

**T.C.  
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ  
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**GELİŞTİRİLMİŞ TROMBOSİTTEN ZENGİN  
FİBRİN, KONSANTRE BÜYÜME FAKTÖRÜ VE  
TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİNİN YENİ  
KEMİK OLUŞUMU ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN  
RADYOLOJİK VE STEREOLOJİK OLARAK  
İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**ELİF ASLI GÜLŞEN**

**ZONGULDAK**

**2018**



**T.C.  
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ  
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**GELİŞTİRİLMİŞ TROMBOSİTTEN ZENGİN  
FİBRİN, KONSANTRE BÜYÜME FAKTÖRÜ VE  
TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİNİN YENİ  
KEMİK OLUŞUMU ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN  
RADYOLOJİK VE STEREOLOJİK OLARAK  
İNCELENMESİ**

**ELİF ASLI GÜLŞEN**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. M. Cenk DURMUŞLAR**

**ZONGULDAK  
2018**

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

“Geliştirilmiş Trombositten Zengin Fibrin, Konsantre Büyüme Faktörü ve Trombositten Zengin Fibrinin Yeni Kemik Oluşumu Üzerindeki Etkisinin Radyolojik ve Stereolojik Olarak İncelenmesi” başlıklı bu çalışma 04/06/2018 tarihinde jürimiz tarafından Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

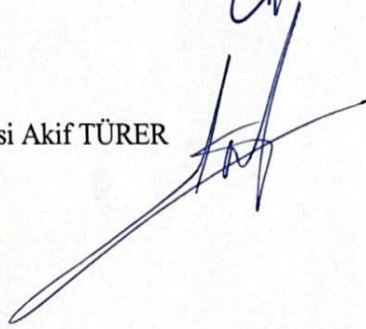
Jüri Başkanı: Prof. Dr. Cansu ALPASLAN



Üye: Doç. Dr. M. Cenk DURMUŞLAR



Üye: Dr. Öğr. Üyesi Akif TÜRER



ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim yerine ait olduğunu onaylıyorum.

  
Prof. Dr. Emre BODRUMLU

DEKAN V.

## TEŞEKKÜR

Çalışmanın yürütülmesi sırasında ve uzmanlık süresince desteklerini esirgemeyen tez danışmanım Dr. Öğretim Üyesi Mustafa Cenk Durmuşlar'a, uzmanlık eğitimim ve yoğun çalışmalarım sırasında manevi desteğini, mesleki tecrübelerini ve sabrını benden esirgemeyen eşim Dr. Öğr. Üyesi Uğur Gülşen'e, tüm hayatım boyunca maddi ve manevi hiçbir fedakarlıktan kaçınmayarak kariyerimdeki en büyük öneme sahip olan annem Melek Apaydın'a, babam Ali Gündüz Apaydın'a ve ablam Seher Nazlı Kazaz'a, her zaman varlığı ve desteği ile yanımda olan Dr. Öğr. Üyesi Akif Türer'e, uzmanlık eğitimim süresince ikinci bir ailem gibi gördüğüm bölüm arkadaşlarım Uzm. Dt. Burak İrfan İçten, Araş. Gör. Serhat GÜVENÇ, Araş. Gör. Şant Altunkara, Araş. Gör. Hüseyin Gülcan ve Araş. Gör. Barış Demirtaş'a, hocalarıma ve bütün personelimize, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne, mikro bilgisayarlı tomografi görüntülemelerinde yardımları için Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı öğretim üyelerine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Elif Aslı GÜLŞEN  
Mayıs 2018, ZONGULDAK

## ÖZET

**Elif Aslı Gülşen, Geliştirilmiş Trombositten Zengin Fibrin, Konsantre Büyüme Faktörü ve Trombositten Zengin Fibrinin Yeni Kemik Oluşumu Üzerindeki Etkisinin Radyolojik Ve Stereolojik Olarak İncelenmesi, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Diş hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Zonguldak, 2018**

Çalışmanın amacı, TZF (Trombositten Zengin Fibrin), KBF (Konsantre Büyüme Faktörü) ve G-TZF'nin (Geliştirilmiş Trombositten Zengin Fibrin) tek başına ya da otojen kemikle birlikte kullanımının, rat kalvaryumunda oluşturulan kritik boyutlardaki defektlerde yeni kemik oluşumu üzerindeki etkisinin radyolojik ve stereolojik olarak değerlendirilmesidir. Cerrahi prosedür için 8 grup oluşturulan 80 rat, kan alımı için ise 15 rat kullanılmıştır. Ratların kalvaryumunun ön tarafını ortaya çıkarmak için semilunar insizyonla flep kaldırılmıştır. Trefan frez yardımıyla 5 mm'lik kritik boyutlarda defektler oluşturulmuştur. Kontrol grubundaki defektler boş bırakılarak kapatılmıştır. Diğer gruplar sırayla otojen kemik, TZF, KBF, G-TZF, TZF ve otojen kemik, KBF ve otojen kemik, G-TZF ve otojen kemik ile doldurularak kapatılmıştır. Hayvanlar 4 hafta sonra sakrifiye edilmiştir. Yeni kemik miktarları stereolojik ve radyolojik olarak incelenmiştir. Yeni kemik dokusu oluşumu en az miktarda boş kontrol grubunda en yüksek oranda ise G-TZF ve otojen kemiğin birlikte yerleştirildiği grupta gözlenmiştir. Bununla birlikte otojen kemik grubuyla G-TZF ve otojen kemiğin birlikte yerleştirildiği grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmuştur. Ayrıca yeni kemik hacmi açısından G-TZF ve otojen kemik grubu ile TZF ve otojen kemik grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ayrıca defektlere G-TZF, KBF ve TZF'nin tek başına yerleştirilmesi 4. haftada belirgin bir şekilde kemik oluşumunu arttırdı. Sonuç olarak gelecekte G-TZF, KBF ve TZF, otojen kemik üzerindeki benzer olumlu etkileri sayesinde kemik greftleme işlemlerinin başarısını arttırmak için kullanımı yaygınlaşabilir.

**Anahtar sözcükler:** G-TZF, KBF, TZF, otojen kemik, kemik iyileşmesi

## ABSTRACT

**Elif Ash Gülşen, The Radiological and Stereological Analysis of The Effect of PRF, CGF and A-PRF on New Bone Formation, Oral and Maxillofacial Surgery, Expertise Thesis, Zonguldak, 2018**

The purpose of the study was to evaluate the influence of the PRF (Platelet Rich Fibrin), CGF (Concentrated Growth Factors) and A-PRF (Advanced Platelet Rich Fibrin) with or without autogenous bone(AB) on bone healing in surgically created critical-size defects (CSD) in the rat calvaria, by histological and stereological analysis. Eighty animals of 8 groups were used for surgical procedure, 15 rats used for cardiac puncture. A semilunar incision was made in the scalp on the anterior region of the calvarium. A 5-mm diameter CSD was created with a trephine bur. Defects of control group was left empty. Other groups were filled with autogenous bone, PRF, A-PRF, CGF, PRF with autogenous bone, A-PRF with autogenous bone and CGF with autogenous bone. The animals were sacrificed at 4 weeks. New bone formation was assessed by stereological and radiological analysis. The total percentage of newly formed bone was lowest in group empty and highest in group A-PRF with autogenous bone. Mean newly formed bone volumes between the A-PRF with autogenous bone group and autogenous bone group was statistically significant. Besides that, the difference between the A-PRF+AB group and PRF+AB group wasn't statistically significant in terms of the newly formed bone volume. Addition of A-PRF, PRF, and CGF have had significantly increased the bone formation at the 4th week. The effect of A-PRF, PRF, and CGF was similar and may be useful in the future to increase the success rate of bone grafting.

**Key words:** A-PRF, PRF, CGF, autogenous bone, bone healing

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iv</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vi</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>vii</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	<b>ix</b>
<b>1.GİRİŞ:</b> .....	<b>1</b>
<b>2.GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Kemik.....	3
2.1.1. Kemik yapısı .....	3
2.1.2. Kemik dokusu hücreleri .....	3
2.1.3. Kemik matriksi.....	5
2.1.4 Kemik dokusu çeşitleri.....	6
2.1.5. Kemik oluşumu .....	7
2.1.6. Kemik iyileşmesi.....	8
2.1.7. Kritik Boyutlarda Kemik Defekti.....	9
2.1.8. Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan greft materyalleri. 10	
2. 2. Trombositler ve Büyüme Faktörleri.....	12
2.2.1. Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri (TKBF).....	13
2.2.2. Transforme edici büyüme faktörü (TBF- $\beta$ ) .....	14
2.2.3. Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEBF) .....	14
2.2.4. Trombosit kaynaklı epidermal büyüme faktörü (TKEBF).....	15
2.2.5. Fibroblast büyüme faktörü (FBF) .....	15
2.2.6. İnsülin benzeri büyüme faktörü (IBF).....	15
2.3. Trombositten Zengin Kan Ürünleri.....	17
2.3.1. Trombositten zengin plazma (TZP) .....	18
2.3.2. Trombositten zengin fibrin (TZF).....	19
2.3.3. Konsantre büyüme faktörü(KBF) .....	20
2.3.4. Geliştirilmiş trombositinden zengin fibrin (G-TZF) .....	21
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	<b>22</b>
3.1. TZF, KBF Ve G-TZF'nin Elde Edilmesi.....	22
3.2. Cerrahi Teknik .....	26
3.3. Radyolojik Değerlendirme .....	28
3.4. Histopatolojik Değerlendirme .....	29



3.5 İstatistiksel Değerlendirme.....	29
<b>4.BULGULAR .....</b>	<b>30</b>
4.1 Mikro bilgisayarlı tomografi ( $\mu$ -CT) bulguları .....	30
4.2. Histolojik Sonuçlar .....	34
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>41</b>
<b>6. SONUÇLAR .....</b>	<b>58</b>
<b>7. KAYNAKLAR: .....</b>	<b>60</b>
<b>8. EKLER.....</b>	<b>71</b>



## SİMGELER VE KISALTMALAR

G-TZF	Geliştirilmiş Trombositten Zengin Fibrin
FBF	Fibroblast Büyüme Faktörü
IBF	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
KBF	Konsantre Büyüme Faktörü
P değeri	Bir olayın ortaya çıkma şansının olasılığını kabul etmek için gereken kanıtların miktarı, anlamlılık düzeyi
SS	Standart sapma; gözlemlerin aritmetik ortalamadan sapmalarının karelerinin ortalaması
TBF $\beta$	Transforme Edici Büyüme Faktörü $\beta$
TKBF	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörleri
TKEBF	Trombosit Kaynaklı Epidermal Büyüme Faktörü
TZF	Trombositten Zengin Fibrin
TZP	Trombositten Zengin Plazma
VEBF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

## ŞEKİL DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
1. Toplanan kanın santrifuj edilmesiyle ortaya çıkan katmanlar	20
2. TZF elde edilmesi için santrifüj işleminden sonra tüpte oluşan görüntü	23
3. TZF ve G-TZF elde edilmesinde kullanılan santrifuj cihazı	23
4. KBF elde edilmesi için santrifüj işleminden sonra tüpte oluşan görüntü	24
5. KBF elde edilmesinde kullanılan santrifuj cihazı	24
6. G-TZF elde edilmesi için santrifüj işleminden sonra tüpte oluşan görüntü	25
7. Presel yardımıyla G-TZF'nin tüpten çıkarılması	25
8. Elde edilen G-TZF	25
9. İnsizyon sonrası kalvaryumun açığa çıkarılması	27
10. Kalvaryumdan unilateral olarak 5 mm çapındaki kemik fragmanının çıkarılması	27
11. Kritik boyutlardaki defektlerin mikro bilgisayarlı tomografi görüntüleri	30
12. Mikro bilgisayarlı tomografi ile yeni kemik miktarları ortalamalarının gruplara göre dağılımının grafiği	31
13. Yeni kemik hacmi açısından gruplar arası anlamlı farklılıkları gösteren grafik sunulmuştur. $P < 0,05$ düzeyindeki farklılık * ile gösterilirken, $P < 0,01$ düzeyindeki farklılık ** ile gösterilmektedir.	34
14. Boş kontrol (A) ve otojen greft (B) gruplarına ait ışık mikroskopik görüntüler. A ve B'de sol taraftaki kare içerisindeki alan büyütülmüş olup sağ tarafta infiltrasyon alanı beyaz renkte yıldız (*) ile gösterilmiştir. Otojen greft grubundaki greft alanları G harfi ile gösterilmiştir. Işık mikroskopik görüntülerde barlar 50 $\mu\text{m}$ , 100 $\mu\text{m}$ ve 250 $\mu\text{m}$ 'yi göstermektedir.	35
15. TZF+otojen greft (A) ve TZF (B) gruplarına ait ışık mikroskopik görüntüler. A ve B'de sol taraftaki kare içerisindeki alan sağ tarafta büyütülmüş olup yeni kemik alanları beyaz ok ile gösterilmiştir. TZF+otojen greft grubundaki greft alanları G harfi ile gösterilmiştir. Işık mikroskopik görüntülerde barlar 50 $\mu\text{m}$ , 100 $\mu\text{m}$ ve 250 $\mu\text{m}$ 'yi göstermektedir.	36
16. KBF+otojen greft (A) ve KBF (B) gruplarına ait ışık mikroskopik görüntüler. A ve B'de sol taraftaki kare içerisindeki alan sağ tarafta büyütülmüş olup yeni kemik alanları beyaz ok ile gösterilmiştir. KBF-otojen greft grubundaki greft alanları G harfi ile gösterilmiştir. Işık mikroskopik görüntülerde barlar 50 $\mu\text{m}$ , 100 $\mu\text{m}$ ve 250 $\mu\text{m}$ 'yi göstermektedir.	37
17. G-TZF+otojen greft (A) ve G-TZF (B) gruplarına ait ışık mikroskopik görüntüler. A ve B'de sol taraftaki kare içerisindeki alanlar sağ tarafta büyütülmüş olup yeni kemik alanları beyaz ok ile gösterilmiştir. Ok başları ise vajinasyon bölgelerine işaret etmektedir. G-TZF-otojen greft grubundaki greft alanları G harfi ile gösterilmiştir. Işık mikroskopik görüntülerde barlar 50 $\mu\text{m}$ , 100 $\mu\text{m}$ ve 250 $\mu\text{m}$ 'yi göstermektedir.	38

## TABLO DİZİNİ

<b><u>Tablo</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
18. 1. Büyüme faktörlerinin kaynak aldıkları hücreler ve fonksiyonları	16
19. 2. Radyolojik olarak deney gruplarındaki yeni kemik hacim ortalamaları	31
20. 3. Radyolojik olarak gruplar arası yeni kemik hacimlerinin karşılaştırılması	32
21. 4. Stereolojik olarak deney gruplarındaki yeni kemik hacim ortalamaları	39
22. 5. Stereolojik olarak gruplar arası yeni kemik hacimlerinin karşılaştırılması	40

## 1.GİRİŞ:

Modern ağız, diş ve çene cerrahisinde hastaların estetik, fonksiyonel ve fizyolojik problemler yaşamamaları için sürekli çalışmalar yapılmaktadır. Bu yüzden kemik kayıplarının ideal rekonstrüksiyonu günümüzde artan bir önem taşımaktadır(1).

Travma, enfeksiyon, tümör ya da konjenital nedenlerle oluşan kemik defektlerinin onarılmasında, kemik rejenerasyonunu sağlayabilmek açısından klinik uygulamalarda önem taşımaktadır. Bu defektlerin kapatılmasında çok fazla güncel yaklaşım bulunmasına rağmen, defektlerin tamamıyla onarımında klinik sorunlar yaşanmaktadır. Bu tür sorunların üstesinden gelebilmek için halen birçok farklı yöntem araştırılmaktadır(2).

Ağız, diş ve çene cerrahisi, dental implantlar, maksillofasiyal rekonstrüksiyon ve diğer rejeneratif işlemler gerçek anlamda etkin bir kemik rejenerasyonuna bağlıdır. Greft materyalleri ve bariyer membranlar kemik kalitesini artırmak için sıklıkla kullanılan kemik rejenerasyon tekniklerindedir.

Kemiğin iyileşmesi ve yeniden şekillenmesi birçok hücre tipinin katıldığı hücre içi ve hücre dışı moleküler sinyal yollarını ve osteoindüktif ve osteokondüktif mekanizmayı içermektedir(3). Bu nedenle araştırmacılar daha hızlı ve daha yoğun bir kemik oluşumu sağlamak ve kemik greftleme tekniklerini geliştirmek için çalışmaktadırlar(4).

Otojen kemik greftleri osteoindüktif, osteojenik ve osteokondüktif olmaları nedeniyle diğer kemik greftlerine göre daha belirgin rejeneratif kapasiteye sahiptir. Bundan dolayı özellikle geniş lateral ve vertikal kayıplarda altın standart olarak kabul edilir(5). Ancak yeterli miktarda otojen kemik grefti elde etmek için yapılan ameliyatın zorluğu, ikinci bir operasyon gerektirmesi, operasyon süresini uzatması ve ameliyat sonrası rahatsızlık gibi dezavantajları mevcuttur(6). Bu nedenle iyileşmeyi hızlandırıp komplikasyonları azaltabilmek için farklı materyaller kullanılmıştır.

Kemik iyileşmesi diğer bağ dokusu iyileşmelerinden çok farklıdır. Çünkü diğer bağ dokularında olduğu gibi sadece kollajen birikimiyle skar bırakarak iyileşmez. Tamamen hücresel yenilenme ve mineral matriks üretimi ile gerçekleşir(7)

Trombositler kanın pıhtılaşmasında etkili kan hücrelerindedir. Bununla birlikte dokuların iyileşmesinde de önemli rolü olduğu bilinmektedir. Trombositlerin yara iyileşmesindeki fizyolojik özelliklerini geliştirebilmek için çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bu amaçla geliştirilen trombositten zengin plazma, trombositten zengin fibrin, fibrin yapıştırıcı ve adezivler gibi farklı formlardaki trombositlerin terapötik uygulamalarda kullanımında artışa neden olmuştur(8). Büyüme faktörleri yara iyileşmesini kontrol eden biyoaktif materyallerdir. Doku rejenerasyonu için hücre göçünü, hücre çoğalmasını ve yeni damar oluşumunu artırmada önemli rolleri vardır(9).

Büyüme faktörleri ile yapılan çalışmalar son zamanlarda oldukça yaygınlaşmıştır. Doku rejenerasyonlarına ve iyileşme üzerine olan olumlu etkileri ile geliştikçe uygulama kolaylıklarının da artması dikkatleri daha çok büyüme faktörlerine çekmeye başlamıştır.

Bu çalışmada hayvanlar üzerinde trombositten zengin ürün çeşitlerini kullanarak kemik iyileşmesi üzerindeki farkları değerlendirilmiştir. Bu amaçla seksen adet rat sekiz gruba ayrılmıştır. Kemik iyileşmesini değerlendirebilmek için ratların kalvariumlarında kritik boyutlarda defektler oluşturulmuştur. Gruplardan iki tanesi kontrol grubu olarak ayrılmıştır. Kontrol gruplarından biri boş bırakılırken diğerine otojen greft yerleştirilmiştir. Üç gruptaki kritik boyutlardaki defektlere tek başına trombositten zengin fibrin, konsantre büyüme faktörü ve geliştirilmiş trombositten zengin fibrin yerleştirilmiştir. Son üç gruba ise kalvariumdan elde edilen otojen greftlerle birlikte trombositten zengin fibrin, konsantre büyüme faktörü ve geliştirilmiş trombositten zengin fibrin yerleştirilmiştir. Hayvanlar 28 gün sonra sakrifiye edilmiştir. Sonuçlar mikro bilgisayarlı tomografi ve histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kemik

#### 2.1.1. Kemik yapısı

Kemik oldukça güçlü bir biyolojik yapıdır. Döküm bir demirin üçte biri ağırlığına sahip olmasına rağmen demirinkine eşdeğer bir gerilim kuvvetine ve eğilmelere karşı sert bir odun ile demir arasında bir kırılma noktasına sahiptir. Bu özellikler mühendislik prensiplerine dayanan içeriden güçlendirilmiş ara maddeyle ve üst üste binmiş içi boş borular halindeki katmanlı yapıyla sağlanır. Böylece kemiğe beslenme ile mekanik ve hormonal uyarılara karşı dinamik bir özellik sağlanmış olur(10).

Kemik vücuda kalsiyum, fosfat ve diğer iyonların salınımını sağlayabilecek zengin bir depodur. Fiziksel yapısı sayesinde organları korur ve çevresindeki kaslara destek olarak kasılmalar sırasında vücuda hareket kazandırılmasına katkıda bulunur(11).

Kemik; mineral dengesini, hareketi ve koruma görevini üstlenmiş, özelleşmiş bir bağ dokusudur. Hücreler ile organik ve inorganik olmak üzere iki tip ara maddeden oluşur. Yapısal olarak spongiyoz ve kortikal olmak üzere iki çeşittir(12). Kemiklerin iç yüzeyini endosteum, dış yüzeyini ise periosteum örter(11).

#### 2.1.2. Kemik dokusu hücreleri

##### 2.1.2.1.Osteoprogenitor hücreler

Osteoprogenitor hücreler embriyonik mezenkimden köken alan iğsi şekilli hücrelerdir. Bu hücreler periosteum ve endosteumun içinde yer alırlar. Hayat boyunca daimî olarak kök hücre şeklinde kalırlar. Herhangi bir kırık veya hastalık durumlarında

aktive olarak kemiğin tamir mekanizmasında görev alırlar. Bu hücrelerin osteoblastlara dönüşebilme yetenekleri vardır(10).

Çok sayıda büyüme faktörleri, hormonlar ve sitokinlerin hücre zarlarındaki reseptörlere etki etmesi ile osteoprogenitor hücrelerin çoğalması ve osteoblastlara farklılaşması sağlanır. Mezenkimal hücrelerin mitotik aktivitesi sayesinde osteoprogenitor hücrelerin sayıları artar ve osteoblastlara dönüşerek periosteumun iç kısmı gelişir. Osteoprogenitor hücreler, kemik içerisinde yer alan kılcak kan damarlarını, sinirleri ve gevşek bağ dokusunu çevreleyen Havers kanallarında bulunurlar (10, 11).

#### 2.1.2.2. Osteoblastlar

Osteoprogenitor hücreler olarak bilinen farklılaşmamış kök hücrelerden köken alırlar. Kemik iliği, kemik kanalları, endosteum ve periosteumda yer alırlar. Osteoprogenitor hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasıyla intramembranöz ve endokondral kemik oluşumu sağlanır(12).

Osteoblastlar kemik yüzeyi boyunca yer alan, toplam yerleşik kemik hücrelerinin %4-6'sını oluşturan, kemik formasyonunda görevli, kübik şekilli bazofilik sitoplazmalı hücrelerdir. Morfolojik olarak salgı bezlerindeki kadar bol miktarda granüllü endoplazmik retikulum ve golgi aparatı içererek protein sentezleyebilen hücrelerdir(13). Osteoblastlar yeni mineralize olmuş kemik yüzeyindeki hücre dışı ara maddesinde aktif olarak sentezlenir(14).

Osteoblastlar son olarak 3 yol izleyebilirler. Kemikte aktif osteoblastlar olarak kalabilirler, osteositlere dönüşebilirler ya da inaktif olarak kemik yüzey hücreleri şekline gelebilirler. Kemik yüzey hücreleri olgun kemiğin yüzeyinde yan yana bulunan ince ve uzamış şekilli hücrelerdir. Kemik yüzey hücreleri metabolik olarak inaktif ve az sayıda organelle ve sitoplazmaya sahip olduklarından birbirlerine ve osteositlere sitoplazma uzantılarıyla bağlıdırlar. Dinlenme osteoblastları ya da yüzey osteoblastları olarak da adlandırılırlar(12). Ara maddede bulunan osteoblastlar osteositlere dönüşürler ve kemiğin mineralize ara madde kısmına gömülmüş olan hücrelerin %90-95 ini oluştururlar(14).

Elektron mikroskopuyla gözleendiğinde aktif osteoblastlar sayıca çok fazla miktarda ribozom, granüllü endoplazmik retikulum, golgi aygıtı ve mitokondri içerirler. Çekirdekleri ise hücrelerin tam ortasında yer alır(12).



Osteoblastlar kemik ara maddesine proteoglikanlar, kollajen ve kollajen dışı proteinleri yani organik maddeleri salgılar. Ayrıca kemik formasyonuna etki eden enzimlerin salgılanmasına yardımcı olur(10).

#### 2.1.2.3. Osteositler

Her osteosit hücresi kemik sıvısı içeren mineralize bir kanalcık (lakuna) içerisinde bulunur. Osteositlerin morfolojik yapıları buldukları kemik yapılarına göre farklılık gösterir. Süngerimsi kemikte daha yuvarlak şekilliysen kortikal kemikte daha uzamış formdadırlar(15).

Osteoblastlardan farklılaşmaları sırasında osteositler sitoplazmalarının bir kısmını kaybederek küçülerek dört evre geçirirler. Bunlar osteoid osteosit, preosteosit, genç osteosit ve olgun osteosit(16).

Osteositler kemikten kalsiyum ve diğer iyonların hareket etmesini ve kanallar aracılığıyla kemik yüzeyindeki vücut sıvılarına taşınmasını sağlayarak kalsiyum dengesinin sağlanmasında görev alırlar. Osteositler fiziksel değişiklikleri kimyasal sinyallere dönüştürerek osteoblast ve osteoklast aktivitelerini düzenler ve böylece kemiğin yeniden şekillendirilmesinde görev alır(10).

#### 2.1.2.4. Osteoklastlar

Osteoklastlar hematopoetik kök hücre ailesinin mononükleer hücrelerinden köken alırlar(15). Bu hücreler büyük, kendi kendine hareket edebilen ve fazla sayıda çekirdek içeren hücrelerdir. Osteoklastların sitoplazmaları osteoblastlarınkinin aksine asidofiliktir. Kemik yıkımının gerçekleştiği Howship lakunası olarak adlandırılan alanlarda yer alırlar.(17).

Osteoklastlarda granüllü endoplazmik retikulum miktarı osteoblastlardakine göre az iken, mitokondri sayısı vücuttaki diğer hücrelere göre oldukça fazladır(12).

### **2.1.3. Kemik matriksi**

Kemiğin hücreler dışındaki matriksini organik ve inorganik maddeler oluşturur. Kemiğin kuru ağırlığının yaklaşık %35'ini organik kısım, %65'ini ise inorganik kısım oluşturur. Organik kısmı kollajen proteinler ile kollajen olmayan; proteoglikanlar, osteokalsin, osteonektin, osteopontin, fibronektin, kemik

sialoproteinleri, kemik morfojenik proteinleri ve büyüme faktörleri gibi proteinler meydana getirir. Organik matriksi öncelikle osteoblastların sentezlediği ve hücre dışına salgıladığı kollajenler oluşturur. En çok tip 1 kollajen bulunur. Bununla birlikte tip V, VI, VII ve XII kollajen bulunmaktadır(11, 12, 15).

İnorganik kısım ise kemiğin gerilme direncini sağlar ve fizyolojik fonksiyonlarda görevli iyonları barındırır. Sinir iletiminde ve kas kasılmasında görevli iyonları barındırmasıyla fizyolojik fonksiyon görür(12). İnorganik matriksi kalsiyum, fosfat, bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyum oluşturur. En fazla miktarda ise kalsiyum ve fosfor iyonlarının oluşturduğu hidroksiapatit kristalleri bulunmaktadır(17).

#### **2.1.4 Kemik dokusu çeşitleri**

##### **2.1.4.1. Primer kemik dokusu**

Kemiğin mikroskopik tiplerinden olan primer kemik dokusu, olgunlaşmamış kemik ya da örgü kemik olarak da adlandırılır. Primer kemik dokusu düzensiz yapılı tip 1 kollajenden oluşan, çok sayıda osteosit içeren kemiktir. İçerdiği mineral miktarı azdır. Daha çok fetal hayatta mevcuttur ve erişkinde birkaç bölge dışında yer almaz. Daha sonra değişime uğrayarak ikincil kemiği oluşturur(11, 17).

##### **2.1.4.2. Sekonder kemik dokusu**

Olgunlaşmamış ya da lameller kemik olarak da adlandırılır. Erişkinlerde bulunan kemiklerin çoğu sekonder kemiktir. 3 ile 7 µm kalınlığında iyi mineralize olmuş düzenli lamellerden oluşur(17). Erişkin vücudunda süngerimsi ve kortikal olmak üzere iki tipi bulunur.

##### **2.1.4.2.1. Süngerimsi kemik**

Kansellöz ya da trabeküler kemik olarak da adlandırılır. Omur ve uzun kemiklerinin metafiz ve epifizlerinde bulunan yumuşak ve sert doku bileşenlerini içeren süngerimsi, pürüzlü ve sıralı kemik dokusudur. Mekanik fonksiyonlarını içerdiği mineraller, kollajenler ve yapısal şekli sayesinde yerine getirir(14). Kemik iliği çevresini saran kemiktir. Süngerimsi kemik her zaman kompakt kemikle çevrilidir(17).

#### 2.1.4.2.2. Kompakt kemik dokusu

Kompakt, sıkı ya da kortikal kemik olarak adlandırılır. Kompakt kemik içerisinde kemik iliği kavitesi ya da trabekül bulunmaz. Çıplak gözle bakıldığında sert ve homojen yapıda olduğu görülür. Mikroskopla bakıldığında ise kemiğin uzun aksına paralel veya dik yerleşebilen kanallara sahip olduğu gözlenir(10, 11, 17).

### 2.1.5. Kemik oluşumu

İki şekilde meydana gelir. Bunlar zar içinde meydana gelen direkt kemikleşme olan intramembranöz kemikleşme ve kıkırdak üzerinden meydana gelen endokondral kemikleşmedir. Kemik oluşumu gerçekleşirken önce birincil kemik olan örgü kemik oluşur. Kemik büyümesiyle birincil kemik alanları rezorpsiyona uğrayarak ikincil kemik meydana gelir. Bu değişim yeniden şekillenme ya da remodeling olarak adlandırılır(10, 11).

#### 2.1.5.1. İntamembranoz Kemikleşme

Çoğunlukla yassı kemiklerde meydana gelen kemikleşme şeklidir. Damarlarda bulunan mezenkimal kaynaklı hücrelerin osteoblastlara farklılaşarak primer kemikleşme alanlarının oluşmasıyla başlar. Daha sonra düzensiz formda osteoid doku oluşarak örgü kemik meydana gelir. Kalsifikasyonların artması ve osteositlerin birikmesiyle trabekül denen merkezler oluşur. Trabeküllerin büyüyerek birleşmeleri ile kan damarları bölgeye gelir ve mitotik aktivitenin artmasıyla diğer farklılaşmamış mezenkimal hücreler kemik iliğindeki kan hücrelerine dönüşür. Böylece süngerimsi kemik meydana gelir(17).

#### 2.1.5.2. Endokondral Kemikleşme

Daha çok uzun kemiklerde meydana gelen kemikleşme şeklidir. Hiyalin kıkırdağın küçük bir kemik modeli olarak görev yapmasıyla gerçekleşir. Birincil ve ikincil kemik merkezlerinin oluştuğu iki basamaklı bir mekanizmayla gerçekleşir. Kıkırdak zarındaki damarlanma kondrojenik hücrelerin osteoblastlara farklılaşacak olan osteoprogenitor hücrelere dönüşmesine neden olur. Bu durumda kıkırdak zarı kemik zarına dönüşmüş olur. Bu bölgede osteoblastlar kemik zarının altında matriks meydana getirir. Böylece alttaki kemik zarı yoluyla da intramembranöz kemikleşme

sağlanır. Kıkırdağın orta bölgesinde halka şeklinde silindirik bir kemik dokusu oluşmuş olur. Kıkırdağın merkezindeki hücreler hipertrofiye ve dejenerasyona uğrayarak ilik için gerekli olan geniş kaviteler bırakırlar. Bu yıkım süreci sonunda kalsifiye olmuş kıkırdak matriksinden oluşan üç boyutlu bir yapı oluşmuş olur. Bir yandan osteoklastlar kıkırdak merkezindeki kemik halkasında delik açar. Buradan damarlar çıkarak osteoprogenitor hücreleri salgılar. Osteoblastlar burada kemik matriksi salgırlar ve kıkırdak matriksini sararlar. Böylece kalsifiye kıkırdak ya da kalsifiye kemik kompleksi oluşur. Böylece birincil kemik merkez ortaya çıkar. Kıkırdak modelin uç kısımlarındaysa ikincil kemik merkezleri oluşur. Gelişim devam ettikçe kemik iliği ile dolan boşluklar oluşur(11, 17).

#### **2.1.6. Kemik iyileşmesi**

Kemik iyileşmesi diğer bağ dokusu iyileşmelerinden farklı olarak sadece kollajen birikimiyle skar bırakarak iyileşmez. Tamamen hücrenel yenilenme ve mineral matriks üretimi ile meydana gelir(7).

Mezenkimal kaynaklı kök hücreler bölgeye gelir ve çoğalıp farklılaşarak yeni kemik oluşumunu başlatır. Yeniden şekillendirme olarak adlandırılan kemik iyileşme süreci, osteoklastların yardımıyla endokondral ve intramembranöz yoldan kemikleşmeyle meydana gelir. Yeniden şekillenmenin önemli bir kısmını zarar görmüş olan kemiğin ve meydana gelen yeni kemik dokusunun revaskülarizasyonu oluşturur(18).

Kırık, defekt, kemik beslenmesindeki yetersizlik veya implant yerleştirilmesi gibi herhangi bir hasar o bölgede büyüme faktörlerinin ve diğer sinyal moleküllerinin salınımına neden olur. Böylece kemiğin lokal olarak rejenerasyonu başlar(19).

Kemik defektlerinin iyileşmesi kırık iyileşmesinin aksine mekanik faktörlerden ve bölgenin beslenebilmesinden daha az etkilenmektedir. Bu nedenle defekt iyileşmesi kemik yenilenmesinin incelenmesi açısından cerrahi ve farmakolojik ölçümlerin etkilerini araştırmada klasik bir teknik olarak kullanılır.

Küçük delik şeklindeki, çapları 0.1 ve 1.0 mm arasında olan kortikal defektlerde, iyileşme tamamıyla defekt boyutuna bağlıdır. Defektlerin iyileşmesi

osteoklastik rezorpsiyondan önceki birkaç gün içerisinde başlar. 0.2 mm çapındaki delikler lameller kemik ile dolar. Daha geniş çaptakilerde ise ilk olarak örgü kemikten bir iskele oluşur ve daha sonra trabeküller arasına lameller kemik depolanır. Apozisyonel büyümede, lameller kemikteki matriks birikimi her gün bir çift mikron ile sınırlıdır. Buna karşılık örgü kemik ise geniş defektlerde hızlı bir şekilde köprüler oluşturarak defekt bölgesini kapatabilir. Dört hafta sonunda küçük ve geniş defektlerin ikisi de kompakt kemik ile dolmuş olur. Süngerimsi kemiğin ufak defektlerinde de iyileşme benzerdir. İyileşme, defektin örgü kemik formasyonu ile başlayan ve daha sonra yeniden şekillenme sonucu trabeküller oluşmasıyla devam eden iki fazdan oluşur(20, 21).

### **2.1.7. Kritik Boyutlarda Kemik Defekti**

Bir canlının doğal olarak tamamıyla kendiliğinden iyileşemeyen en küçük boyuttaki kemik defektine kritik boyut defekti denilmektedir. Kritik boyuttaki defektlerde, herhangi bir materyal kullanılmazsa çoğunlukla fibröz doku ile iyileşme olmaktadır(22).

Hayvan modellerinin kalvaryumlarındaki defektlerin kullanılması Freeman ve Turnbull'un (23) yaptıkları çalışmalara dayanmaktadır. Çalışmalarında 500 mg ağırlığındaki Wistar ratlara 2 mm çapında defektler oluşturmuşlardır. 12 hafta sonra yaptıkları değerlendirmede defekt bölgesindeki periyost ve pariyetal kemiği inceleyerek tamamıyla iyileşemediğini savunmuşlardır.

Mulliken ve Glowacki (24, 25) 1980 ile 1981 yılında yaptıkları çalışmalarda 28 günlük Charles River ratların pariyetal kemiklerine 4 mm çapında defektler oluşturmuşlardır. Herhangi bir materyal yerleştirilmeyen primer kapatılan defektlerde, 6 ay sonra yapılan incelemelerde iyileşme gözlenmediğini, demineralize kemik tozu yerleştirilen defektlerde ise ilk 2 haftada kemik oluşumunun gözlendiğini tespit etmişlerdir

Deney hayvanlarındaki defektlerin boyutları ile ilgili gerçek anlamda bir tanımlama 1982 yılında Takagi ve Urist (26) tarafından yapılmıştır. Yaptıkları çalışmada rat kalvaryumlarında oluşturdukları defektlerin kendi başına

iyileşemediklerini savunmuşlardır. Ayrıca daha önce yapılan femur defektlerinden farklı olarak fiksasyon gerektirmeyen, hızlı ve kolayca oluşturulabilen defektler oluşturulmasını sağlamışlardır. Çalışmalarında 6 aylık Sprague-Dawley ratların kalvaryumuna 8 mm'lik defektler açarak sığır kaynaklı kemik morfojenik protein yerleştirmişlerdir. Kemik iyileşmesini tespit edebilmek için radyolojik ve histolojik inceleme yapmışlardır. İyileşmenin, defekt kenarlarında lameller kemik oluşmasıyla, merkezde ise fibröz doku oluşumuyla başladığını tespit etmişlerdir. Defekt bölgesinde 4 hafta sonunda defekt boşluğunun 8 mm'den 5 mm'ye düştüğünü belirlemişlerdir. Sonuç olarak; yapılan çalışmalarla 4 mm ile 8 mm arasındaki defektler kritik boyutta defekt olarak kabul edilmektedir.

#### **2.1.8. Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan greft materyalleri**

Kemik defektleri konjenital ya da patolojik kaynaklı olabilmektedir. Bu defektlerin ideal bir şekilde onarılması kemik rejenerasyonunu sağlayabilmek açısından klinik uygulamalarda oldukça önemlidir. Bu defektlerin kapatılmasında çok fazla güncel yaklaşım bulunmasına rağmen, defektlerin tamamıyla onarımında klinik sorunlar yaşanmaktadır. Bu nedenle halen birçok farklı yöntem araştırılmaktadır(2).

Araştırılan uygulamaların insanlarda kullanılmasından önce, yeterli çalışmaların yapılmış olması gerekmektedir. Geçmişte ve günümüzde farmasötiklerin, tıbbi çalışmaların ve cihazların klinik uygulamalara geçilmeden önce hayvan deneylerinde kullanılması önemli yere sahiptir. Hayvan deneyleri için etik kaygılar ve alternatif arayışları olmasına rağmen, günümüzde kullanılmakta olan standartlaştırılmış hayvan deneyleri, tıbbi teknolojilerde önemli bir yere sahiptir(2, 27, 28).

İlk modern kemik greftleme işleminin 1668 yılında Meekeren (28) tarafından yapıldığına inanılmaktadır. Greft materyalleri rekonstrüktif olarak boşlukları doldurmak, kemik miktarını artırmak, osteokondüktif açıdan kemik defektlerinin tamirini kolaylaştırmak ve geliştirmek, kemiğe mekanik bir zar desteği sağlamak, kan pıhtısını yerinde tutmak ve antibiyotiklerle büyüme faktörlerinin taşınması için araç görevi görmek gibi amaçlarla kullanılmaktadır(19).

Greft materyalleri olası üç etki ile kemik rejenerasyonunu sağlayabilir: Osteoindüksiyon, direkt osteogenez (osteointegrasyon), osteokondüksiyon. Yeni kemik bu mekanizmalardan biri ya da bir çoğunu içererek oluşturabilir(7).

Osteoindüksiyon: Farklılaşmamış, ilkel ve pluripotent hücrelerin bir şekilde uyarılıp kemik üreten hücrelere dönüşerek kemik oluşturmasıdır. Osteogenezin uyarıldığı süreç olarak da anılmaktadır(7, 29).

Osteokondüksiyon: Yerleştirilen matriksin bir iskele görevi görerek komşu kemikten ya da periyosttan yeni kemik oluşturulmasıdır. Osteokondüktif bir materyal yüzeyinde, içindeki gözenek ve kanallarda kemik gelişimine izin verir. Bu durumda matriks ya direkt kollajene ya da hücre adezyon molekülleri olan fibrin, fibronektin ve vitronektine bağlanmalıdır(7, 29).

Osteointegrasyon: Bu terim ilk olarak 1977 yılında Branemark (30) tarafından canlı ve organize kemik ile fonksiyonel yükleme altındaki implant arasındaki direk ve yapısal bağlantı olarak tanımlanmıştır. Direkt osteogenez osteoblastlar tarafından oluşturulan osteoid formasyonudur. Bir kemik greftinin osteogenezi çoğunlukla transplant osteogenez olarak tanımlanır. Bu durumlarda geniş yüzey alanı ve çok sayıda kök hücre içermesi nedeniyle daha çok süngerimsi kemiğin endosteumunda hayatta kalan osteoblastlar yeni kemik oluşumu için başlıca kaynaklardan sayılır(7).

#### 2.1.8.1. Otojen kemik greftleri

Aynı bireyin ağız içi ya da ağız dışı verici bölgelerinden elde edilen greftlerdir. İçerik olarak %30 organik, %70 inorganik bileşenlere sahiptir. Organik kısım çoğunlukla tip 1 kollajenden ve osteokalsin, osteopontin, kalsitonin ya da sialoprotein gibi kollajen olmayan proteinlerden oluşur. İnorganik kısım ise çoğunlukla hidroksiapatit kristallerini oluşturacak olan kalsiyum fosfattan oluşur(19). Otojen kemik greftlerinin transplante edilmesiyle verici bölgedeki kemik yapımını uyarıcı büyüme faktörleri ve canlı osteojenik hücreler de alıcı bölgeye gelmiş olur(31).

Otojen kemik greftleri ile kemik iyileşmesi 3 fazda gerçekleşir. İlk faz greftlemeden sonraki ilk 4 haftada en aktif olan fazdır. Hayatta kalan hücreler osteogenez için osteoid doku üretimi yaparlar. İkinci faz osteoindüksiyon fazıdır. Greftlemeden iki hafta sonra başlar ve altı haftada maksimum seviyeye ulaşarak altıncı aya doğru hızla azalır(32). Üçüncü faz ise kemiğin inorganik kısmının kemik matriksi ve mineral kaynağı olarak osteokondüksiyon benzeri etki gösterdiği fazdır(33). Otojen kemik greftleri kemik üzerinde üç etkiyi de gösterebilirler yani; osteoindüktif, osteokondüktif ve osteojeniktirler(19).

#### 2.1.8.2. Allojenik greftler:

Aynı türün farklı genotiplere sahip bireylerinden elde edilen greftlerdir. Kadavralardan elde edilmiş işlenmiş ve kemik bankalarında depolanmış materyallerdir. Kolay elde edilebilmeleri, alıcı saha gerektirmemesi, operasyon ve anestezi süresini kısaltması, kanama ve komplikasyonların azalması gibi avantajları vardır. Bunun yanında alıcının anamnez bilgileri olmadığı için enfeksiyon riski mevcuttur. Bu nedenle farklı işlemlere tabi tutulmuş üç tipi vardır. Bunlar: Taze dondurulmuş, dondurulmuş kurutulmuş ve demineralize dondurulmuş kurutulmuş allogreftlerdir. Kullanıldıklarında kemik iyileşmesi osteoindüksiyon sayesinde olmaktadır. Osteoindüktif ve osteokondüktif etkinliği olup osteogenez etkinliği yoktur(33). Osteoindüktif etkiden demineralize kemik greft materyalleri içerisinde bulunan kemik morfogenetik proteini (KMP) sorumludur(34, 35).

#### 2.1.8.3. Zenojenik greftler

Farklı türlerden elde edilen greftlerdir. Hayvanlardan türetilen kemik minerallerinden ya da kalsifiye olmuş mercan veya alglerin kemik benzeri minerallerinden elde edilir.

#### 2.1.8.4. Alloplastik greftler

Kemik gelişiminde ya da yumuşak doku desteklerinin sağlanmasında kullanılan sentetik ya da biyolojik olarak uyumlu materyallerdir. Kalsiyum fosfat, biyoaktif cam ya da polimer olmak üzere üç çeşidi vardır(19, 33).

## 2. 2. Trombositler ve Büyüme Faktörleri

Trombositler megakaryositler olan dev hücrelerden köken alan hücrelerdir. Çapları 2-4 µm arasında değişmektedir. Çekirdekleri yoktur ve sadece sitoplazmadan oluşurlar. Trombositler vücut dolaşımında 10 gün yaşarlar. Trombosit zarının dış yüzeyinde adezyondan sorumlu glikozaminoglikanlar ve glikoproteinler bulunur. Hücre iç kısmında ise granüller, mitokondri ve glikojen proteinleri bulunur. Granüller yoğunluklarına göre alfa, delta ve lambda granülleri olarak adlandırılır. Delta granülleri adenozin difosfat (ADP), adenozin trifosfat (ATP), kalsiyum iyonları ve pirofosfat içeren yoğun granüllerdir. Plazmadan daha fazla serotonin bulundurlar.



Lambda granülleri sadece lizozom içeren granüllerdir. Bölgedeki pıhtının eritilmesinden sorumludurlar. Diğerlerinden daha büyük çaptaki alfa granülleri fibrinojen, faktör V, çözülebilir adezyon molekülleri (vitronektin, von willebrand faktör), trombosit kaynaklı büyüme faktörleri (trombosit kaynaklı büyüme faktörleri, transforme edici büyüme faktörleri, epidermal büyüme faktörleri, insülin benzeri büyüme faktörleri, fibroblast benzeri büyüme faktörleri, vasküler endotelial büyüme faktörleri) ve proteinler bakımından zengindir. İnflamasyonda, hemostazda ve doku iyileşmesinde esas görevli granüllerdir. Işık mikroskopuyla gözlenebilen granüller; alfa granülleridir(11, 36).

Kırık, patoloji ya da operatif olarak herhangi bir nedenle trombositler aktifleşebilir. Aktifleşen trombositler şekil değişikliğine uğrar. Eksositozla büyüme faktörlerince zengin olan granüllerini hücre dışına salar.

Büyüme faktörleri yara iyileşmesini kontrol eden biyoaktif materyallerdir. Doku rejenerasyonu için hücre göçünü, hücre çoğalmasını ve yeni damar oluşumunu artırmada önemli rolleri vardır(9). Bu faktörler kanda trombositler ve plazma içerisinde bulunurlar.

### **2.2.1. Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri (TKBF)**

Yara iyileşmesinde başlıca görevleri olan ve 27000 ile 30000 dalton arasında kütleyle sahip bir glikoproteindir. İlk olarak 1974'te fibroblastları, damarların düz kas hücrelerini ve glial hücrelerin çoğalmasını uyaran trombosit bağımlı serum faktörü olarak tanımlanmıştır(37). Polipeptid yapıda, ısıya oldukça dayanıklı, katyonik faktördür. Trombositteki alfa granüller içinde yer aldığı gibi makrofajlar, monositler, düz kas hücreleri ve endotel hücreleri tarafından da salgılanabilmektedir(6, 36). A ve B olmak üzere iki polipeptid zincir içerir. Homodimer veya heterodimer olarak AA, BB ve AB alt grupları vardır. (38) Hücre yüzeyinde TKBF- $\alpha$  ve TKBF- $\beta$  olarak iki ayrı reseptör bulunmaktadır. TKBF-BB  $\alpha$  ve  $\beta$  reseptörleriyle sinyal verebilir. Rekombinant formu, tedavi edici olarak kullanılmak için geliştirilebildiğinden evrenseldir. TKBF-BB insülin benzeri büyüme faktörü ve transforme edici büyüme faktörü ile birlikte kemik yapımında görevli hücrelerin çoğalmasında oldukça

etkilidir(39). Mitojenik ve kemotaktik aktiviteleri sayesinde de doku iyileşmesinde görev üstlenebilirler. Fibroblastların ortama gelmesini ve çoğalmasını, makrofajların uyarılmasını ve bağ dokusu oluşumunu artırır. Kemik iyileşmesinde görevli vasküler endotelial büyüme faktörü ve interlökin-6'nın salınımını artırır(40).

Damarların yapılarının oluşumu ve olgunlaşmasında da önemli etkileri olduğu bilinmektedir. Perisitlerin küçük damarlar çevresinde kümelenmesinde rolleri olduğu düşünülmektedir. Vasküler endotelial büyüme faktörleriyle birlikte kullanımının damar gelişimi yönünden etkinliği artırdığı düşünülmektedir(41).

### **2.2.2. Transforme edici büyüme faktörü (TGF- $\beta$ )**

Kütlesi yaklaşık 25000 dalton olan ve disülfid bağlarıyla bağlı iki zincirli dimerik bir polipeptiddir. Kemik morfojenik protein ailesinin de içinde bulunduğu çok geniş bir süper ailenin üyesidir. Otuz izomorfı vardır. Üç farklı gen yapısında bulunabilir. En fazla TGF $\beta$ 1 üretilmektedir(6, 42).

Transforme edici büyüme faktörü kemik iliği hücrelerine, fibroblastlara ve preosteoblastlara parakrin olarak etki edebilir. Aynı zamanda otokrin mekanizmayla da hedef hücrelerden kendi salınımını artırabilir(6).

Kemik iyileşmesi açısından en önemli fonksiyonları rejenerasyon ve yeniden şekillenmedeki etkileridir. Osteoblast öncüllerinin bölgeye çağrılmasını ve çoğalmasını sağlamaktadırlar. Yara ve kemik iyileşmesinde osteoblastların kollajen matrikste birikmesinde görevleri bulunmaktadır. Ayrıca osteoklast formasyonunu ve kemik rezorpsiyonunu baskılayarak iki yönden de kemik yapımını artırmaktadır(42).

### **2.2.3. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)**

Homodimerik proteinlerden oluşmaktadır. Anjiogenezi ve damarlanmayı artırmakta görevlidir. Damar duvarındaki endotel hücrelere etki ederek damar geçirgenliğini artırır. Fibroblastların ve endotelial hücrelerin geçirgenliğini artırır.

Kıkırdak damarsız bir doku olmasına rağmen, neovaskülarizasyon sayesinde kemik büyüme plaklarının oluşumu sağlar. Büyüme plağındaki hipertrofik kondrositler VEBF üretirler. Hücre dışındaki matriksin yeniden şekillenmesi, damarlanması ve kemik oluşumu bu şekilde sağlanır. Kan yapımında da önemli görevleri bulunmaktadır(43).

#### **2.2.4. Trombosit kaynaklı epidermal büyüme faktörü (TKEBF)**

İlk büyüme faktörü olarak 1962 yılında Cohen tarafından tanımlanmıştır. Epidermal rejenerasyonu; epitel, endotel ve mezodermal kaynaklı hücrelerin mitojenitesini uyararak artırır. Keratinositlerin ve dermal fibroblastların çoğalmasını uyararak yara iyileşmesini hızlandırır. Diğer büyüme faktörlerinin üretimini ve etkilerini artırır(44).

#### **2.2.5. Fibroblast büyüme faktörü (FBF)**

Fibroblast büyüme faktörü hücre içi voltaj bağımlı sodyum kanalları ve diğer moleküller için kofaktör görevi gören proteinler ve tirozin kinaz enzimi için gerekli sinyal proteinlerinden oluşur. Direkt olarak çekirdeğe ve diğer hücresel proteinlere etki edebilirler. Fibroblast büyüme faktörleri parakrin ya da otokrin etki yaparak hücrelerin çoğalmasını, hayatta kalmasını, farklılaşmasını ve metabolizmalarını kontrol eder(45).

#### **2.2.6. İnsülin benzeri büyüme faktörü (IBF)**

Tek zincirli 7500 dalton ağırlığında polipeptiddir. IBF-1 %47 oranında insülinle benzer yapıya sahiptir. Kıkırdak büyümesini, kemik matriksinin formasyonunu ve preosteoblastlarla osteoblastların replikasyonunu sağlarlar. Aktive

olduklarında otokrin etkiyle osteoblastik hücrelerdeki alkalen fosfataz miktarını artırır ve direkt olarak hücreleri uyarabilmektedirler. Yara bölgelerindeki makrofajlarda parakrin etkiyle bölgesel mesajlaşmada görev alırlar. TKBF ile birlikte olduğunda yara iyileşmesinin kalitesini önemli oranda artırmaktadırlar(6).

**Tablo 1.** Büyüme faktörlerinin kaynak aldıkları hücreler ve fonksiyonları

Büyüme Faktörleri	Moleküler Özellikler	Kaynak Hücreler	Hedef Hücreler	Etkileri
TKBF	Katyonik polipeptid	Trombositler, makrofajlar, monositler, endotelial hücreler, düz kas hücreleri	Fibroblastlar düz kas hücreleri, glial hücreler, makrofajlar, nötrofiller	Hedef hücrelerde kemotaksis ve mitotik aktiviteyi uyarma, kollajen sentezi ve salgılanması
TBF	2 zincirli polipeptid, insanda 3 farklı gen ürünü: TBF- $\beta$ 1, $\beta$ 2, $\beta$ 3	Trombositler, makrofajlar, lenfositleri, monositler, nötrofiller	Trombositler, endotelial ve epitelyal hücreler, kemik iliği kök hücreleri, preosteoblastlar	Endotelial, fibroblastik ve osteoblastik mitozu uyarma/baskılama, kollajen sentezi ve salgılanması, diğer büyüme faktörlerinin mitojenik etkilerini düzenleme, endotelial kemotaksis ve angiogenezi uyarma
VEBF	Homodimerik polipeptid	Makrofajlar, keratinositler	Endotelial hücreler, fibroblastlar, inflamatuvar hücreler	Damar geçirgenliğini artırma, angiogenezi artırma
TKEBF	Polipeptid	Trombositler, makrofajlar, monositler	Fibroblastlar, endotelial ve epitelyal hücreler	Endotelial kemotaksis ve angiogenezi uyarma, kollajen sentezi ve salgılanması, epitelyal/mezenkimal mitozu uyarma
FBF	Asidik ve bazik polipeptid	Endotelial hücreler, makrofajlar	Endotelial hücreler, fibroblastlar, keratinositler	Mezodermal kökenli hücrelerde, fibroblastlarda kemotaksis, çoğalma ve angiogenezi artırma, yara iyileşmesi, kan hücrelerinin farklılaşması
İBF	Tek zincirli polipeptid	Osteoblastlar, makrofajlar, monositler, kondrositler	Fibroblastlar, osteoblastlar, kondrositler	Kıkırdak büyümesini uyarma, kemik matris formasyonunu, preosteoblastların ve osteoblastların replikasyonu, otokrin ve parakrin etkiler, TKBF ile kombine edildiğinde yara iyileşmesini artırma

(6, 42)

### 2.3. Trombositten Zengin Kan Ürünleri

Doku mühendisliğinin ve ideal bir biyomateryal araştırılmasının temel amacı, defektli bölgede rejenerasyona ve etkili bir yara iyileşmesinin sağlanmasına öncülük edecek bir doku reaksiyonu oluşturabilen materyaller geliştirebilmektir. Böylece defektleri örtecek klinikte uygulanabilir doku uyumlu geçici bariyerler sağlanmış ve doku rejenerasyonu artırılmış olur. Defektli alanın damarlanması da önemli rol oynamaktadır. Bu sayede bölgenin sürekli olarak beslenmesi ve artıkların alandan uzaklaştırılabilmesi sağlanır. Tek başına ya da farklı primer mezenkimal veya endotelial hücrelerle biyomateryallerin kullanımı doku mühendisliğinin klinik uygulamalarında yaygınlaşmıştır. Bununla birlikte hücrelerin işlenebilmesi ve izole edilebilmesi için aseptik koşullardaki ameliyathane ortamlarında zamana ve özel ekipmanlara ihtiyaç vardır. Basit, kolay ve hızlı uygulamalarla hücrelerin elde edilmesi hedeflendiğinde ise bu durumu sağlamak oldukça zordur. Özellikle klinik uygulamalarda bu durum çok fazla önem taşımaktadır.

Ağız, diş ve çene cerrahisi, dental implantlar, maksillofasiyal rekonstrüksiyon ve diğer rejeneratif işlemler gerçek anlamda etkili bir kemik rejenerasyonuna bağlıdır. Greft materyalleri ve bariyer membranlar kemik kalitesini artırmak için sıklıkla kullanılan çeşitli kemik rejenerasyon tekniklerindedir. Başarılı bir kemik greftleme işlemi greft ya da membranlardan hangisi kullanılırsa kullanılsın iyi damarlanmış olabilmemesi, primer olarak kapatılması ve beslenmenin sağlanmasıyla mümkün olur. Moleküler düzeyde hemostatik süreç tam olarak anlaşılammış olsa da trombositlerin sadece hemostazda değil, iyileşme sürecinde de önemli rolü olduğu bilinmektedir. Trombositlerin, yara iyileşmesindeki fizyolojik özelliklerini daha iyi anlayabilmek için yapılan çalışmalar, trombositten zengin plazma, trombositten zengin fibrin, fibrin yapıştırıcı ve adezivler gibi farklı formlardaki trombositlerin terapötik uygulamalarda kullanımında artışa neden olmuştur(8).

İlk olarak 1954 yılında Kingsley kanın pıhtılaşmasında önemli yeri olduğunu belirterek trombositten zengin plazma terimini kullanmıştır(46).

Yaraların kapatılmasında ve yara iyileşmesinin uyarılmasında kandan elde edilen ürünlerin kullanımı ilk olarak yaklaşık 50 yıl önce yoğunlaştırılmış fibrinojen içeren fibrin yapıştırıcılarla başlamıştır(47). 1990'da Gible ve Ness (48), fibrin örtücülere ve fibrin jellere alternatif olarak güçlü hemostatik ve adeziv özellikleri olan

ajanların fibrin yapıştırıcıları geliştirilmesine sundu. Daha sonra fibrin jelin otolog bir modifikasyonu olan trombosit zengin plazma jel tanımlanmış ve başarılı bir şekilde çeşitli klinik uygulamalarda kullanılmaya başlanmıştır(49). 1994 yılında Tayapongsak ve arkadaşları (50) otolog fibrin adezivlerini 33 vakada kansellöz kemiğe ekleyerek mandibula bölgesindeki rekonstrüksiyonu sağlamak için kullanmışlardır. Greftlerin yerleştirilmesi sırasında süngerimsi kemik partiküllerini bağlayıcı avantajları açısından başarılı sonuçlar almışlardır.

### **2.3.1. Trombosit zengin plazma (TZP)**

Trombosit zengin plazma, ilk olarak 1997 yılında maksillofasiyal cerrahide uygulanabilmesi açısından tanıtılmıştır. Trombositlerin jel kıvamındaki TZP'den uyarılmasıyla büyüme faktörlerinin salınımı sayesinde, yara iyileşmesinin hızlandığını savunmuşlardır. Sonuç olarak laboratuvar ortamında ayrıştırma işlemleriyle elde edilen trombosit konsantrasyonları ağız, yüz ve çene cerrahisi alanında da kullanılmaya başlanmıştır.(51)

Marx ve arkadaşları (42) 1998 yılında ilk kez kemik greftleriyle trombosit zengin plazmayı kombine edip uygulayarak ilgi çekici bir çalışma yapmışlardır. Mandibulasında 5 cm ya da daha büyük ölçülerde iyi ve kötü huylu tümör bulunan radyoterapi almamış 88 hastayı 2 gruba ayırmışlardır. Gruplardan birine yalnızca süngerimsi kemik, diğerine ise trombosit zengin plazma ve süngerimsi kemik birlikte yerleştirilmiştir. Yapılan radyolojik ve histomorfometrik değerlendirmelerle trombosit zengin plazma eklenerek greft materyalleri yerleştirilen grubun diğer gruba göre niceliksel olarak daha başarılı olduğunu göstermiştir. Marx tarafından geliştirilen çalışmalar sayesinde dikkatler transfüzyon için kullanılan santrifüj tekniklerinin geliştirilmesine yönelmiştir.

TZP'nin farklı greft materyalleri ile birlikte kullanılmasının, kemik iyileşmesi üzerinde her zaman hızlandırıcı bir etki gösteremediği bilinmektedir. TZP'nin, allogreftler içerisinde canlı hücre olmamasına bağlı olarak allogreftlerle kullanımında osteoindüktif bir etki gösteremediği ancak bununla birlikte otojen kemik ile kullanımının kemik yapımını uyaran ve hızlandıran bir etki gösterebildiği, bölgedeki

canlı osteoprogenitor hücrelerde ve kök hücrelerinde TZP'nin tespit edilebildiği ileri sürülmektedir(52).

Benzer şekilde on adet koyun üzerinde yapılan bir çalışmada farklı allogreftler TZP ile birlikte kullanılarak sinüs lift operasyonu yapılmıştır. Sonuç olarak da TZP'nin allogreft ile birlikte kullanımının kontrol grubuna oranla olumlu bir etki yaratamadığını tespit etmişlerdir(53).

Durmuşlar ve arkadaşlarının (54) 2014 yılında yaptıkları çalışmada ise 18 hastanın maksillofasiyal bölgedeki kemik içi defektlerinin bir tarafına sığır kaynaklı hidroksiapatit kemik greftini kendi kanından elde ettikleri TZP ile birlikte ve diğer tarafına ise yalnız başına kullanmışlardır. Sonuçları ise TZP'nin antijenik olmaması ve kolay kullanılabilmesinin yanı sıra kemik greftleri ile kullanımının kemik ve yumuşak doku iyileşmesi üzerinde belirgin ölçüde olumlu etkilerinin olduğunu tespit etmişlerdir.

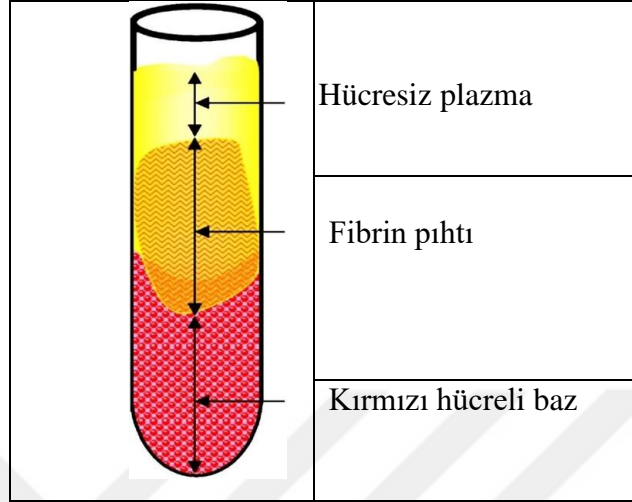
### **2.3.2. Trombositten zengin fibrin (TZF)**

İkinci jenerasyon trombosit konsantrasyonu olarak trombositten zengin fibrin ilk olarak 2001 yılında Fransa'da Choukroun ve arkadaşları (55) tarafından spesifik olarak ağız ve çene yüz cerrahisinde kullanılmak üzere geliştirilmiştir.

Trombosit, lökosit, sitokin ve fibrin matriksle çevrili kök hücreler içeren trombosit konsantrasyonları olduğundan bahsedilmiştir. Elde edilmesinde antikoagülan, trombin ya da herhangi bir jelleştirici ajan gerektirmemektedir(40). TZP'nin elde edilmesinde, kanın pıhtılaşmasını önleyen maddeler ve kalsiyum klorid eklenmesi hızlı bir polimerizasyon sağlar. Ancak TZF'ye bu maddelerin eklenmemesi nedeniyle TZF'nin polimerizasyonu TZP'ye göre daha doğal ve yavaştır. Bu nedenle de TZF sitokinler ve büyüme faktörleri için daha uygun bir fibrin ağı deposu olmuştur(56).

Pıhtılaşma önleyici içermeyen 10 ml'lik tüplere alınan kanın 10 dk. boyunca 3000 rpm hızla yani 400 gr kuvvetle santrifüj edilmesiyle elde edilir. Santrifüj işleminin başlamasından birkaç dakika sonra tüp duvarlarına çarpan çoğu trombosit pıhtılaşma faktörlerini salar. Başlangıçta trombin fibrine dönüşmeden önce fibrinojen

tüpün üst kısmında yoğunlaşır. Daha sonra alttaki kırmızı tanecikler ve üst kısımdaki hücresiz plazma arasında tüpün orta kısmında fibrin pıhtı olarak birikir. Teorik olarak trombositler fibrin ağının içerisinde konumlanmıştır(40)(Şekil 1).



**Şekil 1.** Toplanan kanın santrifüj edilmesiyle ortaya çıkan katmanlar

### 2.3.3. Konsantre büyüme faktörü(KBF)

Farklı bir trombosit konsantrasyonu olan konsantre büyüme faktörü ilk olarak 2006 yılında Sacco (57) tarafından geliştirilmiştir. Trombositten zengin fibrine benzer olarak alınan venöz kanın santrifüj edilmesi ile elde edilir. Konsantre büyüme faktörünü elde edebilmek için trombositten zengin fibrin elde ederken kullanılan santrifüj hızından farklı hızlar kullanılmıştır. Konsantre büyüme faktörünü elde ederken hücrelerin ayrıştırılabilmesi için 2400-2700 rpm hızlarda santrifüj işlemi uygulanır. Bu nedenle trombositten zengin fibrindekenden daha büyük, daha yoğun ve çok sayıda fibrin bloklar oluşur. Bu işlem sonunda meydana gelen fibrin ağının daha iyi bir rejenerasyon ve daha yüksek verimlilik sağladığı gösterilmiştir(58, 59).

Konsantre büyüme faktörü trombositten zengin fibrine göre daha sert bir yapıya sahiptir. Bu durum mekanik olarak konsantre büyüme faktörüne özel bir durum sağlamıştır. KBF TZF'ye göre yüksek gerilme kuvvetine, daha fazla sayıda büyüme faktörüne, yüksek viskoziteye ve yüksek yapışkanlığa sahiptir. Böylece cerrahi



işlemlerde bariyer membranı olarak yumuşak doku iyileşmesini veya kemik greftleri ile karıştırılarak yeni kemik yapımını hızlandırmak amacı ile kullanılabilir. Ayrıca trombosit konsantrasyonlarının sığır kaynaklı trombositlerin aksine enfeksiyon taşıma riski yoktur. Bununla birlikte KBF'nin, bağ dokusuna uygulandığı zaman ağrı, kanama ve inflamasyonu da azalttığı görülmüştür(58).

#### **2.3.4. Geliştirilmiş trombositten zengin fibrin (G-TZF)**

Günümüzde trombositten zengin ürünlerin kullanıldığı yöntemlerin klinik uygulamalarda yaygın olarak kullanılabilmesi için hızlı ve kolay bir şekilde klinik rutine uygun olarak uyumlandırılması gereklidir. Bu yüzden hazırlama ve uygulama arasındaki basamakların mümkün olduğunca azaltılması ve pratikleştirilmesi gerekir. Bu nedenle sağlık sistemi ve hastalar için maddi açıdan gerçekçi, doğal kaynaklı ve hastaya yakın konseptlerin geliştirilmesi sağlanmalıdır. Bu gerekliliklerden ötürü araştırmacılar hastaların kendi kanından elde edilen ürünler olan biyomateryaller geliştirmişlerdir(60). İlk jenerasyon olan trombositten zengin plazmanın doku iyileşmesi üzerine olumlu etkileri bulunmuştur. Ancak antikoagülan ile sığır serumu içerdikleri ve çift santrifüj işlemi uygulandığı için klinik olarak zorlayıcıdır(55). Daha sonra ikinci jenerasyon olan trombositten zengin fibrin geliştirilmiştir. Tek santrifüj işlemiyle etkili sonuçlar alınabilmesi, klinik uygulamalarda kolaylık sağlamıştır. Choukroun ve arkadaşları (60) son olarak geliştirilmiş trombositten zengin fibrini geliştirmişlerdir. Otolog olarak vakumlu ve steril 10 ml'lik cam tüplere alınan kanın 1500 rpm hızda 14 dakika santrifüj edilmesiyle elde edilmiştir.

Kobayashi ve arkadaşları (61) yaptığı çalışmada TZP, TZF ve G-TZF'nin büyüme faktörleri salınımlarını karşılaştırmıştır. Erken dönemde TZP'nin büyüme faktörleri salınım oranı diğerlerinden daha fazla bulunmuştur. Ancak 10 günün sonunda yapılan araştırmada G-TZF'deki büyüme faktörleri salınımı diğerlerine oranla önemli ölçüde daha yüksek çıkmıştır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurul Başkanlığı'nın 2016 tarihli 2016-30-05 protokol numaralı izni ile gerçekleştirilmiştir. Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2016-68370268-01 sayı ve 08/11/2016 tarihli kararı ile desteklenmiş ve projelendirilmiştir.

Çalışmada 6-8 haftalık 200-250 gr ağırlığında 95 adet Wistar albino cinsi erişkin dişi ratlar kullanılmıştır. Ratlar için cerrahi işlem sonrasında  $22\pm 2$  °C sıcaklıkta 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ortamlarda enfeksiyon kontrollerine ve ideal yaşam koşullarına uygun ortamlar sağlanmıştır. Denekler çalışma boyunca özel kafeslerde rat yemi ve su ile serbest olarak beslenmişlerdir.

Çalışmamızda doksan beş adet ratın on beş tanesi trombosit zengin ürünler elde edebilmek için intrakardiyak olarak kan alınması için kullanılmıştır. On beş adet rat tüm kanın alınması nedeniyle aynı zamanda kurban edilmiştir. Donör olan ratların her birinden intrakardiyak olarak yaklaşık 5 ml kan elde edilmiştir. Her bir rattan alınan kanın santrifüjü sonucu yaklaşık 2 ml TZF, KBF ya da G-TZF elde edilmiştir.

Diğer seksen adet rat ise onar adet rattan oluşan sekiz gruba ayrılmıştır. İlk iki grup kontrol grubu olarak seçilmiştir. İlk grupta defekt bölgesi boş bırakılmış ve ikinci grupta ise tek başına otojen greft yerleştirilmiştir. Diğer üç grupta TZF, KBF ve G-TZF tek başına yerleştirilerek flep primer kapatılmıştır. Son üç grupta ise TZF, KBF ve G-TZF otojen greftlerle birlikte yerleştirilmiştir.

#### 3.1. TZF, KBF Ve G-TZF'nin Elde Edilmesi

On beş adet rat 35 mg ketamine hidroklorür (10% [w/v] Ketazol; Richter Pharma AG, Wels, Austria) ve 3 mg/kg xylazine hidroklorür (Rompuns; Bayer, Leverkusen, Germany) intraperitoneal enjeksiyonu ile uyutulmuştur. İntrakardiyak

olarak kanın tamamı (yaklaşık 5 ml) alınarak antikoagülan içermeyen cam tüplere yerleştirilmiştir.

TZF elde edebilmek için Process For PRF Duo (Duo Centrifuge, Process For PRF, Nice, France) cihazında TZF ayarı olan 3000 rpm hızda 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir (Şekil 3). Daha sonra presel yardımıyla TZF tüp içerisinden çıkartılmıştır. TZF'nin altında kalan eritrositleri içeren pıhtı makas yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Daha sonra TZF makas ve bistüri yardımıyla küçük parçalara ayrılmıştır.



**Şekil 2.** TZF elde edilmesi için santrifüj işleminden sonra tüpte oluşan görüntü



**Şekil 3.** TZF ve G-TZF elde edilmesinde kullanılan santrifuj cihazı

Medifuge CGF (MEDIFUGE CGF; Silfradent srl., Forlì, Santa Sofia, Italy) cihazında 2700 rpm de 2 dakika, 2400 rpm de 4 dakika, 2700 rpm de 4 dakika, 3000 rpm de 3 dakikalık çalışması ile KBF elde edilmiştir (Şekil 5). Daha sonra presel yardımıyla KBF tüp içerisinden çıkartılmıştır. KBF'nin altında kalan eritrositleri içeren pıhtı makas yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Daha sonra KBF makas ve bistüri yardımıyla küçük parçalara ayrılmıştır.



**Şekil 4.** KBF elde edilmesi için santrifüj işleminden sonra tüpte oluşan görüntü

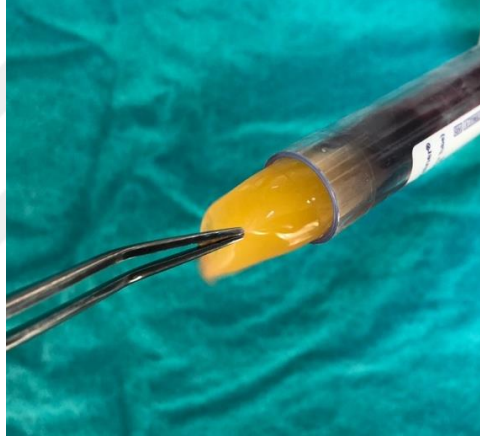


**Şekil 5.** KBF elde edilmesinde kullanılan santrifüj cihazı

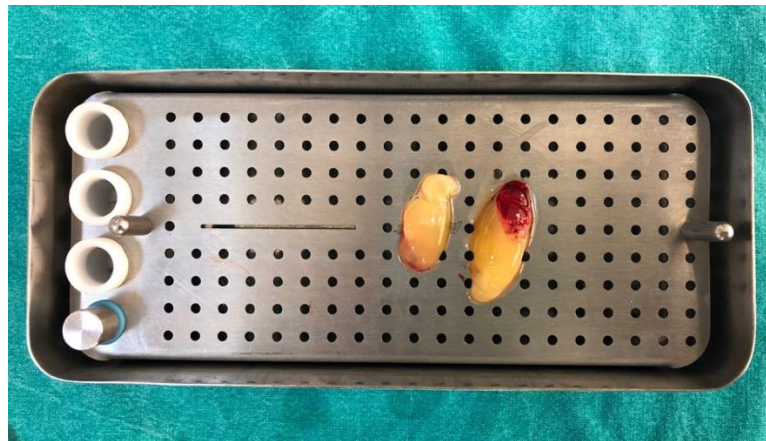
G-TZF için ise Process For PRF Duo (Duo Centrifuge, Process For PRF, Nice, France) 1500 rpm hızda 14 dakika santrifüj işlemi uygulanmıştır. Daha sonra presel yardımıyla G-TZF tüp içerisinden çıkartılmıştır (Şekil 3). G-TZF'nin altında kalan eritrositleri içeren pıhtı makas yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Daha sonra G-TZF makas ve bistüri yardımıyla küçük parçalara ayrılmıştır.



**Şekil 6.** G-TZF elde edilmesi için santrifüj işleminden sonra tüpte oluşan görüntü



**Şekil 7.** Presel yardımıyla G-TZF'nin tüpten çıkarılması



**Şekil 8.** Elde edilen G-TZF

### 3.2. Cerrahi Teknik

Deneklere 35 mg ketamine hidroklorür (10% [w/v] Ketazol; Richter Pharma AG, Wels, Austria) ve 3 mg/kg xylazine hidroklorür intraperitoneal (Rompuns; Bayer, Leverkusen, Germany) enjeksiyonu ile genel anestezi uygulanmıştır. Anestezinin derecesini gözlemleyebilmek için yeterli süre beklendikten sonra anestezi uygulanmamış taraftaki ayak çimdiklenerek tepki ölçülmüştür. Tepki veren hayvanlarda ek doz uygulaması yapılmıştır.

Aseptik koşullar hazırlandıktan sonra operasyona başlamadan önce denekler dorsoventral olarak pozisyonlandırılmıştır. İşlem yapılacak olan bölge polivinilpirolidon-iyot (Batticon; Adeka, İstanbul, Türkiye) içerikli antiseptik solüsyonla silinerek tıraş edilmiştir. Hemostazı sağlamak ve lokal anestezi için ilgili bölgeye articain hidroklorür (Ultracain®; DS, 1:200.000, Aventis, Frankfurt, Germany) uygulanmıştır.

Kafatasının orta bölgesinden kemik teması alınarak sagittal suture hizasında longitudinal olarak kulaklar arasına kadar cerrahi bistüri ile 20 mm cilt insizyonu yapılmıştır. Periyost elevatörü yardımıyla insizyon bölgesinden subkutan dokular ve periyost dokusu eleve edilerek tam kalınlık flep kaldırılarak kranyum ortaya çıkarılmıştır (Şekil 9). Ratların kafatasında bregma noktası referans alınarak midsagittal hattın lateralindeki pariyetal kemikte 5 mm olan kritik defekt boyutu işaretlenmiştir. İrrigasyonla 5 mm çapındaki trefan frez yardımıyla beyin ve duraya zarar vermeden bikortikal kemik kesisi oluşturulmuştur. Soğutma işlemi için %0,9'lük steril sodyum klorür kullanılmıştır. Periyost elevatörü yardımı ile 5 mm çapındaki kemik dokusu dikkatli bir şekilde çıkartılmıştır (Şekil 10). Daha sonra kemik dokusu steril beher içinde küçük parçalara ayrılmıştır.



**Şekil 9.** İnsizyon sonrası kalvaryumun açığa çıkarılması



**Şekil 10.** Kalvaryumdan unilateral olarak 5 mm çapındaki kemik fragmanının çıkarılması

Kritik boyutta defektler oluşturulduktan sonra;

Birinci grupta (boş), on adet rat kalvaryumuna kritik boyutta defekt oluşturulduktan sonra defekt bölgesi boş bırakılarak herhangi bir ek işlem uygulanmadan flep primer kapatılmıştır.

İkinci grupta (otojen kemik), on adet rat kalvaryumuna kritik boyutta defekt oluşturulduktan sonra defekt bölgesine otojen greft yerleştirilip flep primer kapatılmıştır.

Üçüncü grupta (TZF), on adet rat kalvaryumuna kritik boyutta defekt oluşturulduktan sonra defekt bölgesine küçük parçalar halindeki TZF yerleştirilip flep primer kapatılmıştır.

Dördüncü grupta (KBF), on adet rat kalvaryumuna kritik boyutta defekt oluşturulduktan sonra defekt bölgesine küçük parçalar halindeki KBF yerleştirilip flep primer kapatılmıştır.

Beşinci grupta (G-TZF), on adet rat kalvaryumuna kritik boyutta defekt oluşturulduktan sonra defekt bölgesine küçük parçalar halindeki G-TZF yerleştirilip flep primer kapatılmıştır.

Altıncı grupta (TZF+Otojen), on adet rat kalvaryumuna kritik boyutta defekt oluşturulduktan sonra defekt bölgesine otojen greft ve küçük parçalar halindeki TZF yerleştirilip flep primer kapatılmıştır.

Yedinci grupta (KBF+Otojen), on adet rat kalvaryumuna kritik boyutta defekt oluşturulduktan sonra defekt bölgesine otojen greft ve küçük parçalar halindeki KBF yerleştirilip flep primer kapatılmıştır.

Sekizinci grupta (G-TZF+Otojen), on adet rat kalvaryumuna kritik boyutta defekt oluşturulduktan defekt bölgesine otojen greft ve küçük parçalar halindeki G-TZF yerleştirilip flep primer kapatılmıştır.

Denekler 28.günde 35 mg ketamine hidroklorür (10% [w/v] Ketazol; Richter Pharma AG, Wels, Austria) ve 3 mg/kg xylazine hidroklorür intraperitoneal (Rompuns; Bayer, Leverkusen, Germany) enjeksiyonu ile genel anestezi ile uyutulduktan sonra servikal dislokasyonla sakrifiye edilmiştir. Daha sonra deneklerin ense kısmından başlayan horizontal cilt insizyonu ile kalvaryum açığa çıkarılmıştır. Operasyon alanına zarar vermemek için çevredeki sağlam kemik dokusu ile birlikte kalvaryum çıkarılmıştır. Pariyetal kemikler çevre dokulardan diseke edilerek Morse dekalsifikasyon (%10 sodyum sitrat, %20 formik asit) solüsyonuna yerleştirilmiştir.

### **3.3. Radyolojik Değerlendirme**

Elde edilen örnekler formaldehit çözeltisi içerisinde saklanmış ve Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı'nda bulunan mikro bilgisayarlı tomografi (SkyScan 1174, SkyScan, Kontich, Belgium) cihazıyla değerlendirilmiştir. Numuneler 33 µm çözünürlükte 800 mA, 50 kVp, 0,7 rotasyon basamağı ve 2800 milisaniye tarama süresi ile 180° rotasyonda taranmıştır. Tarama ile elde edilen veriler NRecon (SkyScan, sürüm 1.6.4.8; Kontich, Belçika) yazılımı ile kesit görüntüleri elde edilmiştir. Elde edilen görüntüler CTan (SkyScan, sürüm 1.11.10.0, Kontich, Belçika)



isimli yazılımla işlenmiş ve iki ve üç boyutlu ölçümler bu program ile yapılmıştır. Kemik değerlendirilmesi yapılabilmesi için ortaya çıkan görüntülerde defekt bölgesinin alt ve üst sınırları belirlenmiştir. Bu sınırlar içerisinde hacimsel değerlendirme yapılmıştır.

### **3.4. Histopatolojik Değerlendirme**

Radyolojik değerlendirmeleri yapılan örnekler daha sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına getirilmiştir. Tamponlanmış %10'luk formalinde 24-72 saat fikse edilmiş örnekler daha sonra dekalsifiye çözeltisine alınmıştır. Çözelti iki günde bir değiştirilip bir hafta boyunca dekalsifiye edilmiştir. Elde edilen örnekler akar su ile yıkandıktan sonra doku takip prosedürü uygulanmış ve örnekler parafin bloklara gömülmüştür. Parafin bloklarından elde edilen 5 µm kalınlığındaki örnekler hemotoksilen-eozin yöntemiyle boyanıp ışık mikroskopunda incelenmiştir.

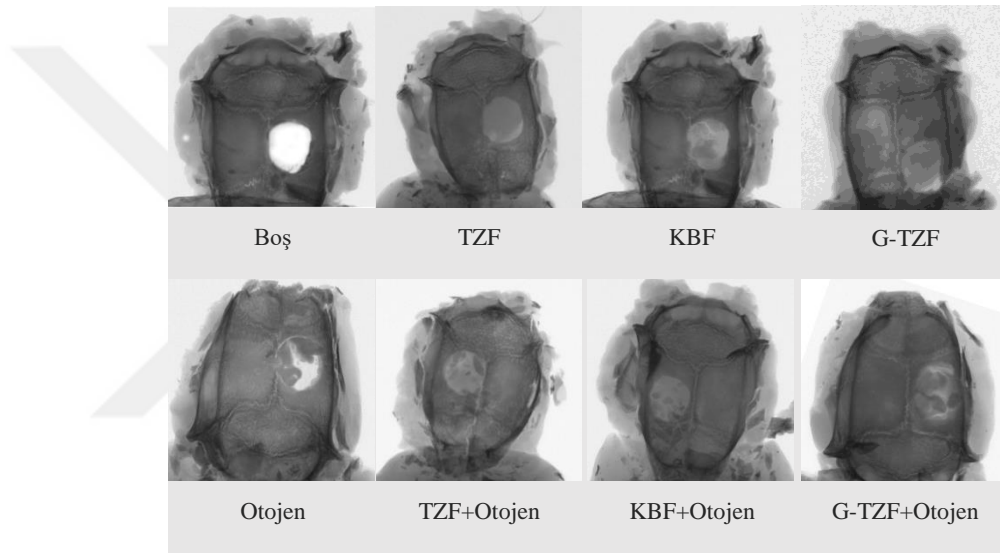
### **3.5 İstatistiksel Değerlendirme**

Her grup için 10 rat olarak %95 güven sınırı ile %80 power için örnek sayısı belirlenmiştir. Verilerin değerlendirilebilmesi için Paket Veri Programı olarak SPSS (Statistical Package for Social Sciences, Chicago IL, ABD) 19.0 kullanılmıştır. Kolmogorov-Smirnov testi ile veriler normal dağılıma uygunluk yönünden araştırılmıştır. Gruplar arası karşılaştırmalarda normal dağılıma uyduğu tespit edilen verilerin Tek Yönlü Varyans Analizi (One-way ANOVA) ve Post Hoc Bonferroni testleri kullanılmıştır.

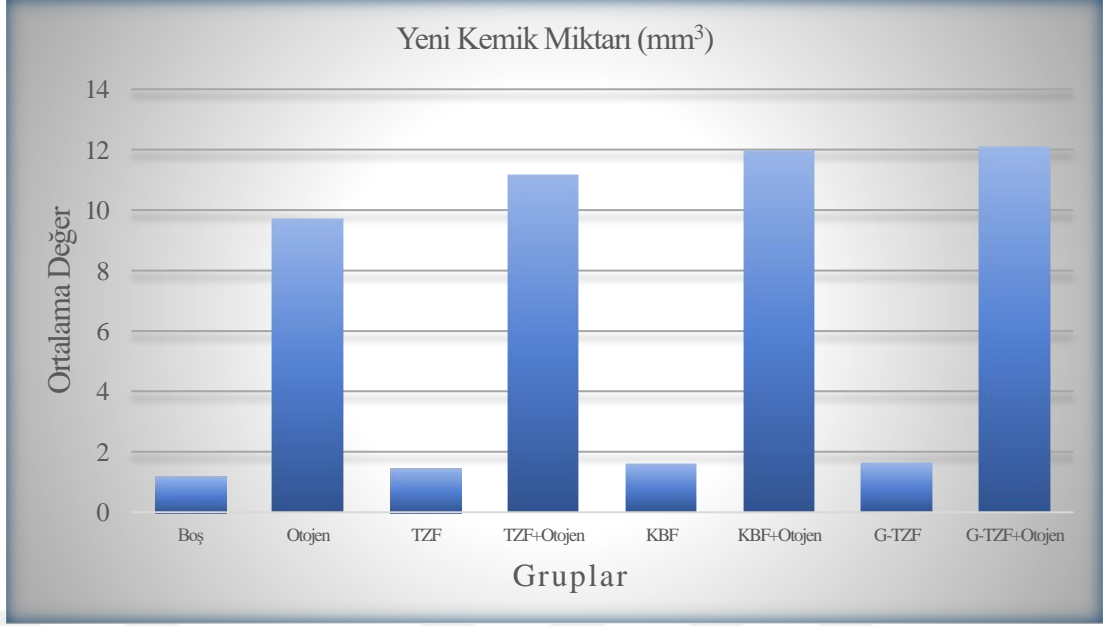
## 4.BULGULAR

### 4.1 Mikro bilgisayarlı tomografi ( $\mu$ -CT) bulguları

Ratların kalvaryumlarına oluşturulan kranyal defektlerin mikro bilgisayarlı tomografi görüntüsü gösterildiği görüntüler Şekil 11’de görülmektedir. Yeni kemik oluşumu miktarlarının gruplara göre dağılımı Şekil 12’de gösterilen grafikte görülmektedir.



**Şekil 11.** Kritik boyutlardaki defektlerin mikro bilgisayarlı tomografi görüntüleri



**Şekil 12.** Mikro bilgisayarlı tomografi ile yeni kemik miktarları ortalamalarının gruplara göre dağılımının grafiği

Elde edilen veriler Tablo 2’ de gösterildiği gibi Bonferroni istatistiksel analizi ile değerlendirilmiştir.

**Tablo 2.** Radyolojik olarak deney gruplarındaki yeni kemik hacim ortalamaları

Gruplar	Ortalama Değer (mm <sup>3</sup> )	Standart Sapma(SS)
Boş	1,176	0,129
Otojen	9,706	1,426
TZF	1,451	0,296
KBF	1,588	0,223
G-TZF	1,610	0,254
TZF+Otojen	11,156	1,975
KBF+Otojen	11,938	1,779
G-TZF+Otojen	12,090	1,767

**Tablo 3.** Radyolojik olarak gruplar arası yeni kemik hacimlerinin karşılaştırılması

(A) Grup	(B) Grup	Ortalamalar arasındaki fark (A-B)	Standart Sapma(SS)	P değeri
TZF+Otojen	Boş	9,979	0,557	0,000
	Otojen	1,450	0,557	0,317
	TZF	9,704	0,557	0,000
	KBF	9,567	0,557	0,000
	G-TZF	9,545	0,557	0,000
	KBF+Otojen	-0,782	0,557	1,000
	G-TZF+Otojen	-0,934	0,557	1,000
KBF+Otojen	Boş	10,761	0,557	0,000
	Otojen	2,232	0,557	0,004
	TZF	10,487	0,557	0,000
	KBF	10,350	0,557	0,000
	G-TZF	10,328	0,557	0,000
	TZF+Otojen	0,782	0,557	1,000
	G-TZF+Otojen	-0,151	0,557	1,000
G-TZF+Otojen	Boş	10,913	0,557	0,000
	Otojen	2,384	0,557	0,002
	TZF	10,638	0,557	0,000
	KBF	10,502	0,557	0,000
	G-TZF	10,480	0,557	0,000
	TZF+Otojen	0,934	0,557	1,000
	KBF+Otojen	0,151	0,557	1,000

Gruplar arasındaki kemik miktarlarının istatistiksel olarak değerlendirmeleri Tablo 3’te gösterilmektedir.

Boş grup için çok düşük miktarda kemik oluşumu gözlemlendiği, defekt bölgesi yumuşak doku ile iyileştiği için radyolojik olarak hemen hemen hiç kemik dokusu oluşumu tespit edilmediği görülmüştür.

Otolog konsantrasyonlardan TZF, KBF ve G-TZF’nin yalnız başına yerleştirildiği gruplarda ise yeni kemik oluşumu varlığı tespit edilmiş olsa da radyolojik verilerimize göre istatistiksel anlamda boş kontrol grubu ile aralarında anlamlı sayılabilecek bir fark bulunmamıştır( $p>0,05$ ).

Otojen kemiğin yalnız başına yerleştirildiği grupta; kranyal defekt bölgesinin kenarları ve yerleştirilen otojen kemik çevresi başta olmak üzere defekt bölgesinde yeni kemik oluşumu boş gruba göre anlamlı seviyede yüksek olarak tespit edilmiştir.

Benzer şekilde otojen greftin tek başına yerleştirildiği kranyal defektteki yeni kemik oluşumunun, otolog konsantrasyonların tek başına yerleştirildiği gruplardakine oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

TZF, KBF ve G-TZF'nin otojen kemikle birlikte yerleştirildiği kranyal defektlerde ise yeni kemik oluşumunun boş kontrol grubuna ve otolog konsantrasyonların tek başına yerleştirildikleri gruplara oranla istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir.

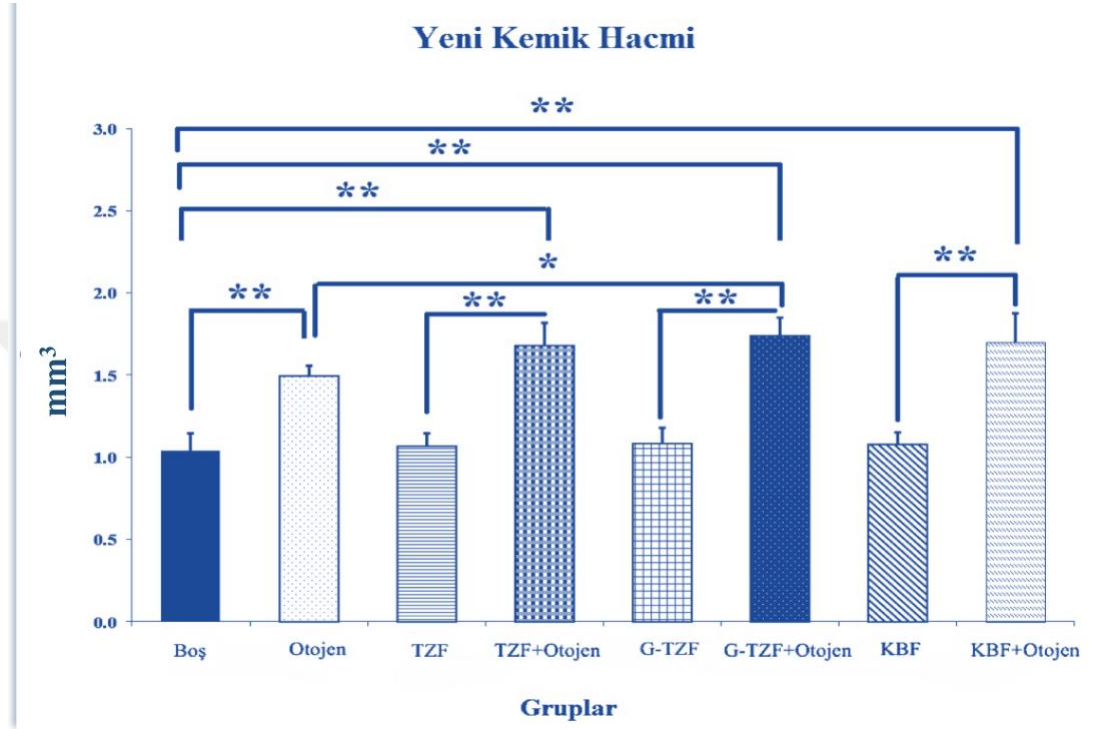
Bununla birlikte otojen greftin tek başına yerleştirildiği grup ile KBF ve G-TZF'nin otojen kemikle birlikte yerleştirildikleri gruplar arasında defekt bölgesinde oluşan yeni kemik miktarı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). Buna karşın TZF'nin otojen greftle birlikte kullanıldığı grupla otojen greftin tek başına yerleştirildiği grup arasında radyolojik sonuçlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ).

G-TZF ile otojen kemiğin birlikte kullanılarak yerleştirildiği kranyal defektteki otojen kemiğin defekt kenarları ile birleşerek defekt bölgesinin büyük bir kısmını örttüğü görülmektedir.

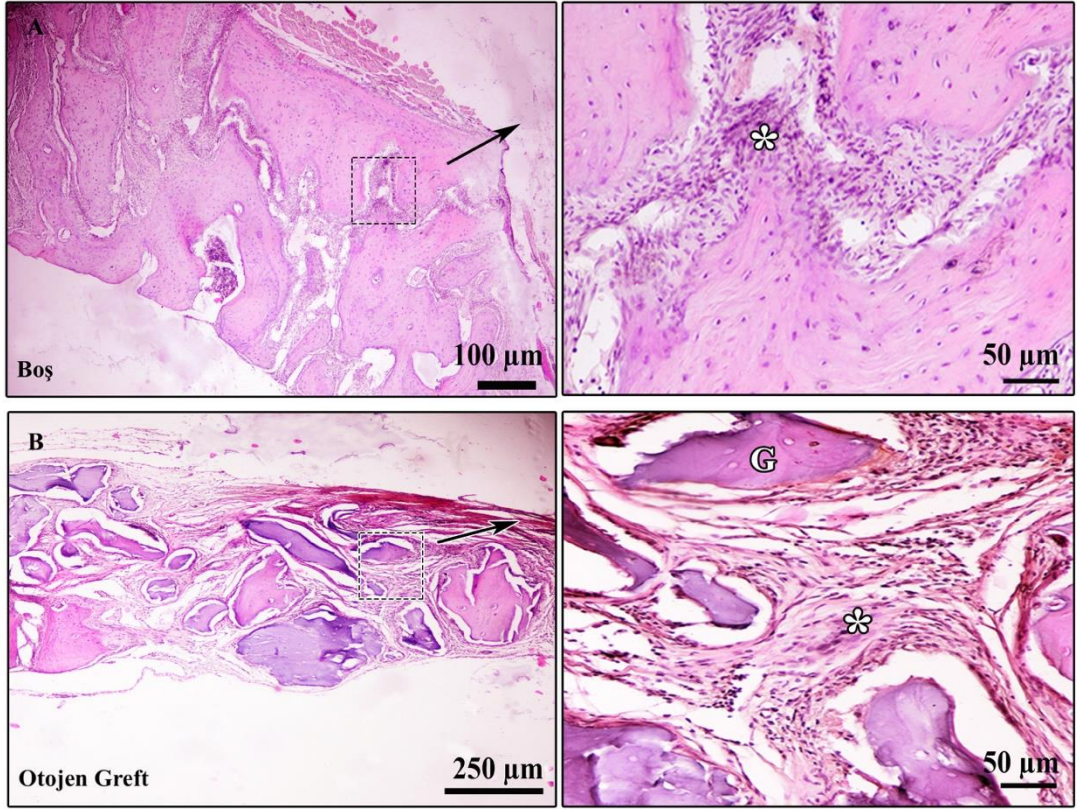
Kendi içerisinde kıyaslama yapılacak olursa, G-TZF ile otojen kemiğin birlikte kullanılarak yerleştirildiği kranyal defektteki yeni kemik oluşumu, TZF ya da KBF ile otojen kemiğin birlikte yerleştirildiği gruplara oranla daha fazla miktarda olduğu bulunmuştur. Ancak bu durum istatistiksel açıdan anlamlı sayılacak ölçüde bir değişim olarak tespit edilmemiştir ( $p>0,05$ ).

## 4.2. Histolojik Sonuçlar

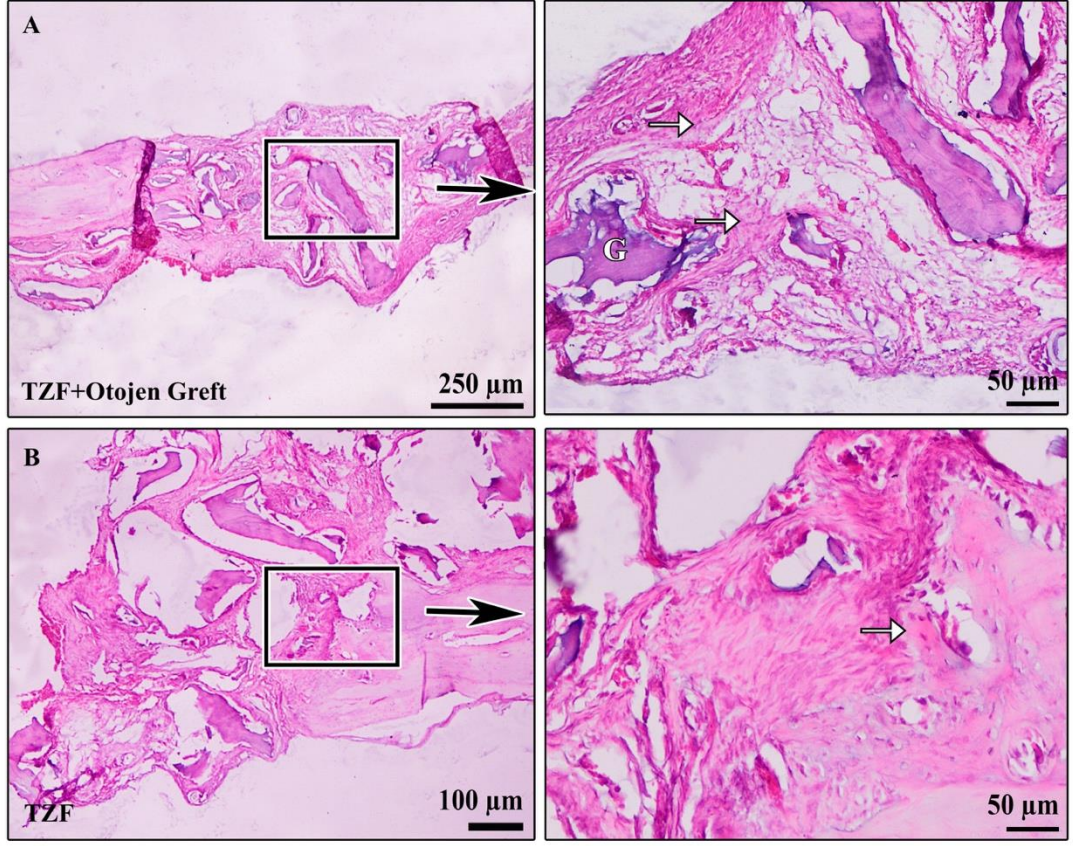
Çalışma gruplarının yirmi sekiz günün sonunda sakrifiye edilen kalvaryumlarının stereolojik değerlendirmesi sonucu elde edilen yeni kemik miktarları Şekil 13'deki gibi gösterilmiştir.



**Şekil 13.** Yeni kemik hacmi açısından gruplar arası anlamlı farklılıkları gösteren grafik sunulmuştur.  $P<0,05$  düzeyindeki farklılık \* ile gösterilirken,  $P<0,01$  düzeyindeki farklılık \*\* ile gösterilmektedir.

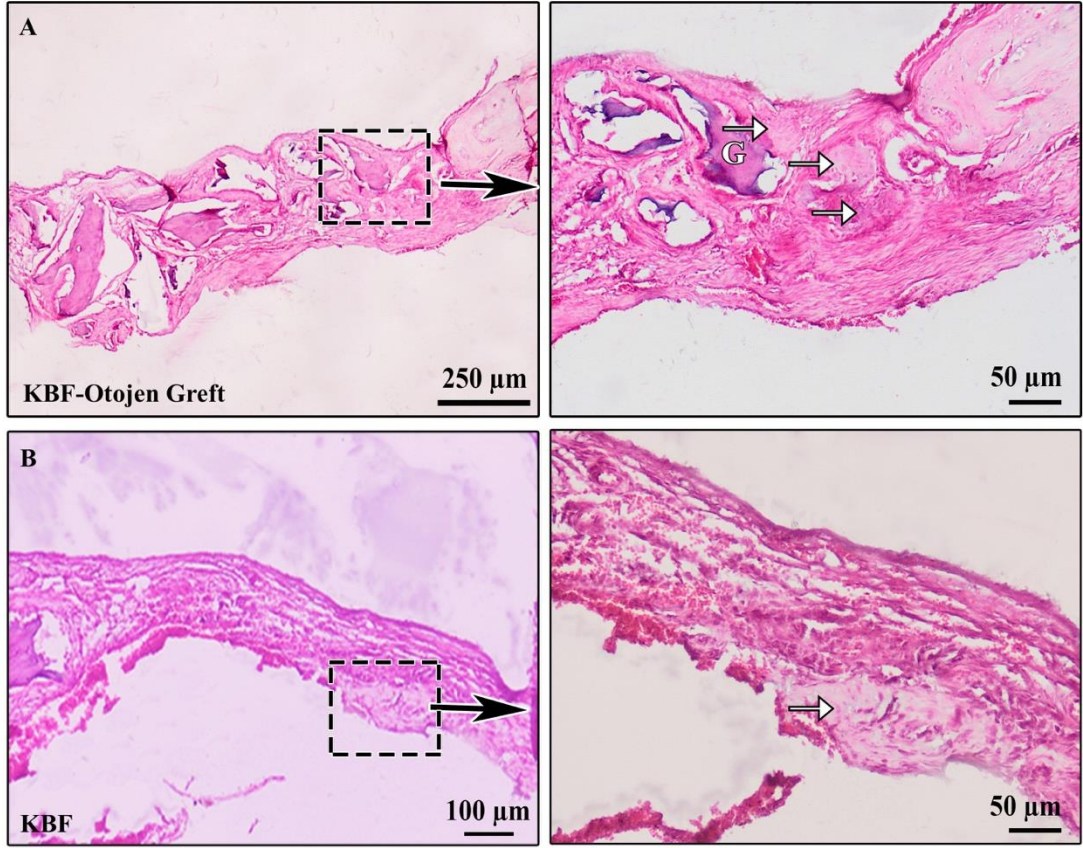


**Şekil 14.** Boş kontrol (A) ve otojen greft (B) gruplarına ait ışık mikroskopik görüntüler. A ve B’de sol taraftaki kare içerisindeki alan büyütülmüş olup sağ tarafta infiltrasyon alanı beyaz renkte yıldız (\*) ile gösterilmiştir. Otojen greft grubundaki greft alanları G harfi ile gösterilmiştir. Işık mikroskopik görüntülerde barlar 50 µm, 100 µm ve 250 µm’yi göstermektedir.

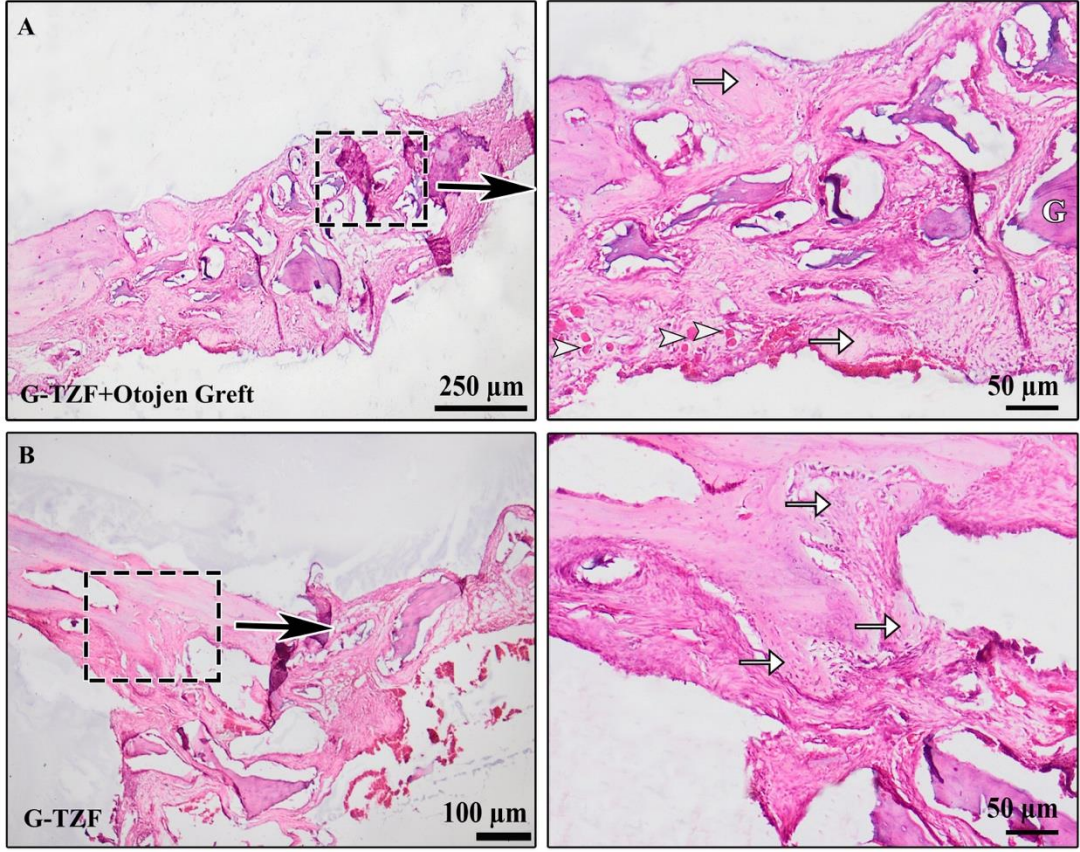


**Şekil 15.** TZF+otojen greft (A) ve TZF (B) gruplarına ait ışık mikroskopik görüntüler. A ve B’de sol taraftaki kare içerisindeki alan sağ tarafta büyütülmüş olup yeni kemik alanları beyaz ok ile gösterilmiştir. TZF+otojen greft grubundaki greft alanları G harfi ile gösterilmiştir. Işık mikroskopik görüntülerde barlar 50 µm, 100 µm ve 250 µm’yi göstermektedir.





**Şekil 16.** KBF+otojen greft (A) ve KBF (B) gruplarına ait ışık mikroskopik görüntüler. A ve B’de sol taraftaki kare içerisindeki alan sağ tarafta büyütülmüş olup yeni kemik alanları beyaz ok ile gösterilmiştir. KBF-otojen greft grubundaki greft alanları G harfi ile gösterilmiştir. Işık mikroskopik görüntülerde barlar 50 µm, 100 µm ve 250 µm’yi göstermektedir.



**Şekil 17.** G-TZF+otojen greft (A) ve G-TZF (B) gruplarına ait ışık mikroskopik görüntüleri. A ve B’de sol taraftaki kare içerisindeki alanlar sağ tarafta büyütülmüş olup yeni kemik alanları beyaz ok ile gösterilmiştir. Ok başları ise vajinasyon bölgelerine işaret etmektedir. G-TZF-otojen greft grubundaki greft alanları G harfi ile gösterilmiştir. Işık mikroskopik görüntülerde barlar 50 µm, 100 µm ve 250 µm’yi göstermektedir.

Stereolojik değerlendirme sonucu elde edile veriler Bonferroni istatistiksel analizi ile değerlendirilmiştir (Tablo 4).

**Tablo 4.** Stereolojik olarak deney gruplarındaki yeni kemik hacim ortalamaları

<b>Gruplar</b>	<b>Ortalama Değer(mm<sup>3</sup>)</b>	<b>Standart Sapma(SS)</b>
Boş	1,038	0,107
Otojen	1,535	0,190
TZF	1,067	0,077
KBF	1,081	0,066
G-TZF	1,086	0,089
TZF+Otojen	1,662	0,159
KBF+Otojen	1,702	0,175
G-TZF+Otojen	1,742	0,105

Boş grupta sadece fibrozis ile iyileşme olduğu ve yeni kemik dokusuna rastlanılmadığı ancak TZF, KBF ve G-TZF'nin tek başına yerleştirildiği gruplarda ise yeni kemik oluşumunun başladığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte boş grupla TZF, KBF ve G-TZF'nin tek başına yerleştirildiği grup arasında yeni kemik dokusu açısından anlamlı sayılacak bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

Otojen kemiğin yalnız başına yerleştirildiği defekt bۆlgesinde yerleştirilen greftin etrafında ve defekt kenarlarında yeni kemik yapımının mevcut olduğu tespit edilmiştir. Boş kontrol grubu ile otojen kemik arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

TZF, KBF ve G-TZF'nin otojen kemikle birlikte yerleştirildiği kranyal defektlerde ise yeni kemik oluşumunun tespit edildiği; boş kontrol grubuna ve otolog konsantrasyonların tek başına yerleştirildikleri gruplara oranla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yeni kemik dokusunun daha fazla olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ).

Otojen kemiğin yalnız başına yerleştirildiği grup ile TZF+otojen kemik ve KBF+otojen kemik grupları arasında histolojik değerlendirmeye gۆre anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p=0,866$ ;  $p=0,139$ ).

G-TZF ile otojen kemiğin birlikte kullanılarak yerleştirildiği kranyal defektteki otojen kemiğin defekt bۆlgesinde kemik dokusu yapımını artırdığı belirgin bir şekilde gۆrۆlmektedir. Otojen kemiğin tek başına yerleştirildiği grup ile kıyaslandığında ise, G-TZF+otojen kemik grubuna ait yeni kemik hacminde anlamlı dۆzeyde artış olduğu tespit edilmiştir( $p=0,017$ ).

G-TZF+otojen grubu ile TZF+otojen grubuna ait yeni kemik hacimleri arasında da herhangi bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

Benzer şekilde, G-TZF+otojen kemik grubu ile KBF+otojen kemik grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Tablo 5.** Stereolojik olarak gruplar arası yeni kemik hacimlerinin karşılaştırılması

(A) Grup	(B) Grup	Ortalamalar arasındaki fark (A-B)	Standart Sapma(SS)	P değeri
TZF+Otojen	Boş	0,643	0,048	0,000
	Otojen	0,187	0,048	0,866
	TZF	0,614	0,048	0,000
	KBF	0,601	0,048	0,000
	G-TZF	0,596	0,048	0,000
	KBF+Otojen	-0,020	0,048	1,000
	G-TZF+Otojen	-0,060	0,048	1,000
KBF+Otojen	Boş	0,664	0,048	0,000
	Otojen	0,207	0,048	0,139
	TZF	0,635	0,048	0,000
	KBF	0,621	0,048	0,000
	G-TZF	0,616	0,048	0,000
	TZF+Otojen	0,020	0,048	1,000
	G-TZF+Otojen	-0,039	0,048	1,000
G-TZF+Otojen	Boş	0,703	0,048	0,000
	Otojen	0,247	0,048	0,017
	TZF	0,675	0,048	0,000
	KBF	0,661	0,048	0,000
	G-TZF	0,656	0,048	0,000
	TZF+Otojen	0,060	0,048	1,000
	KBF+Otojen	0,039	0,048	1,000

## 5. TARTIŞMA

Kemik deformitelerinin düzeltilmesinde ve osteoindüktif biyomateryallerin araştırılmasında birçok hayvan modeli kullanılabilir. İdeal bir hayvan modeli kolay ve fazla sayıda üretilebilmeli, ilgili klinik işlem için farklı materyallerin ve operasyonların kullanımına uygun olmalı, birçok analiz için kullanılabilir, çalışma sırasında kolay hastalanmamalı ve mortalite oranı düşük olmalıdır(2).

Hayvan modelleri değerlendirilirken; istatistiksel değerlendirme için yeterli veri sağlayabilecek zaman gerektirmesi, çalışma maliyetinin düşük olması ve araştırmacı için deney aşamalarının gerçekleştirilmesini öğrenebilmek açısından kolay olması dikkat edilmesi gereken diğer faktörlerdendir(62).

Ratlar, insan hastalıklarının incelenmesi açısından diğer hayvanlara oranla daha fazla avantaj sağlayan bir örnek olmaktadır. Rat fizyolojisi insanlarınkine çok benzemektedir. Deneyler sırasında, ratların fizyolojilerini izleyebilmek oldukça basittir. Üretimleri hızlı ve kolaydır. Bilgi ve hafıza ile ilgili çalışmalarda rahatça kullanılabilir. Çünkü diğer deney hayvanlarına oranla öğrenme ve hafıza kapasiteleri yüksektir. Ratlar, farelerden daha akıllı oldukları için bilinç gerektiren deneylerde de daha çok kullanılmaktadırlar(63). Ayrıca ratlar üzerinde, kemik iyileşmesinde ve gelişiminde katkıları için büyüme faktörlerinin kullanımı ile ilgili histolojik ya da radyolojik araştırmaların uzun süredir yapılabildiği bilinmektedir(64-66).

Çalışmada da kolay elde edilebilmesi, bakımının rahat ve ucuz olması, çalışmadaki materyallerin kullanımı ve uygulanacak değerlendirilme tekniklerine uygun olması nedeniyle ratlar kullanılmıştır.

Kemik iyileşmesi üzerindeki etkinliğini araştırdığımız, operasyon bölgesine yerleştirilmesi planlanan, trombosit zengin ürünlerin elde edilebilmesi için ratlardan kan alınması gerekmektedir. Kardiyak punktur deney hayvanlarından çok miktarda kan almak gerektiğinde kullanılan rutin yöntemlerden biridir. Parasuraman ve arkadaşlarının (67) 2010 yılında yaptıkları çalışmada biyomedikal araştırmalarda deney hayvanlarından kan almanın en önemli prosedürlerden biri olduğunu ve basit bir hatanın bile sonuçları değiştirebileceğini savunmuşlardır. Çalışmalarda genel olarak, deney hayvanlarından tek, iyi kalitede ve büyük miktarda kan toplanması için kalp ponksiyonunu önermişlerdir. Kalbin kollaps olmasını engellemek için kanın

ventrikülden yavaşça alınması gerektiğini vurgulamışlardır. Anestezi uygulamasından sonra işlem için 1 ila 5 ml enjektör ile 19 ila 25 G iğne ve kan örneği toplama tüpleri gerekli görmüşlerdir(67, 68). Araştırmada 15 adet rat TZF, KBF ve G-TZF elde edebilmek için enjektör ile tüplerimize intrakardiyak kan alarak sakrifiye edilmiştir.

Deney hayvanlarının kranyumlarındaki kemik deformatelerinin rejeneratif kapasitelerinin insanlarınkine oranla daha fazla olduğu bilinmektedir. Morfolojik ve embriyolojik olarak kranyum intramembranöz gelişim gösterir. Bu yüzden kranyum, çene ve yüz bölgesinde bulunan diğer kemiklere benzemektedir. İki kortikal tabakadan oluşan kranyum anatomik olarak da mandibulaya benzerlik gösterir. Fizyolojik olarak da kranyumdaki kortikal kemik, atrofik mandibulayla benzer özellikler gösterir(22, 69, 70).

Kranyumun etrafında bulunan periosteum ve dura, kranyal defektlerin beslenmesinde oldukça etkilidir. Ayrıca oluşturulan defekt bölgesi ölü boşluk kalmaksızın rahatça primer olarak kapatılabilmektedir. Böylece boşluklara fibroblast göçünün azaltılmasıyla kemik iyileşmesinin artması da sağlanmış olur(71, 72).

Rat gibi küçük boyutlardaki deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda, artmış kortikal yoğunluğu, kemik kütlesi ve kemik boyutu açısından iskeletsel örnek teşkil etmesi nedeniyle femur kemiğinin kullanılması uygun olarak tanımlanmışken, kraniomaksillofasial kompleks yapılarına örnek teşkil etmesi açısından kemik kaybı ve düşük mineral yoğunluğu nedeniyle mandibula ve kalvaryum kemiklerinin kullanılması uygun olarak tanımlanmıştır. Buna göre, kalvaryal kemik, küçük hayvan modellerinde genellikle kemik dokusunu içeren operasyonlar ve bunların komplikasyonlarına yatkın olması, dahili veya eksternal fiksasyon kullanılmadan biyomateryallerin yerleştirilmesine izin vermesi nedeniyle kritik boyutlardaki defektler oluşturulması için oldukça uygundur(73).

Femur ya da mandibula kırıkları ile oluşturulan defektlerde, internal ya da eksternal fiksasyonla stabilizasyon gereklidir. Stabilizasyon için ekstra malzeme kullanılması gerektiği için maliyet de artmaktadır. Deney hayvanlarının hareket ettirmek için bu kemiklerin etrafındaki kas dokularını kullanarak kuvvet uygulaması nedeniyle enfeksiyon ve immobilizasyon riski artmaktadır. Rat kalvaryumu stabilizasyon için fiksasyon gerektirmeyen ve kolay, hızlı bir şekilde üretilen defektler oluşturmak açısından oldukça elverişlidir(2, 74).

Femur endokondral kemik büyümesi açısından iyi bir örnek olmasına rağmen bu durum femurun büyük boyutlarda olması ve konvansiyonel statik bir kemik

büyümesi açısından geniş bir büyüme ortamı gerektirmesi nedeniyle de önemli bir dezavantaja sahiptir(75).

Mandibula kırıkları ile yapılan çalışmalarda ise cerrahi zorluklardan dolayı küçük hayvanlar çok tercih edilmemektedir. Mandibula kırıkları ile yapılan çalışmalarda köpek ve maymunlar ideal modellerdir(22).

Yapılan bazı çalışmalarda kemik kültürü modelleri için kalvaryum seçiminin intramembranöz kemik büyümesi nedeniyle kolay bir yöntem olduğunu bildirilmiştir. Aynı zamanda ek olarak basit bir biyokimyasal analiz için yeterli malzemenin sağlanması için de avantaj sağlamaktadır(76, 77).

Femur veya mandibulada oluşturulan defektlerin literatürlerde bahsedilen dezavantajlarından dolayı çalışmamızda kritik boyutlarda defekt oluşturulması için bu kemikler tercih edilmemiştir. Kullanılan jel kıvamındaki trombosit zengin ürünlerin kolayca yerleştirilmesini sağlayabilmek, insan fizyolojisine benzer bir kemik iyileşmesini sağlayabilmek, enfeksiyon ve stabilizasyon komplikasyonlarından kaçınabilmek, yeni kemik dokusu tespiti amacıyla histolojik ve radyolojik değerlendirmeleri yapabilmek için ratların kalvaryumu seçilmiştir.

Maksillofasiyal cerrahi ve ortopedi pratiğinde, herhangi bir nedenle oluşan, kırıklarda veya kemik defektlerinde meydana gelen, iyileşememe ya da kemik yapımında yetersizlik sıkça karşılaşılan komplikasyonlardandır. Bu komplikasyonların deneysel olarak hayvanlarda oluşturulması kolay değildir. Deney hayvanlarında bu şekilde tek başına iyileşemeyen kemik defektlerinin oluşturulmasında iki teknik geliştirilmiştir. Birinci teknik kemiğin sadece rejenerasyonunu bozarak ya da engelleyerek yapay olarak oluşturulan defektlerdir. İkinci teknik ise kemik yapımının hiç olmadığı, doğal olarak kendiliğinden iyileşemeyecek kadar büyük defektler oluşturulmasıdır. Bu teknikle kritik boyutta defekt oluşturulmasına bağlı bir iyileşememe durumu meydana gelmiş olur(22).

Çalışmada ikinci teknik kullanılarak tek başına iyileşmenin olamadığı defektler oluşturularak yeni kemik miktarı oluşumu değerlendirilmiştir. Bu amaçla kritik boyutta oluşturulan defektler tercih edilmiştir.

Kemik iyileşmesinin değerlendirilmesi için bir model olarak kritik boyutlarda defekt kavramı maksillofasiyal bölgedeki kemiklerin onarımı için herhangi bir materyalin incelenmesi açısından standartlaştırılmış bir protokol olmuştur. Erişkin ratların kalvaryumunun pariyetal kemiklerine açılan defektlere yerleştirilen materyallerin, toksisite ve etkinlik açısından değerlendirilmesi ucuz ve kolay bir

tekniktir. Bu defektler, ufak parçalar halindeki ya da jelimsi kıvamdaki materyallerin yerleştirilmesi için oldukça uygundur. Rat ve tavşanların kalvaryumlarının ince olması, yüksek çözünürlüklü radyolojik incelemelerde ve görüntülerin histolojik korelasyonunda kolaylık sağlamaktadır. İnsanlar üzerinde yapılması planlanan uygulamalar için örnek teşkil edebilecek deneylerde kullanılan insan dışı canlılar hayvan modeli olarak kabul edilmektedir. Sonuç olarak maksillofasiyal cerrahide kemik onarımında kullanılacak yeni bir materyal araştırması için materyalin osteojenik potansiyelinin, otojenik kemik greftleriyle karşılaştırılması ile belirlenebilir(78). Çalışmada ratların kalvaryumlarına kritik boyuttaki defektler oluşturarak kemik iyileşmesini doğru ve standart bir şekilde gözlemleyebilmek hedeflendi.

Literatürde denekler üzerinde farklı boyutlarda defektler oluşturulduğu bilinmektedir. İlgili çalışmalar incelendiğinde ratlarda en sık kullanılan kritik defekt boyutlarının 5 ile 8 cm arasında olduğu saptanmıştır(79).

Kranyal defektlerde 5, 6, 7 ve 8 mm boyutlarındaki defektlerin sıkça kullanılmasıyla birlikte, mümkün olduğunca küçük boyutların tercih edilmesi işlemlerin komplikasyon riskini azaltır. Ayrıca operasyon sonrası hayvanlardaki ağrı ve stres de minimize edilmiş olur. Bununla birlikte ratların pariyetal kemiklerinin boyutları göz önüne alındığında küçük boyutlardaki defektler bilateral defekt yapılması planlanan çalışmalarda defektlerin sığdırılabilmesi için olanak sağlar(79, 80). Bununla birlikte bilateral olarak açılan defektlerde ise lokal olarak uygulanan jeller veya sıvılar gibi düşük viskoziteye sahip biyomateryaller veya büyüme faktörlerinin, yan yana olan defektlerin yakınlığı nedeniyle kontrol bölgesinde kontaminasyon riski mevcuttur. Literatürlerde 6 ve 7 mm boyutlarında kranyal kritik defektler kullanılarak yapılan çalışmaların sayısı diğer boyutlarla yapılan çalışmalara oranla oldukça azdır. Bu nedenle bu boyutlardaki defektler kemik yapımı konusunda değerlendirme yapabilmemiz açısından yeterli güvenilirliği sağlayamamaktadır(79).

Bosch ve arkadaşları (81) yaptıkları çalışmada 56 adet 6 aylık Wistar ratın pariyetal kemiklerine çift taraflı 5 mm'lik kritik boyutta defektler açmışlardır. Defektlerin sol tarafı boş bırakılırken sağ tarafına kemik yapımını artıran demineralize kemik matriksi ya da hidroksiapatit yerleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan 48 adet rat 6 ay sonra ve 8 adet rat ise 12 ay sonra sakrifiye edilerek histolojik değerlendirme yapılmıştır. Materyallerin yerleştirildiği defektlerde yeni kemik formasyonu gözlenirken, boş bırakılan defektlerde ise kemik rejenerasyonu gözlenmediği ve



sadece fibröz doku ile iyileşme olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte ratların kalvaryumlarına açılan 8 mm'lik defektlerin kullanıldığı çalışmalarda ise sadece merkezi konumda, iki pariyetal kemiği ve midsagittal süturu içeren defektler açılabilirdiğinden, işlem sırasında kanama gibi komplikasyonlar ve operasyon zorlukları nedeniyle sonuçların olumsuz olarak etkilenebileceğini savunmuşlardır. Bu iki farklı boyuttaki defektinin karşılaştırılmasıyla, 5 mm'lik defektlerde operasyon sırasında sagittal sinüste yaralanma olasılığına bağlı olarak hemoraji ve nörolojik komplikasyonlara neden olma riskinin azalması gibi çeşitli avantajlar bulunduğunu tespit etmişlerdir. Sonuç olarak rat kalvaryumlarına açılan 5 mm'lik defektlerin, kraniomaksillofasiyal bölgedeki kemik rejenerasyonlarını uyarmada kullanılacak olan, kemik yapımını artıran materyallerin etkinliğini araştırmak için yeterli bir deneysel model olduğunu kanıtladıklarını savunmuşlardır(81).

Yapılan çalışmada da operasyon sırasında ve sonrasında oluşabilecek komplikasyon risklerini azaltmak, hayvanların işlem sonrası ağrı ve stresini en aza indirerek hayat standartlarını maksimum seviyede koruyabilmek amacıyla en uygun boyutlarda bir defekt oluşturulması planlanmıştır. Bu amaçla ratların yaşı ve kilosu göz önünde tutularak yukarıda bahsedilen literatürdekilere uygun bir şekilde yaygın olarak kullanılan 5 mm'lik defekt boyutu kullanılmıştır. Çalışmada, kemik yapımını artırması için jel kıvamındaki trombosit zengin ürünler kullanıldığı için, kontaminasyon ve komplikasyon riskini azaltmak amacıyla defektler, ratların pariyetal kemiklerine midsagittal süturu içermeyecek şekilde unilateral olarak oluşturulmuştur.

Araştırmacılar; ağız, diş ve çene cerrahisi klinik uygulamalarında kemik deformitelerinin ideal rekonstrüksiyonunu sağlayabilmek için çalışmalar yapmaktadırlar. Bunun için kemik greftleme tekniklerini sürekli olarak geliştirmektedirler. Kemik defektlerinin, tek başına ya da kemik greftleriyle birlikte daha yoğun ve daha hızlı bir şekilde rejenerasyonunu sağlayabilmek için yeni materyal ve yöntem araştırmaları yapmaktadırlar(82). Kemik rejenerasyonunda kullanılan otojen kemik greftleri halen altın standart olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte diğer greft materyalleri de alternatif olarak sıkça kullanılabilir(83).

Kemiksel deformitelerin rekonstrüksiyonunda, otojen kemik greftleri osteojenik, osteoindüktif ve osteokondüktif etkileri sayesinde öncelikle tercih edilen greft materyalleri olarak kullanılmaktadır (84). Otojen kemik grefti, içerisinde bulundurduğu osteoprogenitor etkili hücreler sayesinde, defektlere yerleştirildiği andan itibaren osteogenez etkinliğini 2 hafta boyunca göstermektedir.

Osteoindüksiyon etkinliği ise 2 ile 6 hafta arasında başlar ve yaklaşık olarak 6 ay boyunca devam eder(33).

Koyun femurlarında yapılan bir çalışmaya göre, oluşturulan çift taraflı defektlerin bir tarafına otojen kemik grefti uygulanmış, diğer tarafına ise herhangi bir materyal yerleştirilmemiştir. Boş bırakılan grupta fibrotik iyileşme gözlenmekteyken otojen greft yerleştirilmiş grupta sağlıklı süngerimsi kemiğe benzer yapıda bir kemik dokusu oluşabildiği saptanmıştır(85).

Baston ve arkadaşları (86) 2014 yılında yayınladıkları bir vaka raporunda, hastanın kalvaryumundan elde ettikleri otojen kemiği parçalara ayırdıktan sonra, atrofik maksiller sinüs bölgesine yerleştirerek kemik ogmentasyonu sağlamışlardır. Operasyondan 6 ay sonra implantlar yerleştirilmek üzere bölge açıldığında ön ve arka kısımlarından histolojik değerlendirme için 2 ayrı örnek almışlardır. Histolojik değerlendirmede greft bölgesinin dış tabakasında nekroz olmasına karşın iç kısmının osteojenik aktivitesinin sağlıklı olduğunu tespit etmişlerdir. Hastanın 2 yıl boyunca radyolojik takipleri sonucu kemik iyileşmesinin ideal olduğunu tespit etmişlerdir. Sonuç olarak kalvaryumdan elde edilen otojen kemiğin kemik ogmentasyonu için uygun ve başarılı olabildiğini savunmuşlardır. Bu nedenle çalışmamızda altın standart olarak kabul edilen otojen greftin, kemik rejenerasyonundaki etkisini artıracak materyallerle birlikte kullanılması hedeflenmiştir. Bununla birlikte araştırmada boş kontrol grubu ile otojen kemiğin tek başına yerleştirildiği grup arasında anlamlı fark bulunması, yukarıdaki çalışmalar tarafından da desteklenmektedir.

Otojen kemik grefti elde edilmesinde farklı teknikler ve materyaller kullanılmaktadır. Çalışmada defektleri oluşturmak ve defektlerden elde edilen otojen kemikleri greft materyali olarak kullanabilmek için trefan frezler kullanılmıştır. Bu sayede aynı boyutlarda defektler oluşturularak standart bir araştırma yapılması sağlanmıştır. Benzer şekilde yapılan bazı çalışmalarda da greft elde edilmesinde kullanılan trefan frezlerin bazı avantajları bulunduğu savunulmuştur(87). Kullanımının basit ve kolay olduğu, komplikasyon yaratma riskinin düşük olduğu, bazı materyallere oranla daha ucuz olduğu ve standart boyutlarda defektler oluşturulabildiği belirlenmiştir. Ağız içinde mandibulada simfiz ve ramus bölgesinde, maksillada tüber bölgesinde ve ağız dışında ise iliak kemikten otojen greft elde edilmesinde sıkça kullanılmaktadır. Hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda trefan frez kullanımının greft toplamada kolaylık sağladığı ve donör sahada daha az komplikasyon yarattığı tespit edilmiştir(87-89).

Donör sahadan toplanan greft materyalleri blok ya da partikül halde alıcı bölgeye transfer edilebilmektedir. Yapısal bütünlük sağlayabilen ve stabil olarak yerleştirilebilen blok greft materyaller aynı zamanda minimum rezorpsiyon göstermektedir(84). Bununla birlikte rijit bir fiksasyon sağlayarak alıcı sahaya yerleştirilmesinin zorluğu, enfeksiyon riski, greftin zarar görebilme ihtimali ve flep altında kanlanmasının zorluğu gibi nedenlerle beslenememe gibi dezavantajları bulunmaktadır. Partikül greftlerin etrafında blok greftlere oranla daha kolay yeni kan damarı oluşabilmesi ve bu nedenle daha kolay beslenerek hızlıca olgunlaşabilmesi sağlanmaktadır(33, 90, 91).

Benzer nedenlerle, büyüme faktörünün kemik rejenerasyonu üzerindeki etkinliği için yapılan birçok araştırmada kalvaryal defektlerde tek başına veya diğer materyallerle kolay karıştırılarak kullanılabilmesi için de partikül forma dönüştürülmüş otojen kemik grefti kullanılmıştır(2, 92). Çalışmada da otojen greftin jel kıvamındaki fibrin konsantrasyonlarla karışımını ve birleşimini kolaylaştırmak, greftin kanlanmasını artırarak olgunlaşmasını hızlandırmak için kalvaryumdan elde edilen greft kemik öğütücü ile küçük parçalara ayrılarak defekt bölgelerine yerleştirilmiştir.

Çalışmada sakrifikasyon süresini belirlerken, birçok araştırmacının kemik rejenerasyonundaki anjiogenezi ve yeni kemik oluşumunu gözlemleyebilmek için yeterli sürenin 4 hafta olduğunu belirlediğini göz önünde bulundurduk(93). Benzer şekilde standart bir rat veya fare modelinde tedavi edilen bir kırığın tam bir biyomekanik iyileşmesinin 3 ve 4 haftada meydana geldiği düşünülmektedir(94-96). Erken dönem kemik iyileşmesinin belirlenebilmesi için değerlendirme süresinin en fazla 30 gün olarak sınırlandırılması gerektiğini savunan çalışmalar mevcuttur. Yeni kemik oluşumunun bu süre içinde gözlemlendiği, daha sonraki sürede ise rezorpsiyon ve maturasyon fazının başladığı ileri sürülmüştür(97, 98). Bununla birlikte rat kalvaryumuna açılan 5 mm'lik defektlerin ilk 15 günde kemik rejenerasyonunun henüz başlamadığı da ileri sürülmektedir(99). Yapılan çalışmalarda defekt bölgesinde ilk 10 gündeki süreç, hematoma formasyonu ile birlikte fibrin, kırmızı kan hücreleri ve inflamasyon gözlenmesi ile karakterizedir. Erken dönemde baskın olan nötrofiller daha sonra fibroblast benzeri hücrelerle yer değiştirirler. Küçük atar damarlar sayesinde periyost altından yara yerinin beslenmesi sağlanır. Hücre dışı matriks gelişerek fibroblast ve osteoblast miktarı artar. 14. günde kollajen benzeri fiberler organize olmaya başlar. 21. günde ise hücre dışı matrikste merkez ve çevresindeki skar

dokusu artarak olgunlaşma fazı başlar. Dördüncü hafta içinde defektin merkez ve çevresinde yoğun, fibrotik bağ doku ile kemik adaları ve kollajen fibrilleri oluşmuş olur. Yirmi sekizinci günde ise kemik köprüleri oluşmasıyla iyileşmenin histolojik olarak tespit edilebildiği savunulmuştur(100).

TZF ve beta trikalsiyum fosfatın birlikte kullanımının kemik üzerindeki etkinliğinin mikro bilgisayarlı tomografi ile araştırıldığı bir çalışmada ratlar 1, 2, 3, 4 ve 6 hafta sonra sakrifiye edilerek kalvaryal defektler değerlendirilmiştir. İlk 3 haftada yeterli veri elde edilmezken 3.haftanın sonunda, 4 ve 6.haftalarda elde edilen sonuçların kendi arasında anlamlı bir fark bulunmadığı tespit edilmiştir(101).

Cacciafesta ve arkadaşları (102) 2001 yılında, rekombinant insan büyüme hormonunun, kemik iyileşmesi üzerindeki etkinliğini karşılaştırmak için politetrafloroetilen membran kullanarak kapattıkları defektler üzerinde bir araştırma yayınlamışlardır. Bu amaçla 40 adet Wistar ratı iki gruba ayırdıktan sonra 5 mm'lik kranyal defektler açmışlardır. Operasyondan sonra 28. günün sonunda ratları sakrifiye ederek kalvaryumlarını biyomekanik testler ve mikro bilgisayarlı tomografi görüntüleme ile değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak insan rekombinant büyüme faktörünün sistemik uygulamasının, membranlarla kapatılmış olan kritik boyuttaki rat kalvaryal defektlerdeki kemik rejenerasyonunu ve kemiğin mekanik gücünü arttırabildiğini ileri sürmüşlerdir.

Araştırmamızda erken dönemde kemik iyileşmesi üzerinde etkinliğini gösterebilen trombosit zengin konsantrasyonların kullanımının yeni kemik oluşumu üzerindeki etkinliği histolojik ve radyolojik sonuçları incelenmiştir. Bu nedenle yapılan çalışmalarla benzer şekilde yeni kemik oluşumunun tespit edilmesi için yeterli olan süre 28 gün olarak belirlenmiştir.

Sakrifikasyonu tamamlanmış olan ratların kalvaryumlarındaki kemik miktarlarının değerlendirilmesi için radyolojik ve histolojik incelemeler yapılmıştır. Radyolojik değerlendirme yapabilmek için sert dokularda üç boyutlu olarak ölçüm yapılabilmesi gibi avantajları olan mikro bilgisayarlı tomografi tercih edilmiştir. Mikro bilgisayarlı tomografi, bilgisayarlı aksiyel tomografinin mikrometre boyutunda rezolüsyonudur. Bu yöntemle kemiğin üç boyutlu görüntüsü sayesinde radyolojik olarak kemiğin hacmi ve miktarıyla ilgili ayrıntılı bilgi elde edilebilmektedir. Sert dokularda histomorfometrik hesaplar ile elde edilmeyecek yapısal verilerin hesaplanabilmesi sağlanabilmektedir(103). Biyomedikal alanda doğrusal olarak

ölçüm yapabilmesinden dolayı sert dokuları ve mineral konsantrasyonunu kolayca ölçebilmektedir. Yapılan birçok hayvan modeli çalışmalarında da kemik miktarı incelemeleri için mikro bilgisayarlı tomografi değerlendirmelerinden yararlanılmıştır(104). Benzer şekilde Streckbein ve arkadaşları (105) 2013 yılında ratların mandibula bölgesine açtıkları kritik boyutlardaki defektlere biyoaktif implantların (fibrin yapıştırıcı içerisindeki yağ dokusu kaynaklı hücrelerin) kemik iyileşmesi üzerindeki etkinliğini araştırmışlardır. Bu nedenle 8 hafta sonra sakrifiye ettikleri ratların mandibulalarındaki yeni kemik oluşumunu görüntüleyebileceklerini ve hesaplayabileceklerini düşündükleri mikro bilgisayarlı tomografi yöntemini kullanmışlardır.

Çalışmada radyolojik olarak hesaplanan yeni kemik miktarıyla ilgili sonuçların desteklenebilmesini sağlamak amacıyla histolojik analizler de yapılmıştır. Histolojik değerlendirmelerle hesaplama yapabilmek için çeşitli avantajları olan stereolojik yöntemler gibi farklı teknikler kullanılabildiği bilinmektedir. Scalize ve arkadaşları 2015 (106) yayınladıkları çalışmada rat kalvaryumlarına açılan kritik boyutlardaki defektlere düşük enerjili lazer tedavisi uygulayarak kemik üzerindeki iyileşmeyi daha doğru ve basit yoldan gösterebileceğini düşündükleri stereolojik yöntemleri kullanmışlardır. Benzer şekilde Arosarena ve arkadaşları (107) ratların femur kemiğine açtıkları 4 mm'lik kritik boyutlardaki defektlere kemik iliği kök hücre süspansiyonu, sığır kaynaklı greft materyali, kalsiyum hidroksiapatit ve büyüme faktörleri karışımı yerleştirmişlerdir. Sekiz hafta sonra hayvanları sakrifiye ederek histolojik değerlendirme için örnekleri toplamışlardır. Bu amaçla sonuçları yeni kemik, olgun kemik ve fibröz doku miktarları için hacim hesaplaması verebildiği ve istatistiksel olarak tarafsız, niceliksel bir tahmin sağlayabildiğini savundukları için stereolojik teknikle incelemeyi tercih etmişlerdir.

Histolojik araştırmalarda biyolojik yapıların incelenmesinde kullanılan stereolojik teknikler, iki boyutlu kesitlerden yararlanarak üç boyutlu olan örneklerin çeşitli matematiksel ve istatistiksel yöntemlerle geometrik özelliklerini (hacim, sayı, yüzey alanı vs.) belirlemeye yaramaktadır. Standart histolojik incelemelere oranla derinlik değerlendirilebilmesine izin vermektedir. Tarafsız yöntemler olup sistematik olarak hatalardan uzak bir şekilde bağımsız sonuçlar elde edilmesini sağlar. Stereolojik yöntemlerle araştırılan dokudan örnekleme yapılarak toplam hücre sayısını tespit etmek daha kolaydır. Uygulanması zor ve zaman gerektiren hücre sayımı, böylece

daha pratik bir hal kazanmıştır(108, 109). Bu nedenlerle sadece hacim hesaplaması için değil yeni kemik dokusu alanının da hesaplanmasında kolayca kullanılabilir.

Çalışmamızda da yeni kemik dokusunun değerlendirilebilmesi için yapılan incelemenin, gerçeğe daha yakın, objektif sonuçlar elde edilebileceği, kolayca hacim ve alan hesaplaması yapılabileceği düşünüldüğü için stereolojik yöntem tercih edilmiştir.

Başta maksillofasiyal cerrahi olmak üzere, kemik ogmentasyonu ve rejenerasyonu için dental ve medikal uygulamalarda çeşitli büyüme faktörlerinin tek başlarına ya da kemik greftleriyle kullanımı her geçen gün artmaktadır(101).

Pıhtı oluşumunda etkili olan trombositler aynı zamanda yara iyileşmesinin başından sonuna kadar görevli olan ve rejeneratif işlemlerde başarılı bir şekilde rol oynayan büyüme faktörlerini de salgılamaktadırlar. Santrifüj cihazlarıyla özel işlemlere tabi tutularak farklı yoğunluklarda trombosit konsantrasyonları elde edilmektedir(42).

Kemik metabolizması bazı kimyasal, mekanik ve elektriksel uyarılar sayesinde düzenlenmektedir. Kemiklerde meydana gelen herhangi bir hasar sonrasında makrofaj, fibroblast ve trombositlerden polipeptid yapıdaki bazı faktörlerin salgılandığı bilinmektedir. Kemik rejenerasyonu sırasında bu faktörler sayesinde gerçekleşen proliferasyon, migrasyon, diferansiasyon ve rezorpsiyon ile kemiğin yeniden şekillenmesi organize edilmektedir. Kemik iyileşmesi üzerinde en etkili olan büyüme faktörlerinin TBF, TKBF, TKEBF, VEBF, İBF, FBF olduğu bilinmektedir(110, 111). TKBF, osteoblast ve fibroblast sentezinin, osteosit proliferasyonunun, osteoid oluşumunun ve kollajen sentezinin artmasını sağlamaktadır. Böylece rejenerasyon sırasında kemik matriks oluşumunun da artmasında etkili olmaktadır(112).

Trombositlerin aktive olmasıyla trombositlerden salgılanan TBF, TKBF, TKEBF, VEBF, İBF ve FBF gibi büyüme faktörlerinin yara yerindeki konsantrasyonları da artmış olmaktadır. Bununla birlikte beyaz kan hücreleri, fibrinojen, fagositoz yapan hücreler, damar yapımında ve kemotaksiste etkili hücrelerde de artış olmaktadır (113). 2013'te Lee ve arkadaşlarının (114) yaptığı bir araştırmaya göre otolog kanın santrifüj edilmesiyle elde edilen trombosit zengin plazmanın trombosit konsantrasyonunun ve içerisindeki büyüme faktörü miktarının tam kandakinden çok daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Çalışmalar göz önüne

alındığında kemik metabolizmasının her aşamasında etkinlik gösterebilen büyüme faktörlerinin kemik oluşumu istenen bölgelerde artırılmasının, kemik iyileşmesini hızlanabileceği ve yeni kemik miktarını artırabileceği düşündürmüştür. Bu nedenle çalışmada oluşturulan defekt bölgesinde büyüme faktörlerini artırabilmek için trombosit zengin ürünler yerleştirilmesi planlanmıştır.

Dolder ve arkadaşları (115) 2006 yılında bir çalışma yaparak 4 adet Wistar ratın intrakardiyak olarak bütün kanını alınarak 800 rpm hızda 15 dk. boyunca santrifüj yaparak trombosit zengin plazma (TZP) elde edilmesinde kullanmışlardır. Çeşitli DNA, RNA, polimerize zincir reaksiyonu ve kemik iliği hücreleri analizlerinden sonra istatistiksel veriler elde etmişlerdir. Sonuç olarak trombosit zengin plazmanın kemik yapımını artıran büyüme faktörlerini içerdiğini savunmuşlardır.

Nagata ve arkadaşları (116) yaptığı çalışmada 50 adet rat kalvaryumuna çift taraflı 5 mm boyutlarında kritik defektler oluşturmuşlardır. Defektleri otojen kemikle tek başına veya farklı miktarlardaki trombosit zengin plazma ile birlikte doldurmuşlardır. Otojen kemiğin TZP ile kullanımının kemik iyileşmesi üzerine olan etkisinin kontrol gruplarına göre daha olumlu olduğunu tespit etmişlerdir.

Khairy ve arkadaşlarının (117) 2013'te yaptıkları bir çalışmaya göre 3 ve 6 ay arayla TZP ve otojen kemik birlikte ve otojen kemik tek başına kullanılarak değerlendirilmiştir. İlk 3 ayda kayda değer bir fark bulunmazken 6 ay sonra yapılan incelemede TZP'nin iyileşmeyi olumlu ölçüde artırdığını savunmuşlardır. TZP'nin kullanımının yeni kemik yapımını artırdığı gözlenen benzer çalışmalarda trombosit zengin ürünlerin kullanılması ile ortamda büyüme faktörlerinin artmasının sağlanacağı kanısına karar verilmiştir.

Bununla birlikte günümüzde TZF ve diğer yeni nesil trombosit zengin konsantrasyonların TZP'ye göre avantajları olduğu bilinmektedir. TZP içerisinde fazladan madde (heparin, sığır trombin, EDTA) bulunan tüplerde uzun süreli santrifüjle elde edilmektedir(56, 61). TZP'nin bildirilen dezavantajlarından birinin doku onarımında rol oynayan bir dizi büyüme faktörüne rağmen doğal iyileşme sürecine müdahale eden bir antikoagülan içermesi olduğu bilinmektedir. Daha sonra geliştirilen fibrinlerde ise bu dezavantajların üstesinden gelinmiş ve daha fazla protein içerebilen konsantrasyonlar elde edilmiştir(118).

Giannini ve arkadaşları (119) 2015 yılında TZP, büyüme faktörlerinden zengin plazma (BFZP) ve TZF'nin üç protokolünü temel özelliklerinde karşılaştırmak ve böylece uygulayıcılara rejeneratif cerrahide en iyi kan ürününü önerebilmek için bir

çalışma yapmışlardır. Çalışmanın sonuçlarına göre TZF'nin içerisinde diğer konsantrasyonlara oranla en yüksek miktarda trombosit, büyüme faktörleri içerdiği ve %65 oranında lökosit olduğu, fibrin, vitronektin ve fibronektin açısından son derece zengin olduğu tespit edilmiştir. Yeni damar oluşumu, bağışıklık sistemi düzenleyici ve osteokondüktif özellikler ile içerdikleri mezenkimal kaynaklı kök hücreler açısından da TZF diğerlerine göre üstün bulunmuştur. Miktar olarak daha fazla elde edilebilmesi, maliyetinin düşük olması ve daha kolay bir protokolle elde edilebilmesi de diğer avantajlarından olduğunu savunmuşlardır. Ayrıca herhangi bir biyokimyasal madde ilave edilmeyen TZF'nin, bu nedenle doğal kan ürünü olduğu ve TZP'ye oranla daha sıkı yapıda fibrin iskeleti içeren bir konsantrasyon olduğu bilinmektedir(40, 119).

Dohan ve arkadaşları (40) yaptıkları çalışmada kemik rejenerasyonunun başladığı 24 saat içinde büyüme faktörleri salınımının TZP'de maksimum seviyeye ulaşmakta olduğunu, sonraki 7 gün boyunca azalarak sonlandığını savunmaktadır. TZF'de ise ilk 7 gün boyunca arttığı ve 2 haftanın sonunda maksimum seviyeye ulaşarak yaklaşık 1 ay boyunca salınımın devam ettiğini ileri sürmüşlerdir.

Literatürlerde de anlatıldığı gibi TZF'nin TZP'den üstün özelliklere sahip olduğunu kanıtlayan benzer çalışmalarda da görüldüğü gibi araştırmamızda TZP değerlendirilmemiştir. Bunun yerine TZP'ye göre daha yeni jenerasyon olan TZF, KBF ve G-TZF'nin kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerini karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi tercih edilmiştir.

Kazakos ve arkadaşları(120) 2011 yılında yayınladıkları çalışmada jel kıvamındaki TZP'nin, yönlendirilmiş doku rejenerasyonu ile birlikte ya da tek başına kullanımının kemik iyileşmesi üzerindeki etkinliğini araştırmışlardır. Bu amaçla 30 adet tavşanın çenelerinin ön tarafa yakın bölgesine açtıkları 1 cm'lik yuvarlak defektlere tek başına insan kaynaklı membran, tek başına TZP ve iki materyali birlikte yerleştirerek üç grup oluşturmuşlardır. 12 hafta sonra sakrifiye ettikleri tavşanların çenelerini histolojik olarak incelemişlerdir. Analiz sonuçlarına göre TZP'nin tek başına ya da insan kaynaklı membranla birlikte kullanımının kemik iyileşmesini artırmadığını sadece skar dokusuyla iyileşme oluşunu tespit etmişlerdir. Bu sonucu, TZP'nin tek başına kullanılmasının yumuşak doku onarımını artırması ile açıklamışlardır.

Kim ve arkadaşlarının(121) 2014 yılında yaptıkları çalışmada 20 adet tavşana kranyal defektler açarak boş bırakmış ya da TZF, TZP ve KBF ile doldurmuşlardır. 6 ve 12 hafta sonra sakrifiye ederek mikro bilgisayarlı tomografi yöntemiyle ve



histomorfometrik analizle incelemişlerdir. Sonuç olarak kemik iyileşmesine büyüme faktörlerinin katkısının olduğunu ancak uzun dönemde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını tespit etmişlerdir.

Çalışmada, yukarıdaki çalışmalara benzer şekilde, otojen greft kullanılmadan trombositten zengin ürünler yerleştirdiğimiz grupların birbirleri ve boş kontrol grubu ile aralarında anlamlı bir fark bulunmaması, otojen greft yerleştirilmeden kullanılan büyüme faktörlerinin kemik iyileşmesi üzerindeki etkinliklerini yeteri kadar gösteremediğini düşündürmektedir. Bu durum trombositten zengin ürünlerin, tek başına yerleştirilmesinin, yumuşak doku onarımına olan katkılarının kemik iyileşmesi üzerine olan katkılarından daha fazla olduğu ile açıklanabilir.

Bununla birlikte trombositten zengin ürünlerin osteojenik etkinliklerini gösterebilmeleri için canlı hücrelere ihtiyaç duyulduğu da bilinmektedir. (52) Bu nedenle diğer gruplarımızda trombositten zengin ürünler defekt bölgesine allogreftler gibi materyaller yerine otojenik greft ile birlikte yerleştirilmiştir. Zhang ve arkadaşlarının (122) 2012’de yaptıkları çalışmanın sonuçları da bu kararı desteklemektedir. Yaptıkları çalışmada maksiller sinüs yükseltilmesi operasyonunda sığır kaynaklı bir greftle TZF karıştırılmış, kontrol grubuna ise sığır kaynaklı greft tek başına uygulanmıştır. 6 ay sonra yapılan değerlendirmeye göre TZF’nin greftle birlikte kullanımı yeni kemik oluşumunu bir miktar yükseltmiş olsa da kontrol grubu ile kıyaslandığında bu farkın anlamlı olmadığını tespit etmişlerdir. TZF’nin sığır kaynaklı greft ile kullanımının yeni kemik oluşumunu artırmada etkili olmadığını savunmuşlardır. Buna karşın yaptığımız çalışmada trombositten zengin konsantrasyonların otojen kemikle birlikte kullanımı, otojen kemiğin tek başına yerleştirildiği gruba göre anlamlı sonuç verebilmiştir. Bu sonucun trombositten zengin konsantrasyonların canlı hücreler üzerinde daha fazla etkinlik gösterebilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sohn ve arkadaşlarının (123) yaptığı çalışmada 53 hastaya 61 sinüs lateral duvardan pencere açılarak yükseltme ve implant operasyonu yapılmıştır. İmplantlar yerleştirilmeden önce yükseltile sinüs tabanına tek başına KBF’nin otolog fibrinden zengin bloklarını yerleştirmişlerdir. On ay sonra yapılan histolojik, radyolojik ve klinik muayeneler sonrasında yeni kemik oluşumunun yüksek miktarda olduğu tespit edilmiştir.

Sohn ve arkadaşlarının (58) yaptığı başka vaka raporuna göre ise implant operasyonu yapılması planlanan olan üç ayrı vaka incelenmiştir. İlk vaka üst çeneye

sinüs elevasyonu gereken bir hasta, ikinci vaka bukkal duvarı olmayan bir bölgeye sahip hasta ve son vaka ise kemik genişliği yetersiz alt çenesi bulunan bir hasta olarak tanımlanmıştır. Kemik yetersizliği olan ve ogmentasyonu planlanan bölgelere KBF, sıgır kaynaklı greft veya allogreftlerle karıştırarak ve membran olarak uygulanmıştır. Yapılan radyolojik değerlendirmeler sayesinde KBF'nin kemik oluşumuna önemli ölçüde katkıda bulunduğu ve yönlendirilmiş doku rejenerasyonu açısından da etkili olduğu tespit edilmiştir.

Araştırmanın sonuçlarına göre yukarıda anlatılan çalışmalara paralel olarak KBF'nin herhangi bir materyal kullanılmaksızın yerleştirildiği grupla boş kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Sohn'un maksiller sinüs yükseltilmesi uyguladığı vakada KBF'nin anlamlı sonuç vermesi ise operasyon türüne bağlı olarak gerçekleşmiştir.

KBF'nin otojen kemikle birlikte kullanıldığı, Durmuşlar ve arkadaşlarının (124) 2016'da yayınladıkları çalışmada ise 4 aylık 20 adet Yeni Zelanda tavşanını 4 gruba ayırarak kullanmışlardır. Tavşanların tibialarına periimplantitis oluşturmak amacıyla 2 adet 8 mm'lik monokortikal defektler açıldıktan sonra implant yerleştirmişlerdir. Gruplar; defektlerin boş bırakıldığı kontrol grubu, KBF'nin tek başına yerleştirildiği deney grubu, otojen kemiğin tek başına yerleştirildiği deney grubu ve KBF ile otojen kemiğin birlikte kullanıldıkları deney gruplarıdır. 8 hafta sonra sakrifiye edilen tavşanların histomorfometrik ve stereolojik analiz sonuçlarına göre KBF'nin kemik rejenerasyonunu, otojen kemikle birlikte kullanıldığında diğer gruplara oranla önemli ölçüde artırdığı tespit edilmiştir. Diğer sonuçlardan biri olan KBF'nin yalnız başına kullanıldığı grup ile boş kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamasıdır. Bu sonuçlar çalışmamızın boş kontrol grubu, KBF'nin tek başına ve otojen greftle kullanıldığı grupların arasındaki sonuçları desteklemektedir. Bu durum, otojen greft yerleştirildiğinde iskele görevi de görebilmesi ve greftten uzun süre boyunca büyüme faktörü salınabilmesi sayesinde, kemik iyileşmesine katkının belirgin olarak artması ile açıklanabilir.

Çalışmada G-TZF'nin tek başına yerleştirildiği grupta yeni kemik yapımının uyarıldığı ve buna bağlı olarak yeni kemik dokusunun bulunduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte boş bırakılan grupta ise sadece yumuşak doku ile iyileşme gözlenmiştir. Benzer şekilde 2018 yılında yayınlanan, G-TZF ile ilgili ilk klinik çalışma olan araştırmanın sonuçlarına göre de G-TZF tek başına yerleştirildiği

gruplarda, boş bırakılan gruplara oranla kemik yıkımını azalttığı ve kemik yapımını artırdığı tespit edilmiştir(125).

Kobayashi ve arkadaşları (61) 30 ve 60 yaş arasındaki 6 gönüllü donörden elde ettikleri kanla 18 kan örneği almışlardır. Örnekler TZP, TZF ve G-TZF için özel protokollere sahip santrifüjlere tabi tutulmuştur. TZP, TZF ve G-TZF'nin her biri için 3'er adet örnek oluşturmuşlardır. Örnekler 15 dakika, 60 dakika, 8 saat, 1 gün, 3 gün ve 10 gün boyunca büyüme faktörü salınımı için karıştırıcı plakalara yerleştirilmiştir. İçerisindeki TKBF-AA, TKBF-AB, TKBF-BB, VEBF, TBF, FBF ve İBF miktarları ELİSA analizleri ile değerlendirilmiştir. Trombosit konsantrlerinden salınan en yüksek büyüme faktörünün TKBF-AA olduğu, ardından sırayla TKBF-BB, TBF, VEBF ve TKBF-AB olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak, 15-60 dakikalık üretimin ardından TZP'nin, TZF ve G-TZF'ye kıyasla önemli ölçüde daha yüksek miktarda büyüme faktörleri saldığı tespit edilmiştir. Daha sonra 10 güne kadar, rutin olarak G-TZF'nin en yüksek oranda büyüme faktörlerini salgılamakta olduğu bulunmuştur. Ayrıca, G-TZF'nin, TZP ve TZF'ye kıyasla 10 günlük süre sonunda önemli ölçüde daha yüksek miktarda protein biriktiğini savunmuşlardır. Sonuç olarak erken dönemde TZP kemik iyileşmesinde etkili olan proteinleri daha fazla salgılatmasına rağmen uzun dönemde G-TZF'nin önemli ölçüde daha fazla miktarda büyüme faktörü salgıladığı ve biriktirdiğini tespit etmişlerdir. Bu nedenle rejeneratif işlemlerde G-TZF'nin daha etkili olabileceğini savunmuşlardır.

Çalışmamızın sonuçlarına göre G-TZF'nin otojen greftle birlikte kullanımının stereolojik ve radyolojik olarak değerlendirilmesi sonucunda KBF ve TZF'nin otojen kemikle kullanımına oranla daha fazla miktarda kemik dokusu oluştuğı tespit edilmiştir. Bu durum, Kobayashi ve arkadaşlarının (61) yaptığı çalışmaya benzer şekilde, 28 günlük sürenin sonunda G-TZF'nin diğer kan ürünlerine oranla daha uzun süre büyüme faktörü salınmasına bağlı olarak kemik iyileşmesine daha fazla katkıda bulunması ile açıklanabilir.

Isobe ve arkadaşları (126) 2017'de yayınladıkları bir çalışmada G-TZF, KBF ve trombositten fakir fibrin komplekslerinin membran formuna dönüştürerek mekanik özelliklerini incelemişlerdir. 27 ve 56 yaş aralığındaki sigara içmeyen ve sağlıklı 4 erkek gönüllü bireyden antikoagülan içermeyen tüplere kan alınmıştır. G-TZF ve KBF elde edebilmek için uygun değerlerde santrifüj yapılmıştır. Kırmızı kan hücrelerini içeren kısım elimine edildikten sonra elde edilen KBF ve G-TZF steril ıslak sargı bez içerisinde paslanmaz çelik iki plaka arasına konarak sıkıştırılmıştır. Böylece 1mm

kalınlığında belli bir gerilime sahip membranlar elde edilmiştir. Elde edilen membranlar elektron mikroskopunda değerlendirilmiştir. Sonuç olarak KBF ve G-TZF'nin mekanik parametreler ve rezorbe olması açısından benzer olduklarını, buna rağmen trombositten fakir fibrin kompleksine oranla daha güçlü olduklarını ve daha geç bozduklarını tespit etmişlerdir. Bu nedenle kemik rejenerasyonu için ogmentasyonu yapılması planlanan bölgelerde membran olarak kolaylıkla kullanılabilirlerini savunmuşlardır.

Masuki ve arkadaşları (127) ise 2016 yılında yaptıkları çalışmada 37 ve 68 yaş arasındaki 6 sağlıklı gönüllü erkek donörden 2 hafta arayla özel tüplere 3 ayrı kan örnekleri alınmıştır. Tüpler trombositten zengin plazma (TZP), büyüme faktörlerinden zengin plazma (BFZP), konsantre büyüme faktörü (KBF) ve geliştirilmiş trombositten zengin fibrin (G-TZF) elde edilmesi için uygun hız ve zamanlama ile santrifüj edilmiştir. G-TZF ve KBF preparatları özütlerin üretimi için standartlaştırılmış ve homojenize edilmiştir. G-TZF ve KBF preparatlarındaki beyaz kan hücreleri ve trombositler, tam kandaki kırmızı kan hücresi fraksiyonları, hücresiz serum ve KBF/G-TZF eksüdasyonlarının çıkarılmasıyla belirlenmiştir. ELİSA kitlerini kullanarak TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, VEGF gibi büyüme faktörlerinin ve interlökin-1 ve interlökin-6 gibi proinflatuar sitokinlerin konsantrasyonlarını belirlemişlerdir. Yaptıkları çalışmanın sonuçlarına göre beyaz kan hücreleri ve trombosit sayılarının KBF ve G-TZF'de BFZP ve TZP'dekine oranla istatistiksel analizde anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. İçerdikleri büyüme faktörleri açısından da en yüksek oranda G-TZF'de ardından KBF'de, ardından TZF'de ve son olarak en az miktarda BFZP'de bulunmuştur. Proinflatuar hücreler açısından sırayla en yüksek oranda TZP'de, daha sonra KBF'de, daha sonra G-TZF ve BFZP'de bulmuşlardır. Bu nedenle yaptıkları çalışmanın sonuçları doğrultusunda KBF ve G-TZF'nin bir iskele rolü görmesiyle birlikte büyüme faktörleri açısından da bir rezervuar görevi olduğunu savunmuşlardır. Bu nedenle G-TZF ve KBF'nin anjiogenez, yara iyileşmesi ve doku rejenerasyonunun başlatılmasında TZF'ye göre daha yüksek bir kapasiteye sahip olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Çalışmada G-TZF'nin diğer trombositten zengin konsantrasyonlar ile karşılaştırmalı olarak yeni kemik oluşumu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak otojen kemik kullanılan gruplarda G-TZF'nin iyileşmede diğer konsantrasyonlara oranla daha etkin olduğu, ancak tek başına bu etkinliği gösteremediği ve diğer ürünlerle aralarında fark olmadığı sonucuna varılmıştır.

Trombositten zengin ürünlerin, yerleştirildikleri bölgenin kanlanması ve beslenmesini artırması, bölgeye kemik yapımını artıran hücrel elemanların göçünü artırması ile otojen kemik çevresinde yeni kemik oluşumunu hızlandırdığı düşünülmektedir. Masuki ve arkadaşlarının(127) yaptığı çalışmanın sonuçları da bu sonucu desteklemektedir.

Maksillofasiyal bölgede kist, tümör gibi patolojilerin rekonstrüksiyonunda, travmaların tedavisinde ve implant operasyonları planlanan hastaların erken dönemde sağlığına kavuşabilmesi ve fonksiyonel ihtiyaçlarını kısa sürede karşılayabilmesi için kemik grefti uygulanan bölgenin hızla iyileşmesini sağlayabilecek işlemler uygulanması gerekmektedir. Bu nedenle hekimler için elde edilmesi ve uygulanması kolay, hasta açısından ekonomik ve yan etkisi olmayan ürünlerin tercih edilmesi önemlidir. Yaptığımız çalışmanın sonuçlarına göre; TZF, KBF ve G-TZF, ratların kalvaryumlarına açılan defektlerde otojen kemikle birlikte kullanıldığında kemik rejenerasyonunu artırmada başarılı olduğu belirlenmiştir. Trombositten zengin ürünlerle birlikte özellikle daha yeni bir jenerasyon olan G-TZF'nin greft materyalleri ile kullanımının daha iyi aydınlatılabilmesi ve diş hekimliği ile tıpta klinik kullanımının yaygınlaştırılabilmesi için daha fazla klinik ve histolojik araştırma yapılması gerektiği düşünülmektedir.

## 6. SONUÇLAR

1. Defektlerde enfeksiyon, kanama veya iyileşememe gibi herhangi bir komplikasyon gözlenmemiştir.
2. Trefan frez kullanılarak ratların kalvaryumlarına açılan 5 mm'lik defektler büyüme faktörlerinin kemik iyileşmesi üzerindeki etkinliğini araştırmak için uygundur.
3. Ratlardan intrakardiyak olarak alınan kanın uygun değerlerde santrifüjü ile TZF, KBF veya G-TZF elde edilebilmektedir.
4. Büyüme faktörlerince zengin olan trombositten zengin ürünlerin; elde edilmesi basit, ucuz, uygulama işleri kolay ve komplikasyon riski düşüktür.
5. Partikül haldeki otojen kemiklerin jel formda olan trombositten zengin ürünler ile karıştırılması ve yerleştirilmesi kolaydır.
6. Otojen greftin trombositten zengin ürünlerle kullanımının, kontrol grubuna ve tek başına trombositten zengin ürünlerle kullanıldığı gruplara oranla histolojik ve radyolojik olarak yapılan değerlendirmeye göre kemik rejenerasyonu üzerinde olumlu bir fark olduğu tespit edilmiştir.
7. Histolojik ve radyolojik olarak defekt bölgesinde tek başına trombositten zengin ürünlerin kullanıldığı grupların kendi aralarında ve boş kontrol grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamda bir fark gözlenmediği sonucuna varılmıştır.
8. G-TZF'nin otojen kemik ile birlikte kullanılarak greft bölgesine yerleştirildiği grupta histolojik ve radyolojik olarak KBF ya da TZF ile otojen kemiğin birlikte kullanıldığı gruplara oranla kemik rejenerasyonunun daha fazla olduğu saptanmıştır.
9. Sonuç olarak 28 günlük sürede partikül formdaki otojen greftin başta G-TZF olmak üzere KBF ya da TZF ile karıştırılarak kullanımının tek başlarına kullanımına oranla daha hızlı ve daha yoğun bir kemik rejenerasyonu sağladığı tespit edilmiştir.
10. Elde edilmesi ve uygulama kolaylığı, düşük maliyeti, düşük komplikasyon riski düşünüldüğünde, kemik rejenerasyonunun kısa sürede, sağlıklı ve doğal bir şekilde gerçekleşebilmesi için trombositten zengin ürünlerle otojen kemiğin karıştırılarak uygulanmasının başarılı sonuçlar verebildiği gözlenmiştir.
11. İleri çalışmalarla birlikte trombositten zengin ürünlerin başta G-TZF olmak üzere, otojen kemik ile birlikte kullanımının, preprotetik cerrahi, rekonstrüksiyon

sağlanması ya da implant operasyonları yapılması amacıyla kemik yetersizliği bulunan maksillofasiyal bölgedeki defektlerde klinik uygulamalarda rahatça kullanılan yöntemler olabileceğini düşünmekteyiz.



## 7. KAYNAKLAR:

1. Faratzis G, Leventis M, Chrysomali E, Khaldi L, Eleftheriadis A, Eleftheriadis I, et al. Effect of autologous platelet-rich plasma in combination with a biphasic synthetic graft material on bone healing in critical-size cranial defects. *J Craniofac Surg.* 2012;23(5):1318-23.
2. Spicer PP, Kretlow JD, Young S, Jansen JA, Kasper FK, Mikos AG. Evaluation of bone regeneration using the rat critical size calvarial defect. *Nature protocols.* 2012;7(10):1918-29.
3. Dimitriou R, Jones E, McGonagle D, Giannoudis PV. Bone regeneration: current concepts and future directions. *BMC Med.* 2011;9:66.
4. Nagata MJ, Melo LG, Messoria MR, Bomfim SR, Fucini SE, Garcia VG, et al. Effect of platelet-rich plasma on bone healing of autogenous bone grafts in critical-size defects. *J Clin Periodontol.* 2009;36(9):775-83.
5. Khoury F, Hanser T. Mandibular bone block harvesting from the retromolar region: a 10-year prospective clinical study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2015;30(3):688-97.
6. Sanchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003;18(1):93-103.
7. Marx RE. Bone and bone graft healing. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2007;19(4):455-66, v.
8. Varghese MP, Manuel S, Kumar LKS. Potential for Osseous Regeneration of Platelet-Rich Fibrin-A Comparative Study in Mandibular Third Molar Impaction Sockets. *J Oral Maxillofac Surg.* 2017;75(7):1322-9.
9. Clark RA. Fibrin and wound healing. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 2001;936(1):355-67.
10. Garant PR, Garant P. *Oral cells and tissues: Quintessence Publishing; 2003.*
11. Junqueira LC, Carneiro J. *Temel Histoloji.* Aytekin Y, Solakoglu S, editors: Nobel Kitabevi; 2003.
12. Downey PA, Siegel MI. Bone biology and the clinical implications for osteoporosis. *Physical therapy.* 2006;86(1):77-91.



13. Capulli M, Paone R, Rucci N. Osteoblast and osteocyte: games without frontiers. *Archives of biochemistry and biophysics*. 2014;561:3-12.
14. Oftadeh R, Perez-Viloria M, Villa-Camacho JC, Vaziri A, Nazarian A. Biomechanics and mechanobiology of trabecular bone: a review. *Journal of biomechanical engineering*. 2015;137(1):010802.
15. Florencio-Silva R, Sasso GRdS, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. Biology of bone tissue: structure, function, and factors that influence bone cells. *BioMed research international*. 2015;2015.
16. Franz-Odenaal TA, Hall BK, Witten PE. Buried alive: how osteoblasts become osteocytes. *Developmental Dynamics*. 2006;235(1):176-90.
17. Gartner LP, Hiatt JL, Strum JM. *Cell biology and histology: Williams & Wilkins*; 1998.
18. Zhang X, Naik A, Xie C, Reynolds D, Palmer J, Lin A, et al. Periosteal stem cells are essential for bone revitalization and repair. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions*. 2005;5(4):360.
19. Buser D, Dahlin C, Schenk R. *Guided bone regeneration*. Chicago Quintessence. 1994.
20. Jöhner R. Zur Knochenheilung in Abhängigkeit von der Defektgröße. *Helv Chir Acta*. 1972;39:409-11.
21. Schenk R, Willenegger H. Zur Histologie der primären Knochenheilung. *Langenbeck's Archives of Surgery*. 1964;308(1):440-52.
22. Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clinical orthopaedics and related research*. 1986(205):299-308.
23. Freeman E, Turnbull R. The value of osseous coagulum as a graft material. *Journal of periodontal research*. 1973;8(4):229-36.
24. Mulliken JB, Glowacki J. Induced osteogenesis for repair and construction in the craniofacial region. *Plastic and reconstructive surgery*. 1980;65(5):553-60.
25. Glowacki J, Altobelli D, Mulliken JB. Fate of mineralized and demineralized osseous implants in cranial defects. *Calcified tissue international*. 1981;33(1):71-6.
26. Takagi K, Urist MR. The reaction of the dura to bone morphogenetic protein (BMP) in repair of skull defects. *Annals of surgery*. 1982;196(1):100.
27. Tzioupis C, Giannoudis PV. Prevalence of long-bone non-unions. *Injury*. 2007;38:S3-S9.

28. Haeseker B. Mr. Job van Meekeren (1611-1666) and surgery of the hand. *Plastic and reconstructive surgery*. 1988;82(3):539-46.
29. Albrektsson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *European Spine Journal*. 2001;10:S96-S101.
30. Brånemark P. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Scand J Plast Reconstr Surg*. 1977;11.
31. Burchardt H. The biology of bone graft repair. *Clinical orthopaedics and related research*. 1983;174:28-34.
32. Marx R. Reconstruction and rehabilitation of the cancer patient. *Reconstructive preprosthetic oral and maxillofacial surgery*. 1986.
33. Misch CE, Dietsch F. Bone-grafting materials in implant dentistry. *Implant dentistry*. 1993;2(3):158-66.
34. Alpaslan C, Irie K, Takahashi K, Ohashi N, Sakai H, Nakajima T, et al. Long-term evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 induced bone formation with a biologic and synthetic delivery system. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 1996;34(5):414-8.
35. Irie K, Alpaslan C, Takahashi K, Kondo Y, Izumi N, Sakakura Y, et al. Osteoclast differentiation in ectopic bone formation induced by recombinant human bone morphogenetic protein 2 (rhBMP-2). *Journal of bone and mineral metabolism*. 2003;21(6):363-9.
36. Reed GL, Fitzgerald ML, Polgár J. Molecular mechanisms of platelet exocytosis: insights into the “secrete” life of thrombocytes. *Blood*. 2000;96(10):3334-42.
37. Kohler N, Lipton A. Platelets as a source of fibroblast growth-promoting activity. *Experimental cell research*. 1974;87(2):297-301.
38. Dereka X, Markopoulou C, Vrotsos I. Role of growth factors on periodontal repair. *Growth Factors*. 2006;24(4):260-7.
39. Marsell R, Einhorn TA. Emerging bone healing therapies. *Journal of orthopaedic trauma*. 2010;24:S4-S8.
40. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2006;101(3):e37-e44.

41. Lindahl P, Johansson BR, Levéen P, Betsholtz C. Pericyte loss and microaneurysm formation in PDGF-B-deficient mice. *Science*. 1997;277(5323):242-5.
42. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1998;85(6):638-46.
43. Duffy AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its role in non-endothelial cells: Autocrine signalling by VEGF. *VEGF and Cancer*. 2004:133-44.
44. Cohen S. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *Journal of Biological Chemistry*. 1962;237(5):1555-62.
45. Ornitz DM, Itoh N. The fibroblast growth factor signaling pathway. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*. 2015;4(3):215-66.
46. Kingsley C. Blood coagulation; evidence of an antagonist to factor VI in platelet-rich human plasma. *Nature*. 1954;173(4407):723-4.
47. Matras H. Die Wirkungen verschiedener fibrinpräparate auf kontinuierstrennungen der rattenhaut. *Osterr Z Stomatol*. 1970;67(9):338-59.
48. Gible J, Ness P. Fibrin glue: the perfect operative sealant? *Transfusion*. 1990;30(8):741-7.
49. Hood AG, Hill A, Reeder G, Potter P, Iverson L, Keating R, editors. Perioperative autologous sequestration III: A new physiologic glue with wound healing properties. *Proc Am Acad Cardiovasc Perfusion*; 1993.
50. Tayapongsak P, O'Brien DA, Monteiro CB, Arceo-Diaz LY. Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. *Journal of oral and maxillofacial surgery*. 1994;52(2):161-5.
51. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 1997;55(11):1294-9.
52. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent*. 2001;10(4):225-8.
53. Grageda E, Lozada JL, Boyne PJ, Caplanis N, McMillan PJ. Bone formation in the maxillary sinus by using platelet-rich plasma: an experimental study in sheep. *Journal of Oral Implantology*. 2005;31(1):2-17.

54. Durmuşlar MC, Alpaslan C, Alpaslan G, Cakir M. Clinical and radiographic evaluation of the efficacy of platelet-rich plasma combined with hydroxyapatite bone graft substitutes in the treatment of intra-bony defects in maxillofacial region. *Acta Odontol Scand.* 2014;72(8):948-53.
55. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. Une opportunité en parodontologie: le PRF. *Implantodontie.* 2001;42(55):e62.
56. Alizade FL, Kazemi M, Irani S, Sohrabi M. Biologic characteristics of platelet rich plasma and platelet rich fibrin: A review. 2016.
57. Sacco L. Lecture, International academy of implant prosthesis and osteoconnection. 2006;12(4).
58. Sohn D-S. The effect of concentrated growth factors on ridge augmentation. *Dental Inc, Sep/Oct.* 2009:34-40.
59. Corigliano M, Sacco L, Baldoni E. CGF-una proposta terapeutica per la medicina rigenerativa. *Odontoiatria.* 2010;1:69-81.
60. Ghanaati S, Booms P, Orłowska A, Kubesch A, Lorenz J, Rutkowski J, et al. Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *Journal of Oral Implantology.* 2014;40(6):679-89.
61. Kobayashi E, Flückiger L, Fujioka-Kobayashi M, Sawada K, Sculean A, Schaller B, et al. Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. *Clinical oral investigations.* 2016;20(9):2353-60.
62. Einhorn TA. Clinically applied models of bone regeneration in tissue engineering research. *Clinical Orthopaedics and Related Research®.* 1999;367:S59-S67.
63. Iannaccone PM, Jacob HJ. *Rats! : The Company of Biologists Ltd;* 2009.
64. Hanks C, Kim JS, Edwards C. Growth control of cultured rat calvarium cells by platelet-derived growth factor. *Journal of Oral Pathology & Medicine.* 1986;15(9):476-83.
65. Garcia-Molina J, Vallespí-Miró G, Greco-Machado Y, Perez-Tomas R, Ustrell-Torrent J, Carvalho-Lobato P, et al. The role of fibroblast growth factor (FGF) and type beta transforming growth factor (TGF-beta 1-beta 2-beta 3) during rat craniofacial development. *Bulletin du Groupement international pour la recherche scientifique en stomatologie & odontologie.* 2003;45(2-3):66-78.

66. Kigami R, Sato S, Tsuchiya N, Sato N, Suzuki D, Arai Y, et al. Effect of basic fibroblast growth factor on angiogenesis and bone regeneration in non-critical-size bone defects in rat calvaria. *Journal of oral science*. 2014;56(1):17-22.
67. Parasuraman S, Raveendran R, Kesavan R. Blood sample collection in small laboratory animals. *Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics*. 2010;1(2):87.
68. Beeton C, Garcia A, Chandy KG. Drawing blood from rats through the saphenous vein and by cardiac puncture. *Journal of visualized experiments: JoVE*. 2007(7).
69. Jan AM, Sándor GK, Iera D, Mhawi A, Peel S, Evans AW, et al. Hyperbaric oxygen results in an increase in rabbit calvarial critical sized defects. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics*. 2006;101(2):144-9.
70. Frame J. A convenient animal model for testing bone substitute materials. *Journal of oral surgery (American Dental Association: 1965)*. 1980;38(3):176-80.
71. Hobar PC, Schreiber JS, McCarthy JG, Thomas PA. The role of the dura in cranial bone regeneration in the immature animal. *Plastic and reconstructive surgery*. 1993;92(3):405-10.
72. Özerdem ÖR, Anlatici R, Bahar T, Kayaselçuk F, Barutçu Ö, Tuncer I, et al. Roles of periosteum, dura, and adjacent bone on healing of cranial osteonecrosis. *Journal of Craniofacial Surgery*. 2003;14(3):371-9.
73. Durão S, Gomes PS, Colaço B, Silva J, Fonseca H, Duarte J, et al. The biomaterial-mediated healing of critical size bone defects in the ovariectomized rat. *Osteoporosis international*. 2014;25(5):1535-45.
74. Li Y, Chen S-K, Li L, Qin L, Wang X-L, Lai Y-X. Bone defect animal models for testing efficacy of bone substitute biomaterials. *Journal of Orthopaedic Translation*. 2015;3(3):95-104.
75. Abubakar A, Noordin M, Azmi T, Kaka U, Loqman M. The use of rats and mice as animal models in ex vivo bone growth and development studies. *Bone and Joint Research*. 2016;5(12):610-8.
76. Schwartz Z, Ornoy A, Soskolne W. An in vitro assay of bone development using fetal long bones of mice: morphological studies. *Cells Tissues Organs*. 1985;124(3-4):197-205.
77. Stern PH, Krieger NS. Comparison of fetal rat limb bones and neonatal mouse calvaria: Effects of parathyroid hormone and 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Calcified tissue international*. 1983;35(1):172-6.

78. Boyne PJ. Tissue transplantation. In Kruger, G. O. (ed.): *Textbook of Oral and Maxillofacial Surgery*, ed. 6. St. Louis. 1984:305.
79. Vajgel A, Mardas N, Farias BC, Petrie A, Cimoës R, Donos N. A systematic review on the critical size defect model. *Clin Oral Implants Res.* 2014;25(8):879-93.
80. Flecknell P. Replacement, reduction and refinement. *Altex.* 2002;19(2):73-8.
81. Bosch C, Melsen B, Vargervik K. Importance of the critical-size bone defect in testing bone-regenerating materials. *The Journal of craniofacial surgery.* 1998;9(4):310-6.
82. Raghoobar GM, Schortinghuis J, Liem RS, Ruben JL, Van Der Wal JE, Vissink A. Does platelet-rich plasma promote remodeling of autologous bone grafts used for augmentation of the maxillary sinus floor? *Clinical Oral Implants Research.* 2005;16(3):349-56.
83. Davignon J. Beneficial cardiovascular pleiotropic effects of statins. *Circulation.* 2004;109(23 suppl 1):III-39-III-43.
84. Lundgren S, Nyström E, Nilson H, Gunne J, Lindhagen O. Bone grafting to the maxillary sinuses, nasal floor and anterior maxilla in the atrophic edentulous maxilla: A two-stage technique. *International journal of oral and maxillofacial surgery.* 1997;26(6):428-34.
85. Walsh W, Morberg P, Yu Y, Yang JL, Haggard W, Sheath P, et al. Response of a calcium sulfate bone graft substitute in a confined cancellous defect. *Clinical Orthopaedics and Related Research®.* 2003;406(1):228-36.
86. Bastos AS, Spin-Neto R, Conte-Neto N, Galina K, Boeck-Neto RJ, Marcantonio C, et al. Calvarial autogenous bone graft for maxillary ridge and sinus reconstruction for rehabilitation with dental implants. *Journal of Oral Implantology.* 2014;40(4):469-78.
87. Hernandez-Alfaro F, Garcia E, Corchero G, Arranz C. Palatal core graft for alveolar reconstruction: a new donor site. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants.* 2005;20(5).
88. Raghoobar GM, Louwse C, Kalk WW, Vissink A. Morbidity of chin bone harvesting. *Clinical oral implants research.* 2001;12(5):503-7.
89. Ilankovan V, Stronczek M, Telfer M, Peterson L, Stassen L, Ward-Booth P. A prospective study of trephined bone grafts of the tibial shaft and iliac crest. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 1998;36(6):434-9.

90. Garg AK. Bone. Biology, harvesting, grafting for dental implants (Rationale and Applications). 2004;3-20.
91. Felice P, Iezzi G, Lizio G, Piattelli A, Marchetti C. Reconstruction of atrophied posterior mandible with inlay technique and mandibular ramus block graft for implant prosthetic rehabilitation. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2009;67(2):372-80.
92. Nagata M, Messori M, Okamoto R, Campos N, Pola N, Esper L, et al. 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(2):339-45.
93. Alberius P, Johnell O. Repair of intra-membranous bone fractures and defects in rats: Immunolocalization of bone and cartilage proteins and proteoglycans. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 1991;19(1):15-20.
94. Gerstenfeld LC, Sacks DJ, Pelis M, Mason ZD, Graves DT, Barrero M, et al. Comparison of effects of the bisphosphonate alendronate versus the RANKL inhibitor denosumab on murine fracture healing. *Journal of bone and mineral research*. 2009;24(2):196-208.
95. Meyer Jr RA, Tsahakis PJ, Martin DF, Banks DM, Harrow ME, Kiebzak GM. Age and ovariectomy impair both the normalization of mechanical properties and the accretion of mineral by the fracture callus in rats. *Journal of Orthopaedic Research*. 2001;19(3):428-35.
96. Kostenuik P, Mirza FM. Fracture healing physiology and the quest for therapies for delayed healing and nonunion. *Journal of Orthopaedic Research*. 2017;35(2):213-23.
97. Zhao YF, Mendes M, Symington JM, Listrom RD, Pritzker KP. Experimental study of bone growth around a dental implant after Surgibone grafting. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 1999;14(6).
98. Develioglu H, Saraydin SU, Kartal U. The bone-healing effect of a xenograft in a rat calvarial defect model. *Dental materials journal*. 2009;28(4):396-400.
99. Porto GG, Vasconcelos BCdE, Andrade ESdS, Carneiro SCdAS, Frota MSM. Is a 5 mm rat calvarium defect really critical? *Acta cirurgica brasileira*. 2012;27(11):757-60.
100. Schmitz JP, Schwartz Z, Hollinger JO, Boyan BD. Characterization of rat calvarial nonunion defects. *Cells Tissues Organs*. 1990;138(3):185-92.

101. Abdullah WA. Evaluation of bone regenerative capacity in rats claverial bone defect using platelet rich fibrin with and without beta tri calcium phosphate bone graft material. *The Saudi dental journal*. 2016;28(3):109-17.
102. Cacciafesta V, Dalstra M, Melsen B, Andreassen TT. Growth hormone treatment promotes guided bone regeneration in rat calvarial defects. *The European Journal of Orthodontics*. 2001;23(6):733-40.
103. Kłodowski K, Kamiński J, Nowicka K, Tarasiuk J, Wroński S, Świętek M, et al. Micro-imaging of implanted scaffolds using combined MRI and micro-CT. *Computerized Medical Imaging and Graphics*. 2014;38(6):458-68.
104. Davis GR, Wong FS. X-ray microtomography of bones and teeth. *Physiological measurement*. 1996;17(3):121.
105. Streckbein P, Jäckel S, Malik C-Y, Obert M, Kähling C, Wilbrand J-F, et al. Reconstruction of critical-size mandibular defects in immunoincompetent rats with human adipose-derived stromal cells. *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery*. 2013;41(6):496-503.
106. Scalize PH, de Sousa LG, Regalo SCH, Semprini M, Pitol DL, da Silva GA, et al. Low-level laser therapy improves bone formation: stereology findings for osteoporosis in rat model. *Lasers in medical science*. 2015;30(5):1599-607.
107. Arosarena OA, Falk A, Malmgren L, Bookman L, Allen MJ, Schoonmaker J, et al. Defect repair in the rat mandible with bone morphogenic proteins and marrow cells. *Archives of facial plastic surgery*. 2003;5(1):103-8.
108. Thompson W. Stereology of arbitrary particles. A review of unbiased number and size estimators and the presentation of some new ones. *Journal of microscopy*. 1986;143(Pt 1):3-45.
109. Mayhew T. Stereology and the placenta: where's the point?—a review. *Placenta*. 2006;27:17-25.
110. Boden SD. Bioactive factors for bone tissue engineering. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*. 1999;367:S84-S94.
111. Khan SN, Tomin E, Lane JM. Clinical applications of bone graft substitutes. *Orthopedic Clinics*. 2000;31(3):389-98.
112. Lind M. Growth factors: Possible new clinical tools: A review. *Acta Orthopaedica Scandinavica*. 1996;67(4):407-17.
113. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G, Hitzler W, 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. *Clinical oral implants research*. 2003;14(3):357-62.

114. Lee JW, Kwon OH, Kim TK, Cho YK, Choi KY, Chung HY, et al. Platelet-rich plasma: quantitative assessment of growth factor levels and comparative analysis of activated and inactivated groups. *Archives of plastic surgery*. 2013;40(5):530.

115. Dolder JVD, Mooren R, Vloon AP, Stoelinga PJ, Jansen JA. Platelet-rich plasma: quantification of growth factor levels and the effect on growth and differentiation of rat bone marrow cells. *Tissue engineering*. 2006;12(11):3067-73.

116. Nagata MJ, Messori M, Pola N, Campos N, Vieira R, Esper LA, et al. Influence of the ratio of particulate autogenous bone graft/platelet-rich plasma on bone healing in critical-size defects: a histologic and histometric study in rat calvaria. *J Orthop Res*. 2010;28(4):468-73.

117. Khairy N, Shendy E, Askar N, El-Rouby D. Effect of platelet rich plasma on bone regeneration in maxillary sinus augmentation (randomized clinical trial). *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 2013;42(2):249-55.

118. Del Corso M, Vervelle A, Simonpieri A, Jimbo R, Inchingolo F, Sammartino G, et al. Current knowledge and perspectives for the use of platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in oral and maxillofacial surgery part 1: Periodontal and dentoalveolar surgery. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2012;13(7):1207-30.

119. Giannini S, Cielo A, Bonanome L, Rastelli C, Derla C, Corpaci F, et al. Comparison between PRP, PRGF and PRF: lights and shadows in three similar but different protocols. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2015;19(6):927-30.

120. Kazakos K, Lyras DN, Thomaidis V, Agrogiannis G, Botaitis S, Drosos G, et al. Application of PRP gel alone or in combination with guided bone regeneration does not enhance bone healing process: an experimental study in rabbits. *Journal of cranio-maxillo-facial surgery*. 2011;39(1):49-53.

121. Kim TH, Kim SH, Sandor GK, Kim YD. Comparison of platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), and concentrated growth factor (CGF) in rabbit-skull defect healing. *Arch Oral Biol*. 2014;59(5):550-8.

122. Zhang Y, Tangl S, Huber CD, Lin Y, Qiu L, Rausch-Fan X. Effects of Choukroun's platelet-rich fibrin on bone regeneration in combination with deproteinized bovine bone mineral in maxillary sinus augmentation: a histological and histomorphometric study. *Journal of Cranio-maxillo-facial Surgery*. 2012;40(4):321-8.

123. Sohn D-S, Heo J-U, Kwak D-H, Kim D-E, Kim J-M, Moon J-W, et al. Bone regeneration in the maxillary sinus using an autologous fibrin-rich block with concentrated growth factors alone. *Implant dentistry*. 2011;20(5):389-95.
124. Durmuslar MC, Balli U, Dede FO, Misir AF, Baris E, Kurkcu M, et al. Histological Evaluation of the Effect of Concentrated Growth Factor on Bone Healing. *J Craniofac Surg*. 2016;27(6):1494-7.
125. Clark D, Rajendran Y, Paydar S, Ho S, Cox D, Ryder M, et al. Advanced platelet-rich fibrin and freeze-dried bone allograft for ridge preservation: A randomized controlled clinical trial. *Journal of Periodontology*. 2018.
126. Isobe K, Watanebe T, Kawabata H, Kitamura Y, Okudera T, Okudera H, et al. Mechanical and degradation properties of advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), concentrated growth factors (CGF), and platelet-poor plasma-derived fibrin (PPTF). *International journal of implant dentistry*. 2017;3(1):17.
127. Masuki H, Okudera T, Watanebe T, Suzuki M, Nishiyama K, Okudera H, et al. Growth factor and pro-inflammatory cytokine contents in platelet-rich plasma (PRP), plasma rich in growth factors (PRGF), advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), and concentrated growth factors (CGF). *International journal of implant dentistry*. 2016;2(1):19.

## 8. EKLER

### Ek 1:Etik Kurul Onayı



T.C.  
**BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu**



**TOPLANTI TARİHİ** : 02.06.2016  
**TOPLANTI NO** : 2016/06

- 3- Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2016-30-05/05 Protokol no'lu "Büyüme Faktörlerinin Kemik İyileşmesi Üzerine Olan Etkisinin İncelenmesi" konulu çalışmasının Etik Kurul İlkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

*Emine Yılmaz Sıpahtı*  
**ASLI GİBİDİR**

**Prof. Dr. Emine YILMAZ SİPAHTI**  
**Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkan Vekili**

## Ek 2: Etik Kurul Çalışma Başlığının Değişiklik Onayı



T.C.  
**BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu**



**TOPLANTI TARİHİ** : 03.05.2018  
**TOPLANTI NO** : 2018/05

- 1- 02/06/2016 tarih ve 2016/06 sayılı toplantıda uygun bulunan Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2016-30-05/05 Protokol no'lu "Büyüme Faktörlerinin Kemik İyileşmesi Üzerine Olan Etkisinin İncelenmesi" konulu çalışma başlığının "Geliştirilmiş Trombositten Zengin Fibrin, Konsantre Büyüme Faktörü ve Trombositten Zengin Fibrinin Yeni Kemik Oluşumu Üzerindeki Etkisinin Radyolojik ve Stereolojik Olarak İncelenmesi" olarak değiştirilmesi talebinin uygunluğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR

**Prof. Dr. Emine YILMAZ SİPAHİ**  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkan Vekili

## 9. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Elif Aslı GÜLŞEN

Doğum Yer : Zonguldak

Doğum Tarihi : 30.03.1987

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

Eğitim Durumu : Lisans (2006-2011)

Karadeniz Teknik Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Çalıştığı Kurum : Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Diş  
Hekimliği Fakültesi

Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi AD.

E-posta : elifasliapaydin@gmail.com

