegre olur. Bu partiküllerin etrafında kemik ağı oluşur ve stabil bir greft oluşturmak için bunu etraftaki kemik duvarlarından birine bağlar. Otojen kaynaklı olmayan kemik greftlerinde kemik oluşumu daha yavaş ve toplamda kemik oluşma

miktarı daha azdır. Trombositten zengin plazma bu tür kemik greftleri ile beraber kullanıldığında daha kısa sürede daha fazla kemik oluşturma özelliğine sahiptir (94).

Sharkawy ve ark.'nın (35) yaptıkları çalışmada TZP'nin büyüme faktörleri açısından zengin bir kaynak olduğu ve monositler tarafından yönlendirilen proenflamatuar sitokin-kemokin salgılanmasını önemli ölçüde değiştirdiği bildirilmiştir. Trombositten zengin plazmanın içindeki LipoksinA4 artmıştır. Bu, TZP'nin sitokin salgılanmasını baskılayabileceğini, enflamasyonu sınırlayabileceğini ve doku rejenerasyonunu arttırabileceğini düşündürmektedir.

Okuda ve ark.'nın (110) yaptığı çalışmada yetmiş sağlıklı, sigara içmeyen, kronik periodontitisli hasta iki gruba ayrılmış ve birinci gruba HA esaslı greft uygulanmış, diğer gruba ise HA-TZP kombinasyonu uygulanmıştır. Sondalama derinliklerinde ve klinik ataşman kazanımlarında HA-TZP uygulanan grupta HA uygulanan gruba göre istatistiksel anlamda önemli farklılıklar görülmüştür.

Wiltfang ve ark.'nın (151) domuzların kafatasında yaptıkları çalışmada otojen kemik grefti ve alloplastlarla birlikte yapılan TZP uygulamalarında sadece erken dönemde TZP-otojen greft uygulamasında diğer gruplara göre anlamlı bir fark bulunmuştur.

Plachokova ve ark.'nın (115) yaptığı bir derlemede TZP'nin periodontal kayıpların tedavisine olumlu etkileri olduğu, buna karşın sinüs elevasyonuna olumlu etkisinin az olduğu bildirilmiştir.

Nandakumar ve Anila (107) TZP'nin klinikte uygulanmasının kolay olması, kanamayı azaltması ve yara iyileşmesini hızlandırması gibi yararlı sonuçlarından dolayı gelecekteki uygulamalar için umut verici olduğunu bildirmişlerdir.

Akça ve ark.'nın (4) tavşan tibiasında yaptığı çalışmada titanyum silindirler yerleştirilmiş ve bunların etrafındaki kemik iyileşmesi incelenmiştir. Kontrol grubunda herhangi bir uygulama yapılmazken, test grubunda titanyum silindirine TZP uygulanıp, üzeri rezorbe membran ile örtülmüştür. Sekizinci hafta sonunda hayvanlar kurban edilmiş ve kontrol grubunda daha fazla fibröz doku olduğu görülmüştür. Bu TZP uygulamaları sonucu erken dönemdeki iyileşmede doku farklılaşma hızının daha fazla olduğunu göstermiştir.

Nagata ve ark.'nın (106) altmış tavşanda yaptığı çalışmada tavşanlar kontrol grubu (defektin sadece pıhtı ile dolması), otojen kemik grefti uygulaması ve otojen kemik grefti-TZP uygulaması şeklinde üç gruba ayrılmış ve tavşanlar dördüncü ve on ikinci haftanın sonunda kurban edilmişlerdir. Kontrol grubunda diğer gruplara göre daha az kemik oluşumu görülmüştür. Dördüncü haftanın sonunda otojen kemik grefti-TZP uygulaması yapılan grupta otojen kemik grefti uygulaması yapılan gruba göre daha fazla kemik oluşumu görülürken, on ikinci haftanın sonunda bu iki grup arasında istatistiksel anlamda farklı kemik oluşumu görülmemiştir.

Periodontal rejeneratif uygulamaların etkinliğinin değerlendirilmesi için klinik çalışmalar öncesinde hayvan çalışmalarına gereksinim duyulmaktadır. Yeni oluşan destek dokuların niteliğini ve niceliğini değerlendirmek için histolojik analiz yapılması gerekmektedir. Rejeneratif uygulamalar sonucu yeni oluşan sement, periodontal ligament ile alveol kemiğinin kalitesi ve miktarı histometrik değerlendirmeler ile belirlenir (21). Bu uygulamalar sonrasında diş ve etrafındaki periodonsiyumun histolojik analiz için büyük bloklar halinde çıkarılması gerektiği için, bu tip çalışmaları insanda yapmak mümkün değildir. Ayrıca çalışmaların sonuçlarının karşılaştırılıp değerlendirilmesi için, tedavi yapılan bir deney bölgesi ve tedavi yapılmayan bir kontrol bölgesi gereklidir. İnsan çalışmalarında bunu gerçekleştirmenin zorluğu ve etik olarak oluşturduğu sakıncalardan daha önce bahsedilmiştir .

Bu tip çalışmalarda seçilecek hayvan modeli de önemlidir. Çalışılacak hayvan modelinde oluşturulacak defektler kendiliğinden rejenerasyon olmayacak kadar büyük olmalı ve etkinliği denenecek malzemenin kolay uygulanmasına elverişli olmalıdır.

Trombositten zengin plazmanın kemik iyileşmesine olan katkısı hakkında yapılan çalışmaların sonuçları arasında çelişkiler görülmektedir (20, 106, 114, 138). Her ne kadar altın standart olarak kabul edilse de otojen kemik greftinin miktarı da sınırlıdır. Bu çalışmada inorganik yapısı insan kemiğine benzer özellikler taşıyan ve hastalık bulaştırma riski olmayan bir alloplast olan HA ile içindeki trombositlerce salgılanan büyüme faktörlerinin yara iyileşmesine olan olumlu etkileri bilinen TZP'nin birlikte kullanımının, kemik iyileşmesine ve yeni kemik yapımına anlamlı katkısının olup olmadığının histomorfometrik olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Araştırma Grupları

Araştırmamız İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı hayvan laboratuvarında ve İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi Bilim Dalında gerçekleştirilmiştir.

Araştırmamıza başlamadan önce İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan çalışma izni (30.04.2008, Karar No:45) alınmıştır. Hayvanların operasyon sonrası dönemi minimum ağrı ve sıkıntı ile geçirmesi için gerekli önlemler alınmıştır.

Araştırmamızda otuz adet, (2,8-3,8) kg ağırlığında, 9-12 aylık, sağlıklı dişi Yeni Zelanda tavşanı kullanılmıştır. Tavşanlar tekli kafeslerde, 22-24 C ısıda, %55-70 nemli ortamda, on iki saat ışıktaki on iki saat karanlıkta olacak şekilde ve on beş dakikada bir havalandırma yapılacak şekilde barındırılmıştır. Tavşanlar kuru pelet yem ile *ad libitum* beslenmiş ve çeşme suyu verilmiştir (138).

Tavşanlar rastgele seçilerek on beşer tavşandan oluşan iki ana grup oluşturulmuştur. Her ana grupta kendi içinde beşer tavşandan oluşan üç alt gruba ayrılmıştır. Birinci alt gruptaki tavşanlar 15. günde, ikinci alt gruptaki tavşanlar 30. günde, üçüncü alt gruptaki tavşanlar 60. günde sakrifiye edilmiştir.

Birinci ana grupta deney bölgesine sadece hidroksiapatit esaslı kemik grefti uygulanmıştır. İkinci ana grupta deney bölgesine hidroksiapatit esaslı kemik grefti ile tavşanın kulak arterinden elde edilen otolog kandan hazırlanan trombosit zengin plazma karıştırılarak uygulanmıştır. Her iki grupta da greftin üzerine rezorbe olan membran uygulanmıştır. Etik nedenlerden ötürü daha fazla hayvan sakrifiye etmemek için birinci ve ikinci ana gruplarda deney bölgesinin karşı tarafı kontrol bölgesi olarak kullanılmıştır.

3.2. Cerrahi İşlem

Tavşanlara operasyondan önce ketamin HCl* (50 mg/kg) ve xylazine** (10 mg/kg) i.m. injeksiyon yapılarak anestezi sağlanmıştır. Operasyon bölgesi povidone-iodine solüsyonu*** ile dezenfekte edildikten sonra, ağız içinde operasyon bölgesine 0,5 cc Articain**** lokal infiltratif anestezi yapılmıştır. Operasyon esnasında anestezi derinliği takip edilmiştir.

Aseptik hazırlıktan sonra tavşanın üst çenesinde sağ tarafta santral diş ile birinci molar diş arasındaki dişsiz bölgede, santral dişin 5 mm distalinden ve alveol kretinin 5 mm apikalinden başlayan ve posteriora doğru uzanan 15 mm uzunluğunda ensizyon yapılmıştır (83). Bukkal kemik plakasını açığa çıkartmak amacı ile mukoperiostal flep kaldırılmıştır.

Steril serum fizyolojik ile sürekli irrigasyon altında, tur motoruna bağlı piyasamene takılan 5 mm çapında trefin frez yardımı ile iki adet 5 mm çapında, 3 mm derinliğinde yapay kemik defekti yanyana oluşturulmuştur. Daha sonra piyasamene 3 mm çapında rond frez takılarak 10 mm uzunluğunda, 5 mm genişliğinde ve 3 mm derinliğinde olacak şekilde defektler birleştirilmiştir.

Birinci ana grupta sağ tarafta oluşturulan defekt bölgesinin dolumunda godede serum fizyolojikle karıştırılan hidroksiapatit esaslı kemik grefti***** kullanılmıştır. Kemik grefti defekt bölgesine aşırı kuvvet uygulamadan, ağız spatülü ve amalgam fulvarı yardımı ile defekti tam olarak kapatacak şekilde uygulanmıştır. Daha sonra rezorbe kollagen membran***** defekt kenarlarını tam olarak örtecek ve flebin uçlarının karşılıklı olarak gelmesine engel olmayacak şekilde yerleştirilmiştir. Primer yumuşak doku kapanışı için 5/0 rezorbe olabilen dikiş ipi***** kullanılmıştır.

* Ketalar 10 ml flakon, Pfizer

** Rompun %2 50 ml flakon, Bayer, Almanya

*** Batikon, Adeka İlaç

**** Maxicain fort ampul 2cc, Vem İlaç

***** Bone Two, Audiolite, İtalya

***** Biokollagen, Biotek, İtalya

***** Rapidsorb, Boz, Türkiye

Birinci ana grupta üst çenenin sol tarafında defekt oluşturmak amacıyla aynı işlemler uygulanmıştır. Bu tarafın kontrol grubu olarak kullanılması için defekt bölgesine herhangi bir materyal yerleştirilmemiş ve sadece kanla dolması sağlanmıştır. Yara bölgesi aynı şekilde 5/0 rezorbe olabilen dikiş ipi kullanılarak dikilmiştir.

İkinci ana grupta aynı cerrahi yöntemle üst çenenin sağ tarafında defekt oluşturulduktan sonra, TZP hazırlama bölümünde anlatıldığı şekilde hazırlanan TZP ile kemik grefti karıştırılıp, defekt bölgesine uygulanmıştır. Üzerine yine rezorbe olan membran yerleştirilmiş ve yara bölgesi rezorbe olabilen dikiş ipi ile dikilmiştir.

İkinci ana grupta üst çenenin sol tarafında yine kontrol grubu oluşturmak amacı ile aynı cerrahi yöntemle defekt oluşturulmuştur. Defekt bölgesine herhangi bir materyal konulmamış ve sadece kanla dolması sağlanmıştır. Yara bölgesi rezorbe olabilen dikiş materyali ile dikilmiştir.

Post-op. enfeksiyonu önlemek amacı ile operasyondan hemen sonra başlanarak, beş gün süre ile 0,2 cc/kg gentamycine* i.m. enjeksiyon yapılmıştır.

3.3. TZP'nin Hazırlanması

Operasyondan önce tavşanın kan alınacak kulağındaki tüyler steril bistüri ucu ile traşlandıktan sonra damarların daha belirgin hale gelmesi için alkolle silinmiştir. Angioket ile auricular artere girildikten sonra, TZP kitinden** alınan ve içinde 1 ml ACD-A solüsyon bulunan 8,5 ml'lik tüp içerisine kan doldurulmuştur. Trombositten zengin plazma hazırlamadan önceki trombosit miktarını saymak için başka bir tüp içine 1 ml kan alınmıştır.

Eritrositlerin, trombositlerin içinde bulunduğu plazmadan ayrıştırılması amacı ile kan alınan tüpün karşısına dengeleyici tüp yerleştirildikten sonra, santrifüj cihazı*** 2400 devir/dakikada on beş dakika çalıştırılmıştır. Kitte bulunan sarı işaretli tüp ve iğne kullanılarak, tüpün üst kısmında trombositlerin bulunduğu plazma altta bulunan eritrositlerden ayrılmıştır. Plazmanın içinde bulunduğu tüp santrifüj cihazında yine karşısına dengeleyici tüp yerleştirildikten sonra, santrifüj cihazı 3600 devir/dakikada on dakika çalıştırılmıştır.

* Genta 80 mg ampul 2cc, Deva

** Curasan, Almanya

*** Heraeus Labofuge 400, Almanya

Mavi işaretli tüp ve iğne kullanılarak sarı tüpün üst kısmında bulunan trombositten fakir plazma uzaklaştırıldıktan sonra tüpün dibinde kalan 0,4 ml'lik TZP yirmi saniye boyunca karıştırıcı cihazında tutulmuştur. Daha sonra kit içinde bulunan ince enjektör ile 0,35 ml TZP alınmıştır. Trombosit sayımı için 0,05 ml TZP kullanılmıştır.

Operasyon sırasında 0,35 ml TZP, 1:5 oranında %10 CaCl₂ ve tavşandan alınan, trombin içeren birkaç damla kan steril gode içinde bulunan yeterli miktardaki kemik grefti ile karıştırılarak, jel kıvamında uygulamaya hazır hale getirilmiştir.

Tam kan ve TZP'de bulunan trombosit sayısı otomatik kan sayım cihazında* belirlenmiştir. İlk olarak 1 ml tam kanda trombosit sayımı yapılmıştır.

Otomatik kan sayım cihazında sayım yapabilmek için minimum 1 ml sıvıya ihtiyaç olduğundan TZP'deki trombosit sayısını belirlemek amacıyla 0,05 ml TZP, 0,95 ml serum fizyolojik ile sulandırılmıştır. 1 ml TZP içerisinde bulunan trombosit sayısını hesaplamak için elde edilen sonuç yirmi ile çarpılmıştır.

3.4. Histolojik Değerlendirme

Hayvanlar 15. , 30. ve 60. günlerde anestezi altında intrakardiyak 10 cc Potasyum klorürün** enjekte edilmesi ile kurban edilmiştir.

Blok halinde alınan kesitler %10'luk tamponlanmış formalinde bir hafta süre ile fikse edilmiştir. Fiksasyondan sonra tüm materyal %50'lik formik asit ve %20'lik sodyum sitrat çözeltilerinden birer ölçek alınarak hazırlanan solüsyonda dekalsifiye edilmiştir.

Dekalsifiye parçalar rutin doku takibinden geçirildikten sonra hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 5-7 mikron kalınlığındaki kesitler hematoksilin-eozin yöntemiyle boyanıp, ışık mikroskopunda incelenmiştir. Saptanan parametreler değerlendirilirken software görüntü analiz sistemi *** kullanılmıştır.

* Abacus Junior VET, Diatron

** Potasyum Klorür %7.5 10 mL ampul, Drogan

***Olympus Analysis 5, Japonya

Kesitler fibrozis, iltihap, yabancı cisim reaksiyonu, yeni kemik yapımı, nekroz ve greft materyalinin varlığını sürdürmesi kriter alınarak incelenmiştir. Bu bulgulara bir büyük büyütme alanında ($\times 400$) kapladıkları bölgenin yüzdesine göre 1-3 arasında skorlar verilmiştir. Sayım $\times 400$ büyütmede yapılmıştır.

Fibrozis

%1-30 arası alanı kaplıyorsa (1)

%31-60 arası alanı kaplıyorsa (2)

%60'dan fazla alanı kaplıyorsa (3) değeri verilmiştir.

İltihap

%1-30 arası alanı kaplıyorsa (1)

%31-60 arası alanı kaplıyorsa (2)

%60'dan fazla alanı kaplıyorsa (3) değeri verilmiştir.

Yabancı cisim reaksiyonu

%1-30 arası alanı kaplıyorsa (1)

%31-60 arası alanı kaplıyorsa (2)

%60'dan fazla alanı kaplıyorsa (3) değeri verilmiştir.

Yeni kemik yapımı

%1-30 arası alanı kaplıyorsa (1)

%31-60 arası alanı kaplıyorsa (2)

%60'dan fazla alanı kaplıyorsa (3)

Defekt alanı olgun lameller kemik ile kapatılmışsa (4) değeri verilmiştir.

Nekroz

%1-30 arası alanı kaplıyorsa (1)

%31-60 arası alanı kaplıyorsa (2)

%60'dan fazla alanı kaplıyorsa (3) değeri verilmiştir.

Kalan greft

%1-30 arası alanı kaplıyorsa (1)

%31-60 arası alanı kaplıyorsa (2)

%60'dan fazla alanı kaplıyorsa (3) değeri verilmiştir.

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışma sonuçları değerlendirilirken yararlanılan tüm ölçütler için ortalama ve standart sapmalar hesaplanmıştır. Her gruba ait değerler ve bunların zamana bağlı olarak değişimleri tablolar halinde bulgular bölümünde sunulmuştur. Grup içi değerlendirmelerde Wilcoxon Signed Ranks Analizi, gruplar arası değerlendirmelerde Kruskal Wallis Analizi kullanılmıştır. Farkın hangi alt gruptan kaynaklandığını görmek için de Dunn testi ile değerlendirilmiştir. Tüm hesaplamalarda istatistiksel olarak anlamlılık $p<0,05$ olarak alınmış ve istatistiksel değerlendirmelerde SPSS 19 programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Tüm deney hayvanlarının cerrahi işlemleri iyi tolere ettiği görülmüştür. Her iki grupta da on beşer hayvan ile yapılması planan çalışmamız post-op takip sırasında kayıp verilmeden tamamlanmıştır. Sakrifikasyon işlemleri 15. , 30. ve 60. günlerde tamamlanarak, histolojik kesitler incelemeye alınmıştır.

4.1. Histomorfometrik Değerlendirme

4.1.1. 15. Gün Bulguları

İlk on beş gün içerisinde deney hayvanlarında yara iyileşmesine ilişkin herhangi bir komplikasyon gözlenmemiştir. Ölçümü yapılan değerlendirmeler (Fibrozis, iltihap, yabancı cisim reaksiyonu, yeni kemik yapımı, nekroz ve kalan greft miktarı) Tablo 4.1. de verilmektedir. Deney ve kontrol grupları arasında yara iyileşmesi değerlendirildiğinde; kontrol ve HA-TZP gruplarında fibröz doku miktarının %60'dan fazla, HA grubunda ise %30-60 arasında olduğu görülmüştür. Kontrol ile HA grubu arasında, kontrol ile HA-TZP grubu arasında ve HA ile HA-TZP grubu arasında fibrozis değerleri arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

İltihap değerleri değerlendirildiğinde; kontrol grubunda defekt bölgesinin %60'ından daha fazla alanda iltihap hücrelerine rastlanırken, HA-TZP grubunda %30'dan daha az alanda iltihap hücrelerine rastlanmış ve sadece kontrol ile HA-TZP grubu arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmıştır ($p=0,039$). Kontrol ile HA grubu arasında ve HA ile HA-TZP grubu arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

Yabancı cisim reaksiyonu incelendiği zaman HA ve HA-TZP gruplarında yabancı cisim reaksiyonu görülmüş, kontrol grubunda ise hiç yabancı cisim reaksiyonu görülmemiştir. Kontrol ile HA grubu arasında ve kontrol ile HA-TZP grubu arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmıştır ($p=0,025$). HA ile HA-TZP grubu arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

Yeni kemik yapımı değerlerine bakıldığında HA-TZP grubunda kontrol grubuna göre daha fazla kemik yapımı gerçekleştiği görülmüş ve kontrol ile HA-TZP grubu

arasında yeni kemik yapımı değerleri arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmıştır ($p=0,046$). Kontrol ile HA grubu arasında ve HA ile HA-TZP grubu arasında yeni kemik yapımı değerleri arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

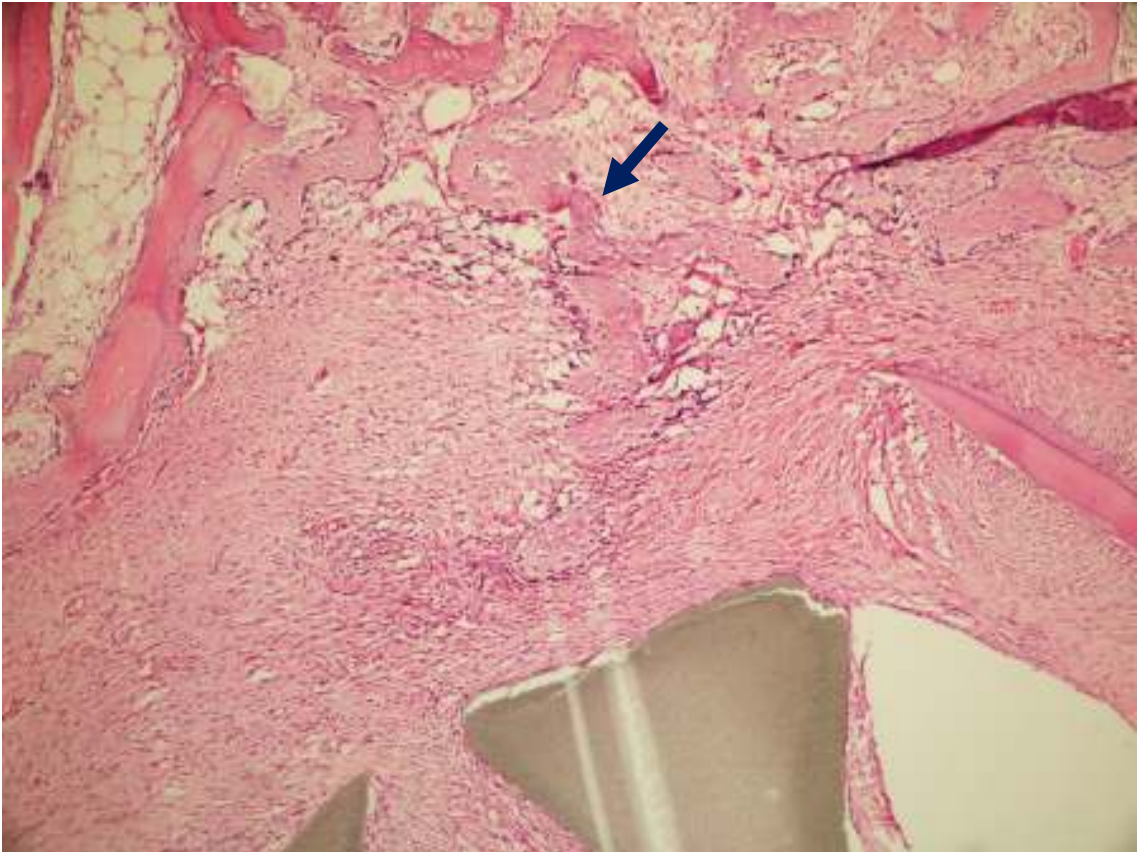
Nekroz değerleri incelendiğinde çok az alanda (%30'dan az) nekrotik odaklara rastlanmış, kontrol ile HA grubu arasında, kontrol ile HA-TZP grubu arasında ve HA ile HA-TZP grubu arasında nekroz değerleri arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

Kontrol grubunda hiç greft materyaline rastlanmazken, HA ve HA-TZP gruplarında kalan greft materyali görülmüştür. Kalan greft değerleri incelendiği zaman kontrol ile HA grubu arasında ve kontrol ile HA-TZP grubu arasında kalan greft değerleri arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmıştır ($p=0,025$). HA ile HA-TZP grubu arasında kalan greft değerleri arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.1: 15. güne ilişkin değerlerin karşılaştırılması

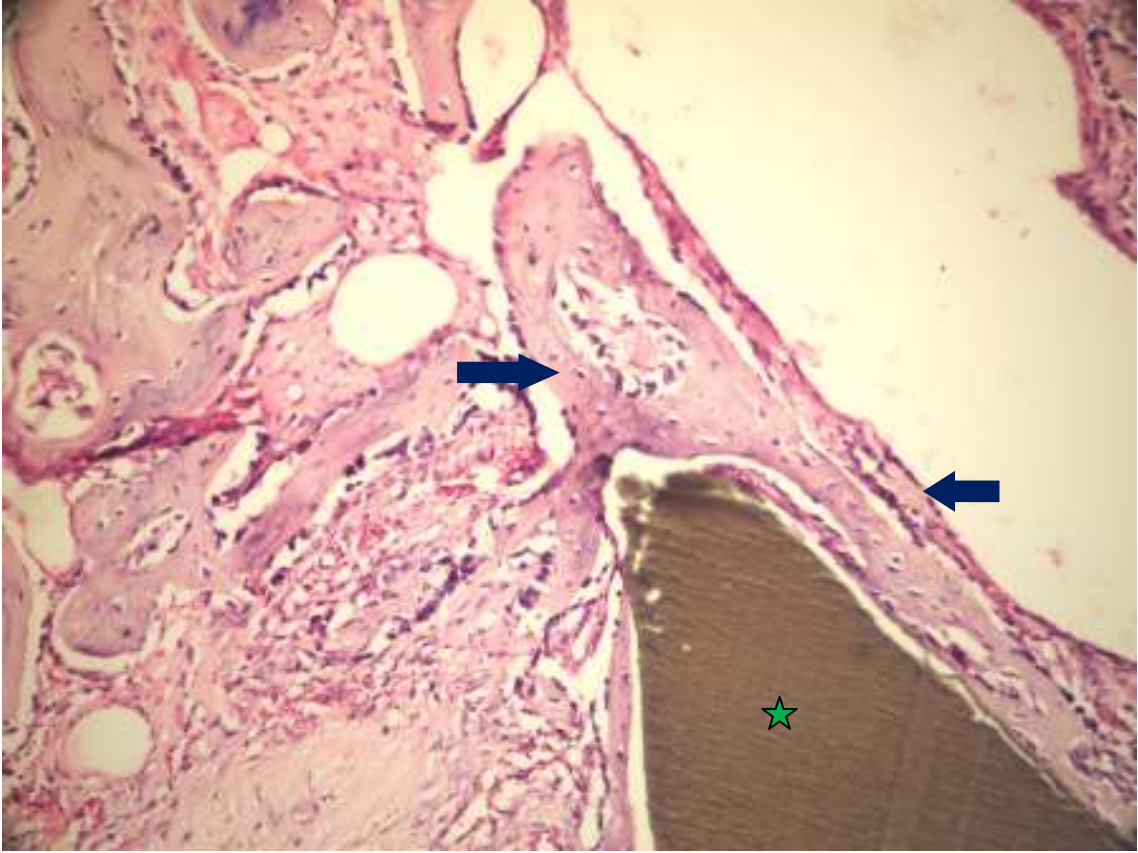
	Kontrol		HA		HA-TZP		K/HA		K/HA-TZP		HA/HA-TZP	
	O±ss	Med	O±ss	Med	O±ss	Med	Z/p		Z/p		Z/p	
F	3,00±0,00	3,00	2,60±0,89	3,00	3,00±0,00	3,00	1,00	0,317	0,00	1,00	-1,00	0,317
İ	3,00±1,22	3,00	1,20±0,45	1,00	1,00±0,71	1,00	-1,769	0,077	-2,06	0,039	-0,516	0,606
YCR	0,00±0,00	0,00	1,00±0,00	1,00	1,00±0,00	1,00	-2,236	0,025	-2,236	0,025	0,00	1,00
YK	1,20±0,45	1,00	1,80±0,45	2,00	2,00±0,00	2,00	-1,732	0,083	-2,00	0,046	-1,00	0,317
N	0,40±0,55	0,00	0,20±0,45	0,00	0,20±0,45	0,00	-0,577	0,564	-1,00	0,317	0,00	1,00
G	0,00±0,00	0,00	1,00±0,00	1,00	1,00±0,00	1,00	-2,236	0,025	-2,236	0,025	0,00	1,00

F: Fibrozis İ: İltihap YCR: Yabancı cisim reaksiyonu YK: Yeni kemik yapımı N: Nekroz G: Kalan greft



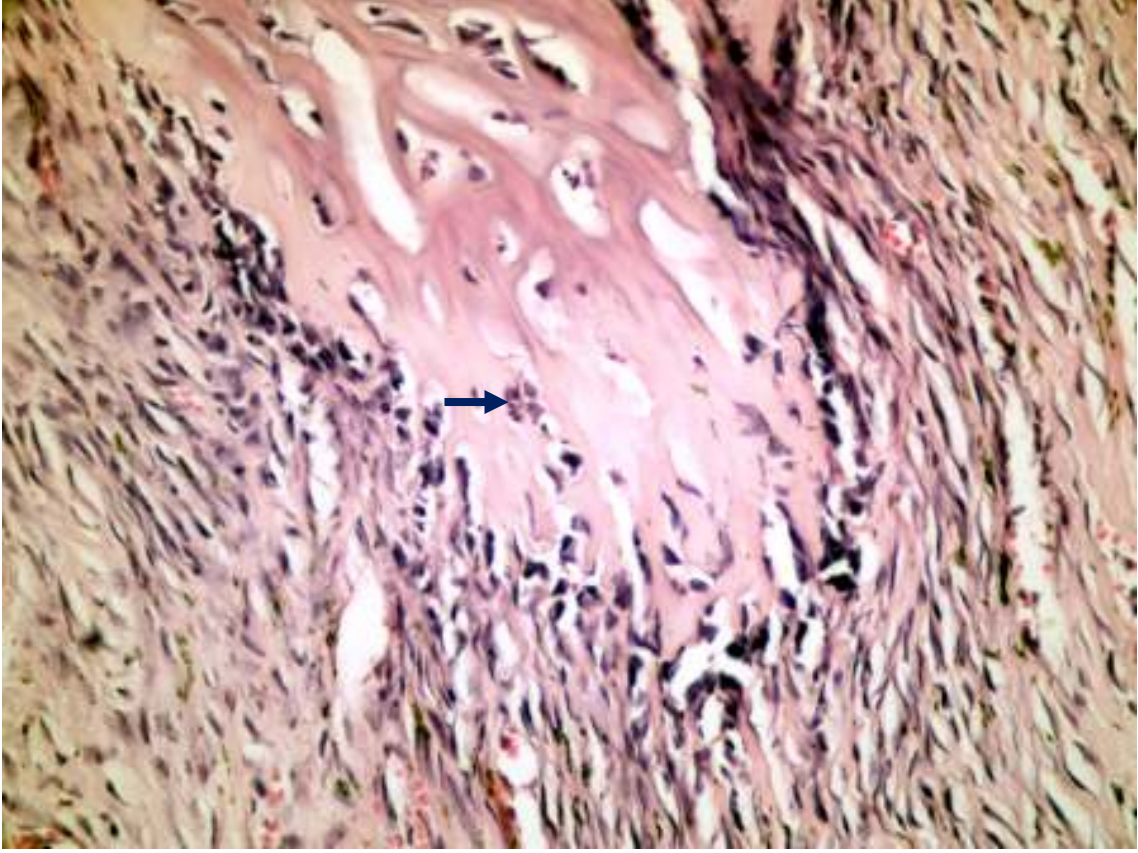
Resim 4.1. HA-15. gün×200 A

Greft materyali çevresinde damardan zengin fibröz doku içinde az sayıda yeni kemik trabekülleri gözlenmiştir.



Resim 4.2. 15. gün HA-TZP×200 A

Greft materyali (yıldız) çevresinde greft materyalini saran yeni kemik yapımı (ok) gözlenmiştir.



Resim 4.3. 15. gün Kontrol×400 A

Damardan zengin bağ dokusu içinde yeni kemik yapımı adacığ gözlendi.

4.1.2. 30. Gün Bulguları

Otuz gün içerisinde deney hayvanlarında yara iyileşmesine ilişkin herhangi bir komplikasyon gözlenmemiştir. Ölçümü yapılan değerlendirmeler Tablo 4.2’de verilmektedir. Deney ve kontrol grupları arasında yara iyileşmesi değerlendirildiğinde; 15. gün değerleri ile karşılaştırıldığı zaman daha az alanda fibröz doku görülmüştür. Kontrol ile HA grubu arasında, kontrol ile HA-TZP grubu arasında ve HA ile HA-TZP grubu arasında fibrozis değerleri arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

İltihap değerleri değerlendirildiğinde deney ve kontrol gruplarının hiçbirinde iltihap olmadığı görülmüştür. Kontrol ile HA grubu arasında, kontrol ile HA-TZP grubu arasında ve HA ile HA-TZP grubu arasında iltihap değerleri arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

Yabancı cisim reaksiyonu incelendiği zaman HA ve HA-TZP gruplarında yabancı cisim reaksiyonu görülmüş, kontrol grubunda ise hiç yabancı cisim reaksiyonu görülmemiştir. Kontrol ile HA grubu arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmıştır ($p=0,025$). Kontrol ile HA-TZP grubu arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmıştır ($p=0,046$). HA ile HA-TZP grubu arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

Yeni kemik yapımı değerlerine bakıldığında 30. günde de HA-TZP grubunda kontrol grubuna göre daha fazla kemik yapımı gerçekleştiği görülmüş ve kontrol ile HA-TZP grubu arasında yeni kemik yapımı değerleri arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmıştır ($p=0,046$). Kontrol ile HA grubu arasında ve HA ile HA-TZP grubu arasında yeni kemik yapımı değerleri arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

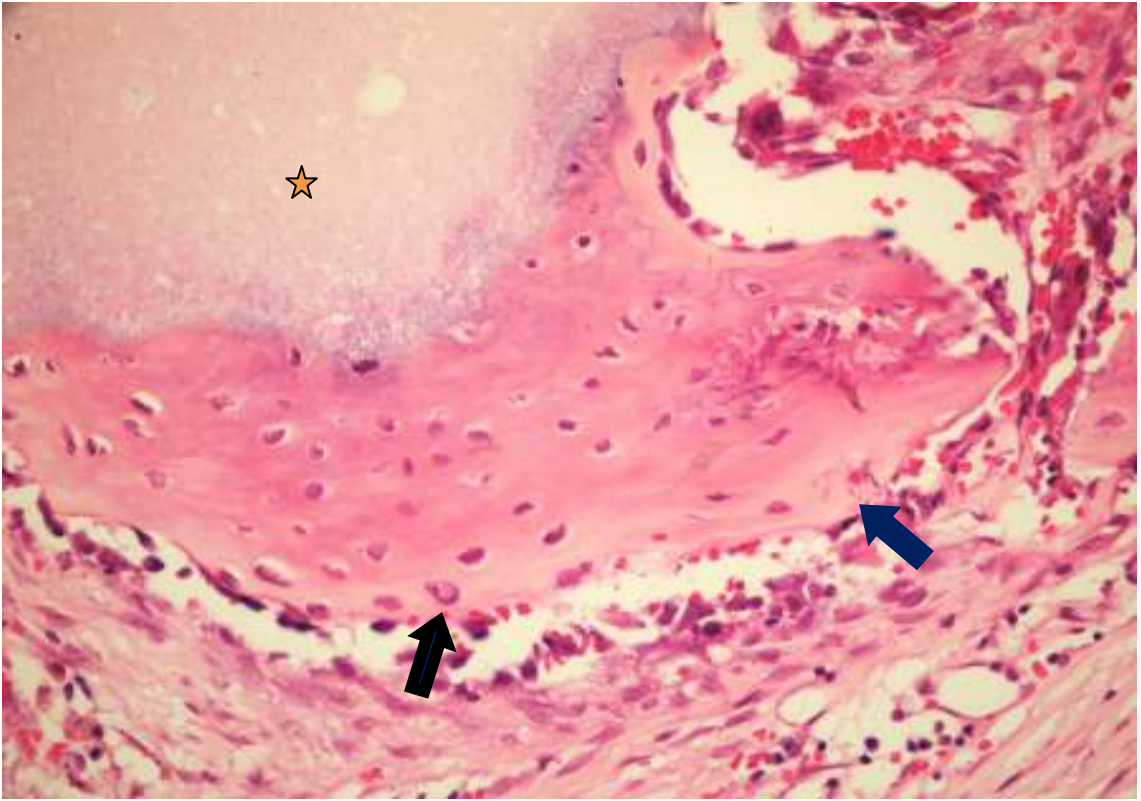
Nekroz değerleri değerlendirildiğinde deney ve kontrol gruplarının hiçbirinde nekroz olmadığı görülmüştür. Kontrol ile HA grubu arasında, kontrol ile HA-TZP grubu arasında ve HA ile HA-TZP grubu arasında nekroz değerleri arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

Kontrol grubunda hiç greft materyaline rastlanmazken, HA ve HA-TZP gruplarında kalan greft materyali görülmüştür. Kalan greft değerleri incelendiği zaman kontrol ile HA grubu arasında ve kontrol ile HA-TZP grubu arasında kalan greft değerleri arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmıştır ($p=0,025$). HA ile HA-TZP grubu arasında kalan greft değerleri arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.2: 30. güne ilişkin değerlerin karşılaştırılması

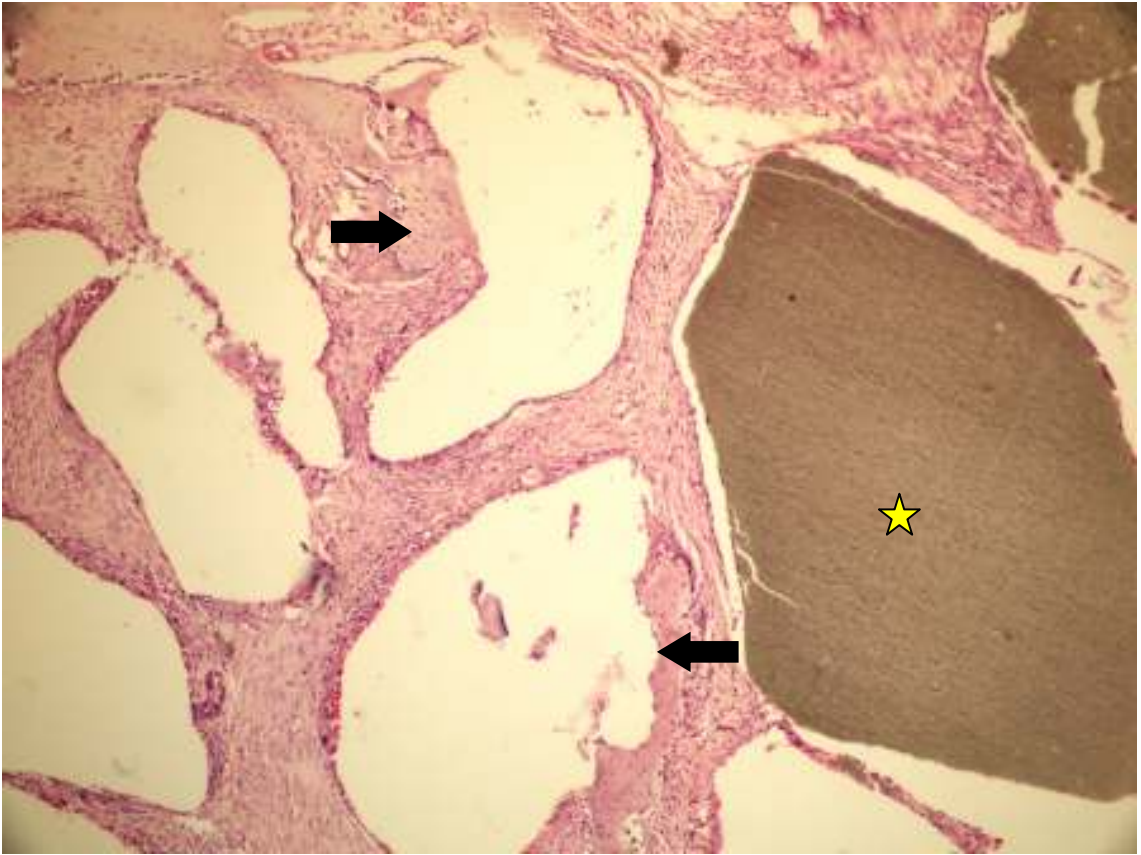
	Kontrol		HA		HA-TZP		K/HA		K/HA-TZP		HA/HA-TZP	
	O±ss	Med	O±ss	Med	O±ss	Med	Z/p		Z/p		Z/p	
F	2,40±0,55	2,00	1,80±0,45	2,00	2,20±0,45	2,00	-1,342	0,180	0,00	1,00	-1,342	0,180
İ	0,00±0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00	1,00	-1,00	0,317	-1,00	0,317
YCR	0,00±0,00	0,00	1,00±0,00	1,00	1,00±0,00	1,00	-2,236	0,025	-2,00	0,046	0,00	1,00
YK	2,00±0,00	2,00	2,60±0,55	3,00	2,80±0,45	3,00	-1,732	0,083	-2,00	0,046	-0,655	0,513
N	0,00±0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00
G	0,00±0,00	0,00	1,00±0,00	1,00	1,00±0,00	1,00	-2,236	0,025	-2,236	0,025	0,00	1,00

F: Fibrozis İ: İltihap YCR: Yabancı cisim reaksiyonu YK: Yeni kemik yapımı N: Nekroz G: Kalan greft



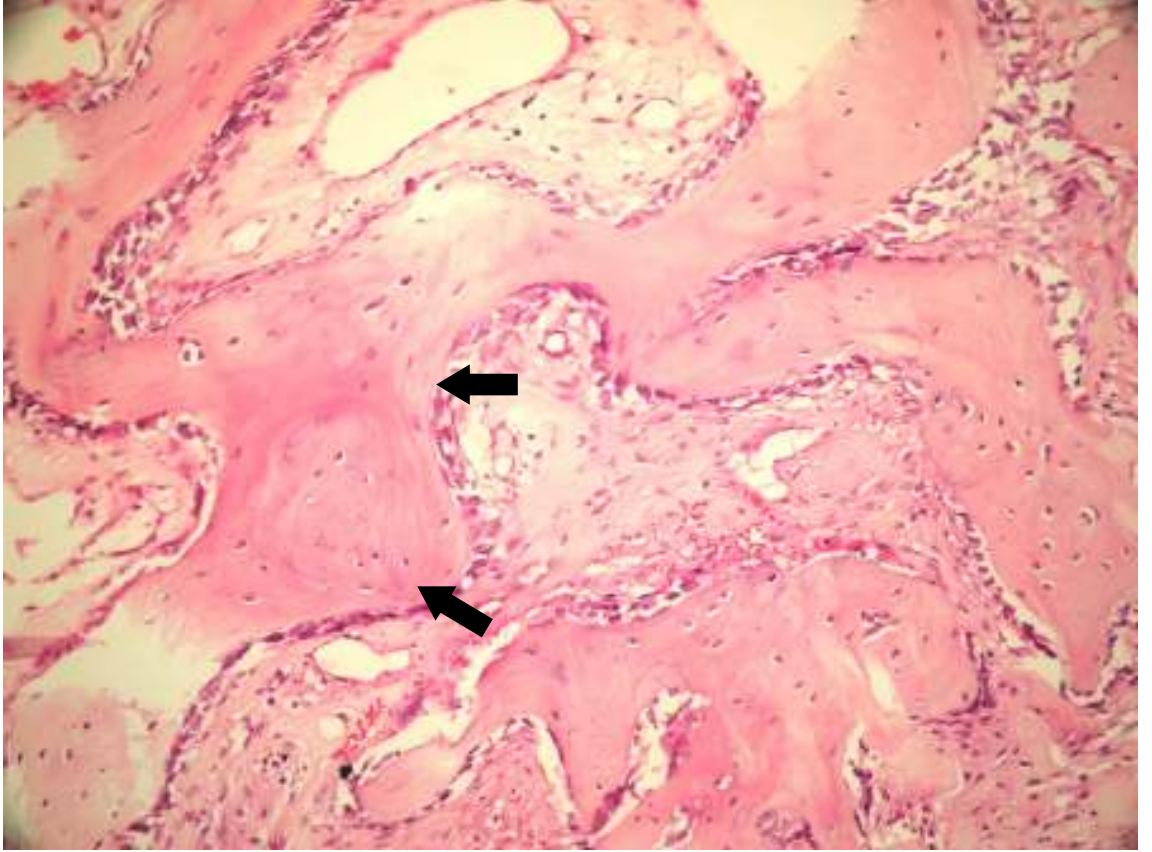
Resim 4.4. 30. gün HA×400 A

Damardan zengin bağ dokusu içinde greft materyali (yıldız) ile kontakt halinde yeni kemik yapımı ve kemik trabekülü (ok) çevresinde aktif osteoblastlar gözlemlenmiştir.



Resim 4.5. 30. gün HA-TZP×100 A

Greft materyalini (yıldız) çevreleyen damardan zengin fibröz doku içinde greftle temas halinde yeni kemik (ok) yapımı ve yer yer greft materyalinden kalan boşluklar gözlemlenmiştir.



Resim 4.6. 30. gün kontrol×200 A

Damardan zengin genç mezenkim hücrelerinden oluşan fibröz doku içinde etrafı aktif osteoblastlarca çevrili yeni kemik trabekülleri gözlemlenmiştir.

4.1.3. 60. Gün Bulguları

Altmış gün içerisinde deney hayvanlarında yara iyileşmesine ilişkin herhangi bir komplikasyon gözlenmemiştir. Ölçümü yapılan değerlendirmeler Tablo 4.3'de verilmektedir. Deney ve kontrol grupları arasında yara iyileşmesi değerlendirildiğinde; 15. gün ve 30. günlere göre daha az alanda fibröz doku görülmüştür. Kontrol ile HA grubu arasında, kontrol ile HA-TZP grubu arasında ve HA ile HA-TZP grubu arasında fibrozis değerleri arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

İltihap değerleri değerlendirildiğinde deney ve kontrol gruplarının hiçbirinde iltihap hücresine rastlanmamıştır. Kontrol ile HA grubu arasında, kontrol ile HA-TZP grubu arasında ve HA ile HA-TZP grubu arasında iltihap değerleri arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

Yabancı cisim reaksiyonu incelendiği zaman HA ve HA-TZP gruplarında yabancı cisim reaksiyonu görülmüş, kontrol grubunda ise hiç yabancı cisim reaksiyonu görülmemiştir. Kontrol ile HA grubu arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmıştır ($p=0,025$). Kontrol ile HA-TZP grubu arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmıştır ($p=0,025$). HA ile HA-TZP grubu arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

Yeni kemik yapımı incelendiği zaman deney gruplarında kontrol grubuna göre daha fazla kemik yapımı görülmüş olmakla beraber kontrol ile HA grubu arasında, kontrol ile HA-TZP grubu arasında ve HA ile HA-TZP grubu arasında yeni kemik yapımı değerleri arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

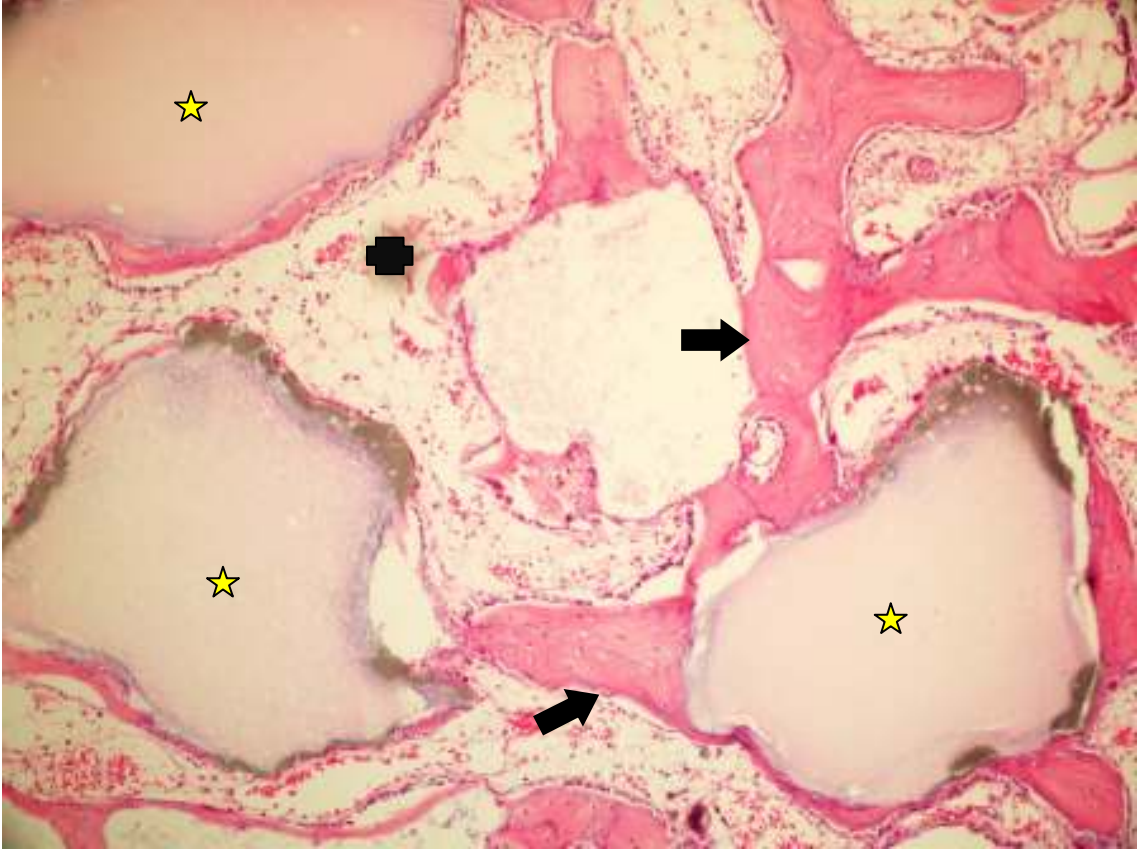
Nekroz değerleri değerlendirildiğinde deney ve kontrol gruplarının hiçbirinde nekroz olmadığı görülmüştür. Kontrol ile HA grubu arasında, kontrol ile HA-TZP grubu arasında ve HA ile HA-TZP grubu arasında nekroz değerleri arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

Kontrol grubunda hiç greft materyaline rastlanmazken, HA ve HA-TZP gruplarında kalan greft materyali görülmüştür. Kalan greft değerleri incelendiği zaman kontrol ile HA grubu arasında ve kontrol ile HA-TZP grubu arasında kalan greft değerleri arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmıştır ($p=0,025$). HA ile HA-TZP grubu arasında kalan greft değerleri arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.3: 60. güne ilişkin değerlerin karşılaştırılması

	Kontrol		HA		HA-TZP		K/HA		K/HA-TZP		HA/HA-TZP	
	O±ss	Med	O±ss	Med	O±ss	Med	Z/p		Z/p		Z/p	
F	0,60±0,55	1,00	1,40±0,55	1,00	1,40±0,55	1,00	-1,633	0,102	-1,342	0,180	0,00	1,00
İ	0,00±0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00
YCR	0,00±0,00	0,00	1,00±0,00	1,00	1,00±0,00	1,00	-2,236	0,025	-2,236	0,025	0,00	1,00
YK	2,20±0,45	2,00	2,80±0,84	3,00	3,20±0,45	3,00	-1,134	0,257	-1,342	0,180	-0,949	0,343
N	0,00±0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00
G	0,00±0,00	0,00	1,00±0,00	1,00	1,00±0,00	1,00	-2,236	0,025	-2,236	0,025	0,00	1,00

F: Fibrozis İ: İltihap YCR: Yabancı cisim reaksiyonu YK: Yeni kemik yapımı N: Nekroz G: Kalan greft



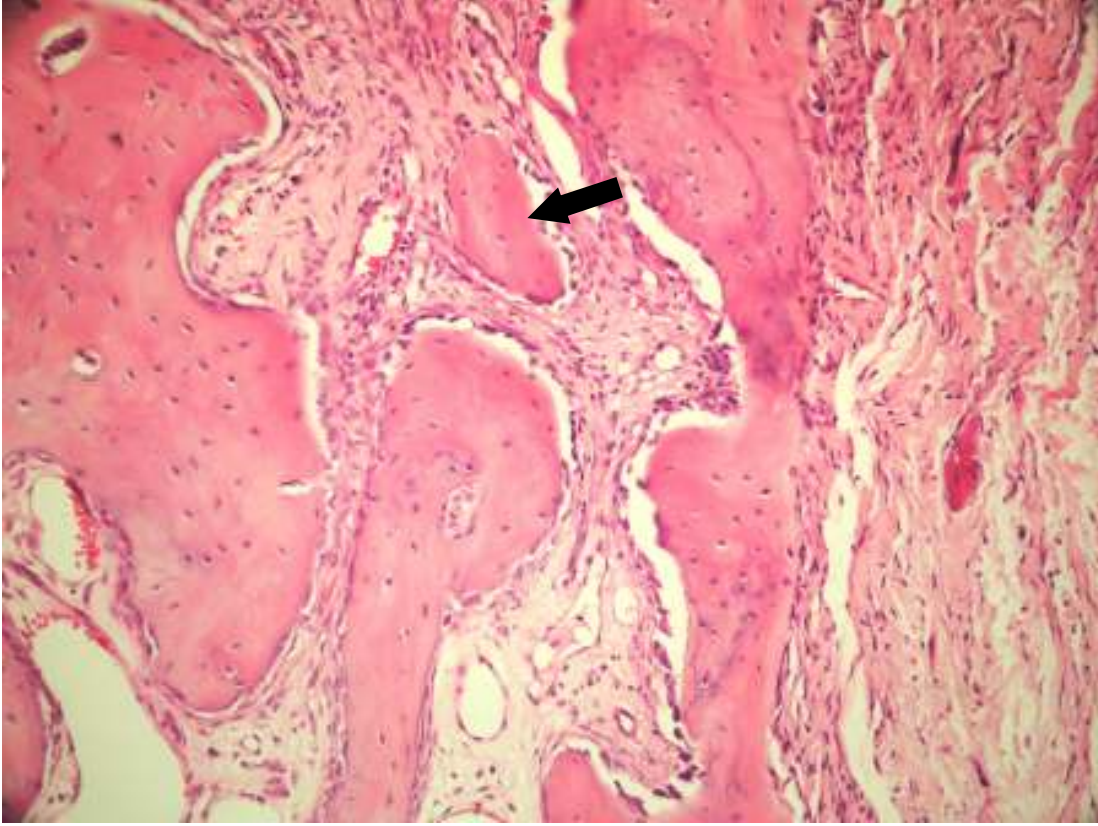
Resim 4.7. 60. gün HA×100 A

Defekt bölgesinde yağlı kemik iliği (artı) arasında greft materyalini (yıldız) çevreleyen kemik trabekülleri (ok) gözlemlenmiştir.



Resim 4.8. 60. gün HA-TZP×100 A

Greft materyali (yıldız) çevresinde yeni oluşan, yoğun kompakt kemik (ok) dokusu



Resim 4.9. 60. gün kontrol×200 A

Defekt alanında fibröz bağ dokusu içinde anastomozlar yapan yeni kemik trabekülleri

4.1.4. Kontrol Grubu (Grup İçi Değerlendirme)

Kontrol grubunda 15. , 30. ve 60. günlerde ölçümü yapılmış olan değerlendirmeler ve bunların grup içi karşılaştırmaları Tablo 4.4’de görülmektedir. Yara iyileşmesine ilişkin değerlendirmeler incelendiği zaman, 15. günden 60. güne doğru fibröz doku miktarının azaldığı izlenmiştir. Fibrozis değerlerinin grup içi karşılaştırmasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmıştır ($p=0,003$). Bu anlamlılık 15. ve 60. günler arasındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır.

On beşinci günden sonra iltihap görülmemiştir. İltihap değerlerinin grup içi karşılaştırmasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmıştır ($p=0,001$). Bu 15. ve 30. günler ile 15. ve 60. günler arasındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır.

On beşinci, 30. ve 60. günlerde hiç yabancı cisim reaksiyonu görülmemiştir. Yabancı cisim reaksiyonu değerlerinin grup içi karşılaştırmasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

On beşinci günden 60. güne doğru yeni kemik yapımı miktarında artış olduğu gözlemlenmiştir. Yeni kemik yapımına ait değerlerin grup içi karşılaştırmasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmıştır ($p=0,001$). Bu 15. ve 30. günler ile 15. ve 60. günler arasındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır.

On beşinci günde nekroz görülürken, 30. ve 60. günlerde görülmemiştir. Nekroz değerlerinin grup içi karşılaştırmasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

Kontrol grubunda 15. , 30. ve 60. günlerin hiçbirinde greft materyaline rastlanmamıştır. Kalan greft değerlerinin grup içi karşılaştırmasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.4: Kontrol grubu (Grup içi karşılaştırma)

	15. gün	30. gün	60. gün	Ki-kare	P
Fibrozis (ort.)	3,00	2,40	0,60	11,879	0,003
Med.	3,00	2,00	1,00		
İltihap (ort.)	3,00	0,00	0,00	13,359	0,001
Med.	3,00	0,00	0,00		
Yabancı cisim reaksiyonu (ort.)	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00
Med.	0,00	0,00	0,00		
Yeni kemik yapımı (ort.)	1,20	2,00	2,20	9,389	0,009
Med.	1,00	2,00	2,00		
Nekroz (ort.)	0,40	0,00	0,00	4,308	0,116
Med.	0,00	0,00	0,00		
Kalan greft (ort.)	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00
Med.	0,00	0,00	0,00		

4.1.5. HA Grubu (Grup İçi Değerlendirme)

HA grubunda 15. , 30. ve 60. günlerde ölçümü yapılmış olan değerlendirmeler ve bunların grup içi karşılaştırmaları Tablo 4.5’de görülmektedir. Yara iyileşmesine ilişkin değerlendirmeler incelendiği zaman, 15. günden 60. güne doğru fibröz doku miktarının azaldığı görülmektedir. Fibrozis değerlerinin grup içi karşılaştırmasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

On beşinci günden sonra iltihap görülmemiştir. İltihap değerlerinin grup içi karşılaştırmasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmıştır ($p=0,001$). Bu 15. ve 30. günler ile 15. ve 60. günler arasındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır.

On beşinci, 30. ve 60. günlerde yabancı cisim reaksiyonu görülmüştür. Yabancı cisim reaksiyonu değerlerinin grup içi karşılaştırmasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

On beşinci günden 60. güne doğru yeni kemik yapımı miktarının arttığı görülmüş, ancak yeni kemik yapımı değerlerinin grup içi karşılaştırmasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

Sadece 15. günde nekroz görülürken diğer dönemlerde nekroza rastlanmamıştır. Nekroz değerlerinin grup içi karşılaştırmasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

On beşinci, 30. ve 60. günlerde HA grubunda greft materyaline rastlanmış, ancak kalan greft değerlerinin grup içi karşılaştırmasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.5: HA grubu (Grup içi karşılaştırma)

	15. gün	30. gün	60. gün	Ki-kare	P
Fibrozis (ort.)	2,60	1,80	1,40	5,589	0,061
Med.	3,00	2,00	1,00		
İltihap (ort.)	1,20	0,00	0,00	13,636	0,001
Med.	1,00	0,00	0,00		
Yabancı cisim reaksiyonu (ort.)	1,00	1,00	1,00	0,000	1,000
Med.	1,00	1,00	1,00		
Yeni kemik yapımı (ort.)	1,80	2,60	2,80	5,379	0,068
Med.	2,00	3,00	3,00		
Nekroz (ort.)	0,20	0,00	0,00	2,000	0,368
Med.	0,00	0,00	0,00		
Kalan greft (ort.)	1,00	1,00	1,00	0,000	1,000
Med.	1,00	1,00	1,00		

4.1.6. HA-TZP Grubu (Grup İçi Değerlendirme)

HA-TZP grubunda 15. , 30. ve 60. günlerde ölçümü yapılmış olan değerlendirmeler ve bunların grup içi karşılaştırmaları Tablo 4.6'da görülmektedir. Yara iyileşmesine ilişkin değerlendirmeler incelendiği zaman 15. günden 60. güne doğru fibröz doku miktarında azalma görülmüştür. Fibrozis değerlerinin grup içi karşılaştırmasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmıştır ($p=0,004$). Bu 15. ve 60. günler arasındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır.

Sadece 15. günde iltihaba rastlanmış, diğer dönemlerde iltihap görülmemiştir. İltihap değerlerinin grup içi karşılaştırmasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmıştır ($p=0,004$). Bu 15. ve 60. günler arasındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır.

On beşinci günden 60. güne doğru yeni kemik yapımının arttığı görülmüştür. Yeni kemik yapımı değerlerinin grup içi karşılaştırmasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmıştır ($p=0,005$). Bu 15. ve 60. günler arasındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır.

Sadece 15. günde nekroz görülürken diğer dönemlerde nekroza rastlanmamıştır. Nekroz değerlerinin grup içi karşılaştırmasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

On beşinci, 30. ve 60. günlerde HA-TZP grubunda greft materyaline rastlanmış, ancak kalan greft değerlerinin grup içi karşılaştırmasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$).

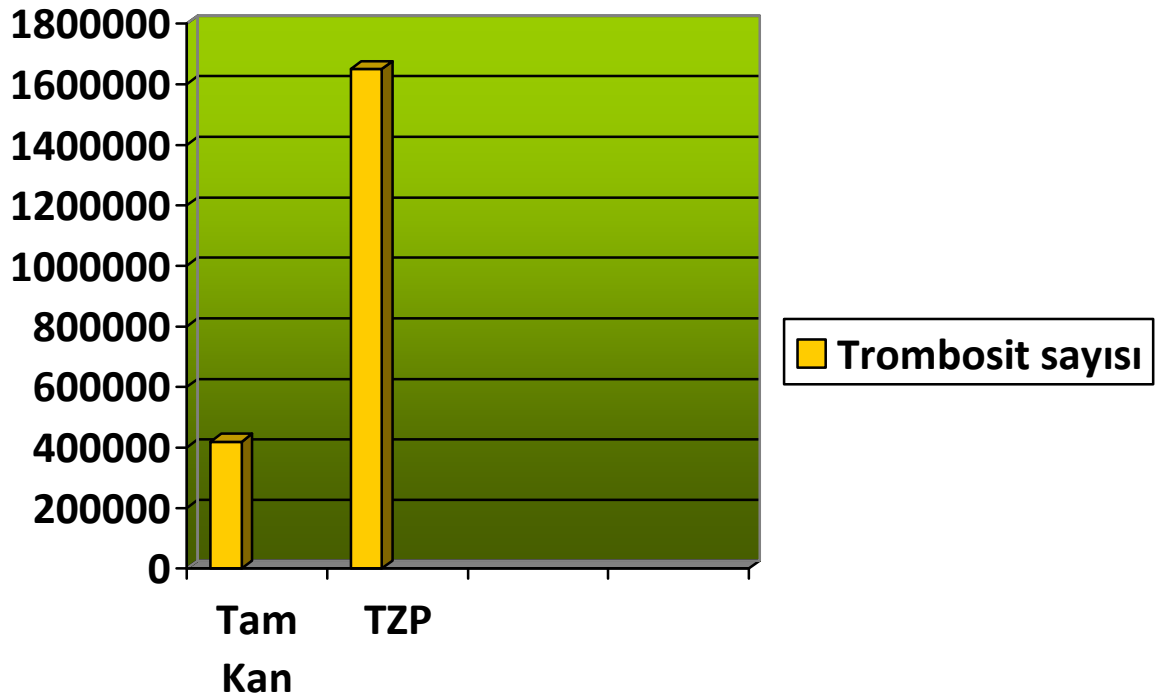
Tablo 4.6: HA-TZP grubu (Grup içi karşılaştırma)

	15. gün	30. gün	60. gün	Ki-kare	P
Fibrozis (ort.)	3,00	2,20	1,40	10,941	0,004
Med.	3,00	2,00	1,00		
İltihap (ort.)	1,00	0,20	0,00	7,425	0,024
Med.	1,00	0,00	0,00		
Yabancı cisim reaksiyonu (ort.)	1,00	1,00	1,00	0,000	1,000
Med.	1,00	1,00	1,00		
Yeni kemik yapımı (ort.)	2,00	2,80	3,20	10,483	0,005
Med.	2,00	3,00	3,00		
Nekroz (ort.)	0,20	0,00	0,00	2,000	0,368
Med.	0,00	0,00	0,00		
Kalan greft (ort.)	1,00	1,00	1,00	0,000	1,000
Med.	1,00	1,00	1,00		

4.2. Trombosit Sayımı

Tavşanlardan alınan tam kanda yapılan sayım sonucu trombosit sayısı ortalama 420 000'dir. Hazırlanan TZP'de ortalama trombosit sayısı 1 650 000'dir. Trombosit sayısı ortalama 3,92 kat artmıştır. Bu TZP'nin tekniğe uygun olarak hazırlandığını göstermiştir.

Grafik 4.1. Trombosit sayısı



5. TARTIŞMA

Periodontal hastalıklar, travma, enfeksiyon, kistler ve tümörler sonucu meydana gelen kemik kayıplarını telafi etmek amacı ile farklı rejeneratif tedavi yöntemleri geliştirilmiştir. Bunlardan biri olan YKR'de amaç, bariyer membran uygulamaları ile defekt bölgesine sadece kemik yapıcı hücrelerin göç etmesini sağlayarak kemik rejenerasyonunu gerçekleştirmektir. Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu uygulamaları sırasında osteojenik, osteoindüktif veya osteokondüktif özelliklere sahip farklı kemik greftleri uygulanmakta ve defekt bölgesine sadece kemik yapıcı hücrelerin göç etmesini sağlamak için rezorbe veya non rezorbe membranlar kullanılmaktadır (9, 120).

Otojen kemik greftleri altın standart olarak kabul edilmekle birlikte, ikinci bir yara bölgesine neden olması, miktarının sınırlı olması, post-op morbiditenin artması gibi dezavantajlara sahiptir (122). Bu nedenle alternatif uygulamalar için arayışlar devam etmektedir.

Trombositten zengin plazma içindeki trombositler tarafından salgılanan büyüme faktörleri; kemotaksisi, proliferasyonu ve osteoblastlar ile onların öncülü hücrelerin farklılaşmasını başlatmak suretiyle kemik iyileşmesi üzerinde uyarıcı etkiye sahiptir (126). Bu çalışmamızda inorganik yapısı insan kemiğine benzer özellikler taşımakta olan hidroksiapatit esaslı kemik grefti* kullanılmıştır. Kullanılan greft materyali doku uyumlu olup, enjektör içerisinde bulunmaktadır. Bu sayede fibrin, hastadan alınan kan veya steril serum ile karıştırılarak uygulanabilir. Greft ve kemik arasındaki kimyasal bağlantı iki ay içerisinde gerçekleşmektedir. Çalışmada bariyer olarak rezorbe olan membran** kullanılmıştır. At kaynaklı olan bu kollagen membran rehidrate edilmeden kullanılabilir ve rezorpsiyon süresi dört haftadır. Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu amaçlı olarak söz konusu membranın kullanıldığı bazı çalışmalarda olumlu sonuçlardan söz edilmiştir (32, 125). Hidroksiapatit esaslı kemik greftinin sadece osteokondüktif özelliğe sahip olması dolayısıyla, kemik iyileşmesini niteliksel ve niceliksel olarak artırma düşüncesiyle, büyüme faktörlerinin yara iyileşmesini stimüle edici özelliklerinden de yararlanmak hedeflenmiştir (6, 40, 112).

* Bone Two, Audiolite, İtalya

** Biocollagen, Biotek, İtalya

Çalışmamızda alloplast-TZP kombinasyonunun tavşan maksillasında oluşturulan kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine olan etkisi araştırılmıştır.

Kemikle ilgili yapılan morfofonksiyonel çalışmalarda, kemik iyileşmesinin dinamiklerinin incelenmesi önem taşımaktadır. Kemik oluşumu ve yeniden şekillenmesine ilişkin aktif mekanizmalar, kemik rejenerasyonu potansiyelinin temelini oluşturmaktadır. Bu mekanizmalar sayesinde farklı hastalıklar, travma veya cerrahi müdahale sonucu yaralanan kemik dokusu tamir olur.

Son otuz yılda kemik iyileşmesinin dinamiklerini araştırmaya yönelik olarak farklı hayvan modelleri değerlendirilmiştir (19). Farklı hayvan modelleri arasında tavşan modeli deney koşullarının standardize edilebilmesi, deneylerin tekrarlanabilir olması, ucuz olması ve yüksek kemik yapım-yıkım döngüsü gibi avantajlara sahiptir (64). Tavşanda kemik rejenerasyonunu incelemeye yönelik araştırmalarda mandibula, femur, calvaria gibi farklı anatomik bölgelerde uygulamalar yapılmıştır (2, 39). Bu çalışmada söz edilen avantajlarının yanı sıra tavşan kanının hematolojik özelliklerinin insan kanına benzer özellikler taşıması nedeniyle tavşan modeli seçilmiştir (18).

Intramembranöz kemik defektlerinin iyileşmesine yönelik uygulanan farklı tedavi yöntemlerinin etkinliğinin sınanmasında güvenilir deney modellerinin oluşturulması önemlidir. Bu modellerden biri de tavşanın kafatasında oluşturulan transosseöz defekt modelidir. Bununla birlikte tavşanın kafatası büyük oranda kortikal kemikten oluşmaktadır. İyileşme sırasında trabeküler kemik ve kemik iliğinin incelenmesi, bu model kullanıldığı takdirde sınırlıdır. Bu nedenle tavşan maksillasında kesiciler ile molar dişler arasındaki dişsiz alan tercih edilir. Bu bölgede ince trabeküllü büyük kemik kaviteleri kompakt kemik ile çevrilidir (80). Bu bölge, çiğneme esnasında en fazla mekanik strese maruz kalan bölgedir. Bu nedenle bu model, ağız içi kemik defektlerinin iyileşmesini klinik duruma en yakın şekilde yansıtır (83).

Kemiğin iyileşme miktarı, uygulama yapılan anatomik bölgenin özelliklerinin yanı sıra defekt büyüklüğüne bağlıdır (128). İyileşme mekanizmalarının inceleneceği deneysel olarak oluşturulmuş kemik defekti kendiliğinden tamamen iyileşemeyecek büyüklükte olmalıdır. Kritik boyutlu defekt, hayvanın yaşamı boyunca kendiliğinden iyileşemeyecek en küçük boyutlardaki kemik defektini tanımlar. Hayvan modellerinin

kullanıldığı çalışmalarda kemik iyileşmesine ilişkin niteliksel ve niceliksel parametreler spesifik zaman aralıklarında değerlendirilmelidir. Tavşanın kafatasında yapılan çalışmalarda, oluşturulacak bikortikal KBD'nin 15 mm çapında olması gerektiği bildirilmiştir (58). Akut model, kronik model ve akut/kronik defekt modeli olmak üzere üç tip deneysel olarak oluşturulan defekt modeli vardır. Her bir modelin kendine özgü avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bu çalışmada akut defekt modeli seçilmiştir. Bu defekt modelinde defektin yaklaşık %50-70'inin kendiliğinden iyileşmesi beklendiğinden ötürü, bu durum sonuçların yorumlanmasında karışıklığa neden olabilmektedir. Bu modelin ekonomik olması ve deney süresini kısaltması gibi avantajları vardır. Ayrıca bu model, yapılan uygulamaların ve kullanılan materyallerin normal rejenerasyona olumsuz etkilerinin olup olmadığının da belirlenmesinde kullanılabilir (21).

Çalışmada tavşan maksillasının büyüklüğünün sınırlı olması ve çalışılan dişsiz alanın dişlere yakın olması nedeniyle KBD'ler oluşturulamamıştır. Bundan dolayı 10 mm×5 mm×3 mm boyutlarında defektler oluşturulmuştur. Çalışmaya referans olarak alınan Lundgren ve ark.'nın modelinde (83) oluşturulan kemik defektlerinin kendiliğinden rejenerasyon kapasitesine sahip olduğu, ancak bunun orijinal kemik defektinin boyutlarının %70-80'i kadar olabileceği görülmüştür (84).

Kemik iyileşmesine ilişkin özelliklerin fizyolojik büyüme süreci ile karışmaması için defekt iyileşmesine ilişkin çalışmalar iskeletsel olarak gelişimini tamamlamış hayvanlarda yapılmalıdır. Tavşanlarda epifizyal plakaların kapanması altıncı ayın sonunda tamamlandığından ötürü çalışma dokuz ile on iki aylık tavşanlarda gerçekleştirilmiştir. Müsküler ve yüklemeye ilgili stresler, mobilite derecesi iyileşme sonuçlarını etkilediğinden dolayı, defektin bulunduğu bölge ve defektin stabilitesi de önem taşımaktadır (42). Bu nedenle çalışmada ağız içi defektler tercih edilmiştir.

İdeal kemik grefti defekte belirli bir süre varlığını korumalı, kemik yapımını desteklemeli, yeni kemik yapımı esnasında aşamalı olarak rezorbe olmalı, kemik yeterli stabilite ve yapıya ulaştığında ortamda artıkları kalmamalıdır. Hidroksiapatit malzemelerin in vivo etkinliği kimyasal bileşimine, kristal yapıya, vücut sıvılarında stabilitesini korumasına ve rezorpsiyon karakterine bağlıdır. Bugün kullanılmakta olan HA kemik greftlerinin çoğu kemik içinde varlığını sürdürmekte ve kemiğin tümüyle rejenerasyonunu engellemektedir. Bu da daha ilerisi için biyomekanik risk

oluşturmaktadır (12). Hidroksiapatit greft materyallerinin kimyasal bileşimi insan kemiğinin doğal yapısı ile benzerlik taşımaktadır (63). Greftin poröz yapı özellikleri ve partikül büyüklüğü rezorbe olma derecesini etkilemekte, ancak kemikle bağlantı oluşturmasını engellemektedir (70). Greftin partikül büyüklükleri aktif rezorpsiyon mekanizmasını etkilemektedir. Mikropartiküller osteoklastlar tarafından rezorbe edilebilmektedir. 0,1-0,3 mm'den daha büyük partiküllerin bu hücreler tarafından rezorpsiyonu azalmaktadır. 1-3 mm büyüklüğündeki partiküller rezorbe olmamaktadır. Greftin por büyüklüğü de kemik oluşturmada önemli bir etkidir. Por büyüklüğünün 300 µm'den daha büyük olduğu durumlarda yeni kapiller ve kemik oluşumu artmaktadır. Por büyüklüğünün 100 µm'den daha küçük olması durumunda o bölgeye hücreler ve kapillerler ulaşamayacağı için yeni kemik yapımı gerçekleşemez (55, 71). Optimum kemik rejenerasyonunun gerçekleşmesi için minimum por büyüklüğünün 200-400 µm olması gerektiği bildirilmiştir. Yeterli damarlanma, osteokondüksiyon ve mineralize doku oluşumunun olabileceği ileri sürülmüştür. Chang ve ark.'nın (22) tavşanlarda yaptıkları bir çalışmada optimum osteokondüksiyon için por büyüklüğünün 300 µm olması gerektiği ileri sürülmüştür. Çalışmamızda kullanılan HA greft materyalinin partikül büyüklüğü 0,6 mm olup, %50 poroziteye sahiptir.

Dahlin ve ark.'nın (30) maymunlarda yaptığı bir çalışmada beş maymunda alt çenede dişsiz alanda bilateral kemik tünelleri şeklinde defektler oluşturulmuş, yedi maymunda üst çenede lateral dişlerde bilateral apisektomi yapılmıştır. Yapılan işlemlerden sonra bir tarafta membran uygulanmış (deney grubu), diğer taraf kendiliğinden iyileşmeye (kontrol grubu) bırakılmıştır. Üç ayın sonunda alt çenede membran uygulanan defektlerde tamamen iyileşme görülürken, kontrol grubunda ağırlıklı olarak bağ dokusunun olduğu iyileşme görülmüştür. Üst çenede membran uygulanan defektler tamamen kemikle dolmuş, çok az periodontal ligament kaynaklı bağ dokusunun eşlik ettiği görülmüştür. Kontrol grubundaki defektlerin ise kendiliğinden iyileşmediği ve farklı miktarlarda bağ dokusu ile dolduğu görülmüştür. e-PTFE membran kullanılan bu çalışma sonunda kemik defektlerinde membran uygulamaları sayesinde defektlerde kemik rejenerasyonunun tamamen sağlanabileceği görülmüştür. Bariyer membran, osteojenik potansiyeli olmayan yumuşak doku hücrelerinin defektin iyileşmesine katılmasını engellemekte ve kemik iliği kaynaklı osteojenik hücrelerin defektin rejenerasyonuna katılımını sağlamaktadır (16).

Rezorbe olmayan membranların maliyetinin yüksek olması, çıkartılması için ikinci bir operasyonun gerekmesi, membranın ekspoz olma durumunda bakteriyel kontaminasyondan dolayı çıkarılmasının gerekmesi gibi olumsuzluklardan ötürü klinisyenler YKR uygulamalarında kollagen membran kullanımını desteklemektedirler.

Bornstein ve ark.'nın (8) yaptığı bir çalışmada altı köpekte alt çenede tek taraflı premolarlar ve birinci molar diş çekilmiş ve yara iyileşmesi için iki ay beklenmiştir. Daha sonra dişlerin çekildiği bölgede üç adet defekt (8 mm×6 mm×8 mm) oluşturulmuş ve defektlerin hepsi deproteinize sığır kaynaklı kemik grefti ile doldurulmuştur. Birinci defekte membran uygulanmamış, ikinci defekte kollagen membran uygulanmış, üçüncü defekte çapraz bağlantılı kollagen membran uygulanmıştır. Hayvanların üçü iki ay, diğer üçü dört ay sonra sakrifiye edilmiştir. Çapraz bağlantılı kollagen membranın açığa çıkmadığı durumlarda diğer gruplara göre daha fazla kemik dolumu görülmüştür.

Plachokova ve ark.'nın TZP'nin kemik rejenerasyonu üzerine etkilerini değerlendirdiği sistematik derlemede TZP'nin klinik uygulamalarda kullanılması lehinde destekleyen veya tersi sonuç bildiren yeterli bilimsel kanıt olmadığı bildirilmiştir (137). Burada araştırmalar arasında büyük oranda heterojenite olduğu bildirilmiştir. Bunun nedenlerinden biri de TZP hazırlanması için farklı protokoller kullanılmış olumasıdır. Trombositlerde ortaya çıkan niteliksel ve niceliksel değişikliklere bağlı olarak TZP'nin rejeneratif potansiyeli etkilenebilmektedir. Bu nedenle TZP'nin biyolojik etkilerinin değerlendirilebilmesi için uygun TZP hazırlama protokollerinin olması esastır (106).

Trombositten zengin plazma elde etmek için farklı sistemler kullanılmaktadır. Bu sistemlerin her birinin kendine özgü avantaj ve dezavantajları vardır. Weibrich ve ark.'nın iki farklı sistemi (Harvest Smart PreP * ve Friadent-Schütze **) karşılaştırdığı çalışmada Smart PreP'nin kullanım kolaylığı ve hazırlama süresinin daha kısa olması gibi avantajlara sahip olduğu, daha yüksek sayıda trombosit toplamayı sağladığı bildirilmiştir (148). Buna karşılık diğer sistemde daha fazla miktarda TZP elde edildiği bildirilmiştir. Çalışmamızda uygulama için az miktarda (8.5 ml) kanın yeterli olması ve ekonomik olması gibi avantajları nedeniyle Curasan TZP kiti kullanılmıştır.

* Harvest PreP, Harvest Technologies Corporation, Almanya

** Friadent-Schütze PRP kit, Friadent-Schütze, Avusturya

Kanın pıhtılaşmasını engellemek amacı ile ACD-A ve EDTA kullanılmaktadır. Bugün EDTA bu amaçla kullanılmamaktadır. Etilen diamin tetra asetik asit trombosit membranına zarar vermektedir (91, 94).

Trombositten zengin plazmanın kullanıldığı rejeneratif tedavilerde, TZP'nin jel haline getirilmesi için farklı aktivatörler tek başına veya kombine halde, farklı miktarda kullanılmaktadır. Bu sebeple TZP ile yapılan çalışmalarda sonuçlar farklılık gösterebilmektedir. Trombositten zengin plazma hazırlanması için kullanılan metodların hemen hemen hepsinde, TZP'nin jel haline getirilmesi için kalsiyum ve sığır trombinini kullanılmaktadır (77, 112). Trombin, trombosit aggregasyonu ve büyüme faktörlerinin salınımı için etkin bir maddedir (90). Kemik rejenerasyonu sırasında erken dönemde PDGF ve TGF- β , daha sonra TGF- β ve iyileşmenin son safhasında IGF-1 ve BMP'lerin bulunması gerekmektedir (141). Kemik iyileşmesinin desteklenmesi için ideal TZP aktivatörü, BF'lerin kemik iyileşmesi için yukarıda belirtilen sırada salınımını sağlamalıdır. Kemik iyileşmesinde ana olaylardan biri de angiogenezdır. İyileşmenin erken döneminde angiogenезin uyarılması ile birlikte daha sonraki safhada daha fazla kemik yapımı sağlanmış olunacaktır (75).

Messori ve ark. (98) altmış sıçanın kafatasında 8 mm çapında KBD oluşturmuşlardır. Yirmişer hayvandan oluşan üç ana grup oluşturulduktan sonra, her ana grupta kendi içinde onar hayvandan oluşan iki alt gruba ayrılmıştır. Bu alt gruptaki hayvanlar dördüncü ve on ikinci haftanın sonunda sakrifiye edilmiştir. K (Kontrol) grubunda defektin sadece kan ile dolması sağlanmıştır. TZP-C grubunda TZP sadece kalsiyum klorid ile ve TZP-T grubunda TZP sadece tromboplastin ile aktive edilmiştir. Dördüncü ve on ikinci haftaların sonunda kemik oluşumu incelendiğinde TZP-C uygulanan grupla diğer iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark vardır. K ve TZP-T grubu arasında istatistiksel anlamlı fark görülmemiştir. Bu araştırmanın sınırları çerçevesinde, TZP'de pıhtı oluşumunu başlatan aktivatör tipi, sıçanlarda oluşturulan KBD'deki kemik iyileşmesine etki etmektedir.

Martineau ve ark.'nın (90) farklı konsantrasyonlardaki kalsiyum ve trombinin endotel hücre proliferasyonuna etkisini değerlendirdikleri çalışmada, yüksek konsantrasyonlardaki kalsiyum ve trombinin bFGF, TGF- β 1 ve PDGF-BB konsantrasyonlarını önemli miktarda arttırdığı bildirilmiştir. Daha sonra PDGF-BB,

VEGF ve TGF- β 1'in miktarlarının altı gün boyunca sabit kaldığı, buna karşın bFGF'nin konsantrasyonunun yirmi dört saat sonunda azaldığı bildirilmiştir.

Trombinin aktivatör olarak kullanıldığı çalışmalarda pıhtılaşma faktörlerinden Faktör V ve Faktör IX'a karşı antikor oluştuğu, bunun sonucunda da hastanın yaşamını tehdit eden koagülopatiler geliştiği bildirilmiştir. Kardiyovasküler operasyon geçiren otuz iki hastada trombinin aktivatör olarak kullanılması sonucu, yedi ile on dört gün sonra hastanın yaşamını tehdit eden diatezlere kadar varan komplikasyonlarla karşı karşıya kalındığı bildirilmiştir (26). Landesberg ve ark. TZIP'yi aktif hale getirmek için farklı yöntemlerin geliştirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir (68). Marx 1996 yılından beri hastalarında herhangi koagülopatiye rastlanmadan sığır trombinini aktivatör olarak kullandığını, bununla birlikte koagülopati riskini önlemek için rekombinant insan trombin veya otolog trombin kullanılabileceğini belirtmiştir (123). Kassolis ve ark. (68) ise hastalarında kullandıkları TZIP'nin aktivasyonunda otolog trombin kullanmışlardır. Çalışmamızda CaCl₂ ve birkaç damla hayvandan alınan otolog kan kullanılmıştır.

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu uygulamaları sonrası post-op enfeksiyonu önlemeye yönelik olarak antibiyotik kullanımı önerilmektedir (102, 113). Çalışmada, enfeksiyona bağlı olarak yara iyileşmesinin olumsuz etkilenmemesi amacıyla post-op sonrası başlayan ve beş gün süren antibiyotik uygulaması yapıldı. Bu amaçla günde bir kez i.m. 0,2 cc/kg gentamisin uygulandı.

Nagata ve ark.'nın (106) altmış tavşanın kafatasında yapmış oldukları çalışmada, her birinde yirmişer hayvan bulunan üç grup oluşturulmuştur. Kafatasında 15 mm çapındaki trefin frez yardımı ile KBD oluşturulmuştur. Birinci grupta (kontrol grubu) defekt bölgesine herhangi bir materyal uygulanmamış ve defektin kanla dolması sağlanmıştır. İkinci grupta defekt bölgesine otojen kemik grefti uygulanmış, üçüncü grupta ise otojen kemik grefti-TZIP kombinasyonu uygulanmıştır. Hayvanlar dördüncü ve on ikinci haftanın sonunda kurban edilmiştir. Yapılan histolojik değerlendirmeler sonucu kontrol grubunda, otojen kemik grefti ve otojen kemik grefti-TZIP uygulanmış gruplara göre daha az kemik oluştuğu gözlemlenmiştir. Dördüncü hafta sonunda otojen kemik grefti-TZIP uygulanan grupta, yalnızca otojen kemik grefti uygulanan gruba göre daha fazla kemik yapımı olduğu gözlemlenmiştir. On ikinci haftanın sonunda ise iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Bu çalışma sonunda TZIP'nin kemik iyileşmesinin erken döneminde olumlu katkısı olduğu bildirilmiştir .

Çalışmamızda ise tavşan maksillasında 10 mm uzunluğunda, 5 mm genişliğinde ve 3 mm derinliğinde kemik defektleri oluşturulmuştur. Histolojik değerlendirmeler 15. , 30. ve 60. günlerin sonunda yapılmıştır. Kontrol grubunda defekt bölgesine herhangi bir materyal uygulanmamış ve defektin kanla dolması sağlanmıştır. Birinci gruba HA esaslı kemik grefti uygulanmış, ikinci gruba ise HA esaslı kemik grefti-TZP uygulanmıştır. Histolojik değerlendirmeler sonucu birinci ve ikinci grupta kontrol grubuna göre daha fazla kemik yapımı olduğu gözlemlenmiş, erken dönemde kontrol grubu ile HA esaslı kemik grefti-TZP uygulanan grup arasında yeni kemik yapımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptanmıştır (Tablo 4.1 ve 4.2). Bu da TZP'nin kemik yapımının erken dönemlerinde etkili olduğunu gösteren diğer çalışmaların sonuçları ile uyumludur (48, 115, 137). Erken dönemde (15. ve 30. günler) Tablo 4.1 ve 4.2'de görüldüğü gibi HA esaslı kemik grefti-TZP uygulanan grup ile HA esaslı kemik grefti uygulanan grup arasında yeni kemik oluşumu açısından istatistiksel anlamlı farka rastlanmamıştır.

Çalışmamızda HA esaslı kemik grefti-TZP kombinasyonu ile HA esaslı kemik grefti uygulanan grup arasında erken dönemde (ikinci ve dördüncü hafta) yeni kemik yapımında anlamlı fark bulunmamasının (Tablo 4.1 ve Tablo 4.2) örnek sayısının az olmasından ve non-parametrik istatistiksel analiz kullanılmış olunmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Çünkü örneğin 15. günde kontrol grubu ile HA grubu arasında fark 0,6 kontrol grubu ile HA-TZP grubu arasındaki fark 0,8'dir. Kontrol grubu ile HA grubu arasındaki 0,6'lık fark istatistiksel anlam oluşturmazken, HA grubu ile HA-TZP grubu arasındaki 0,2'lik farkın anlam oluşturmaması beklenmez.

Şimdiye kadar yapılmış olunan klinik çalışmalarda ve hayvan çalışmalarında kullanılan TZP miktarı bildirildiği halde, kullanılan greft miktarı belirtilmemiştir. Bu nedenle greft-TZP oranı hesaplanamaz. Greft-TZP oranının kemik iyileşmesine olan etkisinin incelendiği çalışma Nagata ve ark. (105) tarafından gerçekleştirilmiştir. Yirmi beş sıçanda gerçekleştirilen bu çalışmada hayvanlar beş ana gruba ayrılmıştır. Sıçanların kafatasında 5 mm çapında defektler oluşturulmuştur. Birinci grup kontrol grubu olup, defektin içi boş bırakılmıştır. İkinci gruba 0,01 ml otojen kemik grefti, üçüncü gruba 0,01 ml otojen kemik grefti+50 µl TZP, dördüncü gruba 0,01 ml otojen kemik grefti+100 µl TZP, beşinci gruba 0,01 ml otojen kemik grefti+150 µl TZP uygulanmıştır. Hayvanlar 30. günde sakrifiye edilmiştir. Yeni kemik yapımı incelendiği

zaman gruplar arasında istatistiksel anlam taşıyan fark görülmesi de, otojen kemik grefti+100 µl TZP uygulanan grupta diğerlerine göre daha fazla kemik yapımı görülmüştür. En fazla kalan greft miktarı otojen kemik grefti+150 µl TZP uygulanan gruptadır. Bu çalışma sonunda otojen kemik grefti-TZP oranının sıçan kafatasında oluşturulan KBD'lerde kemik iyileşmesini etkilediği görülmüştür. Optimal bir oran olduğu ve bu optimal oran geçildiği zaman TZP'nin iyileşmeyi bozabileceği görülmüştür.

TZP elde etmek için kan alınırken trombositlerin hücre membran bütünlüğünün korunması önemlidir. Zarar gören veya TZP hazırlama esnasında canlılığını yitiren trombositler biyoaktif büyüme faktörlerini salgılayamazlar (93).

Butterfield ve ark. (18) on iki tavşanda yaptıkları çalışmada otojen kemik grefti-TZP kombinasyonunun bilateral sinüs ogmentasyonuna etkisini araştırmışlardır. Her grupta dört tavşan olmak üzere üç ayrı grup oluşturulmuştur. İkinci, dördüncü ve sekizinci haftalarda hayvanlar sakrifiye edilmişlerdir. Bir tarafta sadece otojen kemik grefti, diğer tarafta otojen kemik grefti-TZP uygulanmıştır. Yapılan histomorfometrik değerlendirmeler sonucu iki grup arasında yeni kemik yapımı değerleri arasında istatistiksel anlamlı fark görülmemiştir. TZP'nin otojen kemiğin iyileşmesi üzerinde direkt uyarıcı etkiye sahip olmadığı bildirilmiştir. Grup içi karşılaştırma yapıldığı zaman otojen kemik grefti-TZP grubu içinde sadece ikinci ile dördüncü haftalar ve ikinci ile sekizinci haftalar arasında yeni kemik yapımı açısından istatistiksel anlamlı fark görülmüştür. Çalışmamızda görüldüğü gibi HA-TZP grubu içinde yeni kemik yapımı incelendiğinde istatistiksel anlam taşıyan fark görülmüştür ($p=0,005$). Bu 15. ve 60. günler arasındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır (Tablo 4.6).

Miloro ve ark. (101) on iki tavşanda yaptıkları çalışmada otojen kemik grefti ile birlikte TZP uygulamanın kemik iyileşmesine olan etkisini incelemişlerdir. Tavşanlar altışarlı iki ana gruba ayrılmış, her grupta üç alt gruba ayrılmıştır. Tavşanlar birinci, ikinci ve üçüncü ayların sonunda sakrifiye edilmiştir. Her tavşanda alt çenede bilateral 1 cm×0,5 cm boyutlarında defektler oluşturulmuştur. Birinci grupta sağ taraftaki defekte otojen kemik grefti, karşı taraftaki defekte otojen kemik grefti-TZP uygulanmıştır. İkinci grupta sağ taraftaki defekt boş bırakılmış (kontrol), karşı taraftaki defekte ise TZP uygulanmıştır. Otojen kemik grefti uygulanan defektlerde, uygulanmayan defektlere göre daha iyi iyileşme gözlemlenmiş, ancak TZP'nin her iki

grupta iyileşmeye istatistiksel anlam taşıyan fark görülecek kadar katkıda bulunmadığı görülmüştür.

Aghaloo ve ark. (2) on beş tavşanda yaptıkları pilot çalışmada, 8 mm'lik trefin frez yardımı ile tavşanın kafatasında dört adet kemik defekti oluşturmuşlardır. Birinci defekt kontrol grubu olarak kullanılmış ve defektin sadece kanla dolması sağlanmıştır. İkinci defekte TZP, üçüncü defekte otojen kemik grefti, dördüncü defekte ise otojen kemik grefti-TZP uygulanmıştır. Hayvanlar birinci, ikinci ve dördüncü ayın sonunda sakrifiye edilmiştir. Yapılan radyografik ve histolojik değerlendirmelerin sonunda otojen kemik grefti ve otojen kemik grefti-TZP uygulanan gruplarda, TZP uygulanan grup ve kontrol grubuna göre önemli miktarda daha fazla kemik yapımı gerçekleştiği görülmüştür. Kontrol grubu ile TZP uygulanan grup arasında, otojen kemik grefti ve otojen kemik grefti-TZP uygulanan grup arasında yeni kemik yapımı değerleri arasında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir.

Trombositten zengin plazma içinde bulunan trombositlerin α -granülleri tarafından salgılanan büyüme faktörlerinin yara iyileşmesine olumlu katkılarından söz edilirken, trombositler içinde aynı zamanda yara iyileşmesini inhibe edici özellikte maddeler de bulunduğu bildirilmiştir. Bunlardan biri de TSP-1 olup, α -granülleri içinde bol miktarda bulunmaktadır. Trombospondin ailesi TSP-1'den TSP-5'e uzanan proteinlerden oluşmakta olup, farklı tipteki hücrelerin proliferasyonunu, adezyonunu, göç etmesini, farklılaşmasını ve hayatta kalmasını etkilemektedir (1).

Hsu ve ark. (23) yaptıkları çalışmada önce TZP'nin yara iyileşmesi ile bağlantılı oral hücreler üzerine etkisini incelemişlerdir. Daha sonrada TSP-1 proteininin TZP içindeki seviyesini ve TSP-1 proteininin oral hücreler üzerinde antiproliferatif etkisi olup olmadığını araştırmışlardır. Altı günlük inkübasyon sonunda düşük konsantrasyonlu TZP'de (<%5) daha fazla hücre olduğunu ve yüksek konsantrasyonlu TZP'de (%15-30) daha az hücre olduğunu bildirmişlerdir. %30 TZP konsantrasyonunda yüksek miktarda TSP-1 bulunduğu ve hücre proliferasyonunun doza bağlı olarak inhibe edildiği bildirilmiştir. Bu çalışma sınırları çerçevesinde, konsantre TZP'den yüksek miktarda TSP-1'in salgılanmasının antiproliferatif etkiye katkıda bulunabileceği bildirilmiştir (1).

Wiltfang ve ark. yirmi dört dişi domuzda yaptıkları bir çalışmada kafatasında alın bölgesinde trefin frez yardımı ile 10 mm çapında, 8 mm derinliğinde sekiz tane

KBD oluşturmuşlardır (151). Bu çalışmada iki farklı TZP sistemi, TZP1* ve TZP2** kullanılmıştır. Birinci defekte otojen kemik grefti-TZP1, ikinci defekte otojen kemik grefti-TZP2, üçüncü defekte trikalsiyum fosfat-TZP1, dördüncü defekte trikalsiyum fosfat-TZP2 uygulanmıştır. Beşinci defekte sığır kaynaklı kemik grefti-TZP1, altıncı defekte trikalsiyum fosfat-TZP2, yedinci defekte kollagen sponge-TZP1, sekinci defekte kollagen sponge-TZP2 uygulanmıştır. Hayvanlar ikinci, dördüncü ve on ikinci haftada sakrifiye edilmiştir. Yapılan histolojik değerlendirmeler sonucunda TZP'nin ksenojen kemik greftleri ile birlikte uygulanmasının kemik yapımına ilave bir katkısı olmadığı bildirilmiştir. Bununla birlikte TZP'nin otojen kemik ile birlikte kullanıldığı takdirde, erken dönemde kemik rejenerasyonuna önemli katkısı olduğu bildirilmiştir.

Trombositten zengin plazma ancak çoğalabilen (mitogenez) ve damarlanmayı uyarabilen (angiogenez) hücreler üzerinde etkili olabilmektedir. Bu nedenle sadece osteokondüktif özelliği olan kemik greftleri ile beraber kullanıldığında kemik yapımını anlamlı şekilde artırması olası değildir. Ancak bununla birlikte TZP ve canlı hücre içermeyen kemik greftleri, otojen kemik grefti ile birlikte kullanıldığı takdirde kemik yapımını artabilir (92).

Aghaloo ve ark.'nın (3) farklı greft materyalleri (otojen kemik, DKK, DDKK ve ksenogreft***) ile birlikte TZP uygulamasının kemik iyileşmesine etkisini inceledikleri çalışmada, en ideal greft materyalinin otojen kemik grefti olduğu bildirilmiştir. Ancak yapılan histomorfometrik değerlendirmelerde ksenogreft/TZP uygulanan grupta sadece ksenogreft uygulanan gruba göre daha fazla kemik iyileşmesinin gerçekleştiği görülmüştür. Trombositten zengin plazmanın sadece canlı hücre içeren greft materyalleri üzerinde etki edebileceğini öne süren görüşle çelişen ilginç bir bulgudur (101). Çalışmamızın sonuçlarına göre de, TZP'nin alloplast grubuna dahil olan HA esaslı kemik grefti ile beraber kullanımı sonucu erken dönemde kemik iyileşmesine ilave katkısı olduğu düşünülebilir.

Broggini ve ark. (13) on beş tavşanda yaptıkları çalışmada hayvanları beşerli üç gruba ayırmışlar ve hayvanları birinci, ikinci ve dördüncü haftalarda sakrifiye ederek,

* Curasan, Almanya

** 3i, Almanya

*** Bio-Oss, Geistlich, İsviçre

TZP'nin erken dönemde kemik iyileşmesi üzerine etkilerini incelemiştir. Yapılan çalışmada her bir tavşanın kafatasında 5 mm çapında, 1,5 mm derinliğinde dört adet defekt oluşturmuşlardır. Defektlerden biri kontrol grubu olarak kullanılmış ve içi sadece pıhtı ile dolmuştur. Diğer defektlere sırası ile otojen kemik grefti, otojen kemik grefti-TZP ve TZP uygulanmıştır. Bütün defektlerin üstü rezorbe olan membran ile kapatılmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman, TZP tek başına veya otojen kemik grefti ile beraber uygulandığında daha fazla kemik yapımı gözlenmemiştir. Sadece otojen kemik grefti uygulanan grupta ikinci haftada kemiğin yeniden şekillenmesinin hızlandığı bildirilmiştir. Histolojik incelemede tüm gruplarda ikinci hafta sonunda defektin bir ucundan diğer ucuna yeni kemik oluştuğu, greft uygulanan gruplarda greftin yeni kemik ile kaplandığı gözlenmiştir. Dördüncü haftada tüm gruplarda kemik yoğunluğunun arttığı, greft uygulanan gruplarda greft partiküllerinin yeni oluşan kemik trabekülleri içinde iyi entegre olduğu ve osteoklastik aktivite sonucu rezorbe olduğu bildirilmiştir. Her üç dönemde greft uygulanan gruplarda kalan greft miktarında istatistiksel anlam taşıyan fark görülmemiştir ($p=1,00$).

Çalışmamızda ise tavşan maksillasında 10 mm uzunluğunda, 5 mm genişliğinde ve 3 mm derinliğinde defektler oluşturuldu. On beşinci, 30. ve 60. günlerdeki kemik iyileşmesi incelendi. Greft olarak osteokondüktif özellikte olan HA kullanıldı. Kontrol grubu dışında tüm defektlerimizin üstü rezorbe membran ile örtüldü. Altmışınca gün sonunda tüm gruplar arasında yeni kemik yapımı değerleri arasında istatistiksel anlamlı farka rastlanmamıştır. Tablo 4.1 ve 4.2'de görüldüğü gibi erken dönemde (15. ve 30. günler) HA-TZP uygulanan grup ile kontrol grubu arasında yeni kemik yapımı değerleri arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmıştır ($p=0,046$). Yapılan histolojik değerlendirmelerde, 15. ve 30. günlerde Broggini ve ark.'nın çalışmasında bahsedilen histolojik bulgulara benzer bulgular gözlenmiştir. Broggini ve ark.'nın çalışmasındaki bulgularla uyumlu olarak çalışmamızda 15. , 30. ve 60. günlerin sonunda HA ve HA-TZP uygulanan gruplar arasında kalan greft miktarı bakımından istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır.

Eleftheriadis ve ark. (34) on altı tavşanda yaptıkları çalışmada tavşanları iki ana gruba ayırıp; birinci grupta hidroksil sülfat matriks içinde β -TCP*, ikinci grupta insan

* Fortoss, Vital Biocomposites, İngiltere

kaynaklı demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik grefti* kullanmışlardır. Hayvanları ikişerli dört alt gruba ayırdıktan sonra birinci, üçüncü, beşinci ve altıncı haftaların sonunda sakrifiye etmişlerdir. Her tavşanda 3 mm çapındaki rond frez ile mandibulada 8 mm uzunluğunda 3 mm genişliğinde 3 mm derinliğinde bilateral defektler oluşturulup, defektlerin biri deney diğeri kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Kontrol grubu boş bırakılmıştır. Bu çalışma sonunda altıncı hafta sonunda tüm defektlerin olgunlaşmış kemik ile dolduğu, ancak greft uygulanan defektlerde kemik oluşma hızının kontrol grubuna göre daha yavaş olduğu bildirilmiştir. Defektlerin üzerine membran konulmamış ve yeni kemik oluşumuna ilişkin sayısal değerlendirmelerden söz edilmemiştir. Üçüncü hafta sonunda kontrol grubundaki defektlerin, deney grubundaki defektlere göre daha erken olgun kemik ile dolduğu gözlenmiştir. Bu da defektin KBD olmayışına bağlanmıştır. Çalışmamız Eleftheriadis ve ark.'nın çalışması ile yöntem bakımından benzerlikler taşımakla beraber üst çenede 10 mm uzunluğunda 5 mm genişliğinde ve 3 mm derinliğinde defektler oluşturulmuştur. Defektlerimiz KBD olmamakla beraber Eleftheriadis ve ark.'nın çalışmasındakilere göre daha büyük defektler olup, histolojik incelemelerde 15. , 30. ve 60. günlerde kontrol grubunda daha hızlı yeni kemik oluştuğuna ilişkin bir bulguya rastlanmamıştır.

Trombositten zengin plazmanın kemik rejenerasyonuna olan etkisinin incelendiği çalışmalarda, TZP içindeki trombosit sayısının etkisi de incelenmiştir. Weibrich ve ark.'nın çalışmasında yirmi tavşanın sağ ve sol femurlarına Branemark implantlar yerleştirilmiştir (150). Test tarafına (TZP) implant yerleştirilmeden önce, açılan implant kavitesine TZP uygulanmıştır ve implant yüzeyi de TZP ile ıslatılmıştır.

Diğer tarafta (kontrol) implant yerleştirilmeden önce TZP uygulanmamıştır. Hayvanlar dördüncü haftanın sonunda sakrifiye edilmiştir. Bu arada hayvanlara farklı trombosit sayılarına sahip TZP uygulanmıştır: 1. Düşük sayıda (TZP içindeki trombosit sayısı tam kan sayımının 0,5-1,5 katı). 2. Orta sayıda (TZP içindeki trombosit sayısı tam kan sayımının 2-6 katı). 3. Yüksek sayıda (TZP içindeki trombosit sayısı tam kan sayımının 9-11 katı). Çalışma sonunda TZP uygulanan grupta kontrol grubuna göre daha fazla kemik rejenerasyonu gerçekleştiği ve TZP'nin optimal biyolojik etkisinin TZP içindeki trombosit sayısının 1 000 000/μl olduğu zaman görüldüğü bildirilmiştir. Trombositten zengin plazma içindeki trombosit sayısının

* Grafton, Osteotech, Amerika Birleşik Devletleri

düşük olduğu hayvanlarda kemik iyileşmesinin dikkate değer oranlarda artmadığı, TZP içindeki trombosit sayısının çok yüksek olduğu durumlarda ise bunun osteoblast aktivitesi üzerinde inhibe edici özellik gösterdiği bildirilmiştir (150).

Choi ve ark.'nın (24) içindeki trombosit sayısının yüksek olduğu TZP'nin alveol kemiğinin canlılığına ve proliferasyonuna etkilerini inceledikleri çalışmada, kazıma yöntemiyle elde edilmiş alveol kemiği hücreleri farklı konsantrasyonlardaki TZP'lere maruz kalmış ve hücreler yedi gün kültürde bekletilmiştir. Bu çalışma sonunda doza bağlı olarak, yüksek sayıda trombosit içeren TZP'nin hücre canlılığını ve proliferasyonunu azalttığı bildirilmiştir.

Buna karşın Ferreira ve ark.'nın (37) TZP'nin insan osteoblastlarının gelişimine etkilerini inceledikleri çalışmada yüksek konsantrasyonda TZP kültürde bekletilen osteoblastların proliferasyonunu stimüle etmiştir .

Arora ve ark.'nın (6) TZP hakkında yapmış oldukları bir literatür derlemesinde, TZP içindeki trombosit sayısının mevcut yöntemlerle %300-700 arttırıldığı, bunun sonucunda trombosit sayısının 1 000 000/ μ l veya üzerinde olduğu bildirilmiştir (76, 146). Trombosit sayısının artması sonucu travmaya maruz kalan bölgede büyüme faktörlerinin konsantrasyonunun da arttığı ve bunun da yaranın iyileşme potansiyelini arttırdığı bildirilmiştir. Çalışmamızda tavşandan alınan tam kandaki trombosit sayısı ve hazırlanan TZP içindeki trombosit sayısı hesaplanmıştır. Tam kandaki trombosit sayısı ortalaması 420 000 ve TZP içindeki trombosit sayısı ortalaması 1 650 000 olup, trombosit sayısı ortalama olarak % 392 arttırılmıştır.

Santrifüj hızının da TZP içinde yüksek sayıda trombosit elde etmede etkili olduğu bildirilmiştir. Efeoğlu ve ark.'nın (33) TZP elde etmek için modifiye edilmiş bir yöntem uyguladıkları çalışmada, Landesberg ve ark.'nın (76) TZP elde etmek için geliştirdikleri yöntemin sonunda (Her iki döndürmede de 200g/10 dak santrifüj hızı) TZP içinde istenildiği kadar yüksek sayıda trombosit elde edilemediği bildirilmiştir. Buna karşın modifiye ettikleri yöntemle (İlk döndürmede 300g/15 dak ve ikinci döndürmede 5000g/5dak santrifüj hızı) en iyi sonuçları elde ettiklerini bildirmişlerdir (33).

Çalışmamızda ilk santrifüjde dakikada 2400 devirde 10 dakika ve ikinci santrifüjde dakikada 3600 devirde 15 dakika süre sonunda trombositlerin sayısı %392 artmıştır. Bu Marx'ın ve Weibrich'in çalışmalarında belirttiği (91, 150), TZP ile ilgili

çalışmalarda en iyi sonuçların trombosit sayısının dört ile yedi kat artırılması ile elde edildiği yönündeki bulgularla uyumludur.

Trombositten zengin plazmanın etki mekanizması, trombositlerin aktivasyonu sonucu birçok büyüme faktörünün ve farklılaşma faktörünün salınımı prensibine dayanmaktadır. Büyüme faktörleri mitogenez, kemotaksis, farklılaşma gibi metabolizma için önemli hücresel süreçlerde rol oynarlar (46). Büyüme faktörlerinin tek başına veya kombine halde uygulandığı çalışmalarda bunların yara iyileşmesi ile ilgili süreçlere olumlu katkıda bulunduğu bildirilmiştir (85, 134). Trombositten zengin plazma uygulaması sonucu trombosit kaynaklı BF'lerin toplam konsantrasyonunun %338'e kadar artırılabilceği bildirilmiştir (91). Tsay ve ark. (141) TZP içindeki PDGF miktarının otuz kat, TGF- β 'nın ise yedi kat arttığını bildirmişlerdir. Trombositten zengin plazmanın içindeki BF'ler ile TZP'deki trombosit sayısı arasında bir ilişki bulunamamıştır. Yaş ve cinsiyetin TZP içindeki trombosit sayısı ve BF miktarına önemli bir etkisi olmadığı bildirilmiştir (147, 149).

Ferreira ve ark. (37) TZP'nin hazırlanması ve saklanması esnasında içindeki PDGF ve TGF- β miktarını araştırmışlardır. Saklanma süresi uzadıkça PDGF ve TGF- β miktarının azaldığını, kan alındıktan sonraki dört saat ile üç gün arasında hücre gelişimini artırıcı etkisinin azaldığını bildirmişlerdir. Trombosit içindeki α -granüller ilk bir saat içinde BF'lerin %90'ını salgırlar. Otolog materyallerin ilk altı saat içerisinde kullanılması kontaminasyon ve hastalık taşıma riskini azaltmaktadır (68).

Çalışmamızda TZP otolog kanı aldıktan sonraki ilk bir saat içerisinde uygulanmıştır. Ancak tam kan ve TZP içindeki BF'lerin miktarı ölçülmemiştir.

Trombositten zengin plazma yüksek oranda fibrin içeriğinden dolayı sahip olduğu yapışkan özelliği sayesinde hemostatik ve sabitleyici etkiye sahiptir. Bu sayede pıhtı ve kemik greftinin defekt bölgesinde hareketsizliği sağlanmış olunur (20). Periodontal rejeneratif işlemlerde yara iyileşmesinin erken safhasında pıhtının hareketsizliği önemlidir (151).

Plachokova ve ark. (114) kırk beş sıçanda yaptıkları çalışmada, osteokondüktif özellikte greft maddesinin (bifazik HA- β TCP %60-40 oranında) TZP ile birlikte kullanımının erken dönemde kemik rejenerasyonu üzerine etkilerini incelemişlerdir. Hayvanlar birinci ve ikinci haftalarda sakrifiye edilmişlerdir. Sıçanların her birinin kafatasında 6,2 mm çapında defekt oluşturulmuştur. Birinci hafta grubunda yedi hayvan

kontrol grubu olarak kullanılmış ve defekt oluşturulduktan sonra herhangi bir uygulama yapılmamıştır. Yedi hayvandaki defekte sadece kemik grefti, yedi hayvandaki defekte ise kemik grefti-TZP kombinasyonu uygulanmıştır. İkinci haftadaki gruplar ise sekizer hayvandan oluşmuştur. Yapılan bilgisayarlı tomografi analizinde birinci hafta sonunda greft uygulanan defektlerde yeni kemik yapımının kontrol grubuna göre daha fazla olduğu ve iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulunduğu, ancak greft-TZP ve sadece greft uygulanan defektler arasında istatistiksel anlamlı fark olmadığı bildirilmiştir. İkinci hafta sonunda yeni kemik yapımı incelendiği zaman tüm gruplar arasında istatistiksel anlamlı farka rastlanmamıştır. Bu çalışma sonunda TZP'nin osteokondüktif özellikte bir greft materyali ile birlikte kullanımının erken dönemde KBD olmayan defektlerde kemik rejenerasyonu üzerine anlamlı bir katkısının olmadığı, ancak HA- β TCP'nin birinci ve ikinci hafta sonunda kemik rejenerasyonuna katkısı olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda kullanılan osteokondüktif özellikteki kemik grefti sadece HA'dan oluşmaktadır. Hidroksiapatit bilindiği gibi geç rezorbe olmaktadır. Beta trikalsiyum fosfat ise HA'ya göre daha çabuk rezorbe olmaktadır. Mac Neill ve ark.'na göre greft maddesinin tamamıyla rezorbe olması süresi arttıkça, ortamdan uzaklaşmaması nedeniyle oluşan yeni kemik miktarı da azalmaktadır (88). Bu durumun, çalışmamızda HA uygulanan defektler ile kontrol grubundaki defektler arasında yeni kemik yapımı açısından istatistiksel anlam taşıyan fark görülmemesinin nedenlerinden biri olabileceği düşünülmektedir. Kesitlerde yapılan histolojik incelemelerde kontrol ile HA grubu ve kontrol ile HA-TZP grubu arasında kalan greft değerleri arasında 15. , 30. ve 60. günlerde istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmış olup ($p=0,025$), 60. günün sonunda hala greft artıklarına rastlanmıştır.

Nekroz değerlerini incelediğimiz zaman sadece 15. günde nekroz görülmüştür. Deney ve kontrol grupları arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmamıştır ($p>0,05$). Bu dönemde görülen nekrozun ne kadar dikkatli çalışılmış olunursa olsun, cerrahi işlemde veya kemiğin içindeki damarlanmanın bölgeden bölgeye farklı oluşundan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Karaca ve ark.'nın (67) tavşanlarda yaptığı bir çalışmada yirmi bir tavşanda alt çenede bilateral ikişer tane boyutu hakkında bilgi verilmeyen standart defekt oluşturulmuştur. Sağ taraftaki defektlerin biri kemik grefti ile doldurulurken, diğeri kontrol amaçlı olarak boş bırakılmıştır. Sol taraftaki defektlerin her ikisi de kemik grefti

ile doldurulduktan sonra üzerleri kollagen membran ile örtülmüştür. Hayvanlar birinci, ikinci ve dördüncü haftalarda sakrifiye edilmiştir. Çalışma sonunda gruplar arasında yeni kemik yapımı açısından istatistiksel anlamlı fark görülmemiştir. Buna gerekçe olarak oluşturulan defektin KBD olmayışı ve defektin kendini rejenere etme kapasitesine sahip olması gösterilmiştir (67).

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu uygulamalarında bariyer membran kullanılması sonucu defektlerde daha fazla kemik dolumu olduğu bildirilmesine rağmen (30), bizim çalışmamızda membran ve greft uygulanan defektler ile boş bırakılan kontrol grubu arasında 60. gün sonunda kemik dolumu açısından istatistiksel anlamlı farka rastlanmamıştır. Bu sonuçlar Schenk'in (127) köpeklerde yaptığı ve membran uygulanan defektlerde membran uygulanmayan kontrol defektlerine göre daha fazla miktarda kemiğin ogmente edildiği çalışmanın sonuçları ile de çelişmektedir. Bunun nedenlerinden biri defektin KBD olmayışıdır. Çalışmamızda kullanılan kollagen membranın dokularda hızla rezorbe olmasından ötürü kollagen membranın yeterli süre bariyer işlevini görememiş olabileceğini de düşünmekteyiz.

Trombositten zengin plazma ile ilgili çalışmalar sadece sıçan, tavşan gibi hayvan modelleri ile sınırlı kalmayıp başka hayvan modellerinde de yapılmaktadır. Choi ve ark.'nın (25) sekiz köpekte yapmış oldukları bir çalışmada alt çenede premolar dişler bilateral çekilmiş ve çekim bölgelerinin iyileşmesi için üç ay beklenmiştir. Daha sonra bu bölgeler 15 mm'lik defektler oluşturacak şekilde rezeke edilmiştir. Bir tarafa otojen kemik grefti-TZP diğer tarafa otojen kemik grefti uygulanmıştır. Sadece greft uygulanan bölgede greft-TZP uygulanan bölgeye göre daha fazla yeni kemik oluştuğu ve yapılan histolojik incelemede greft-TZP'nin uygulandığı defekte TZP'nin kemiğin yeniden şekillenmesinde gecikmeye neden olduğu bildirilmiştir.

Mooren ve ark. (103) keçiler üzerinde yaptıkları bir çalışmada otojen kemik partikülleri ile birlikte TZP uygulanmasının kemik iyileşmesinin erken ve geç dönemi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Her grupta beşer hayvan olacak şekilde, keçiler birinci, ikinci, altıncı ve on ikinci haftalarda sakrifiye edilmiştir. Her hayvanın kafatasında 14 mm çapında dört adet KBD oluşturulmuştur. İki defekte otojen kemik grefti, diğer iki defekte otojen kemik grefti-TZP uygulanmıştır. Histolojik ve histomorfometrik değerlendirmeler sonucu, TZP uygulamasının kemik iyileşmesinin ne

erken döneminde ne de geç döneminde yeni kemik yapımına katkıda bulunmadığı görülmüştür.

Mooren ve ark. (104) keçiler üzerinde yaptıkları başka bir çalışmada otojen kemik partikülleri, ksenogreft karışımı ile TZP'nin uygulanmasının kemik iyileşmesinin erken ve geç dönemi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Her grupta beşer hayvan olacak şekilde, keçiler birinci, ikinci, altıncı ve on ikinci haftalarda sakrifiye edilmiştir. Her hayvanın kafatasında 14 mm çapında dört adet KBD oluşturulmuştur. İki defekte otojen kemik grefti ve ksenogreft*, diğer iki defekte otojen kemik grefti, ksenogreft ve TZP birlikte uygulanmıştır.

Histolojik ve histomorfometrik değerlendirmeler sonucu, TZP uygulamasının kemik iyileşmesinin ne erken döneminde ne de geç döneminde yeni kemik yapımına katkıda bulunmadığı görülmüştür .

Fennis ve ark. (36) keçilerde yaptıkları çalışmada otojen kemik grefti-TZP kombinasyonunun kemik iyileşmesine etkisini incelemişlerdir. Yirmi sekiz hayvanda yapılan çalışmada, on dört hayvandan oluşan iki ana grup oluşturulmuş ve her ana grubun altında iki alt grup oluşturulmuştur. Birinci ana grupta hayvanların alt çenesi rezeke edildikten sonra otojen kemik grefti uygulanırken, ikinci ana grupta alt çene rezeke edildikten sonra otojen kemik grefti-TZP uygulanmıştır. Hayvanlar altıncı ve on ikinci haftalarda sakrifiye edilmiştir. Histolojik ve histomorfometrik değerlendirme sonucu, TZP uygulanan grupta kemik iyileşmesinin altıncı ve on ikinci haftalarda diğer gruba göre daha fazla olduğu ve iki grup arasında istatistiksel anlam taşıyan fark olduğu bildirilmiştir.

Özak ve ark. (111) tavşanlarda yaptıkları çalışmada otojen kemik grefti-TZP kombinasyonunun kemik iyileşmesine etkisini sadece radyografi ve bilgisayarlı tomografi ile değerlendirmişlerdir. Hayvanlar onar hayvandan oluşan iki ana gruba ayrılmıştır. Hayvanların tibiasında 4 mm çapında defekt oluşturduktan sonra birinci grupta otojen kemik grefti uygulanırken, ikinci grupta otojen kemik grefti-TZP uygulanmıştır. 0. , 15. , 30. , 60. ve 90. günlerde kemik oluşumu, kaynama ve yeniden şekillenme radyografi ve BT ile değerlendirilmiştir. 30. , 60. ve 90. günlerde otojen kemik grefti uygulanan grupta, otojen kemik grefti-TZP uygulanan gruba göre daha iyi

* Bio-Oss, Geistlich, İsviçre

sonuçlar elde edilmiştir. Trombositten zengin plazmanın otojen kemik grefti ile beraber uygulanması halinde kemik rejenerasyonuna hiçbir katkısı olmadığı grlmştir.

Çalışmamızda araştırma btcesinin kısıtlı olması dolayısıyla kemik iyileşmesinin değerlendirilmesinde BT ile değerlendirme yapılamamıştır. Plachokova ve ark.'nın (114) yaptıkları çalışmada değerlendirme tekniğinin önemi vurgulanmıştır. Birinci hafta sonunda yeni kemik gelişimi ve ikinci hafta sonunda defektin kapanması üç boyutlu mikro BT ile görülebilirken, radyografilerde birinci hafta sonunda yeni kemik oluşumunu görebilmek olası değildir.

El-Sharkawy ve ark. (35) yaptıkları çalışmada TZP içindeki büyüme faktörlerinin miktarını, TZP ile işleme tabi tutulan monositlerin salgıladığı sitokin ve kemokin miktarını, TZP'nin insan monositleri üzerindeki kemotaktik etkilerini ve TZP içindeki LipoksinA4 miktarını incelemişlerdir. Bu alışma sonunda TZP'nin büyüme faktörleri açısından zengin bir kaynak olduğu ve monositler tarafından salgılanan proenflamatuar sitokin/kemokin salınımını önemli ölçüde değiştirdiği bildirilmiştir. LipoksinA4 miktarının TZP'de tam kana göre önemli miktarda arttığı ve bunun da sitokin salınımını baskıladığı, enflamasyonu sınırladığı bildirilmiştir. Buna bağlı olarak da doku rejenerasyonunun arttığı ileri srlmştir. Trombositten zengin plazmanın lokal iltihabi yanıtı kontrol etmek suretiyle iyileşmeyi kolaylaştırdığı ne srlmştir. Trombositten zengin plazmanın iltihap ve iyileşme üzerine hüresel etkisinin incelendiği Woodall'ın (152) doktora çalışmasında da trombositlerin yara iyileşmesinin erken safhalarında monositlerin canlılığı ve fonksiyonu üzerinde baskılayıcı etkisi olduğu, iyileşmenin ileriki aşamalarında bu baskılamının ortadan kalktığı bildirilmiştir.

Ortamda bulunan iltihap hücrelerinin varlığına ve sayısına baktığımızda deney ve kontrol gruplarında sadece erken dönemde (15. gün) iltihap hücrelerine rastlanmıştır. Kesitlerde gözlemlenen iltihapsal yanıt normal yara iyileşmesinin safhalarından biridir. Daha sonraki dönemlerde enfeksiyona veya ortamda yabancı cisim olmasına bağlı olarak gelişen iltihap görülmemiştir. Bizim alışmamızda da, Tablo 4.1'de grldğu gibi kontrol ile HA-TZP grubu arasında 15. günde iltihabi değerler arasında istatistiksel anlam taşıyan farka rastlanmıştır ($p=0,039$). Bu TZP'nin yara iyileşmesinin erken döneminde iltihabın azalması üzerine olumlu etkisi olabileceğini düşündürmektedir.

Bu hayvan modelinin, oluşturulan defekt boyutları ile her ne kadar KBD olmasa da, lokalizasyonu ve bulunduğu bölgenin klinik koşullarına yakın olması sebebi ile kemik rejenerasyonunu arttırmaya yönelik materyallerin etkilerinin incelenmesi için uygun bir model olduğu düşünülmektedir.

Kullanılan greft materyali gerek partikül büyüklüğü, gerekse porozite açısından optimum özelliklere yakındır. Uygulama kolaylığına sahip olmasına, uygulandıktan sonra dokuda şiddetli yabancı cisim reaksiyonuna neden olmamasına ve yeni kemik yapımı gerçekleşene kadar iskelet işlevini görmüş olmasına rağmen, HA granüllerinin %30'a yakınının rezorbe olmadığı görülmüştür. Bu nedenle yeni kemik oluşturmaya yönelik YKR işlemlerinde HA'nın iyi bir osteokondüktif materyal olarak değerlendirilemeyeceği düşünülmektedir. Trombositten zengin plazmanın greftin rezorpsiyonu üzerine herhangi bir etkisi olmamıştır.

Elde edilmesi ve uygulanması zor olan rekombinant büyüme faktörleri ekonomik değildir ve her büyüme faktörünün etki alanı farklıdır. Oysa içinde birçok büyüme faktörü bulunan TZP'nin hem hazırlanıp uygulanması kolaydır hem de ekonomiktir. Trombositten zengin plazmanın kemik iyileşmesine etkisinin inceleneceği çalışmalar planlanmadan önce bu büyüme faktörlerinin maksimum yara iyileşmesini sağlayacak ve birbirlerinin etkisini inhibe etmeyecek miktarlarda olduğu TZP hazırlama protokollerinin geliştirilip, standardize edilmesi gereklidir.

Trombositten zengin plazmanın jel kıvamında olması grefti uygulama kolaylığı ve greftin defekt bölgesine daha iyi adapte olmasını sağlamaktadır. Trombositten zengin plazmanın yara iyileşmesinin erken döneminde iltihapsal yanıtı kontrol etmede yararlı olabileceği düşünülmektedir.

Tavşanda kemiğin yapım-yıkım döngüsü süresinin 6 hafta, insanda 17 hafta olduğu bilgisinden hareket ederek tavşanda 30. günün insanda üç aya tekabül ettiğini görürüz. Hidroksiapatit-trombositten zengin plazma kombinasyonunun kemik defektlerinde kemik iyileşmesine etkilerinin HA uygulanan grup ve kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak incelendiği bu çalışma sonunda, TZP kullanımının yeni kemik yapımına erken dönemde (30. günde) anlamlı bir katkısı olduğu görülmüştür. Bu da implant ve erken yüklenme için çok önemli bir bilgi oluşturur. Ancak bu sonuçların teyit edilmesi için uygun metodların oturtulduğu ve farklı greft materyallerinin kullanıldığı daha başka çalışmaların da yapılması gerekmektedir.

Sonuçlar

Hidroksiapatit-trombositten zengin plazma kombinasyonunun kemik iyileşmesine etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada 15. , 30. ve 60. günlerde deney ve kontrol gruplarına ilişkin sonuçlar değerlendirildiğinde;

1. Erken dönem etkileri olarak TZP uygulanan grupta iltihapsal parametrelerin daha düşük olduğu ve TZP kullanımına bağlı olarak daha az enflamasyon olduğu, HA-TZP grubunda TZP içinde bulunan büyüme faktörlerinin katkısı sonucu daha fazla kemik yapımı gerçekleştiği,
2. Altmışıncı gün sonunda, YKR uygulamalarında deney ve kontrol grupları arasındaki yara iyileşmesine yönelik parametreler değerlendirildiğinde, HA-TZP kombinasyonunun yeni kemik yapımını arttırmaya yönelik anlamlı bir katkısının olmadığı görülmüştür.

Bununla birlikte yapılan birçok çalışmada elde edilen olumlu sonuçlardan ötürü rejeneratif tedavilerde kullanılması desteklenen TZP'nin içindeki büyüme faktörlerinin yara iyileşmesine olan olumlu katkıları göz önüne alındığında, ileride yapılması düşünülen çalışmalarda;

- Örnek sayısının daha çok olduğu çalışmalara ihtiyaç vardır.
- Histomorfometrik analizlerin ayrıca bilgisayarlı tomografi ile de desteklenmesinin sonuçların değerlendirilmesine katkıda bulunacağı,
- Kritik boyutlu defektlerin oluşturulabileceği daha büyük hayvan modellerinde çalışılmasının,
- Diabetes mellitus, osteoporoz, hiperparatiroidizm ve radyoterapi uygulamalarının kemik iyileşmesine olumsuz etkilerinden dolayı, TZP'nin bu hastalıklarda yeni kemik yapımına olumlu etkisinin olup olmadığının araştırılacağı çalışma modellerinin de oluşturulmasının uygun olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Adams JC. Thrombospondins: multifunctional regulators of cell interactions. *Ann Rev Cell Dev Biol* 2001; **17**: 25-51.
2. Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A pilot study. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; **60**: 1176-1181.
3. Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG. Evaluation of PRP in combination with anorganic bovine bone in the rabbit calvarium. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004; **19**: 59-65.
4. Akça K, Çehreli M, Demiralp M, Güzel E, Dağdeviren A. Platelet-rich plasma and bone healing: A histologic study in titanium bone chambers. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2007; **27**: 387-392.
5. Amler MH. The time sequence of tissue regeneration in human extraction wounds. *J Oral Surgery* 1969; **27**: 309-318.
6. Arora NS, Ramanayake T, Ren Y, Romanos GE. Platelet-rich plasma: A literature review. *Implant Dentistry* 2009; **18**: 303-310.
7. Barboza EP, Durate ME, Geolas L, Sorensen RG, Riedel GE, Wikesjö UM. Ridge augmentation following implantation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in the dog. *J Periodontol* 2000; **71**: 488-496.
8. Bornstein M, Bosshardt D, Buser D. Effect of two different bioabsorbable collagen membranes on guided bone regeneration: A comparative histomorphometric study in the dog mandible. *J Periodontol* 2007; **78**: 1943-1953.

9. Bornstein M, Heynen G, Bosshardt D, Buser D. Effect of two bioabsorbable barrier membranes on bone regeneration of standardized defects in calvarial bone: A comparative histomorphometric study in pigs. *J Periodontol* 2009; **80**: 1289-1299.
10. Bornstein M, Von Arx T, Bosshardt DD. Properties of barrier membranes. İçinde Buser D editor. *20 years of guided bone regeneration in implant dentistry*. 2th edition. Berlin: Quintessence; 2009. pp. 47-69.
11. Bosshardt DD, Schenk R. Biologic basis of bone regeneration. İçinde Buser D editor. *20 years of guided bone regeneration in implant dentistry*. 2th ed. Berlin: Quintessence; 2009. pp. 15-45.
12. Brandt J, Henning S, Michler G, Hein W, Bernstein A, Schultz M. Nanocrystalline hydroxyapatite for bone repair: An animal study. *J Mater Sci: Mater Med* 2010; **21**: 283-294.
13. Broggini N, Hofstetter W, Hunziker E, Bosshardt D, Bornstein M, Seto I, Weibrich G, Buser D. The influence of PRP on early bone formation in membrane protected defects . A histological and histomorphometric study in the rabbit calvaria. *Clin Impl Dent and Rel Res* 2011; **13**: 1-12.
14. Bunyaratavej P, Wang HL. Collagen membranes. *J Periodontol* 2001; **72**: 215-229.
15. Buser D, Dula K, Belser UC. Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. II. Surgical procedure in the mandible. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1995; **15**: 10-29.
16. Buser D, Hoffmann B, Bernard JP, Lussi A, Mettler D, Schenk RK. Evaluation of filling materials in membrane-protected bone defects. *Clin Oral Impl Res* 1998; **9**: 137-150.

17. Buser D, Chen S. Implant placement in postextraction sites. İçinde Buser D editor. *20 years of guided bone regeneration in implant dentistry*. 2th ed. Berlin: Quintessence; 2009. pp. 153-194.
18. Butterfield J, Bennett J, Gronowicz G, Adams D. Effect of platelet-rich plasma with autogeneous bone graft for maxillary sinus augmentation in a rabbit model. *J Oral Maxillofac Surg* 2005; **63**: 370-376.
19. Cacchioli A, Spaggiari B, Ravanetti F, Martini M.M, Borghetti P, Gabbi C. The critical sized bone defect: Morphological study of bone healing. *Ann. Fac. Med. Vet.di Parma* 2006; **26**: 97-110.
20. Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, Vasilic N, Kennedy EB. Platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. *J Periodontol Res* 2002; **37**: 300-306.
21. Caton J, Mota L, Gandini L, Laskaris B. Non-human primate models for testing the efficacy and safety of periodontal regeneration procedures. *J Periodontol* 1994; **65**: 1143-1150.
22. Chang BS, Lee CK, Hong KS, Youn HJ, Ryu HS, Chung SS ve ark. *Biomaterials* 2000; **21**: 1291-1298.
23. Chia-Wen Hsu, Kuo Yuan, Chuen-Chyi Tseng. The negative effect of platelet-rich plasma on the growth of human cells is associated with secreted thrombospondin-1. *Oral Surgery Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; **107**: 185-192.
24. Choi BH, Zhu J, Kim BY, Huh Y, Jung JH. Effect of platelet-rich plasma (PRP) concentration on the viability and proliferation of alveolar bone cells: An in vitro study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2005; **34**: 420-424.

25. Choi BH, Im CJ, Huh J, Suh J, Lee H. Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in autogenous bone graft. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2004; **33**: 56-59.
26. Cmolik BL, Spreo JA, Magovern GJ. Redo cardiac surgery: Late bleeding complications from topical thrombin-induced factor five deficiency. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; **105**: 222-228.
27. Cochran DL, Schenk R, Buser D, Wozney JM, Jones AA. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 stimulation of bone formation around endosseous dental implants. *J Periodontol* 1999; **70**: 139-150.
28. Cranin AN, Sirakian A, Russell D, Klein M. The role of incision design and location in the healing processes of alveolar ridges and implant host sites. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1998; **13**: 483-491.
29. Dahlin C, Lindhe J, Gottlow J. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg* 1988; **81**: 672-676.
30. Dahlin C, Gottlow J, Lindhe J, Nyman S. Healing of mandibular bone defects using a membrane technique. *Scand J Plast Reconstr Hand Surg* 1990; **24**:13-19.
31. Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, Ridall AL, Karsenty G. Osf2/Cbfa1: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell* 1997; **89**: 747-754.
32. Durmuşlar MC. Maksillofasiyal bölgede kemik içi defektlerin tedavisinde plateletten zengin plazmanın demineralize kemik ile birlikte kullanımının etkinliğinin klinik ve radyolojik olarak incelenmesi. Gazi Üniversitesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları Cerrahisi. Doktora Tezi. Ankara, 2009.

33. Efeoğlu C, Akçay D, Ertürk S. A modified method for preparing platelet-rich plasma: An experimental study. *J Oral Maxillofac Surg* 2004; **62**: 1403-1407.
34. Eleftheriadis E, Leventis MD, Tosios KI, Faratzis G, Titsinidis S, Eleftheriadi I, Dontas I. Osteogenic activity of β -TCP in a hydroxyl sulphate matrix and demineralized bone matrix: A histological study in rabbit mandible. *J of Oral Science* 2010; **52**: 377-384.
35. El-Sharkawy H, Kantarcı A, Deady J, Hastürk H, Liu H, Alshahat M, Van Dyke T. Platelet-rich plasma: Growth factors and pro- and anti-inflammatory properties. *J Periodontol* 2007; **78**: 661-669.
36. Fennis JPM, Stoeltinga JW, Jansen JA. Mandibular reconstruction: A histological and histomorphometric study on the use of autogenous scaffolds, particulate cortico-cancellous bone grafts and platelet rich plasma in goats. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2004; **33**: 48-55.
37. Ferreira CF, Gomes MC, Filho JS, Granjeiro JM, Magini R de S. Platelet rich plasma influence on human osteoblasts growth. *Clin Oral Impl Res* 2005; **16**: 456-460.
38. Fontana F, Santoro F, Maiorana C, Iezzi C, Piatelli A, Simion M. Clinical and histological evaluation of allogeneic bone matrix versus autogenous bone chips associated with titanium reinforced e-PTFE membrane for vertical ridge augmentation: A prospective pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008; **23**: 1003-1012.
39. Frame JW. A convenient animal model for testing bone substitute materials. *J Oral Surgery* 1980; **38**: 176-180.
40. Frechette JP, Martineau I, Gagnon G. Platelet-rich plasmas: Growth factor content and roles in wound healing. *J Dent Res* 2005; **5**: 434-439.

41. Freymiller EG, Aghaloo TG. Platelet-rich plasma: Ready or not? *J Oral Maxillofac Surg* 2004; **62**: 484-488.
42. Friedenberg ZW, Lawrence RR. The regeneration of bone in defects of varying size. *Surg Gynecol Obstet* 1962; **114**: 926-934.
43. Fritz ME, Jeffcoat MK, Reddy M, Koth D, Braswell L. Guided bone regeneration of large mandibular defects in a primate model. *J Periodontol* 2000; **71**: 1484-1491.
44. Fugazatto PA. Maintenance of soft tissue closure following guided bone regeneration: technical considerations and report of 723 cases. *J Periodontol* 1999; **70**: 1085-1097.
45. Ganong W. Review of medical physiology. 15th ed. Lebanon: Lange; 1991. pp. 360-372.
46. Garg AK. The use of platelet-rich plasma to enhance the success of bone grafts around dental implants. *Dental Implantol Update* 2000; **11**: 1-5.
47. Garg AK. Bone: Biology, harvesting, grafting for dental implants. Berlin: Quintessence; 2004.
48. Gerard D, Calsson ER, Gotcher J, Jacobs M. Effects of platelet-rich plasma on the healing of autologous bone grafted mandibular defects in dogs. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2006; **64**: 443-451.
49. Giannobile WV, Lee CS, Tomala MP, Tejeda KM, Zhu Z. Platelet-derived growth factor (PDGF) gene delivery for application in periodontal tissue engineering. *J Periodontol* 2001; **72**: 815-823.
50. Goldring SR. Inflammatory mediators as essential elements in bone remodeling. *Calcif Tissue Int* 2003; **73**: 97-100.

51. Goldstein M, Boyan BD, Schwartz Z. The palatal advanced flap: A pedicle flap for primary coverage of immediately placed implants. *Clin Oral Impl Res* 2002; **13**: 644-650.
52. Gottlow J, Nyman S, Karring T, Lindhe J. New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 1984; **11**: 494-503.
53. Gruber R, Varga F, Fischer W, Watzek G. Platelets stimulate proliferation of bone cells: Involvement of platelet-derived growth factor, microparticles and membranes. *Clin Oral Impl Res* 2002; **13**: 529-535.
54. Gruber R. Mechanisms of bone development, remodeling and loss. İçinde Watzek G, editor. *Implants in qualitatively compromised bone*. New Malden Surrey, UK: Quintessence; 2004. pp. 9-28.
55. Hallman M, Thor A. Bone substitutes and growth factors as an alternative/complement to autogeneous bone for grafting in implant dentistry. *Periodontol 2000* 2008; **47**: 172-192.
56. Hammerle CH, Karring T. Guided bone regeneration at oral implant sites. *Periodontol 2000* 1998; **17**: 151-175.
57. Hammerle CHF, Jung RE. Bone augmentation by means of barrier membranes. *Periodontol 2000* 2003; **33**: 36-53.
58. Hollinger JO, Kleinschmidt JC. The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. *J Craniofac Surg* 1990; **1**:60-68.
59. Hsiong SX, Mooney DJ. Regeneration of vascularized bone. *Periodontol 2000* 2006; **41**: 109-122.

60. Huang Y, Polimeni G, Qahash M, Wikesjö UM. Bone morphogenetic proteins and osseointegration: current knowledge-future possibilities. *Periodontol 2000* 2008; **47**: 206-223.
61. Hughes F, Turner W, Belibasakis G. Effects of growth factors and cytokines on osteoblast differentiation. *Periodontol 2000* 2006; **41**: 48-72.
62. Isidor F, Attström F, Karring T. Regeneration of alveolar bone following surgical and non-surgical periodontal treatment. *J Clin Periodontol* 1985; **12**: 687-696.
63. Jensen SS, Bosshardt DD, Buser D. Bone grafts and bone substitute materials. İçinde Buser D editor. *20 years of guided bone regeneration* 2nd ed. Berlin: Quintessence; 2009. pp. 71-96.
64. Kahnberg K. Restoration of mandibular jaw defects in the rabbit by subperiostally implanted Teflon mantle leaf. *Int J Oral Surg* 1979; **8**: 449-456.
65. Kalfas IH. Principles of bone healing. *Neurosurg Focus* 2001; **10**: 7-10.
66. Kao R, Murakami S, Beirne R. The use of biologic mediators and tissue engineering in dentistry. *Periodontol 2000* 2009; **50**: 127-153.
67. Karaca İ, Çılbrır Ö, Sabuncuoğlu B, Akbay C. Saf mineralize kemik grefti pyrostun membranlı ve membransız uygulamalarının kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerinin deneysel olarak incelenmesi. *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Dergisi* 1999; **2**: 91-97.
68. Kassolis JD, Rosen PS, Reynold MA. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried allografts. Case series. *J Periodontol* 2000; **71**: 1654-1671.

69. Kierzenbaum AL. Histology and cell biology. 2nd ed. Philadelphia: Mosby: 2007. pp. 147-164.
70. Klein CPAT, de Groot K, Driessens AA, van der Lubbe HBM. A comparative study of different β -whitlockite ceramics in rabbit cortical bone with regard to their biodegradation behavior. *Biomaterials* 1986 ; **7**: 144-146.
71. Klein M, Goetz H, Pazen S, Al-Nawas B, Wagner W, Duschner H. Pore characteristics of bone substitute materials assessed by microcomputed tomography. *Clin Oral Impl Res* 2009; **20**: 67-74.
72. Klokkevold PR, Jovanovic SA. Advanced implant surgery and bone grafting techniques. İçinde Newman MG, Takei HH, Carranza FA editor. Carranza's Clinical Periodontology 9th ed. Philadelphia: Saunders; 2002. pp. 905-921.
73. Komori T, Yagi H, Nomura S, Sasaki K et al. Targeted disruption of Cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell* 1997; **89**: 755-764.
74. Kostopoulos L, Karring T. Augmentation of the rat mandible using guided tissue regeneration. *Clin Oral Implants Res* 1994; **5**: 75-82.
75. Lacoste L, Martineau E, Gagnon G. Platelet concentrates: effects of calcium and thrombin on endothelial cell proliferation and growth factor release. *J Periodontol* 2003; **74**: 1498-1507.
76. Landesberg R, Roy M, Glickmann RS. Quantification of growth factors levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. *J Oral Maxillofac Surg* 2000; **58**: 297-300.
77. Landesberg R, Burk A, Pinsky D. Activation of platelet-rich plasma using thrombin receptor agonist peptide. *J Oral Maxillofac Surg* 2005; **63**: 529-535.

78. Lang PL, Araujo M, Karring T. Alveolar bone formation. İçinde Lindhe J, Karring T, Lang PL editor. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. 4th ed. Oxford: Blackwell; 2003. pp .866-895.
79. Lind M, Bünger C. Factors stimulating bone formation. *Eur Spine J* 2001; **10**: 102-109.
80. Lundgren D, Sennerby L, Lundgren AK. The effect of mechanical intervention on jaw bone density. An experimental study in the rabbit. *Clin Oral Implants Res* 1995; **6**: 54-59.
81. Lundgren AK, Sennerby L, Lundgren D, Taylor A, Gottlow J, Nyman S. Bone augmentation at titanium implants using autologous bone grafts and a bioresorbable barrier. An experimental study in the rabbit tibia. *Clin Oral Implant Res* 1997; **8**: 82-89.
82. Lundgren AK, Lundgren D, Sennerby L, Taylor A, Gottlow J, Nyman S. Augmentation of skull bone using a bioresorbable barrier supported by autologous bone grafts. An intra-individual study in the rabbit. *Clin Oral Implant Res* 1997; **8**: 90-95.
83. Lundgren A, Sennerby L, Lundgren G. An experimental rabbit model for jaw-bone healing. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1997; **26**: 461-464.
84. Lundgren AK, Sennerby D, Lundgren D. Guided jaw-bone regeneration using an experimental rabbit model. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1998; **27**: 135-140.
85. Lynch SE, Ruiz de Castilla G, Williams RC, Kiritsy CF. The effects of short term application of a combination of platelet-derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing. *J Periodontol* 1991; **62**: 458-467.
86. Lynch SE, Williams RC, Polson AM, Howell TH, Reddy MS, Zappa UE, Antoniades HN. A combination of platelet-derived and insulin-like growth

- factors enhanced periodontal regeneration. *J Clin Periodontol* 1996; **67**: 545-548.
87. Machtei EE. The effect of membrane exposure on the outcome of regenerative procedures in humans: A meta-analysis. *J Periodontol* 2001; **72**: 512-516.
88. MacNeill SR, Cobb CM, Rapley JW, Glaros AG, Spencer P. In vivo comparison of synthetic osseous graft materials: a preliminary study. *J Clin Periodontol* 1999; **26**: 239-245.
89. Mangano C, Bartolucci E, Mazzocco C. A new porous hydroxyapatite for promotion of bone regeneration in maxillary sinus augmentation: Clinical and histological study in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003; **18**: 23-30.
90. Martineau I, Lacoste E, Gagnon G. Effects of calcium and thrombin on growth factor release from platelet concentrates: Kinetics and regulation of endothelial cell proliferation. *Biomaterials* 2004; **25**: 4489-4502.
91. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt R, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surgery Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; **85**: 638-646.
92. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): What is PRP and what is not PRP. *Implant Dentistry* 2001; **4**: 225-228.
93. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J of Oral Maxillofac Surg* 2004; **62**: 489-496.
94. Marx R ve Garg AK. Dental and Craniofacil Applications of Platelet-Rich Plasma. Illinois: Quintessence; 2005. pp. 7-30.

95. McAllister BS, Haghghat K. Bone augmentation techniques. *J Periodontol* 2007; **78**: 377-396.
96. Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissues. *J Periodontol* 1976; **47**: 256-260.
97. Melo LG, Nagata M, Bosco A, Ribeiro L, Leite C. Bone healing in surgically created defects treated with either bioactive glass particles, a calcium sulfate barrier, or a combination of both materials. *Clin Oral Impl Res* 2005; **16**: 683-691.
98. Messoria MR, Nagata MJH, Dornelles RCM, Bomfim SRM, Furlaneto FAC, de Melo LGN, Deliberator TM et al. Bone healing in critical-size defects treated by two different methods. A histological and histometric study in rat calvaria. *J Periodont Res* 2008; **43**: 723-729.
99. Mhawi A, Peel AF, Fok T, Clokie L. Bone regeneration in athymic calvarial defects with Accell DBM 100. *J of Craniofac Surg* 2007; **18**: 497-503.
100. Miller N, Penaud J, Foliguet B, Membre H, Ambrosini P, Plombus M. Resorption rates of 2 commercially available bioresorbable membranes. A histomorphometric study in a rabbit model. *J Clin Periodontol* 1996; **23**: 1051-1059.
101. Miloro M, Haralson D.J, Desa V. Bone healing in a rabbit mandibular defect using platelet-rich plasma. *J Oral Maxillofac Surg* 2010; **68**: 1225-1230.
102. Misch CM. The pharmacological management of maxillary sinus elevation surgery. *J Oral Implantol* 1992; **18**: 15-23.

103. Mooren RM, Dankers CA, Merkx MAW, Bronkhorst EM, Jansen JA, Stoelinga PJW. The effect of platelet-rich plasma on early and late bone healing: An experimental study in goats. *Int J Oral Maxillofac. Surg* 2007; **36**: 626-631.
104. Mooren RM, Dankers CA, Merkx MAW, Bronkhorst EM, Jansen JA, Stoelinga PJW. 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. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2010; **39**: 371-378.
105. Nagata M, Messori M, Okamoto R, Campos N, Pola N, Esper L, Sbrana M, Fucini S, Garcia V, Bosco A. Influence of the proportion of particulate autogenous bone graft/platelet rich plasma on bone healing in critical-size defects: An immunohistochemical analysis in rat calvaria. *Bone* 2009; **45**: 339-345.
106. Nagata M, Melo L, Messori M, Bomfim S, Fucini S, Garcia V, Bosco A, Okamoto T. Effect of platelet-rich plasma on bone healing of autogenous bone grafts in critical-sized defects. *J Clin Periodontol* 2009; **36**: 775-783.
107. Nandakumar K, Anila S. Applications of platelet-rich plasma for regenerative therapy in periodontics. *Trend Biomater. Artif. Organs* 2006; **20**: 78-83.
108. Nyman S, Gottlow J, Karring T, Lindhe J. The regenerative potential of the periodontal ligament. *J Clin Periodontol* 1982; **9**: 257-265.
109. Nyman S, Lindhe J, Karring T, Rylander H. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1982; **9**: 290-296.

110. Okuda K, Tai H, Tanabe K, Suzuki H, Sato T, Kawase T, Saito Y, Wolff LF, Yoshie H. Platelet –rich plasma combined with a porous hydroxyapatite graft for the treatment of intrabony periodontal defects in humans: A comparative controlled clinical study. *J Periodontol* 2005; **76**: 890-898.
111. Özak A, Yardımcı C, Nisbet ÖH, Bayrak İK, Nisbet C. Diyafizeal kemik defektlerinde trombositten zengin plazmanın kemik iyileşmesini artırma üzerindeki etkisinin radyografi ve bilgisayarlı tomografi ile değerlendirilmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 2010; **57**: 77-82.
112. Özdemir B, Ökte E. Trombositten zengin plazma ve diş hekimliğindeki yeri. *ADO Klinik Bilimler Dergisi* 2007; **3**: 169-177.
113. Peterson LJ. Antibiotic prophylaxis against wound infections in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 1990; **48**: 617-620.
114. Plachokova AS, Van den Dolder J, Stoelinga PJ, Jansen J. Early effect of platelet-rich plasma on bone healing in combination with an osteoconductive material in rat cranial defects. *Clin Oral Impl Res* 2007; **18**: 244-251.
115. Plachokova A, Nikolidakis D, Mulder J, Jansen J, Creugers N. Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in dentistry: A systematic review. *Clin Oral Impl Res* 2008; **19**: 539-545.
116. Polimeni G, Albandar JM, Wikesjö UME. Prognostic factors for alveolar regeneration: effect of space provision. *J Clin Periodontol* 2005; **32**: 951-95.
117. Position paper. Periodontal regeneration. *J Periodontol* 2005; **76**: 1601-1622.
118. Raikin SM, Landsman JC, Alexander VA. Effect of nicotine on the rate and strength of long bone fracture healing. *Clin Orthop* 1998: 231-237.

119. Reddi AH. Cell biology and biochemistry of endochondral bone development. *Coll Relat Res* 1981; **1**: 209-226.
120. Retzepi M, Donos N. Guided bone regeneration: biological principle and therapeutic applications. *Clin Oral Impl Res* 2010; **21**: 567-576.
121. Rochietta I, Fontana F, Simion M. Clinical outcomes of vertical bone augmentation to enable dental implant placement: A systematic review. *J Clin Periodontol* 2008; **35** (Suppl.8): 203-215.
122. Rose LF, Rosenberg E. Bone grafts and differentiation factors or regenerative therapy: A review. *Pract Proced Aesthet Dent* 2001; **13**: 725-734.
123. Sanchez AR, Sheridan PJ. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003; **18**: 93-103.
124. Sang-Hoon Park, Hom-Lay Wang. Clinical significance of incision location on guided bone regeneration. *J Clin Periodontol* 2007; **78**: 47-51
125. Santagata M, Guariniello L, D'Andrea A, Tartaro G. A modified crestal ridge expansion for immediate placement of implants: A report of three cases. *J Oral Implantol* 2008; **34**: 319-324.
126. Sarkar MR, Augat P, Shefelbine S, Schorlemmer S, Lang MH, Claes L, Kinzl L, Ignatius B. Bone formation in a long bone defect model using a platelet-rich plasma loaded collagen scaffold. *Biomaterials* 2006; **27**: 1817-1823.
127. Schenk RK, Buser D, Hardwick WR, Dahlin C. Healing pattern of bone regeneration in membrane-protected defects: A histologic study in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1994; **9**: 13-29.
128. Schmitz JP, Hollinger JO. The critical sized defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop Relat* 1986; **205**: 299-308.

129. Shimoji S, Miyaji H, Sugaya T, Tsuji H, Hongo T, Nakatsuka M ve ark. Bone perforation and placement of collagen sponge facilitate bone augmentation. *J Periodontol* 2009; **80**: 505-511.
130. Simion M, Baldoni M, Rossi P, Zaffe D. A comparative study of the effectiveness of e-PTFE membranes with and without early exposure during the healing period. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1994; **14**: 167-180
131. Simion M, Trisi P, Piatelli A. Vertical ridge augmentation using a membrane technique associated with osseointegrated implants. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1994; **14**: 496-511.
132. Smiler D, Soltan M. The bone grafting decision tree: A systematic methodology for achieving new bone. *Implant Dentistry* 2006; **15**: 122-127.
133. Sodek J, McKee MD. Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontol 2000* 2000; **24**: 99-126.
134. Stephan EB, Renjen R, Lynch SE, Dziak R. Platelet-derived growth factor enhancement of a mineral-collagen bone substitute. *J Periodontol* 2000; **71**: 1887-1892.
135. Sykaras N, Oppermann LA. Bone morphogenetic proteins (BMPs): how do they function and what they can offer the clinician? *J of Oral Science* 2003; **45**: 57-73.
136. Ten Kate AR. Oral Histology.4th ed.St Louis: Mosby; 1994. pp. 120-146.
137. Thorwarth M, Wehrhan F, Schutze-Mosgau S, Wiltfang J, Schlegel K.A. PRP modulates expression of bone matrix proteins in vivo without long-term effects on bone formation. *Bone* 2006; **38**: 30-40.

138. Torres J, Tresguerres I, Tamimi F, Clemente C, Blanco L. Influence of platelet-rich plasma on bone regeneration: A histomorphometric study in rabbit calvaria. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2007; **22**: 563-568.
139. Totbid Dil Çalışma Grubu. *A'dan Z'ye Ortopedi Terimleri Dizini*. 2010. Erişim 01.08.2011. [http: www.totbid.org.tr/upload/Terim diziniSON.pdf](http://www.totbid.org.tr/upload/Terim_diziniSON.pdf).
140. Truumees E, Herkowitz HN. Alternatives to autologous bone harvest in spine surgery. *Orthop J* 1999; **12**: 77-88.
141. Tsay RC, Vo J, Burke AM, Eisig SB, Lu HH, Landesberg R. Differential growth factor retention by by platelet-rich plasma composites. *J Oral Maxillofac Surg* 2005; **63**: 529-535.
142. Van den Bergh JP, Ten Bruggenkate CM, Groeneveld HHJ, Burger EH, Tuinzing DB. Recombinant human bone morphogenetic protein-7 in maxillary sinus floor elevation surgery in 3 patients compared to autogeneous bone grafts. *J Clin Periodontol* 2000; **27**: 627-636.
143. Von Arx T, Broggini N, Jensen SS, Schenk R, Buser D. Membrane durability and tissue response of different bioresorbable barrier membranes: A histological study in the rabbit calvarium. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005; **20**: 843-853.
144. Walsh WR, Sherman P, Howlett CR, Sonnabend DH. Fracture healing in a rat osteopenia model. *Clin Orthop* 1997: 218-227.
145. Wang H, Boyapati L. 'PASS' principles for predictable bone regeneration. *Implant Dentistry* 2006; **15**: 8-17.
146. Weibrich G, Kleis W, Hafner G. Growth factor levels in the platelet-rich plasma produced by two different methods: Curasan type PRP kit versus PCCS PRP system. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002; **17**: 184-190.

147. Weibrich G, Kleis WKG, Hafner G, Hitzler WE. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex and platelet count. *J Craniomaxillofac Surg* 2002; **30**: 97-102.
148. Weibrich G, Kleis W, Buch R, Hitzler W, Hafner G. The Harvest Smart PreP system versus the Friadent-Schütze platelet-rich plasma kit. *Clin Oral Impl Res* 2003; **14**: 233-239.
149. Weibrich G, Kleis WKG, Hafner G, Hitzler WE, Wagner W. Comparison of platelet, leukocyte and growth factor levels in point-of-care platelet-enriched plasma, prepared using a modified curasan kit, with preparations received from a local blood bank. *Clin Oral Impl Res* 2003; **14**: 357-362.
150. Weibrich G, Hansen T, Kleis W, Buch R, Hitzler WE. Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. *Bone* 2004; **34**: 665-671.
151. Wiltfang J, Kloss FR, Nkenke E, Schultze S, Zimmermann R, Schlegel KA. Effects of platelet-rich plasma on bone healing in combination with autogeneous bone and bone substitutes in critical-sized defects. *Clin Oral Impl Res* 2004; **5**: 187-193.
152. Woodall J. Cellular effects of platelet-rich plasma on inflammation and healing. The University of Mississippi Medical Center, 2009: 3367834 (Doktora Tezi)
153. Zhao S, Pinholt EM, Madsen JE, Donath K. Histological evaluation of different biodegradable membranes implanted subcutaneously in rats. *J Craniomaxillofac Surg* 2000; **28**: 116-122.

154. Zitzman N, Naef R, Schaerer P. Resorbable versus nonresorbable membranes in combination with Bio-Oss for guided bone regeneration. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997; **12**: 844-85.

155. Zitzmann NU, Schaerer P, Marinello CP. Factors influencing the success of GBR. Smoking, timing of implant placement, implant location, bone quality and provisional restoration. *J Clin Periodontol* 1999; **26**: 673–682.

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 54

30.04.2008

Sn. Prof. Dr. Korkud Demirel
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Karar No: 45
Başvuru Tarihi: 27.03.2008

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, Dr. Caner Atalay'a ait "Hidroksiapatit esaslı kemik grefti + TZP (Trombositin Zengin Plazma) kombinasyonunun tavşan maksillasında oluşturulan deneysel kemik defektlerinde kemik rejenerasyonu üzerine etkilerinin histolojik açıdan değerlendirilmesi" isimli proje Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul İkelerine uygun bulunmuştur.


Prof. Dr. Mehmet KAYA
İ. Ü. HADYEK Başkanı


Prof. Dr. Müjdat UYSAL
Üye


Prof. Dr. Nuriye AKEV
Üye


Prof. Dr. Gülderen ŞAHİN
Üye

Prof. Dr. Cüneyt K. ORAL
Üye


Doç. Dr. Alper YILMAZ
Üye


Üzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Üye


Avukat Safiye ALTUN
Üye


Mak. Müh. Seyfettin AVCI
Üye

İstanbul Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı
Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü
Vakıf Güneba Caddesi 34280 Şişli-İSTANBUL
TEL : (0 212) 414 20 00/33375
E mail : deneyhyv@istanbul.edu.tr

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Caner	Soyadı	Atalay
Doğ. Yeri	İstanbul	Doğ. Tar.	03-08-1971
Uyruğu	Türk	TC Kim No	36427672568
Email	caner_atalay@hotmail.com	Tel	0530 425 27 80

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul Ün. Diş Hekimliği Fak. Periodontoloji A.D	
Yük.Lis.	İstanbul Ün. Diş Hekimliği Fak.	1996
Lisans		
Lise	İstanbul Alman Lisesi	1990

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Diş Hekimi	Özel Şifa Kliniği	8 ay-2005
2.	Diş Hekimi	Muayenehane	5 yıl 1999-2003
3.	Diş Hekimi	Askerlik	14 ay 1997-1998

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
Almanca	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	93,750	
İngilizce	Çok İyi	İyi	Çok İyi		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	52,222	54,240	56,258
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Tebliğleri

1. Duygu Yaman, **Caner Atalay**, Oktay Yazıcıoğlu, Özden Haytural, Korkud Demirel. Yaygın servikal çürükleri olan bir hastada periodontal yaklaşımlar. Türk Periodontoloji Derneği 40. Bilimsel Kongresi, 14-16 Mayıs 2010, İzmir.
2. **Caner Atalay**, Vakur Olgaç, Elif Ergül, İbrahim Akyazı, Duygu Yaman, Korkud Demirel. Histological evaluation of bone regenerationin surgically created defects in rabbit maxilla using hdroxyapatite bone graft-prp combination. Uluslararası Osteology Sempozyumu, 14-16 Nisan 2011, Cannes-Fransa.

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Tarih, edebiyat