

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DIŞ VE ÇENE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI**

**KEMİK DEFECTLERİNİN İYİLEŞMESİNDE
TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN (TZF)'İN
ETKİLERİNİN DENEYSEL OLARAK
ARAŞTIRILMASI; HİSTOMORFOMETRİK
DEĞERLENDİRME**

DT. NESLİGÜL NİYAZ KÖKDERE

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Timuçin BAYKUL**

2012- ISPARTA

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DIŞ VE ÇENE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI**

**KEMİK DEFECTLERİNİN İYİLEŞMESİNDE
TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN (TZF)'İN
ETKİLERİNİN DENEYSEL OLARAK
ARAŞTIRILMASI; HİSTOMORFOMETRİK
DEĞERLENDİRME**

DT. NESLİGÜL NİYAZ KÖKDERE

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Timuçin BAYKUL

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim
Birimi tarafından 2314-D-10 Proje numarası ile desteklenmiştir.**

Tez. No: 83

2012- ISPARTA

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 19/10/20112

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Timuçin BAYKUL
Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Doğan DOLANMAZ
Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Nurgül KÖMERİK
Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Zuhale YETKİN AY
Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Periodontoloji Anabilim Dalı

Üye : Yrd. Doç. Dr. Müge ÇINA AKSOY
Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

ONAY: Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet Fehmi ÖZGÜNER

Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	ii
ÖNSÖZ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
RESİMLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Kemik Dokusunun Özellikleri.....	3
2.2 Kemik Hücreleri	4
2.2.1 Osteoprogenitör Hücreler	4
2.2.2 Osteoblastlar	4
2.2.3 Osteoklastlar	5
2.2.4 Osteositler.....	5
2.3 Kemik Matriksi.....	6
2.4 Kemiği Saran Yapılar	6
2.5 Kemik Dokusu Tipleri.....	7
2.5.1 Birincil (Olgunlaşmamış-Örgü) Kemik Dokusu	7
2.5.2 İkincil (Olgunlaşmış-Lamelli) Kemik Dokusu.....	8
2.6 Kemik Yapımı Mekanizmaları	8
2.6.1 İntramembranöz Kemik Yapımı.....	9
2.6.2 Endokondral Kemik Yapımı.....	9
2.7 Kemik İyileşmesi Safhaları	10
2.7.1 Enflamasyon Evresi (1-4 gün).....	11
2.7.2 Onarım Evresi (2-40 gün).....	11
2.7.3 Osteoid Doku Oluşumu (12-21 gün)	12
2.7.4 Geçici Kallusun Kalsifikasyonu (21. günden sonrası)	12
2.8 Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Greft Materyalleri	12
2.8.1 Otogreftler	14
2.8.2 Allogreftler	15

2.8.3	Heterojen Greftler (Ksenogreftler).....	17
2.8.4	Sentetik Greft Materyalleri (Alloplastlar).....	18
2.8.5	Kemik Greft Materyallerinin Patofizyolojisi.....	19
2.9	Trombositten Zengin Fibrin (TZF).....	20
2.9.1	TZF'in İyileşme Mekanizmasına Etkisi.....	21
2.9.2	TZF'in Avantajları ve Dezavantajları.....	22
2.9.3	TZF'in Hazırlanması.....	22
2.10	TZF'in Kullanım Alanları.....	24
2.11	Fibrin Yapısı.....	26
2.11.1	Fibrinin Kemik İyileşmesi Üzerine Etkileri.....	29
2.11.2	Fibrinin Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri.....	30
2.11.3	Fibrin ve Mezenşimal Kök Hücreler.....	31
2.12	Trombositlerin Yapısı ve İçerikleri.....	31
2.12.1	Alfa Granüller.....	32
2.12.2	Delta Granüller (Yoğun Cisimler).....	32
2.12.3	Lambda Granüller (Lizozomlar).....	32
2.13	Trombositlerden Salınan Büyüme Faktörleri.....	33
2.13.1	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF).....	35
2.13.2	Dönüştürücü (Transforme Edici) Büyüme Faktörü (TGF)- β	36
2.13.3	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF-I ve IGF-II).....	37
2.13.4	Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF).....	37
2.13.5	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF).....	38
2.14	Sitokinlerin Yavaş Salınımında Lökositlerin Rolü.....	38
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	41
3.1	Deney Hayvanları.....	41
3.2	Gruplar.....	42
3.3	Cerrahi Girişim.....	43
3.4	Postoperatif Takip.....	49
3.5	Deney Hayvanlarından Kemik Örneği Elde Edilmesi.....	51
3.6	Kesit Hazırlama Yöntemi.....	51
3.6.1	Fiksasyon ve Formalinden Arındırma İşlemi.....	51
3.6.2	Dekalsifikasyon İşlemi.....	52

3.6.3	Doku Takibi İşlemi.....	52
3.6.4	Bloklama İşlemi	53
3.6.5	Kesit Alma İşlemi.....	55
3.6.6	Hematoksilen-Eozin Boyama İşlemi.....	55
3.6.7	Kesitleri Kapama İşlemi	56
3.7	Histomorfometrik Analiz	57
3.8	İstatistik	63
4.	BULGULAR	64
4.1	Çalışma Grupları	64
4.2	Histomorfometrik Bulgular	67
4.3	İstatistiksel Bulgular	71
4.3.1	Ana Gruplar ve Alt Gruplar Arasında Osteblast Sayısı Karşılaştırmasında Tukey Testi Bulguları	71
4.3.2	Ana Gruplar ve Alt Gruplar Arasında Osteblast Sayısı Karşılaştırmasında Tukey Testi Bulguları	75
4.3.3	Ana Gruplar ve Alt Gruplar Arasında Yeni Kemik Oluşum Alanı Karşılaştırmasında Tukey Testi Bulguları	79
5.	TARTIŞMA	84
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	102
ÖZET		104
ABSTRACT		106
KAYNAKLAR		107
EKLER		124
EK 1: SDÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Kararı		124
EK 2: SDÜ Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu Kararı		125
EK 3: SDÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Destekleme Protokolü		126
ÖZGEÇMİŞ		127

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim boyunca yakın ilgi ve desteğini hissettiğim, doktora tezimin her aşamasında bilgisini ve emeğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Timuçin BAYKUL'a;

Doktora tezimi destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi (SDÜ) Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine;

Tezimin deneysel kısmının gerçekleştirildiği SDÜ Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı ve personeline;

Araştırma verilerimin histomorfometrik değerlendirmesini gerçekleştiren Prof. Dr. Mustafa Cihat AVUNDUK'a;

Araştırmamın istatistiksel analizini yapan Yrd. Doç. Dr. Özgür KOŞKAN'a;

Tez jürimde yer alarak beni onure eden Prof. Dr. Doğan DOLANMAZ'a;

Yüksek lisans eğitimim sırasında Erasmus öğrenci programına yönlendirilerek yurtdışında eğitim alma fırsatını sunan, deneyimlerinden yararlandığım Doç. Dr. Nurgül KÖMERİK'e;

Tez izleme komitemde yer alarak tez çalışmalarımın takip ve desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Zuhal YETKİN AY ve Yrd. Doç. Dr. Müge ÇINA AKSOY'a;

İnsani değerlerini örnek aldığım, içtenlikle yardım elini uzatan, değerli vaktini hiçbir zaman esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Gülperi KOÇER'e;

SDÜ Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim dalı klinik ve ameliyathane personeline;

Doktora sürecim boyunca zor anları bile kolaylaştıran, arkadaştan öte kardeş olarak gördüğüm tüm asistan arkadaşlarıma;

Bu zorlu süreçte desteklerini hep hissettiğim, hüznü ve sevinci çekinmeden paylaşan, umutsuzluğa kapıldığımda bana güç veren can dostlarım Dt. Betül TAŞ ve Dt. Özge KOLKESEN ŞAHİN'e;

Eğitim sürecim boyunca ve hayatımın her aşamasında bana destek olan, beni cesaretlendirerek tüm sıkıntıların altından kalkmamı sağlayan, hayatlarını bana adayan canım annem Gülseher NİYAZ ve canım babam Hamza NİYAZ'a;

Doktora eğitimim süresince benden sevgisini, emeğini, fedakarlığını ve sabrını esirgemeyen sevgili eşim Dt. Gökhan KÖKDERE'ye teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADP	: Adenozin Di Fosfat
ATP	: Adenozin Tri Fosfat
B	: Boş
bFGF	: Bazık Fibroblast Büyüme Faktörü
BMP	: Kemik Morfojenik Protein
DDKG	: Demineralize Dondurulmuş-Kurutulmuş Kemik Grefti
DDKKA	: Demineralize Dondurulmuş-Kurutulmuş Kemik Allogreftleri
DKGA	: Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogreftleri
EDTA	: Etilen Di Amin Tetra Asetik Asit
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
GR	: Gram
IGF	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IL	: İnterlökin
Il-1 β	: İnterlökin 1 beta
IL-4	: İnterlökin 4
IL-6	: İnterlökin 6
IM	: İntramuskuler
KG	: Kilogram
KKH	: Kırmızı Kan Hücresi
μ m	: Mikrometre
ML	: Mililitre
mm	: Milimetre
O	: Otojen

OPG	: Osteoprotegerin
p-ERK	: Sinyal Düzenleyici Protein Kinaz
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PRGF	: Trombositten Zengin Büyüme Faktörü
SDÜ	: Süleyman Demirel Üniversitesi
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences
T	: Trombositten Zengin Fibrin
TFP	: Trombositten Fakir Plazma
TGF- β	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü-Beta
TGF- β_1	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü-Beta ₁
TGF- β_2	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü-Beta ₂
TGF- β_3	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü-Beta ₃
TNF- α	: Tümör Nekroz Faktör-Alfa
TO	: Trombositten Zengin Fibrin-Otojen
TZF	: Trombositten Zengin Fibrin
TZP	: Trombositten Zengin Plazma
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Fibrin yapıştırıcı polimerizasyonu sonucu oluşan fibrin ağın bilgisayar modelleme ile oluşturulan şeması (Dohan et al., 2006b)	28
Şekil 2. Trombositten zengin plazma (TZP) polimerizasyonu sonucu oluşan fibrin ağın bilgisayar modelleme ile oluşturulan şeması. (1) Fibrin jel yapı içerisinde hapsolan trombositler (2) Solüsyon içerisinde yer alan sitokinler (Dohan et al., 2006b)	28
Şekil 3. Trombositten zengin fibrin (TZF) polimerizasyonu sonucu oluşan fibrin ağın bilgisayar modelleme ile oluşturulan şeması. Fibrin matriksteki, yapısal glikoproteinler (fibronektin) ve ekstrinsik sitokinler. (1) Fibrin ağ içerisinde hapsolan sitokinler. (2) Solüsyon içerisinde yer alan sitokinler. (3) Fibrin ile ilişkili glikanik zincirler. (4) Fibronektin. (5) Fibrin ağ ile ilişkili glikanik zincirler ve sitokinler (Dohan et al., 2006b).....	29
Şekil 4. Her bir deney hayvanının sağ ve sol tibiasında ayrı ayrı oluşturulan deneysel defektler ve bu defektlere uygulanan materyaller	66
Şekil 5. Örneklerin numaralandırılması	66

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Santrifüj sonrası TZF görünümü.....	23
Resim 2. TZF'in penset yardımı ile tüpten çıkarılması	24
Resim 3. TZF'in kırmızı kan hücrelerinden ayrıştırılması	24
Resim 4. TZF'in iki spanç arasında sıkılarak membran haline getirilmesi.....	25
Resim 5. TZF kutu (Toffler et al., 2010).....	25
Resim 6. TZF membranın oluşması (Del Corso et al., 2010)	25
Resim 7. Yeni Zelanda Tavşanı	41
Resim 8. Genel anestezi için kullanılan ilaçlar	43
Resim 9. Tavşanın kulak veninden kan alınması	44
Resim 10. 2700 rpm devirde 12 dakika süren santrifüj işlemi ve TZF eldesi	45
Resim 11. Operasyon alanının tıraşlanarak tüylerden arındırılması ve cilt kesisi	46
Resim 12. Tibia kemiğinin açığa çıkarılması.....	46
Resim 13. Tibia kemiğine 3,3 mm'lik trefin frezler ile kesilerin yapılması	47
Resim 14. 3,3 mm'lik trefin frezle elde edilen blok otojen greft ve çıkarılan blok kemik greftlerinin kemik öğütücü yardımıyla partikül haline getirilmesi	47
Resim 15. TZF'in penset yardımı ile çıkarılması.....	48
Resim 16. Partikül halindeki kemik grefti ile TZF'in karıştırılması.....	48
Resim 17. Oluşturulan defektler ve greft materyallerinin uygulanışı	49
Resim 18. Operasyon alanının suture edilmesi	49
Resim 19. Postoperatif uygulanan amikasin sülfat ve tramadol hidroklorür	50
Resim 20. Tavşanların barınma ortamları ve kafesleri	50
Resim 21. Postoperatif tibianın rezeksiyonu ve iyileşen defektler	51
Resim 22. Otomatik doku takip cihazı	53
Resim 23. Bloklama cihazı ve kaset içerisinde bloklama yöntemi	54
Resim 24. Blokları -20°C'de dondurma cihazı	54
Resim 25. Kaset içerisinde bloklanmış ve dondurulmuş dokular	54
Resim 26. Tam motorize mikrotom cihazı.....	55
Resim 27. Hematoksilen Eozin boyama işlemi.....	56
Resim 28. Nikon Eclipse E-400 ışık mikroskobu	58

Resim 29. Clemex Vision Lite 3.5 Image Analysis programı ile kesitlerin gri tonlamaya tutulması	58
Resim 30. A grubunun 1.1.o örneğine (Grup 1, sadece otojen greft uygulanan defekte) ait histolojik kesit; Ob: Osteoblast Oc: Osteoklast v:Ven (x10 ve HE).....	59
Resim 31. B grubunun 1.1.b. örneğine (Grup 1, boş bırakılan defekte) ait histolojik kesit; Ob: Osteoblast Oc: Osteoklast v:Ven (x10 ve HE).....	59
Resim 32. C grubunun 1.3.to. örneğine (Grup 1, TZF+otojen greft uygulanan defekte) ait histolojik kesit; Ob: Osteoblast Oc: Osteoklast v:Ven (x10 ve HE).....	60
Resim 33. D grubunun 1.3.t örneğine (Grup 1, sadece TZF uygulanan defekte) ait histolojik kesit; Ob: Osteoblast Oc: Osteoklast v:Ven (x10 ve HE).....	60
Resim 34. A grubunun 2.4.o örneğine (Grup 2, sadece otojen greft uygulanan defekte) ait histolojik kesit; Ob: Osteoblast Oc: Osteoklast v:Ven (x10 ve HE).....	61
Resim 35. B grubunun 2.4.b örneğine (Grup 2, boş bırakılan defekte) ait histolojik kesit; Ob: Osteoblast Oc: Osteoklast v:Ven (x100 ve HE).....	61
Resim 36. C grubunun 2.3.to örneğine (Grup 2, TZF+otojen greft uygulanan defekte) ait histolojik kesit; Ob: Osteoblast Oc: Osteoklast v:Ven (x10 ve HE).....	62
Resim 37. D grubunun 2.9.t örneğine (Grup 2, sadece TZF uygulanan defekte) ait histolojik kesit; Ob: Osteoblast Oc: Osteoklast v:Ven (x10 ve HE).....	62

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Büyüme ve farklılaşma faktörlerinin etki mekanizmaları	34
Tablo 2. Büyüme ve farklılaşma faktörleri ve etkileri (Hsu and Chang 2004).....	35
Tablo 3. Araştırma Gruplarını Oluşturan 1.Grup , 2. Grup ve Alt Grupları	43
Tablo 4. Çalışma dışı bırakılan tavşanlar ve tibiaların gruplara göre dağılımı (Deney hayvanı ve tibia sayısı (n))	64
Tablo 5. Gruplar, Alt Gruplar, Örnek Numaraları	65
Tablo 6. Grup 1, A defekti, 9 deney hayvanı osteoblast sayısı, osteoklast sayısı, yeni kemik oluşum alanı değerlerinin histomorfometrik değerlendirmesi	67
Tablo 7. Grup 1, B defekti, 9 deney hayvanı osteoblast sayısı, osteoklast sayısı, yeni kemik oluşum alanı değerlerinin histomorfometrik değerlendirmesi	67
Tablo 8. Grup 1, C defekti, 9 deney hayvanı osteoblast sayısı, osteoklast sayısı, yeni kemik oluşum alanı değerlerinin histomorfometrik değerlendirmesi	68
Tablo 9. Grup 1, D defekti, 9 deney hayvanı osteoblast sayısı, osteoklast sayısı, yeni kemik oluşum alanı değerlerinin histomorfometrik değerlendirmesi	68
Tablo 10. Grup 2, A defekti, 8 deney hayvanı osteoblast sayısı, osteoklast sayısı, yeni kemik oluşum alanı değerlerinin histomorfometrik değerlendirmesi	69
Tablo 11. Grup 2, B defekti, 8 deney hayvanı osteoblast sayısı, osteoklast sayısı, yeni kemik oluşum alanı değerlerinin histomorfometrik değerlendirmesi	69
Tablo 12. Grup 2, C defekti, 8 deney hayvanı osteoblast sayısı, osteoklast sayısı, yeni kemik oluşum alanı değerlerinin histomorfometrik değerlendirmesi	70
Tablo 13. Grup 2, D defekti, 8 deney hayvanı osteoblast sayısı, osteoklast sayısı, yeni kemik oluşum alanı değerlerinin histomorfometrik değerlendirmesi	70
Tablo 14. Ana Gruplar ve Alt Gruplar Arasında Osteblast Sayısı.....	72
Tablo 15. Alt Gruplar Arasında Osteoblast Sayısı Tanıtıcı İstatistik Değerleri	73
Tablo 16. Ana Gruplar Arasında Osteoblast Sayısı Tanıtıcı İstatistik Değerleri.....	74
Tablo 17. Grup 1 ve Grup 2 A Defektinin Osteoblast Sayısı	74
Tablo 18. Grup 1 ve Grup 2 B Defektinin Osteoblast Sayısı.....	74
Tablo 19. Grup 1 ve Grup 2 C Defektinin Osteoblast Sayısı.....	74
Tablo 20. Grup 1 ve Grup 2 D Defektinin Osteoblast Sayısı	74
Tablo 21. Ana Gruplar ve Alt Gruplar Arasında Osteoklast Sayısı.....	75

Tablo 22. Alt Gruplar Arasında Osteoklast Sayısı Karşılaştırmasında Tukey Testi Sonuçları	77
Tablo 23. Ana Gruplar Arasında Osteoklast Sayısı Karşılaştırmasında Tukey Testi Sonuçları	77
Tablo 24. Grup 1 ve Grup 2 A Defektinin Osteoklast Sayısı	77
Tablo 25. Grup 1 ve Grup 2 B Defektinin Osteoklast Sayısı.....	78
Tablo 26. Grup 1 ve Grup 2 C Defektinin Osteoklast Sayısı.....	78
Tablo 27. Grup 1 ve Grup 2 D Defektinin Osteoklast Sayısı	78
Tablo 28. Ana Gruplar ve Alt Gruplar Arasında Yeni Kemik Oluşum Alanı	79
Tablo 29. Alt Gruplar Arasında Yeni Kemik Oluşum Alanı Karşılaştırmasında Tukey Testi Sonuçları	81
Tablo 30. Ana Gruplar Arasında Yeni Kemik Oluşum Alanı Tanıtıcı İstatistik Değerleri.....	81
Tablo 31. Grup 1 ve Grup 2 A Defektinin Yeni Kemik Oluşum Alanı.....	82
Tablo 32. Grup 1 ve Grup 2 B Defektinin Yeni Kemik Oluşum Alanı	82
Tablo 33. Grup 1 ve Grup 2 C Defektinin Yeni Kemik Oluşum Alanı	82
Tablo 34. Grup 1 ve Grup 2 D Defektinin Yeni Kemik Oluşum Alanı.....	83

1. GİRİŞ

Oral ve maksillofasiyal bölgedeki kemik defektlerinin yapısal ve fonksiyonel rekonstrüksiyon problemleri, henüz tatmin edici bir şekilde çözümlenememiş olup, modern cerrahinin en zor uğraşlarından biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Açığa çıkan geniş kemik defektlerinin iyileşmesi amacıyla çeşitli kemik greftleri veya kemik yerine geçen biyomateryallerin kullanımı üzerine araştırmalar devam etmektedir.

Kemik iyileşmesi tıbbın çeşitli alanlarında önemle üzerinde durulan bir konudur. Kemik yapının tamirinde uygun malzemenin seçimi tedavi sürecinin başarısını derinden etkilemektedir. Temel amaç hızlı ve kayıpsız iyileşmenin sağlanması olmalıdır. Kemik eksikliğinin olduğu bölgeye ve eksikliğin büyüklüğüne göre hekim bu defektleri greft malzemeleri ile tedavi edebilme olanağına sahiptir. Ağız ve çeneler bölgesinde kullanılabilecek greft çeşitleri; otogreftler, alloplastlar ve allojenik greftler olarak sıralanabilir.

Geniş kemik defektlerinin tedavisinin, altın standart olarak tanımlanan otojen kemik greft materyalleri ile mümkün olabileceği düşünülmüş, verici bölgenin morbiditesi ve alınan materyalin sınırlı miktarda olması araştırmacıları alternatif tedaviler uygulamaya yönlendirmiştir. İdeal kemik greftleri güçlü, kolay elde edilebilir, osteokondüktif ve osteoindüktif özelliklere sahip, kolay uygulanabilir ve ekonomik materyaller olmalıdır.

Hastaların cerrahi sonrasında normal fonksiyonlarını daha hızlı şekilde kazanmaları amacıyla günümüzde kemik iyileşmesini hızlandırmak için birçok uygulama gerçekleştirilmektedir. Bunların arasında; lokal ve sistemik ilaç uygulamaları (kalsiyum fosfat, fibrin yapıştırıcılar, kemik morfojenik proteinler, trombosit zengin plazma uygulamaları, vitamin D, büyüme faktörleri, hormonlar), elektromanyetik alan ile uyarı, hiperbarik oksijen tedavisi ve fiziksel stimülasyon sayılabilir (Jones 2005, Leisner et al., 2002). Kemik iyileşme sürecini hızlandırmaya ve komplikasyonlarını azaltmaya yönelik tekniklerden birisi de son yıllarda uygulama sıklığı artan ve araştırma konusu olan trombosit zengin fibrin (TZF) uygulamasıdır.

Büyüme ve farklılaşma faktörleri başta trombositler olmak üzere birçok hücreden salgılanabilmektedir. Bu faktörler lokal veya sistemik olarak hücrelerin büyümesini, fonksiyonunu, fenotipik özelliklerini ve matriks sentezini hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak otokrin, parakrin veya endokrin yolla etkileyebilmektedirler.

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

TZF'in, yüksek oranda PDGF ve TGF- β içermesi ve bu büyüme faktörleri salınımının anjiogenezin pik yaptığı, kemik yapımının başladığı 7-28 gün boyunca devam etmesi, iyileşmenin ilerleyen safhalarında makrofajların aktivasyonunu ve kemotaksisini sağlaması ve yara iyileşmesinde en önemli kriter olarak düşünülen pıhtının stabilizasyonunu sağlaması yara iyileşmesindeki önemini göstermektedir (Dohan et al., 2006b, 2006c).

Büyüme ve farklılaşma faktörlerinin önemli bir kısmını içeren ve hastanın kendi kanından elde edilebilen trombositten zengin fibrin (TZF)'in direkt olarak veya başka bir materyal ile karıştırılarak kemik rejenerasyonunda kullanılması son dönemlerde birçok araştırmacı tarafından incelenmektedir. Trombositten zengin fibrin; son yıllarda ortopedi, plastik cerrahi, oral ve maksillofasial cerrahi gibi kemik iyileşmesi ile ilgili branşlarda yaygın olarak kullanılmaktadır.

Çalışmamızda deneysel olarak oluşturulan kemik defektlerine, yalnız TZF ve TZF ile partikül otojen kemik grefti kombinasyonu uygulamasının kemik iyileşmesine olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kemik Dokusunun Özellikleri

Kemik dokusu, yapısında bulunan farklı hücrelerin ve ara maddenin üzerine organik ve inorganik tuzların çökmesiyle sağlamlık, esneklik gibi fiziksel özellikler kazanmış, ileri derecede özelleşmiş bir bağ dokusu türüdür (Baron 1999). Kemik, embriyolojik olarak mezenşimal hücrelerden enkondral ya da membranöz kemikleşme yolu ile farklılaşan bir dokudur. Vücudun hareketini ve postürünü sağlamak amacıyla kas ve tendonlara destek sağlar, iskelet sistemini oluşturup kaslarla birlikte hareketi sağlar, kranial ve torasik boşluklardaki hayati organları çevreleyip korur, kan hücrelerinin yapıldığı kemik iliğini ve hemotopoitik hücreleri içerir, kalsiyum deposu olarak görev alır (Bancroft and Stevens 2006). Kalsiyum, fosfat ve diğer iyonların vücut sıvılarındaki konsantrasyonlarını sabit düzeyde tutabilmek için bu önemli iyonların kontrollü olarak salıverilmelerini ya da depolanabilmelerini sağlamaktadır (Junquiera ve ark., 1998). Gelişimini tamamlamış kemik dokusu dişin mine tabakasından sonra dentin ile birlikte vücudun en sert dokusudur ve insan iskeletinin en önemli yapıtaşını oluşturmaktadır (Cireli 1999). Kemik; bütünleşmiş birçok hücreden oluşan, metabolik ve biyolojik açıdan dinamik bir dokudur. Bu yönden kemiğin büyüme ve iyileşmesi çok sayıda biyokimyasal, biyomekanik, hücrenel, hormonal ve patolojik olayın zincirleme reaksiyonu gibi düşünülebilir (Junqueira and Carneiro 2003). Ayrıca kemik, kendisini yapısal olarak tamir edebilen, kütle, şekil ve yapısal özelliklerini mekanik gereksinimler doğrultusunda düzenleyebilen ve yaşam süresince istemli fiziksel aktivitelere direnç ve destek sağlayan bir sistemin temel ögesini oluşturmaktadır (Jee 2001).

2.2 Kemik Hücreleri

Kemik hücreleri morfoloji, fonksiyon ve karakteristik özelliklerine göre osteoblastlar, osteositler, osteoklastlar ve farklılaşmamış (osteoprogenitör) hücreler olarak 4 gruba ayrılmıştır. Osteoblast, osteosit ve osteoprogenitör hücrelerin her biri diğerine dönüşebilir, yani tek bir hücre tipinin farklı gelişim evrelerini temsil etmektedirler. Osteoklastlar ise dolaşımda bulunan bütün hücreleri içine alan hematopoietik (kanı oluşturan) hücre ailesine aittir ve monositlerden köken almaktadır. Bu nedenle köken ve işlevine bağlı olarak sahip olduğu yapıyla da osteoklastlar diğer üç hücre tipinden oldukça farklı bir özelliğe sahiptir (Cowin 2001).

2.2.1 Osteoprogenitör Hücreler

Periostun iç kısmında ve merkezi kanalların çevresinde yerleşen endotelde yer alan, mezenşimden köken alan hücrelerdir (Öber ve İzzetoğlu 2006). Kemik normal büyümesi sırasında aktif olan bu hücreler erişkinlerde inaktif durumdadır. Ancak kemik yaralanması gibi durumlarda aktive edilerek mitozla çoğalırlar ve çoğalan bu hücrelerin bir bölümü kemiği oluşturan osteoblastlara dönüşür. Kemik yapımı durduğunda da osteoblastlar, osteoprogenitör hücrelere dönüşebilirler (Erkoçak 1975).

2.2.2 Osteoblastlar

Osteoblastlar kemik yapıcı hücreler olup %90 oranında Tip I ve az miktarda Tip V kollajen salgılamalarının yanı sıra kemik mineralizasyonu için önemli olan, glikoproteinleri, proteoglikanları, osteokalsin, osteonektin, osteopontin, osteoprotegerin, interlökin (IL), kemik morfojenik protein (BMP), dönüştürücü büyüme faktörü (TGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) gibi sitokinleri salgırlar. Bu faktörler hücre metabolizmasını düzenler. Sitokinlerin çeşitliliği ve sayısı osteoblast ve osteojenik

prekürsörlerinin fizyolojik durumlarına göre değişiklik gösterir. (Junquiera ve ark., 1998). Kemik yapıcı görevleri sona erdiğinde, yeni sentez edilmiş matriks içinde kalarak osteositlere dönüşürler. Osteoblastlar ile daha önce meydana gelmiş kemik matriksi arasında “*osteoid*” adını alan yeni ancak henüz kalsifiye olmamış matriks oluşur. Bu olaya “*kemik apozisyonu*” denir (Baron 1999).

2.2.3 Osteoklastlar

Osteoklastlar çok çekirdekli, 30-100 mikron büyüklüğünde, monositlerin birleşmesiyle meydana gelen kemik rezorpsiyonundan sorumlu hücrelerdir (Cireli 1999). Osteoklastlar kökenini kandan alan monositlerin birleşmesi sonucu oluşturdukları “mononükleer fagositik sistemin” içinde yer alsalar da, fagositoz yapma yetenekleri bulunmamaktadır. Bu hücreler kemik rezorpsiyonunun başladığı bölgelerde enzimatik olarak açılmış Howship lakünaları denilen çukurcuklarda bulunurlar (Öber ve İzzetoğlu 2006). Osteoklastlar salgıladıkları asit fosfataz ile kemiğin mineral matriksini yıkar, lizozomal enzimler aracılığı ile de kollajen ve diğer organik matriks yapılarını sindirerek rezorpsiyonu gerçekleştirirken kemik rezorpsiyonu sırasında meydana gelen atıkların da dokularca emilmesini sağlamaktadırlar (Junquiera ve ark., 1998).

2.2.4 Osteositler

Kemik yapımı sırasında osteoid madde içinde kalan osteoblastlar, organellerinin çoğunu kaybederek osteositlere dönüşürler. Osteositler kemiğin esas hücreleri olup olgun kemik hücresi adını almaktadır (Baron 1999). Osteoblastlardan köken alan osteositler, matriks lamelleri arasında bulunan lakünalar içinde yerleşmiş olarak bulunurlar. Osteositler, kemik matriksinin devamlılığı için aktif rol oynar, kan kalsiyum düzeyini dengede tutar ve besin maddelerinin hücre içine geçişini sağlar (Junqueira ve ark., 1998). Osteositlerin kemiğin diğer hücre tiplerine dönüşebilme özelliği de vardır. Kemik yıkımı sırasında içinde buldukları lakünalardan dışarı

çıkarak dinlenme halindeki osteoprogenitor hücrelere, bunlar da osteoblastlara dönüşebilir (Erkoçak 1975).

2.3 Kemik Matriksi

Kemik matriksi, organik ve inorganik matriks olmak üzere iki bölümde incelenir. Kemiğin organizmadaki gerekli işlevlerini tam olarak yerine getirebilmesi ancak dokudaki organik ve inorganik matriks elemanlarının uyumlu birlikteliğine bağlıdır. Kemik ağırlığının yaklaşık %20'si sudur. Kuru kemik ağırlığının ise %60-70'ini inorganik matriks, %30-35'ini ise organik matriks oluşturur (Guyton ve Hall 2007). Kemik matriksinin organik kısmını %90 oranında tip 1 kollajen oluşturur. Kalan %10'unu ise glikozaminoglikanlar (kondroitin sülfat, keratan sülfat, hyaluronik asit), glikoproteinler (osteonektin, osteopontin, sialoprotein), kemiğe özgü K vitamini bağımlı proteinler (osteokalsin, matriks Gla-protein, protein S) ve az miktarda tip V kollajen oluşturur (Lynch 2008). Osteoblastlar tarafından salgılanan mineralize olmamış kemiğin organik matriksini oluşturan bileşenlere "osteoid" adı verilir (Öber ve İzzetoğlu 2006). İnorganik matriks, kuru kemik ağırlığının % 60-70'ni oluşturmaktadır. Kalsiyum ve fosfattan oldukça zengindir. İçerdiği diğer mineraller ise; bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyumdur. Vücuttaki kalsiyumun %99'u, fosforun %85'i, magnezyum ve sodyumun %40-60'ı kemik dokusunda bulunmaktadır. Kalsiyum ve fosfor kompozisyonu ile hidroksiapatit kristalleri oluşur. Kollajen liflerinin yanında, amorf madde ile çevrili halde bulunurlar. Hidroksiapatit kristallerinin önemi, osteoid mineralizasyonu ve kollajenler ile birlikte kemik sertliğini ve dayanıklılığını sağlamalarıdır (Junquera ve ark., 1998).

2.4 Kemiği Saran Yapılar

Kemiğin iç yüzeyini örten tabakaya endosteum, dış yüzeyini örten tabakaya ise periosteum denir. İki tabakanın da temel işlevleri, kemik dokusunun beslenebilmesi, büyüyebilmesi ve onarımı için gerekli olan yeni osteoblastları aralıksız olarak

sağlamalarıdır. Bu nedenle kemik cerrahisinde periosteum ve endosteumun korunmasına çok dikkat edilir (Junquera ve ark., 1998).

İki tabakadan meydana gelir. İç tabaka; fibröz tabaka ve dış tabaka; osteojenik tabaka olarak adlandırılır. Fibröz tabakanın yapısında temel olarak kollajen ve elastik lifler bulunur. “*Sharpey lifleri*” adı verilen kollajen uzantılar ile kemiğe bağlanmaktadır. Sharpey lifleri, matriks içine girerek periostu kemiğe bağlar. Hücreden daha zengin olan gevşek bağ doku içeren periostun iç tabakası ise bölünüp farklılaşarak osteoblastları oluşturabilme potansiyeline sahip olan yassı hücrelerden yana zengindir (Cowin 2001).

Endosteum, kemik iliği kavitesini ve kompakt kemiğin kanal sistemlerini çevreleyen ince retiküler bir bağ dokusudur. Endosteum tek kat yassı hücreler ile çok az miktarda bağ dokusundan oluşur (Junquera et al., 1998). Bu tabaka içinde kemik ve kan hücrelerinin öncüleri olan osteoprogenitör hücreler vardır (Öber ve İzzetoğlu 2006).

2.5 Kemik Dokusu Tipleri

Kemik dokusu birincil kemik dokusu ve ikincil kemik dokusu olarak iki ayrı başlık altında incelenmektedir.

2.5.1 Birincil (Olgunlaşmamış-Örgü) Kemik Dokusu

Birincil kemik, prenatal dönemde, büyüme ve kemik iyileşmesi sırasında üretilir. Embriyonik iskeleti oluşturur. Geçici bir kemik yapısı olup yetişkinlerde, kafadaki yassı kemik eklemleri, dış alveolleri ve tendonların kemiğe tutunduğu bölgeler gibi birkaç yer dışında yerini 3 yaşından sonra lameller kemiğe bırakır. Oldukça hızlı oluşan, hücrece zengin, lameller yapı yerine yeni şekillenmiş düzensiz kollajen fibriller içeren kemiktir. Mineral içeriği azdır ve mekanik direnci düşüktür. Birincil kemikte kollajen fibriller ince ve değişik yönlere dağılarak doku içinde ağ yapıları oluşturur (Junqueira ve Carneiro 2009).

2.5.2 İkincil (Olgunlaşmış-Lamelli) Kemik Dokusu

İkincil kemik dokusu yetişkinlerde bulunan kemik dokusudur. Birincil kemik dokusuna göre daha az sayıda olan kemik hücreleri, kollajen liflerin düzenli dağılımına bağlı olarak gelişen kemik lamelleri üzerinde düzenli bir şekilde yer alır. Kalsiyum tuzları hidroksiapatit kristalleri şeklinde kollajen lifler üzerinde birikmiş olup, mineralizasyon tamamlanmıştır. Bulunduğu yere ve fonksiyona göre özelleşerek ikiye ayrılır. Bunlar; kortikal (kompakt) kemik ve spongioz (kansellöz-trabeküler-süngerimsi) kemiktir.

Kortikal kemik, tüm kemiklerin dış tabakasında bulunur. Kortikal kemik dokusunda bulunan ve içerisinden kan damarlarının geçtiği havers ve volkmann kanalları vardır. Havers kanalları, yatay ya da oblik seyreden volkmann kanalları aracılığı ile kemik iliği boşlukları ve periosteum arasında bağlantı kurar. Volkmann kanallarının etrafında Havers kanallarında olduğu gibi dairesel lameller yoktur ve kanallar lamelleri delerek geçer. Bu kanallarda arterioller, venüller, kapillerler, lenfatikler ve sinirler yer alır. Kortikal kemiğin mekanik gücü havers kanallarının sıkı dizilimine bağlıdır (Junqueira ve Carneiro 2009).

Spongioz kemik, kemiklerin metafiz ve epifizlerin iç kısımları ve yassı kemiklerin iç yüzeylerinde bulunur (Junqueira ve ark., 1998). Geniş trabeküler aralıkları vardır, daha yavaş bir yaşam döngüsüne sahiptir. Trabeküllerin arasında ve kemik dokunun medüller kanalında kemik iliği bulunur (Ataoglu 1999).

2.6 Kemik Yapımı Mekanizmaları

Kemik oluşumu, osteoblastların salgıladıkları matriksin doğrudan doğruya mineralizasyonu ile gerçekleşen intramembranöz kemikleşme ya da daha önce varolan kıkırdak matriksinin üzerine kemik matriksinin çökmesi ile oluşan endokondral kemikleşme yoluyla oluşmaktadır (Junqueira ve Carneiro 2009).

2.6.1 İntramembranöz Kemik Yapımı

Frontal, parietal, oksipital, temporal kemikler ile maksillanın bazı bölümleri ve mandibulanın processus koronoideus ve simfizis dışındaki bölgeleri intramembranöz kemikleşme ile meydana gelir. Bu tip kemiğin oluşacağı bölgelerde mezenşim hücreleri yoğunlaşıp birbirleriyle bağlantı kurarlar. Mezenşim yoğunlaşması içinde kemikleşmenin başladığı ilk noktaya “birincil kemikleşme” merkezi denir. Bir grup mezenşim hücresi osteoblasta dönüşür. Yeni kemik matriksinin oluşmasını kalsifikasyon takip eder. Bunun sonucunda osteoblastların etrafı sarılır ve daha sonra bu hücreler osteosit haline gelirler. Gelişmekte olan bu kemik adacıklarına spikül adı verilir. Spiküller, kapillerleri, kemik iliği hücrelerini ve farklılaşmamış hücreleri içeren boşluk ile birleşerek spongiöz kemik yapısını oluşturur. Bağ dokusunun kemikleşmeye katılmayan bölümleri ise periosteum ve endosteumu oluştururlar (Junquera ve ark., 1998).

2.6.2 Endokondral Kemik Yapımı

Temel olarak endokondral kemikleşme iki aşamadan oluşmaktadır. İlk aşama kemik modelindeki kondrositlerin hipertrofisi ve harabiyetidir. Bu yıkımla kemik lakünaları oluşur. İkinci aşama ise, farklılaşmamış mezenşimal hücrelerin kırıkdağı rezorbe etmeleri, osteoprogenitör hücreler ve kan kapillerlerinden oluşan osteojenik tomurcukların, dejenere olmuş kırıkdağı hücrelerinden geriye kalan aralıklara girmesi ve osteoblastların oluşmasıdır (Junquera ve ark., 1998).

Endokondral kemikleşmede, önce mezenşim doku kemiğin yetişkin şeklinin küçük bir hiyalin kırıkdağı modelini oluşturur ve kemikleşme bu kırıkdağı model içinde başlar. Kemiğin kırıkdağı model içinde gelişmesi için önce bu kırıkdağı dokunun yıkılması gerekir. Kırıkdağı yıkımı ve kemik yapımının yan yana seyretmesi nedeniyle endokondral kemik oluşumu daha karmaşık seyreder (Soydan 1992).

Her iki yolla da ilk ortaya çıkan kemik dokusu, birincil ya da olgunlaşmamış kemik dokusudur. Birincil kemik dokusu geçicidir ve kısa bir süre sonra yerini ikincil kemik dokusuna bırakır. Kemiğin yapımı ve yıkımı (apozisyon-rezorbsiyon)

sadece büyüyen kemiklerde olmayıp, yetişkinlerde de hızını oldukça azaltarak hayat boyu devam eder (Junqueira ve ark., 1998). Ayrıca her iki kemikleşme tipinde de dokunun büyümesi ile çevredeki bağ doku periosta dönüşür. Periost, kemiğe Sharpey lifleri ile bağlanır. Periost; iç tabaka “osteoblastik tabaka” ve dış tabaka “fibrotik tabaka” olmak üzere iki tabakadan oluşur. Selüler ve osteoblastik olan iç tabaka damarlardan zengin bir yapıdadır. Osteoblastik olmayan dış tabaka ise kas ve ligamentlerin bağlandığı kollajen ve elastik liflerden oluşur. Periostun iç tabakasının osteoblastik aktivitesiyle de “apozisyonel kemikleşme” oluşmaktadır. İntramembranöz kemikleşme meydana geldikten sonra kemikleşme periosteal faaliyetlerle sürdürülür (Kostopoulos and Karring 1995).

2.7 Kemik İyileşmesi Safhaları

Kemikte meydana gelen herhangi bir hasar sonucunda, kemik iliği boşluğu, korteks, periosteum ve kemiği saran yumuşak dokularda farklı reaksiyonlar meydana gelir. Hasarın tipine, lokalizasyonuna ve tedavi metoduna bağlı olarak bu reaksiyonlar aynı anda veya ilerleyen dönemlerde gelişebilir (Zhang et al., 2005).

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

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

2.7.1 Enflamasyon Evresi (1-4 gün)

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

2.7.2 Onarım Evresi (2-40 gün)

Onarım mekanizmasında rol oynayan hücreler mezenşimal kökenli çok yönlü gelişim gücüne sahip (pluripotent) hücrelerdir. Çoğunlukla kırık bölgesindeki granülasyon dokusunun içinden, ayrıca periosteumun osteojenik tabakası ve daha az olarak da endosteumdan köken alırlar. Bu hücreler farklılaşmaya başladığında, ilk değişikliğe uğrayan hücreler, kılcak damarlarla hematoma içine giren 'fibroblastlar'dır. Üçüncü günde hasar bölgesinde, yoğun mezenşimal hücre vardır. Periosteal ve endosteal osteojenik hücrelerle, fibrin matriksteki fibroblastların çoğalıp farklılaşmasıyla, bu granülasyon dokusu oluşur (Kılıçoğlu 2002). Bu dokunun içindeki makrofajlar oluşan debrisini temizlemeye yardım ederler. Granülasyon dokusu, makrofajların rezorbe ettiği sahalara doğru yayılır. Periosteum ve endosteumdan gelişen fibroblastlar bölgeye göç ederler. Bazı fibroblastlar,

kollajen fibrilleri salgımlarken bazı fibroblastlar ise kondroblastlara farklılaşarak kartilaj sentezleyip fibrokartilaj bir yapı olan yumuşak kallusu oluştururlar.

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

2.7.3 Osteoid Doku Oluşumu (12-21 gün)

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

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

2.7.4 Geçici Kallusun Kalsifikasyonu (21. günden sonrası)

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

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

2.8 Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Greft Materyalleri

Greft terimi, doku ve organların kazanılmış veya konjenital deformitelerinin rekonstrüksiyonunda yer tutucu özelliği ve kemik yapımını uyarıcı tüm materyaller için kullanılır (Jablanski 1982). Oral ve maksillofasiyal bölgenin kemik yapılarında

da atrofik maksilla ve mandibulanın rekonstrüksiyonunda, konjenital, travmatik, dejeneratif, enflamatuvar, enfeksiyöz, kistik ve neoplastik orijinli deformitelerin giderilmesinde kemik greftlerine gereksinim duyulmaktadır (Schenk 1994).

Greft materyalleri 3 farklı mekanizma ile kemik iyileşmesine katkıda bulunurlar (Marx and Saunders 1986).

Osteogenezis; kemik greft materyalleri, içermiş oldukları organik materyalleri ile direkt olarak osteoblast hücrelerinden kemik oluşturma yeteneğine sahiptir. Dokuda farklılaşmamış mezenşim hücrelerinin olmadığı ortamlarda bile bu tür organik maddeler osteogenez kabiliyetine sahiptir. Osteogenetik materyaller canlı kemik hücrelerinin bir birleşimidir. Greft hücreleri de yeni kemik yapma özelliklerine sahiptir. Bu nedenle osteogenez karakterine sahip tek greft materyali otojen kemiktir. Bu tip greftlere canlı kansellöz kemik, kemik iliği ve periosteal greftler örnek olarak verilebilir.

Osteoindüksiyon; osteoblastik aktiviteyi arttırarak kemik oluşumunun sağlanmasını ifade etmek için kullanılan bir terimdir. Bu mekanizmada osteoblast ve kondroblastlar içerisinde bulunan farklılaşmamış mezenşimal hücrelerin fenotipik değişimle kemik hücrelerine dönüşmesi sağlanmaktadır. Otojen kemik greftleri ve demineralize kemik greftleri osteoindüktif etkiye sahiptir.

Osteokondüksiyon; bazı greft materyallerinin, mevcut defektin kenarlarından oluşacak yeni kemik dokusu için bir yapı iskelesi (çatı) oluşturmasıdır. Greftin içinde ve çevresindeki kapillerlerin, osteoprogenitör hücrelerin alıcı bölgeye göçü ve komşu kemik bölgesinden kemik apozisyonu ile kemik oluşumu sağlanmaktadır. Kortikal kemik, allojenik ve alloplastik greftler ve heterojenik kemik materyalleri osteokondüktif etki sağlamaktadır.

Kemik greft materyalleri temel olarak, şu şekilde sınıflandırılır (Constantino and Freidman 1994).

- 1- Otogreftler
- 2- Allogreftler
- 3- Heterojen Greftler (Ksenogreftler)
- 4- Kemik Esaslı Olmayan Sentetik Biyomateryaller (Alloplastlar)

2.8.1 Ototreftler

Ototreft, greftin aynı bireyden alınıp yine aynı bireyde kullanılması durumudur. Alıcı ve donör aynı kişidir (Bauer and Muschler 2000). Oluşan kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda, osteoindüktif ve osteokondüktif potansiyele ve osteojenik hücrelere sahip olan otojen kemik greftleri öncelikli olarak tercih edilir. Günümüzde otojen kansellöz (spongiöz) kemik grefti "altın standart" olarak kabul edilmektedir. Aynı zamanda kemik morfojenik proteinlerinin varlığında osteoblastlara dönüşebilen mezenşimal hücreleri sağlamaktadırlar. Canlı hücre kapasitesine sahip olduklarından, alıcı bölgede osteoblastları stimüle ederler (Tomin ve ark., 2002). Alındıkları bölgeye göre kortikal, kansellöz ve kortiko-kansellöz olarak alt gruplara ayrılırlar. Otojen kemik greftleri ağız içinde çenelerin dışsız bölgelerinden, iyileşmekte olan çekim boşluklarından, maksillanın tüber bölgesinden, mandibula retromolar bölgeden, mandibular simfiz bölgesinden, kemik çıkıntıları ve ekzostozlardan alınabilir. Ağız dışında otojen kemik greftlerinde tercih edilen bölgeler ise iliak kemik, tibia, fibula, kalvaryum ve kostalardır (Tuskan ve Yaltirik 2002). Otojen kemik grefti, intramembranöz orjinli (kalvarial kemik, mandibula) veya endokondral orjinli (iliak, kostalar) olabilir. İntramembranöz tipteki kemik grefti ile defekt direkt olarak kemikle iyileşir. Endokondral tipteki kemik greftinde ise, defekt kartilaj formasyon fazı aracılığıyla iyileşir. İntramembranöz kemik endokondral kemikten daha önce revaskülarize olur, rezorpsiyonu ise daha yavaştır (Tomin ve ark., 2002).

Otojen kemik greftlerindeki kemik gelişme mekanizması 3 aşamadan oluşmaktadır. Graftin kansellöz kısmında primer olarak bulunan canlı transplante hücreler etraftaki damarsal dokulardan beslenerek 3-4 gün ayakta kalırlar. Transplantasyon işleminden arda kalan kemik trabekülleri içindeki osteositler, yeni osteoid doku oluşumu ve proliferasyonundan sorumludur. Bu osteojenik aşama faz 1 yapım aşaması olarak adlandırılır. Kan damarları, fibröz doku ilerleme hızında (günde yaklaşık 1 mm civarında) greft sahası içine doğru ilerleyebilir. Graftin başarısı bu yüzden erken damarlanmaya bağlıdır. Bu aşama 4 hafta içinde azalmaktadır. Transplante kemik hücreleri öldükçe, konağın kemik hücreleri rezorpsiyon ile grefti yeniden şekillendirmektedir. İndüktif proteinler ve büyüme

faktörleri transplante hücreler tarafından salınarak faz 2 osteoindüktif fazı başlatır. Bu faz yaklaşık greftlemeden sonra 6. haftada başlar ve 6 aya kadar gelişebilir. Kortikal kemik morfojenik proteinlerin başlıca kaynağıdır. Kortikal kemik sahada osteokondüktif etki sağlayarak çatı görevi de görmektedir. Bu faz, 3. faz olarak adlandırılır. Bu yüzden otojen kemik greftleri 3 fazı da içerdiği için, greftleme teknikleri içinde altın standart olarak kabul görmektedir (Jensen 2000, Misch 2003).

Hızlı revaskülarize olmaları ve immünolojik reaksiyona yol açmamaları açısından avantaj sağlarken, ikinci bir cerrahi işleme ihtiyaç göstermesi, genel anestezi gerektirmesi, cerrahi işlem süresini uzatması, kan kaybını arttırması, otogreftin erken rezorpsiyonu, donör bölgede ağrı, parestezi, hareket kısıtlılığı, yüksek oranlarda verici sahada morbidite oluşturması ve istenilen miktarda elde edilememesi gibi bazı dezavantajları mevcuttur (Rabie et al., 2000).

2.8.2 Allogreftler

Allogreftler alıcı ile aynı türden olan ancak genetik olarak farklı bireylerden elde edilen kemik dokularıdır. Bu greftler yaşayan insanlardan veya kadavralardan elde edilmekte ve kemik bankalarında saklanmaktadır.

Hazırlanma yöntemlerine göre üç tip allogreft vardır (Nasr et al., 1999).

- a) Dondurulmuş kemik allogreftleri
- b) Dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftleri
- c) Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftleri (DDKKA)

- a) Dondurulmuş kemik allogreftleri

Taze dondurulmuş kemik allogreftleri sadece dondurma işlemi ile hazırlandığı için osteoindüktif proteinleri korunmaktadır. Antijenik özelliklerinin eliminasyonundaki güçlükler ve hastalık transferi riski nedeniyle oral cerrahide fazla kullanılmamaktadır (Nasr et al., 1999).

b) Dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftleri (DKKA)

Günümüzde kullanılan kemik allogreftlerinden biri olan dondurulmuş kurutulmuş kemik greftleri osteokondüksiyonla iyileşirler, ayrıca bu kemik allogreftlerinin osteoindüktif potansiyeli yoktur (Marx et al., 1981). Bu tip greftler kadavradan elde edilen kemiğin -80°C'de dondurularak aşamalı olarak kurutulmasıyla ve materyalin yaklaşık 2 hafta süre ile dehidratasyon işlemine tabi tutulmasıyla elde edilmektedir. Kemiğin içindeki su miktarı %5'in altına düştüğünden greft materyalinin mekanik özellikleri de zayıflamaktadır. Virüs taşıma olasılıkları düşük olmasına rağmen hücrel immünolojik reaksiyonlara sebep olabilmektedirler (Tuskan ve Yaltirik 2002).

c) Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftleri (DDKKA)

Hidroklorik asit banyosundan geçirilip etanol ve kloroform uygulanır ve yağlar eritilir. Bu işlemler ile proteinlerin % 90'ı yok edilir. Yoğun bir şekilde yıkandıktan sonra dondurulup kurutulur. Bu işlem sonunda kemikte kalan proteinlerden biri, kemik oluşumunu uyarıcı görev yapan kemik şekillendirici proteindir (BMP) (Amler 1987).

Bazı yazarlar bu tür greftlerin osteoindüksiyon ile iyileştiklerini ileri sürerler (Petri 1991). Bu süreç greftin yerleştirildiği alıcı doğal kemikten kaynaklanan çok potansiyelli hücreleri kapsar. Bölgeyi dolduran bu hücreler farklılaşarak osteoblastlara dönüşürler (Nasr et al., 1999).

Allogreftler, altın standart otojen greftler ile karşılaştırıldığında kötü biyomekanik özellikleri ve düşük kaynama oranları gösterirler. Biyolojik olarak zayıf özellikte olup enfeksiyon ve enflamasyon riskleri taşımaktadırlar (Tomin ve ark., 2002). Bu dezavantajlarının yanında allogreftlerin istenilen miktarda bulunma gibi avantajları da bulunmaktadır.

2.8.3 Heterojen Greftler (Ksenogreftler)

Ksenogreft olarak da adlandırılırlar. Memeli hayvanların kemiklerinden veya mercan kabuklarından elde edilirler. Günümüzde kullanılmakta olan iki tip heterogreft vardır (Nasr et al., 1999).

a) Sığır kaynaklı hidroksiapatitler

Sığır kemiklerinin tam olarak deproteinize edilmesi ile elde edilirler. Geri kalan inorganik bölüm, poröz hidroksiapatit partikülleridir ve yapısal olarak insan kansellöz kemiğine benzerdir. Alıcı doku tarafından iyi tolere edilirler. İyileşmeye osteokondüktif katkı gösterirler. Ksenogreftler, farklı boyut ve şekillerde piyasaya sunulmuştur. Blok formları, plastik ve rekonstrüktif cerrahi ile maksillofasiyal cerrahide onlay greft olarak kullanılırken granül formları periodontal kemik defektlerinde, çekim kavitelerinde ve küçük kist operasyonlarında başarılı bir şekilde hem fonksiyonel hem de estetik kayıplarda rahatlıkla kullanılmaktadır. Daha güçlü materyaller ile birleştirilerek kombine olarak da kullanılabilirler (Kökden ve Türker 1999).

b) Mercan kaynaklı kalsiyum karbonatlar

Mercan kaynaklı greftler osteokondüktif, kolay hazırlanabilen, kolay şekillenebilen, biyouyumlu ve maliyeti düşük olan greftlerdir. Kemiğe, yapısal olarak yakınlığı ve biyolojik olarak inert bir madde olması nedeni ile ideal bir greft materyalidir. Mercan greftleri, direkt osteoblastik apozisyonlanma için iskelet görevi görür (Revell 1986).

2.8.4 Sentetik Greft Materyalleri (Alloplastlar)

Sentetik greft materyalleri, canlı dokulardan elde edilmeyen sentetik olarak üretilen maddelerdir. Alloplastlar olarak da adlandırılan sentetik greft materyalleri şu şekilde sınıflandırılabilir (Cila 2004).

a) Biyoseramikler

Hidroksiapatit tozlarının yüksek ısı ve basınç altında birbirleriyle kaynaştırılması (sinterizasyon) ile elde edilirler. Kalsiyum fosfat greft maddeleri olarak da adlandırılırlar (Newman 2002).

b) Biyoaktif camlar

Bioaktif camlar esas olarak silikon dioksit, sodyum oksit, kalsiyum oksit ve fosfor oksitten ibarettir. Biyoaktif özellikleri olan bu materyallerin osteogenezisi yönlendirip arttırarak hızlı yeni kemik oluşumuna neden olduğu ileri sürülmektedir (Cila 2004).

c) Polimerler

Polimetilmetakrilat, polihidroksietilmetakrilat ve kalsiyum hidroksitten meydana gelen doku uyumlu, mikroporöz bir greft maddesidir. Alveol kemiği ile yakın temasta olduğunda yeni kemik oluşumu için bir yapı iskelesi görevi gördüğü ve osteokondüktif etki gösterdiği anlaşılmaktadır (Freihofer 2000).

Uzun yıllardır geniş kullanım sahası bulunan sentetik greft materyalleri, hidroksiapatit (Mocan ve Kışnişçi 1990) ve trikalsiyum fosfattan (İçten ve ark., 1989) oluşur ve bu materyallerin biyouyumlulukları oldukça iyidir.

2.8.5 Kemik Greft Materyallerinin Patofizyolojisi

Greft uygulanan bölgede operasyondan hemen sonra dakikalar içinde o alanda trombosit agregasyonu oluşur. Trombositler, fibroblast büyüme faktörü (FGF), insülin büyüme faktörü (IGF) gibi büyüme faktörlerini salgırlar. 1-18 saat içinde polimorf nükleer lökosit kemotaksisi ve akümüasyonu oluşur. Bunu 1-3. gün içinde mezenşimal hücrelerin göçü ve çoğalması, 5-9. günlerde kondrosit farklılaşması, 10-12. günlerde osteoblast farklılaşması ve primer kemik doku oluşması, 12-18. günlerde artmış osteoblastik aktivite ile kemik remodelingi oluşması takip eder. 21. günden sonra kemik iliği oluşumu başlar (Kekilli ve ark., 2005).

Canlı kemik greft hücrelerinden erken kemik oluşumu (kallus formasyonu) cerrahi sonrasında 4-8. gün arasında olur. Kansellöz kemik greftinin, yeni kemik oluşum potansiyeli (yüzey alanı fazlalığına ve osteoblast göçüne bağlı olarak) kortikal greftten çok daha fazladır. Kemik remodeling sürecinde, osteoklastik aktiviteyi osteoblastik aktivite izler. Bütün birincil kemik dokunun yerini sekonder kemik doku alır ve bu işlem ömür boyu sürer (Kekilli ve ark., 2005).

Kemik greftlerinde beş evre sonunda şekillenmiş kemik oluşur. Bunlar inflamasyon, osteogenezis, revaskülarizasyon, remodeling ve şekillenmiş kemik evreleridir. Kansellöz kemik greftleri genellikle tamamen rezorbe edilip alıcının kemik dokusu ile yer değiştirirken; kortikal kemik greftleri tamamen rezorbe edilemezler. Kansellöz kemikteki ikinci günden itibaren revaskülarizasyon başlarken, osteoklastlar vasıtası ile greftin rezorpsiyonu da başlamış olur. Revaskülarizasyon greft çevresinde başladığından, kansellöz kemik greftinin orta kısmında nekrotik bir saha oluşabilir ve bu da radyolojik olarak densite artışıyla izlenebilir. İnflamasyon, revaskülarizasyon ve osteoindüksiyon çok erken başlayan dinamik bir süreç iken remodeling ve osteokondüksiyon aylar süren bir süreçtir (Kekilli ve ark., 2005).

2.9 Trombositten Zengin Fibrin (TZF)

Kan kaynaklı ürünlerin ilk formu olan fibrin yapıştırıcıları ilk olarak 1980'lerin başında cerrahi adeziv olarak tanımlanmış ve kullanılmıştır. Bu yıllarda fibrin yapıştırıcıların hemostatik ajan ve cerrahi yapıştırıcı olmasının yanı sıra doku iyileşmesini de iyi yönde etkileyebileceği saptanmıştır (Niekisch 1980). Sonraki yıllarda ise trombositlerdeki TGF- β 'nın da keşfedilmesiyle bu ajanın sert ve yumuşak doku rejenerasyonunda kullanılabileceği düşünölmeye başlanmıştır (Tamimi et al., 2006). Tekniklerin ve kullanılan ekipmanların hızlı bir şekilde gelişmesiyle 1990'larda fibrin yapıştırıcıdan daha yüksek konsantrasyonda trombosit ve fibrinojen içeren TZP kullanıma sunulmuştur. İlk defa Whitman et al. (1997)'in yapmış olduğu çalışma ile oral cerrahi alanında da tanınmıştır. Elde edilen bu gelişmiş fibrin yapıştırıcı, yıllardır hemostatik bir ajan ve cerrahi adeziv olarak kullanılmaktadır.

Trombositten zengin fibrin (TZF) ise kan kaynaklı ürünlerin son geliştirilen tipidir. 2001 yılında Fransa'da Choukroun tarafından bulunmuştur. Bu yöntemle kan herhangi bir antikoagölana (sığır trombini, heparin, kalsiyum klorid, EDTA) ihtiyaç duyulmadan alınır ve hemen sonrasında düşük hızda santrifüj edilir (Process protocol, Nice, France). Choukroun'un TZF'inde doğal pıhtılaşma süreci olur ve kanın herhangi biyokimyasal modifikasyonuna ihtiyaç duyulmadan trombosit aktivasyonu ve fibrin polimerizasyonu uyarılarak lökositten ve trombositte zengin fibrin pıhtı kolay bir şekilde elde edilir (Dohan et. al, 2006a).

TZF, iyileşme ve immünite için gereken tüm kan elemanlarını içeren ve tek bir fibrin yapıda toplayan, otolog, sikatriyel bir matrikstir. Bu matriks trombositler, lökositler, sitokinler ve dolaşımında bulunan kök hücrelerin konsantre halde bulunduğu, kompleks, güçlü üç boyutlu mimaride fibrin yapıdan oluşur (Dohan et al., 2011). Alınan kanın içerisindeki trombositlerin % 97'sinin, lökositlerin ise %50' den fazlasının bu üç boyutlu fibrin yapısı ile TZF pıhtı içerisinde bulunduğu belirtilmiştir (Dohan et al., 2011).

2.9.1 TZF'in İyileşme Mekanizmasına Etkisi

TZF'in yavaş polimerizasyon prosesi, trombosit sitokinlerinin ve glikanik asit zincirlerinin fibrin ağ içerisinde birleşmesine izin verir. Uygulamadan sonra hemen çözülmez; güçlü fibrin yapı doğal kan pıhtısına benzer şekilde remodelasyona uğrar. Bu şekilde lökositler ve trombositler bir araya toplanırlar. Büyüme faktörleri ve trombositlerin yaklaşık %95'i fibrin matriks içinde kalır (Dohan et al., 2006a). Trombosit sitokinleri, fibrin matriksin fizyolojik rezorbsiyonu esnasında düzenli olarak salınır ve matriks glikoproteinleri TZF'in fibrin mimarisi içerisinde hızlı hücre göçünü ve hücre çoğalmasını sağlar. Sitokinlerin düzenli salınımı yaralanan doku içerisindeki enflamatuvar olaylarda düzenleyici rol oynamaktadır. Fibrin matriks ve içeriğindeki büyüme faktörleri sinerjistik etkileşim ile sert ve yumuşak dokuların doğal yolla ve daha hızlı iyileşmesine olanak tanır. Bu sitokinler ve büyüme faktörleri yara iyileşmesi, hasar görmüş dokuların yerine konması ve vasküler bütünlüğün sağlanmasında rol oynar (Dohan et al., 2006a).

TZF'in doku iyileşmesini hızlandırmasında, etkili neovaskülarizasyon özelliği, hızlı sikatriyel doku iyileşmesi ve enfeksiyöz olayların hemen hemen hiç oluşmaması gibi faktörler etkilidir (Dohan et. al., 2011).

TZF, tetra moleküler yapısı ile endotelial hücreler ve fibroblastlar için matriks oluşturur. Hızlı anjiogenez ve fibrinin kolay remodelasyonunu sağlar. TZF sadece basit bir fibrin yapı değil aynı zamanda iyileşmeyi sağlayan tüm molekülleri ve hücrel elemanları içeriğinde bulunduran bir matrikstir (Choukroun et al., 2006a). Erken dönemde yara bölgesini korur ve yumuşak dokunun primer kapanmasına yardımcı olur (Del Corso et al., 2009a).

Fibrin, kollajen sentezi ve biyomekanik yara direncinin sağlanmasında önemlidir, ayrıca fibrin ağ yapısı büyüme faktörlerinin proteolitik degradasyonlarını önleyerek TZF'in etkili olmasını sağlar (Lundquist et al., 2008).

2.9.2 TZF'in Avantajları ve Dezavantajları

Günümüze kadar geliştirilen kan kaynaklı ürünler arasında kolay uygulanabilir, otojen kaynaklı ve ekonomik bir yöntem olarak dikkati çekmektedir.

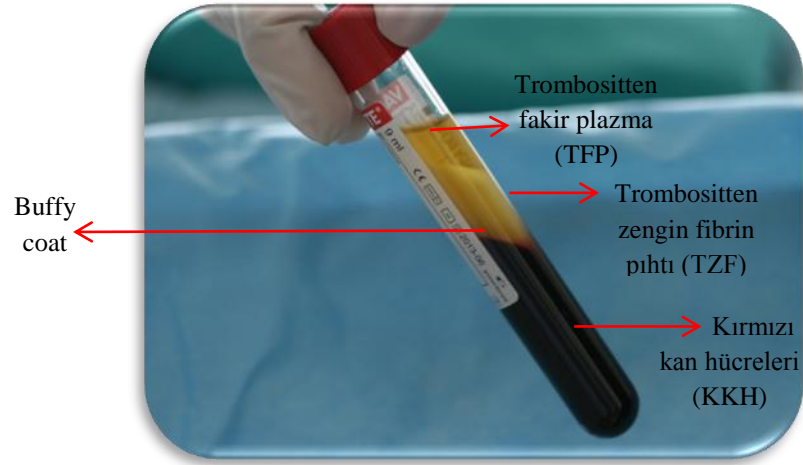
TZF'in doğal ve yavaş polimerize olarak herhangi bir otoimmün reaksiyona yol açmaması, alıcı ya da verici sahada enfeksiyon riski oluşturmaması, 28 gün boyunca büyüme faktörü salınımı yaparak kemik mezenşimal kök hücre çoğalmasında ve farklılaşmasında etkili olması avantajları arasında belirtilmiştir (Dohan et al., 2009a). Bireyin kendisinden elde edildiği için az miktarda ürün elde edilmesi ve sadece verici kişiye spesifik olmasından dolayı doku bankalarının kullanımına izin vermemesi gibi dezavantajları da belirtilmiştir (Dohan et al., 2011).

2.9.3 TZF'in Hazırlanması

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

Santrifüj sonunda tüp içerisinde 3 katman oluşmaktadır. Tüpün en üstteki kısmında trombositten fakir plazma ortada TZF pıhtı, en alt tabakada ise kırmızı kan hücreleri (KKH) birikmektedir (Dohan et al., 2006a, Resim 1).

TZF, steril bir penset yardımıyla tüpün uç kısmına doğru çekilir ve KKH tabakasından ayrıldıktan sonra steril bir metal kabın içerisine aktarılır (Dohan et al., 2006a).



Resim 1. Santrifüj sonrası TZF görünümü

Çıplak gözle bakıldığında, TZF'in ana gövdesinin sarı bir fibrin pıhtı tabakasından oluştuğu görülür. Pıhtının uç kısmındaki KKH'lerinden oluşan kırmızı bölge ile sarı fibrin pıhtı arasında "buffy coat" olarak adlandırılan beyaz renkli bir tabaka bulunur (Resim 1). Bu bölge geniş ve yoğun kümeler halinde bulunan fibrin ve trombositlerden oluşur. Fibrin yapı histolojik olarak incelendiğinde ise dağılmış hücresel elemanların, fibrin ağın çok kalın paralel lifler halinde bulunması nedeniyle ayırt edilemediği belirtilmiştir (Dohan et al., 2006b).

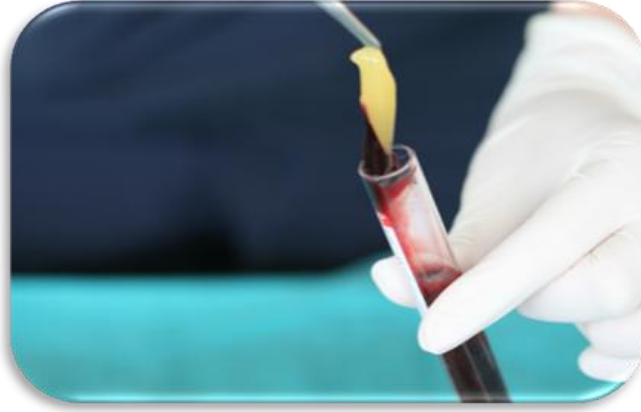
Fibrin pıhtı ve KKH tabakası birleşiminin ilk 2 mm'lik kısmında pıhtı boyunca trombosit ve lökosit dağılımı homojen dağılım gösterirken pıhtı içerisindeki trombosit ve lökosit dağılımı eşit değildir. Trombosit ve lökositler, fibrin pıhtı ve KKH tabakası arasındaki tabakada yoğunlaşmaktadır. Bu nedenle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

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

2.10 TZF'in Kullanım Alanları

İkinci nesil trombositten zengin plazma (TZP) olarak da adlandırılan TZF, greft materyali (sealant) olarak ya da membran formunda başarılı bir şekilde kullanılabilir (Choukroun et al., 2006a).

TZF, tüpten steril pensetler yardımı ile çıkarıldıktan sonra kırmızı kan hücrelerinden kesilerek ya da sıyrılarak uzaklaştırılır (Resim 2 ve 3). İki gazlı bez arasında sıkıştırılıp eksuda kısmı ayrıştırılarak membran haline getirilebilir (Resim 4). Ya da bir süre spançların arasında kendi haline bırakılarak da membran haline gelebilir.



Resim 2. TZF'in penset yardımı ile tüpten çıkarılması



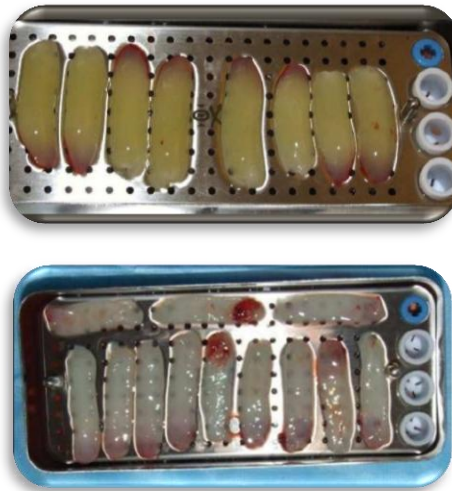
Resim 3. TZF'in kırmızı kan hücrelerinden ayrıştırılması



Resim 4. TZF'in iki spanç arasında sıkılarak membran haline getirilmesi



Resim 5. TZF kutu (Toffler et al., 2010)



Resim 6. TZF membranının oluşması (Del Corso et al., 2010)

Bu işlem için özel olarak üretilmiş TZF kutu (PRF Box, Process Ltd., Nice, France) da kullanılabilir (Resim 5). TZF kutu sabit kalınlıkta membranlar oluşturarak bu membranları hidrate bir şekilde korur ve fibrin pıhtıdan elde edilen fibronektin ve vitronektinden zengin eksudayı toplamak için kullanılır. TZF, kutunun ızgaraları üzerine yerleştirildikten sonra üzeri kapatılır (Resim 6). Kutunun alt kısmında toplanan serum TZF'in saklanması ve greft materyallerini nemlendirmede kullanılır (Dohan et al., 2006b).

Son yıllarda TZF'in hem tıp hem diş hekimliği uygulamalarında kullanımı dikkat çekmektedir. TZF'in maksillofasiyal cerrahideki kullanım alanları yumuşak ve sert doku iyileşmesine sağladığı katkılardan dolayı çok geniştir. TZF ile ilgili *in vitro* çalışmalar ve iyileşme potansiyelini belirlemek için deneysel ve klinik araştırmalar devam etmektedir. Klinik olarak TZF'in; greft materyali formu diş çekim soketlerinde, sinüs yükseltme işlemlerinde, kist enükleasyonu sonucu oluşan kaviterlerde ve alveoler yarık rekonstruksiyonu işlemlerinde kullanılmaktadır (Choukroun et al., 2006a, Choukroun et al., 2006b, Şençimen ve ark., 2009, Toffler et al., 2010). Membran formu ise yönlendirilmiş doku rejenerasyonu işlemlerinde ve implant uygulamalarında greft materyalinin dağılmasını engelleyerek birarada tutma, sinüs membranını oluşabilecek perforasyonlardan koruma, oluşan sinüs perforasyonlarını onarma, dişeti çekilmelerini, kemik içi defektleri ve furkasyon defektlerini tedavi etme amacıyla kullanılmaktadır (Choukroun et al., 2006a, Diss et al., 2008, Del Corso et al., 2009b, Kanakamedala et al., 2009, Tunalı et al., 2009, Del Corso et al., 2010). TZF, greft materyaliyle birlikte kullanıldığında ise greft partikülleri arasında biyolojik bir yapıştırıcı görevi görerek, osteoblastik çoğalmayı, farklılaşmayı ve neoanjiogenezi stimüle ederek kemik rejenerasyonunu artırır (Del Corso et al., 2010).

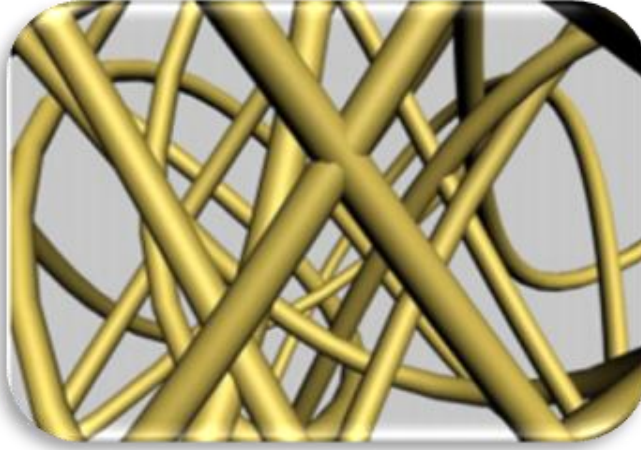
2.11 Fibrin Yapısı

Fibrin plazmatik bir molekül olan fibrinojenin aktive olmuş formudur (Mosesson et al., 2001). Hemostaz sırasında trombosit agregasyonunda belirleyici bir rol oynayan bu çözünebilir fibrinler molekül hem plazmada hem de trombositlerin α -granüllerinde bol miktarda bulunmaktadır. Biyolojik bir yapıştırıcı görevi görerek

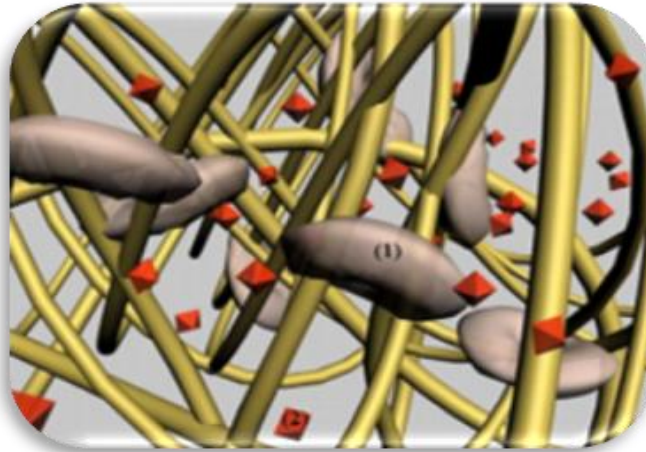
başlangıç trombosit agregasyonunu sağlar ve koagülasyon sırasında damar çeperleri üzerinde koruyucu bir duvar oluşturur. Aslında fibrinojen bütün koagülasyon reaksiyonlarının son ürünüdür. Çözünebilir bir protein olan fibrinojen, trombin tarafından çözünemeyen fibrine dönüştürülür. Polimerize olan fibrin jel hasara uğrayan bölgede ilk skatrisyel matriksi oluşturur (Dohan et al., 2006a).

TZF, iyileşme için gereken üç anahtar faktör olan anjiogenez, immünite ve epitelyal ilerleme için destek sağlamaktadır. Çünkü fibrin anjiogenezin doğal rehberidir. Anjiogenez hasarlı doku içerisinde yeni damarların oluşumudur. Anjiogenez migrasyon, divizyon ve endotelyal hücrelerdeki fenotipik değişim için bir matrikse ihtiyaç duyar (Dvorak et al., 1987). Fibrin matriksin anjiogenez özelliği ise fibrinin 3 boyutlu yapısıyla ve bu yapı içerisine hapsolan sitokinlerle açıklanmaktadır (Şekil 1). Buna ek olarak bFGF, VEGF, anjiopietin ve PDGF gibi asıl anjiogenez büyüme faktörleri fibrin yapı içerisinde bulunmaktadır (Şekil 2 ve 3). bFGF ve PDGF'nün fibrine karşı yüksek afinite gösterdikleri belirtilmiştir (Sahni et al., 1998, Feng et al., 1999). Fibrinin anjiogenezi uyarması bir çok farklı büyüme faktörünün fibrine bağlanmasıyla açıklanabilir (Choukroun et al., 2006a).

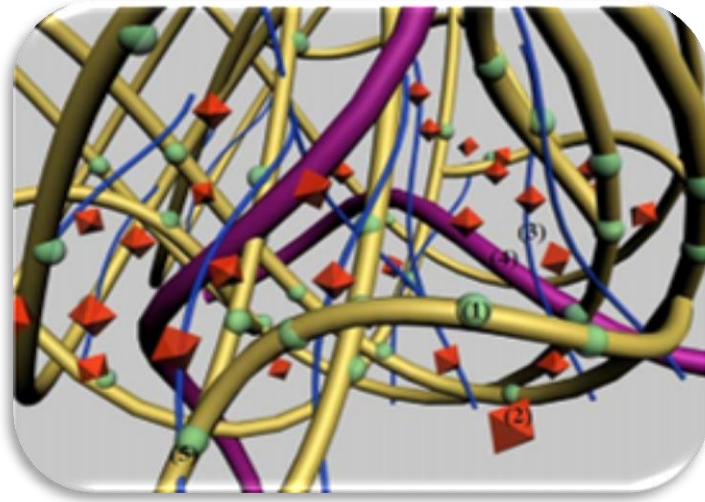
Hazırlanan *in vitro* modellerde fibrin pıhtının yapısal ve mekanik özelliklerinin de önemli olduğu gösterilmiştir. VEGF ve bFGF stimülasyonuna yanıt olarak endotelyal hücreler tarafından kapiller oluşumunda fibrin matriks rijiditesinin etkili olduğu bildirilmiştir (Nehls and Herrmann 1996). Bu fibrin matriks yapısındaki değişiklikler; fibrin yapıştırıcı, TZP ve TZF arasındaki biyolojik farklılıkları belirlemede çok önemlidir (Şekil 1, 2, 3). Ayrıca fibrin, anjiogenezi sağlamak için endotelyal hücreler tarafından integrin salınımını sağlayarak hücrelerin fibrin, fibronektin ve vitronektine bağlanmasında direkt etkili olmaktadır (Feng et al., 1999).



Şekil 1. Fibrin yapıştırıcı polimerizasyonu sonucu oluşan fibrin ağın bilgisayar modelleme ile oluşturulan şeması (Dohan et al., 2006b).



Şekil 2. Trombositten zengin plazma (TZP) polimerizasyonu sonucu oluşan fibrin ağın bilgisayar modelleme ile oluşturulan şeması. (1) Fibrin jel yapı içerisinde hapsolan trombositler (2) Solüsyon içerisinde yer alan sitokinler (Dohan et al., 2006b)



Şekil 3. Trombositten zengin fibrin (TZF) polimerizasyonu sonucu oluşan fibrin ağı bilgisayar modelleme ile oluşturulan şeması. Fibrin matriksteki, yapısal glikoproteinler (fibronektin) ve ekstrinsik sitokinler. (1) Fibrin ağı içerisinde hapsolan sitokinler. (2) Solüsyon içerisinde yer alan sitokinler. (3) Fibrin ile ilişkili glikanik zincirler. (4) Fibronektin. (5) Fibrin ağı ile ilişkili glikanik zincirler ve sitokinler (Dohan et al., 2006b).

Fibrin, bağışıklık sistemine doğal destek sağlamaktadır. Fibrin ve fibrinojen yıkım ürünleri nötrofil migrasyonunu ve membranların CD11c/CD18 reseptör ekspresyonunu uyarır ve bu reseptör, nötrofillerin endotel hücrelere ve fibrinojene bağlanmasına izin verir (Loike et al., 1991). Ayrıca fibrin ve fibrinojen yıkım ürünleri, nötrofillerin fagositozunu ve enzimatik prosesi düzenler (Kazura et al., 1989). Monositler yara bölgesine nötrofillerden sonra ulaşmaktadırlar ve makrofajlar tarafından düzenlenen yara kolonizasyonları, fibrin ağları arasında yer alan kemotaktik ajanlar ve fibronektin aracılığı ile kontrol edilmektedir (Lanir et al., 1988).

2.11.1 Fibrinin Kemik İyileşmesi Üzerine Etkileri

Fibrinin kemik iyileşmesi üzerine etkili olduğunu gösteren deneysel çalışmalar bulunmakla birlikte, fibrin ve kemik hücreleri arasındaki etkileşimi açıklayan sınırlı

sayıda çalışma bulunmaktadır. Fibrinin kemik iyileşmesini hızlandırdığı ya da herhangi bir etkisinin bulunmadığı konusunda ortak bir görüş yoktur. Ortaya çıkan bu çelişkinin; farklı tür denek kullanılması, farklı tipte kemik defektlerinin oluşturulması ve farklı tip fibrin ürününün uygulanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Choukroun et al., 2006a).

Bununla birlikte fibrin, kemik morfojenik protein (BMP) uygulamalarında da destek matriks görevi görmektedir. Bu nedenle fibrin matriks, kemik morfojenik proteinin; osteokondüktif, anjiotropik ve hemostatik özellikleri ile ilişkilendirilmektedir (Kawamura et al., 1988).

Choukroun et al. (2006a), kist enükleasyonundan sonra oluşan defektlerin, boş bırakıldığında 6-12 ay arasında, TZF uygulandığında ise 2 ay içerisinde tamamen iyileştiğini ve TZF'in kök hücrelerin doğal güçlerini kullanarak kemik iyileşmesini hızlandırdığını rapor etmiştir.

2.11.2 Fibrinin Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri

Fibrin matriks, fibroblastların ve epitelyal hücrelerin metabolizmalarını etkileyerek hasar gören dokuların örtülmesine ve korunmasına yardımcı olur. Yara kenarlarının etrafındaki epitelyal hücreler bazal ve apikal kutuplarını kaybederler ve yara bölgesine doğru uzanarak fibrinojen, fibronektin, tenaskin ve vitronektinden oluşan geçici matriks üzerinden göç ederler. Bu göç basit bir dönüşümden farklı olarak ciddi bir matriks yıkımını göstermektedir (Choukroun et al., 2006a).

Fibrin, fibronektin, PDGF ve TGF- β fibroblast proliferasyonu, integrin ekspresyonu ve fibroblastların yara bölgesine göç etmesinde etkilidir. Plazminojen aktivatörü salgılandığında fibroblastlar, fibrin pıhtı içerisinde hareket edebilmek için proteolitik aktivite başlatırlar. Yapılan bir çalışmada fibrin jel içerisindeki fibroblast migrasyonun, α -zincirleri arasında maksimum sayıda çapraz bağlantılar oluştuğunda en üst seviyeye ulaştığı belirtilmiştir (Brown et al., 1993). Bu durum TZF'in yavaş polimerizasyonu ile fibrin yapıştırıcı ve TZP'nin hızlı polimerizasyonu arasındaki biyolojik farklılığı açıklamaktadır. Bu olayların ardından fibroblastlar kollajen sentezine başlamaktadır (Choukroun et al., 2006a).

Bu özellikleri ile TZF, yüzeyine epitelyal hücre göçünü yönlendirebilen ve mikrovaskülarizasyonu sağlayabilen doğal, fibrin bazlı bir biyomateryaldir (Choukroun et al., 2006a). TZF, açık yaraları korumada ve iyileşmeyi hızlandırmada etkili olmasının yanı sıra yüksek miktarda lökosit içermesi nedeniyle enfekte yaralarda kullanımıyla da ön plana çıkmaktadır. Yapılan klinik bir çalışmada, çekim soketlerine TZF uygulanmıştır. TZF pıhtıya doğru hızlı bir neovaskülarizasyon geliştiği ve epitelyal iyileşme oluştuğu belirtilmiştir. Sonuç olarak soketin enfeksiyöz ve enflamatuar durumuna rağmen soket; hızlı, ağrısız, pürülan akıntı olmadan komplikasyonsuz bir şekilde iyileşmiştir (Choukroun et al., 2006a).

2.11.3 Fibrin ve Mezenşimal Kök Hücreler

Kemik iliği kaynaklı mezenşimal kök hücreleri bütün kemik hücrelerinin ve diğer dokuların rejenerasyonunda önemlidir. Bu farklılaşmamış hücreler kan ile hasar gören bölgelere iletilir ve bölgede birçok farklı hücre tipine dönüştürülürler. Başlangıç farklılaşmasını ve vaskülarizasyonunu sağlamak için fibrin ve fibronektinden oluşmuş geçici bir matrikse ihtiyaç vardır. Hasarlı bölgeye ulaşan dolaşımdaki mezenşimal kök hücreler, bu fibrin matriks içine hapsedilerek pıhtı içerisinde sekretuar fenotipe dönüşürler. Bu da fibrinin destekleyici matriks olarak kullanılmasını açıklamaktadır (Choukroun et al., 2006a). Bu durumun geniş kemik defektlerinin iyileşmesinde önemli olduğu bildirilmiştir (Boo et al., 2002, Bensaïd et al., 2003).

2.12 Trombositlerin Yapısı ve İçerikleri

Trombositler, kemik iliğindeki megakaryositler tarafından üretilen 1–4 µm çapında çekirdek içermeyen sitoplazma parçacıklarıdır. Dinlenme halinde tipik olarak diskoid şekilde olmalarına rağmen aktive olduklarında 5 µm' ye kadar ulaşabilen psödotopodlar içeren globüler bir şekil alırlar. Vücutta her zaman dalakta lokalize olarak bulunur ve periferik dolaşıma geçtikten sonra ortalama 7-10 gün yaşarlar. Periferik yaymada kümeler halinde gözlenen trombositler tek tek

incelendiğinde açık mavi boyanan periferik “*hyalomer*”, mor granüller ve mitokondrilerden oluşan santral “*granülomer*” kısımlarından oluştuğu görülür. Hücre zarlarının sitoplazma içine parmak şeklinde girmesi sonucu oluşan ve yüzeye açılan “*açık kanaliküler sistem*” olarak adlandırılan bir kanalikül sistemine ve hyalomer bölgesinde trombosit aktivasyonu için gerekli olan Ca iyonlarını depolayan “yoğun tübüler sistem” adı verilen ikinci bir kanalikül sistemine sahiptirler. Yüzeylerinde bulunan reseptörleri, trombin, kollajen gibi moleküllerin uyarılmasıyla aktif hale geçer ve sitoplazmalarındaki aktif molekülleri içeren granülleri “*açık kanaliküler sistem*” yoluyla dışarı atarlar (Carlson and Roach 2002).

Elektron mikroskopik inceleme ile ayırt edilebilen başlıca 3 tip granül bulunmaktadır. Bu granüller, yoğunluk ve içeriklerine göre alfa, delta ve lambda olarak adlandırılır (Rendu and Brohard-Bohn 2001).

2.12.1 Alfa Granüller

Hemostaz, inflamasyon, kemik ve yara iyileşmesinde görevli birçok protein ve büyüme faktörlerini içermesi sebebiyle; trombositlerin yoğunlaştırılarak klinik olarak yara ve kemik iyileşmesi gibi alanlarda kullanımının düşünülmesine neden olmuştur (Reed et al., 2000).

2.12.2 Delta Granüller (Yoğun Cisimler)

Kalsiyum iyonları, pirofosfat, ADP ve ATP gibi protein olmayan moleküller ve plazmaya göre 100 kat fazla serotonin içeren granüllerdir (Reed et al., 2000).

2.12.3 Lambda Granüller (Lizozomlar)

150-250 nm çaplı olan, glikozidaz, proteaz gibi bakterisidal etkili lizozomal enzimler içeren granüllerdir. Tamir fazından sonra plazminin, bölgedeki pıhtıyı eriterek ortadan kaldırmasına yardımcı olur (Reed et al., 2000).

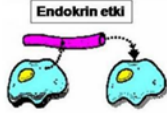
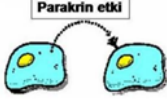



2.13 Trombositlerden Salınan Büyüme Faktörleri

Anjiogenez terimi ilk kez plasentadaki yeni damar oluşumunu tarif etmek için 1935'te kullanıma girmiş ve daha sonra tüm yeni damar oluşumları için kullanılmaya başlamıştır (Hertig 1935). Son yıllarda büyüme faktörlerinin yara iyileşmesini ve anjiogenezi olumlu yönde etkilediği saptanmış ve etki mekanizmalarının açıklığa kavuşturulması ile araştırmacıların kemik, yara, tendon, sinir iyileşmesine yönelik deneysel ve klinik uygulamalarında bu faktörleri daha büyük ilgi ile kullanmalarına neden olmuştur (Weiler et al., 2004). Büyüme faktörleri, hücrelerin doku tamirindeki anahtar hücresele olayları (proliferasyon, kemotaksi, farklılaşma, matriks sentezi) spesifik hücre reseptörlerine bağlanarak düzenleyen biyolojik bir medyatör sınıfıdır (Lind 1996).

Büyüme ve farklılaşma faktörleri etki mekanizmalarına göre beş farklı gruptan oluşur (Tablo 1). Büyüme faktörleri hücre tarafından salgılandıktan sonra otokrin yoldan etki ederek kendi büyümesini ve fonksiyonunu değiştirebildiği gibi parakrin yoldan etki ederek bir hücrede salgılanıp başka bir hücrede etki gösterebilir. Büyüme faktörlerinin çoğu ekstraselüler matrikste depolanır ve matriks yıkılması esnasında ortama salınan bu medyatörler doku remodelasyonu ve rejenerasyonu sırasında farklı etkilere sahip kompleks bir sinyal ağına parçası olarak görev yaparlar (Lynch et al., 1991).

Farklılaşma faktörleri de büyüme faktörleri gibi çalışarak mezenşimal hücreler gibi öncül hücrelerin, osteoblast gibi tam olgunlaşmış fonksiyonel hücrelere dönüşmesini sağlarlar (Lynch et al., 1991).

Tablo 1. Büyüme ve farklılaşma faktörlerinin etki mekanizmaları (Kutlu 2011)

Endokrin etki	Faktör kan yolu ile taşınır ve uzakta ki hedef hücre etkilenir.	
Parakrin etki	Salınan hücrenin etrafındaki farklı hücreler etkilenmektedir.	
Otokrin etki	Hedef hücre salınım yapan hücrenin kendisidir.	
Justakrin etki	Büyüme faktörleri salgılandıkları hücre zarına bağlanarak komşu hücreyi etkilerler.	
İntrakrin etki	Büyüme faktörü/reseptör kompleksi hücre içine alınır.	

Cerrahi girişim sonrası trombositler aktive olarak yara bölgesinde stabil bir pıhtı meydana getirirler. Bunu takiben trombositler degranülasyona uğrayarak iyileşme ve formasyon sürecini hızlandırmak için ortama bir takım büyüme faktörleri salgırlar. Farklılaşmamış mezenşimal hücrelerde farklılaşma süreci ve bu süreçte büyüme faktörlerinin etkili olduğu aşamalar Tablo 2.'de özetlenmiştir.

Tablo 2. Büyüme ve farklılaşma faktörleri ve etkileri (Hsu and Chang 2004)

Büyüme ve Farklılaşma Faktörü	Kaynak	Hedef Hücre	Etkisi
PDGF (<i>Trombosit kaynaklı büyüme faktörü</i>)	Endotelial hücreler Makrofaj Monosit Trombosit	Düz kas hücreleri Fibroblast Glia hücreleri Makrofaj Nötrofil Osteoblast	Kollajen sentezi, Fibroblast kemotaksisi, proliferasyonu, Makrofaj aktivasyonu
TGF- β (<i>Dönüştürücü büyüme faktörü</i>)	Makrofaj Monosit Nötrofil T-lenfosit Trombosit	Endotelial hücreler Fibroblast Kemik iliği hücreleri Pre-osteoblastlar	Kollajen sentezi, Kollajenaz kontrolü Osteoblast ve fibroblast proliferasyonu, Damarlanma,
IGF-I (<i>İnsülin benzeri büyüme faktörü</i>)	Kondrosit Makrofaj Osteoblast Trombosit	Fibroblast Kondrosit Osteoblast	Osteoblast proliferasyonu, osteoblast sentezi, damarlanma
VEGF (<i>Vasküler endotelial büyüme faktörü</i>)	Keratinosit Makrofaj	Endotelial hücreler	Damarlanma
FGF (<i>Fibroblast büyüme faktörü</i>)	Endotelial hücreler Makrofaj	Endotelial hücreler Fibroblast Keratinosit	Fibroblast kemotaksisi, proliferasyonu, Damarlanma

2.13.1 Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF)

PDGF faktörü esas olarak trombositlerde ki α -granüllerinden salınan bir büyüme faktörüdür. Bundan başka makrofajlar, endotelial hücreler, fibroblastlar ve keratinositler tarafından da sentezlenerek salınmaktadır. Yaralanma sonrasında erken dönemde doku konsantrasyonu artan faktörlerdendir. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü fibroblastlar, düz kas hücreleri ve endotelial hücreleri üzerinde kemoatraktan ve mitojenik etki gösterir. Trombosit kaynaklı büyüme faktörünün bu hücreler üzerindeki β reseptör aktivasyonu anjiogenez, kollajen sentezi ve fibroblast proliferasyonuna öncülük eder. Böylece fibroblastik ve osteoblastik yanıtlar artar, hücreler farklılaşarak büyüme faktörlerinin makrofaj gibi hücreler üzerindeki etkileri hızlanır (Marx et al., 1998).

Kemik iyileşmesinde PDGF, osteoblastik ve enflamatuar mediatörlerin kemotaksisine, mezenşimal kök hücre ve fibroblast sentezine, osteoid yapının oluşmasına, kemik hücre proliferasyonuna, kollajen sentez ve döngü arttırımına, kemik matriks sentez ve döngü uyarımına diğer anjiyojenik faktörlerin salınımını uyararak etki eder (Lind 1996).

Her 1 milyon trombositte yaklaşık 0.06 mg PDGF bulunmaktadır. Bu hesaplama, her trombositte yaklaşık 6×10^{-17} gram ya da 1200 molekül PGDF bulunduğu söylenebilir. Bu rakamlar PDGF'nün gücünü bölgedeki trombosit sayısı arttırıldığında yara iyileşmesinde ve kemik rejenerasyonunda elde edilebilecek büyük ilerlemeleri ortaya koymaktadır (Marx et al., 1998).

2.13.2 Dönüştürücü (Transforme Edici) Büyüme Faktörü (TGF)- β

TGF- β , dokularda üç farklı gen yapısında (TGF- β_1 , TGF- β_2 , TGF- β_3) bulunmaktadır (Ksander et al., 1990). TGF- β_1 trombositlerde ve kemikte yüksek konsantrasyonlarda bulunurken TGF- β_2 ise osteoklastlar tarafından sentezlenip salgılanır (Oursler, 1994). TGF- β_1 ve TGF- β_2 bağ dokusu iyileşmesi ve kemik rejenerasyonunda görev alan, TGF- β 'nin en sık görülen alt gruplarıdır. TGF- β_1 ve TGF- β_2 'nin en önemli fonksiyonları, osteoblast öncü hücrelerinin kemotaksisini ve mitogenezini sağlamalarıdır. TGF- β 'lar osteoklast formasyonunu ve kemik rezorpsiyonunu inhibe eder ve rezorpsiyonu önleyerek kemik oluşumunu sağlarlar (Lind 1996).

TGF- β 'lar otokrin ve parakrin mekanizmalar ile etki gösterirler (Lind 1996). Parakrin etkilerini fibroblast, kemik iliği kök hücresi ve preosteoblast gibi hücreler üzerinde gösterirlerken otokrin etkilerini ise bu hedef hücrelerin yine TGF- β salgılaması ve depo etmesiyle sağlarlar (Aukhil 2000). Böylece TGF- β kemik iyileşmesini başlatmakla kalmayıp remodeling aşamaları ve kemik grefti olgunlaşmasında da etkili olabilmektedir (Lynch et al., 1991, Nall ve ark., 1996; Marx et al., 1998).

TGF- β ailesinin bir üyesi olan kemik morfojenik proteinler (BMP) ise mezenşimal hücreler ve osteoblastlar için mitojeniktir. Kallus oluşumu artırır, kemik iyileşmesini hızlandırır (Hsu and Chang, 2004).

2.13.3 İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF-I ve IGF-II)

İnsülin benzeri büyüme faktörü adını insüline benzeyen yapısından almaktadır. IGF-I ve IGF-II olmak üzere iki formu vardır ve kemikte çok fazla miktarda bulunur. Dolaşımda bulunan IGF-I'in kaynağı büyük ölçüde karaciğer dokusudur. IGF-II ise kemik matriksinde en yüksek miktarda bulunan büyüme faktörüdür. IGF-I ve IGF-II'nin yeni kemik oluşumu sırasında osteoblastlar tarafından yine osteoblastların sayılarını arttırmak için salgılandıkları düşünülmektedir. Kemik oluşumunu otokrin yolla düzenlerler. IGF'ler kemik matriksi içerisinde depo edilirler ve kemik matriksi rezorbe olduğunda kemik oluşumu için aktive olurlar. IGF'ler osteoblast öncü hücrelerine mitojenik etki ederek farklılaşmış osteoblastlar ile kemik oluşumunu stimüle ederler (Marx et. al, 1998).

PDGF ile birlikte sinerjistik etki gösterirler (Sanchez et al., 2003). İmplant etrafına uygulanan PDGF-IGF kombinasyonunun erken dönemde iyileşmeyi stimüle ettiği ve klinik olarak bu kombinasyonun kullanımının hızlanmış ve artmış osseointegrasyona yol açtığı rapor edilmiştir (Lynch 2008).

2.13.4 Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)

Fibroblast büyüme faktörlerinin içinde en çok incelenmiş olan bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF)'dür. Osteoblastlar, endotel hücreleri, fibroblastlar, kondrositler ve keratinositler üzerinde mitojenik etki gösterir. Anjiogenezin başlaması için gerekli olan kapiller endotelial hücrelerinin proliferasyonunu ve fibroblastlardan kollajenaz üretimini sağlar (Çetin ve Çapan 1994).

2.13.5 Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

Aghaloo and Freymiller (2005), VEGF'nün, en kuvvetli anjiogenez uyarıcısı olduğunu belirtmişlerdir. VEGF, vasküler geçirgenliği arttırarak yara iyileşmesinde önemli rol oynayan fibroblastların, enflamatuar ve endotelyal hücre migrasyonunun ve proliferasyonunun uyarılmasında rol alır (Fuerst et al., 2003). Kemik iyileşmesi sırasında osteoblastlar, osteoklastlar ve mezenşimal hücrelerden yoğun olarak salınır (Lucarelli et al., 2003).

2.14 Sitokinlerin Yavaş Salınımında Lökositlerin Rolü

TZF oluşum süreci boyunca lökositler, hemostatik ve enflamatuar olayların uyarılmasına karşılık olarak sitokin salgılamaktadırlar. Lökositlerden salınan sitokinler; küçük, çözünebilir moleküllerdir ve santrifüj sonucunda fibrin polimer mimariyle birleşir ve bu yapı içerisinde kalırlar. Polimerizasyon sırasında trombositler gibi bu fibrin ağ yapısı içerisinde hapsedilerek daha sonra yavaşça salınımları sağlanacaktır (Dohan et al., 2006b). Trombositten zengin plazma (TZP), trombosit fakir plazma (TFP) ve TZF pıhtı eksüdası; PDGF-BB, TGF- β_1 , IGF-I açısından karşılaştırıldığında TFP ile TZF pıhtı eksüdası arasında sitokin konsantrasyonları açısından farklılık bulunamamıştır. Bu değerlerin ise TZP'den düşük olduğu belirtilmiştir. Bu durumun TZF pıhtıda bulunan sitokinlerin, fibrin ağ yapısı içerisinde hapsolmuş halde bulunmasından kaynaklandığı rapor edilmiştir (Dohan et al., 2006b).

Trombosit kaynaklı ürünler içerisinde bulunan lökositlerin rolü halen tartışılmakta olan bir konudur (Everts et al., 2008). Trombosit kaynaklı ürünlerden olan trombosit zengin plazma (TZP) lökosit içerirken trombosit zengin büyüme faktörü (PRGF) lökosit içermemektedir (Sanchez et al., 2003). Bazı araştırmacılar enflamatuar olayları önlemek amacıyla lökositlerin trombosit konsantrasyonlarından çıkarılmasını önermişlerdir (Anitua et al., 2007). Ancak lökositlerin enflamasyonda anahtar rol oynadığını gösteren olumlu çalışmalar değerlendirildiğinde lökositlerin toplanmaması gerektiği belirtilmiştir (Martin and Leibovich 2005).

Bazı araştırmacılar ise lökositlerin direkt etkisine (Moojen et al., 2008) ya da immün regülasyonda oynadıkları antienfeksiyöz rol üzerine dikkat çekmişlerdir (Dohan et al., 2006a, El-Sharkawy et al., 2007).

Antienfeksiyöz rollerinden başka lökositler, yara iyileşmesini hızlandıran ve anjiogenezde rol alan VEGF'nü büyük miktarlarda salgılamaktadır (Nielsen et al., 2001). Buna ilaveten trombositler hem anjiyogenez uyarıcılarını (VEGF, bFGF) hem de trombosit inhibitörlerini (endostatin, trombospondin-1) içerirler (Italiano et al., 2008).

TZF içerisindeki aktive olmuş lökositlerin önemli miktarlarda TGF- β_1 ve VEGF salgıladığı ve büyüme faktörleri için kaynak olarak gösterilebileceği düşünülmektedir (Dohan et al., 2009a). Bu faktörlerin seviyeleri düştüğünde lökositler, bu faktörleri yeniden salgılayarak gerekli olan düzeylere çıkmalarını sağlayabilir. Öte yandan TZF'in içerisindeki sitokinlerin yavaş salınımının, fibrin matriks içerisinde bulunan lökositler tarafından düzenlendiği düşünülmektedir (Dohan et al., 2009a).

Trombositten fakir plazma (TFP) ve TZF pıhtı eksüdası arasında interlökin-1 β , interlökin-6, tümör nekroz faktör- α , VEGF ve interlökin-4 sitokin konsantrasyonları açısından farklılık bulunmadığı, ancak TZF'in sitokin değerlerinin plazma sitokin değerlerinden yüksek olduğu belirtilmiştir (Dohan et al., 2006c).

TZF'in içeriğinde bulunan enflamatuvar sitokinler şöyledir:

İnterlökin-1 β (*IL-1 β*); düşük konsantrasyonda lokal inflamasyon mediatörü olarak etki gösterir. IL-1 β , fibroblast proliferasyonunu, araşidonik asit metabolizmasını, kollajen sentezini, kollajenaz ve hyalüronidaz aktivitesini uyarır. Vasküler endotelial hücrelerin proliferasyonunu inhibe eder (Tokgöz 1997).

İnterlökin-6 (*IL-6*); değişik dokuların büyümesini ve farklılaşmasını düzenleyen birçok işlevi olan bir sitokindir (Madhok et al., 1993). IL-6'nın sitotoksik T-hücreleri, megakaryositler ve diğer hemotopoitik hücreler üzerinde proliferasyon ve farklılaşma sağlayıcı etkilerinin yanında, hepatik akut faz proteinlerinin ve plazma hücreleri tarafından immünglobulinlerin yapımının uyarımına neden olduğu bildirilmiştir (Dasgupta et al., 1992).

Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α); akut faz proteinlerinin stimülasyonunda ve lökosit infiltrasyonu artışında rol oynamaktadır. Fibroblastlar için mitojenik özellik

taşır; kollajen, kollajenaz biyosentezi ve prostaglandin E₂ salınımını uyarır. *In vitro*, endotel hücre proliferasyonunu inhibe etmesine rağmen anjiogenezi uyarıcı etkisini ikinci bir mesajcı yoluyla yaptığı sanılmaktadır (Pike et al., 1993).

İnterlökin-4 (*IL-4*); B hücrelerinin proliferasyonu ve farklılaşmasını arttırmasının yanında T-lenfosit, mast hücreleri ve hematopoietik progenitör hücrelerin de proliferasyonunu stimule eder. Böylece iyileşme sürecini desteklerken enflamasyonu yönetir. Ayrıca T-lenfositlerden Ig E salınımını sağlar (Mire-Sluis and Thorpe 1991).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Deney Hayvanları

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Destekleme Protokolü (2314-D-10 no'lu proje) tarafından desteklenmiştir. Araştırmamız Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından hayvan etiği açısından uygun görülmüştür (Ek 2). Çalışmamızda kullanılacak 24 adet iskeletsel gelişimini tamamlamış, 6-8 aylık, erkek, ortalama 2500-3000 gram ağırlığında Yeni Zelanda cinsi tavşanlar, deney hayvanı olarak kullanılmak üzere Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı Başkanlığından temin edilmiştir (Resim 7). Çalışmamızda kullanılan deney hayvanlarının ameliyatları Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır.



Resim 7. Yeni Zelanda Tavşanı

3.2 Gruplar

Deney hayvanları her grupta 12 tavşan olacak şekilde rastgele iki (2) ana gruba ayrılarak 30 ve 60. günlerde sakrifiye edildikten sonra histolojik ve histomorfometrik değerlendirme yapıldı (Tablo 3).

Grup 1: A, B, C, D alt gruplarını içeren ve 12 tavşandan oluşan bu grupta, her hayvanın sağ ve sol tibia kemiğine ikişer adet 3,3 mm'lik defektler oluşturuldu. Ve bu gruptaki tüm deney hayvanları 30 gün sonra sakrifiye edildi.

A grubu: Sağ tibiadaki ilk defekte sadece partikül haline getirilmiş otojen kemik grefti uygulandı.

B grubu: Sağ tibiadaki ikinci defekt kontrol grubu olarak boş bırakıldı.

C grubu: Sol tibiadaki ilk defekte partikül haline getirilmiş otojen greft ve TZF karıştırılarak birlikte uygulandı.

D grubu: Sol tibiadaki ikinci defekte sadece TZF greft materyali olarak uygulandı.

Grup 2: A, B, C, D alt gruplarını içeren ve 12 tavşandan oluşan bu grupta, her hayvanın sağ ve sol tibia kemiğine ikişer adet 3,3 mm'lik defektler oluşturuldu. Ve bu gruptaki tüm deney hayvanları 60 gün sonra sakrifiye edildi.

A grubu: Sağ tibiadaki ilk defekte sadece partikül haline getirilmiş otojen kemik grefti uygulandı.

B grubu: Sağ tibiadaki ikinci defekt kontrol grubu olarak boş bırakıldı.

C grubu: Sol tibiadaki ilk defekte partikül haline getirilmiş otojen greft ve TZF karıştırılarak birlikte uygulandı.

D grubu: Sol tibiadaki ikinci defekte sadece TZF greft materyali olarak uygulandı.

Tablo 3. Araştırma Gruplarını Oluşturan 1.Grup , 2. Grup ve Alt Grupları

Gruplar	Greftlerin Uygulanış Biçimleri	Postoperatif İyileşme Süresi	N
Grup 1			
<i>A</i>	Sadece partikül otojen greft	30 gün	12
<i>B</i>	Boş		
<i>C</i>	TZF+Otojen greft		
<i>D</i>	Sadece TZF		
Grup 2			
<i>A</i>	Sadece partikül otojen greft	60 gün	12
<i>B</i>	Boş		
<i>C</i>	TZF+Otojen greft		
<i>D</i>	Sadece TZF		

3.3 Cerrahi Girişim

Tavşanlara 100mg/kg ketamin HCl (50 mg/ml Ketalar®, Parke Davis) ve 10mg/kg Xylazin HCl (23.32mg/ml Rompun®, Bayer) intramuskuler enjeksiyon yapılarak genel anestezi sağlandı (Resim 8).



Resim 8. Genel anestezi için kullanılan ilaçlar

Anestezi meydana geldikten sonra TZF elde etmek için tavşanların santral kulak veninden 6-8 ml kan alınarak antikoagülan içermeyen, cam partikül içeren boş plastik tüplere (Vacuette, Greiner Bio-One, GmbH, Kremsmunster, Austria) aktarıldı (Resim 9). Santrifüjü gerçekleştirmek için tüpler santrifüj cihazına (Hettich®, Tuttlingen, Almanya) yerleştirildi. Tek tüp kan alındığı için dengeyi sağlamak amacıyla santrifüj cihazında kan ile dolu olan tüpün tam karşısına aynı miktarda su ile doldurulmuş başka bir tüp yerleştirildi (eğer iki tüp TZF elde edilecekse, kan ile dolu olan tüpler karşılıklı yerleştirilmelidir). Tüpler 2700 rpm devirde 12 dakika boyunca santrifüj edildikten sonra üst katmanda trombositten fakir plazma (TFP), ortada TZF ve en altta kırmızı kan hücrelerine (eritrositler) ayrıştırılarak üç tabaka elde edilmiş oldu (Resim 10).



Resim 9. Tavşanın kulak veninden kan alınması



Resim 10. 2700 rpm devirde 12 dakika süren santrifüj işlemi ve TZF eldesi

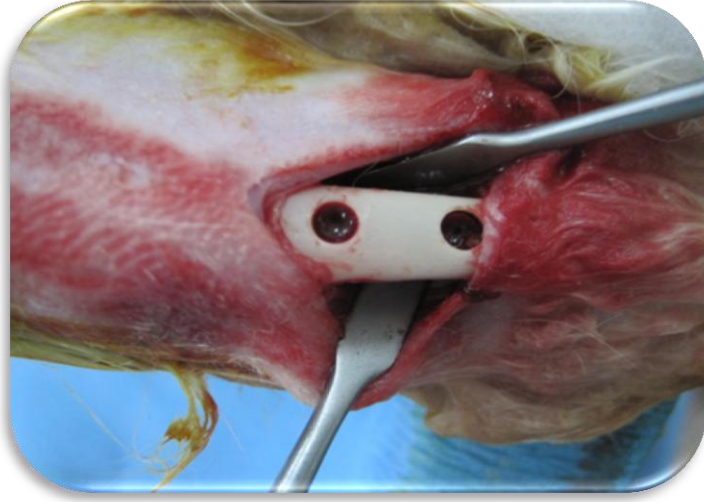
Hayvanların sağ ve sol tibiası operasyon sahası iyot solüsyonu ile dezenfekte edildikten sonra tıraşlandı. Steril koşullar altında her iki taraftaki tibiaların dış-medial tarafına doğru 4-5 cm uzunluğunda longitudinal cilt insizyonu yapılarak künt diseksiyonla kaslar ve periost eleve edildikten sonra tibiaların medial yüzlerine ulaşıldı (Resim 11 ve 12). Serum fizyolojik irrigasyonu altında tur motoru piyasemenine takılı 3,3 mm çapındaki yuvarlak uçlu cerrahi trefin frez yardımı ile korteksten medullaya ulaşan, her bir tibiada ikişer adet olmak üzere 3,3 mm çapında toplam dört adet kritik boyutta yapay kemik defekti oluşturuldu (Resim 13). Defektler arası mesafenin 3 mm'den fazla olmasına dikkat edildi. Alınan blok kemik greftlerinin kemik öğütücü yardımıyla partikül haline getirilmesi sağlandı (Resim 14). Bu süreçte santrifüjde hazır hale gelen TZF bir penset yardımıyla tüpten çıkarıldı (Resim 15). Alınan blok greftlerden bir tanesi partikül haline getirildikten sonra TZF ile karıştırılarak defekte uygulandı. Geri kalan bloklar partikül haline getirildikten sonra sadece otojen greft uygulanması planlanan defekte, defekt tam olarak doluncaya kadar uygulandı (Resim 16). Sağ tibiadaki ilk defekte sadece otojen partikül kemik grefti uygulandı. Sağ tibiadaki ikinci defekt boş bırakıldı. Sol tibiadaki ilk defekte otojen partikül kemik grefti ve TZF greft materyali karıştırılarak birlikte uygulandı. Sol tibiadaki ikinci defekte ise sadece TZF greft materyali olarak uygulandı (Resim 17).



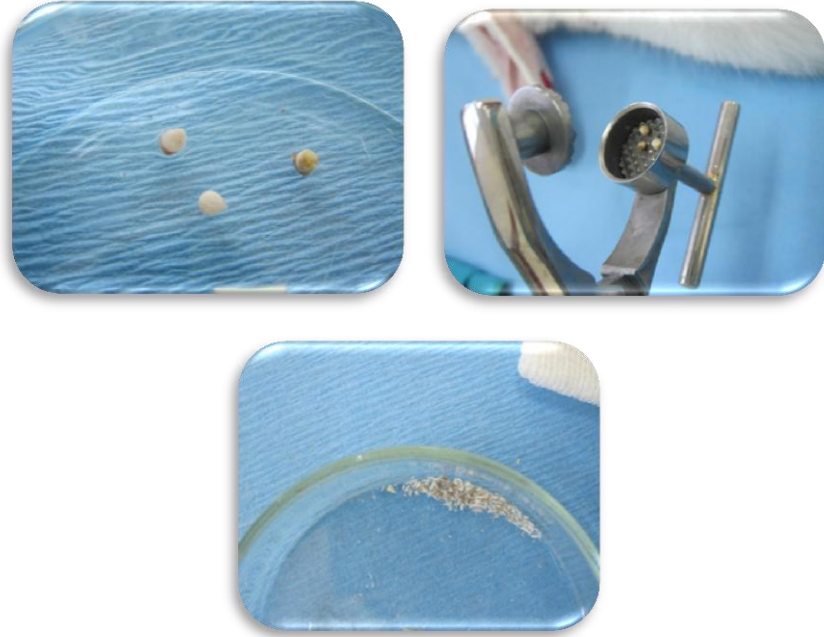
Resim 11. Operasyon alanının tıraşlanarak tüylerden arındırılması ve cilt kesisi



Resim 12. Tibia kemiğinin açığa çıkarılması



Resim 13. Tibia kemiğine 3,3 mm'lik trefin frezler ile kesilerin yapılması



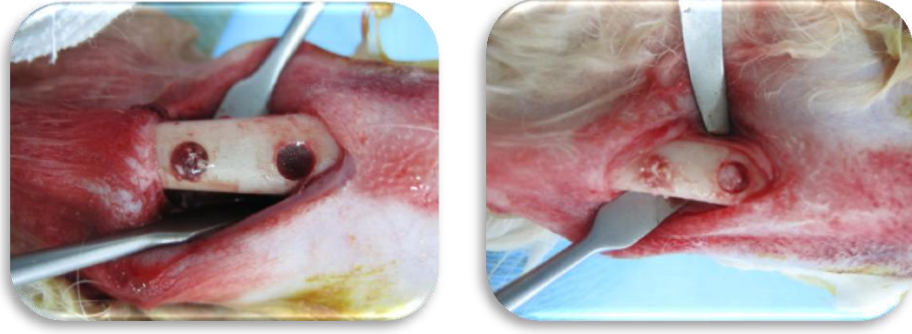
Resim 14. 3,3 mm'lik trefin frezle elde edilen blok otojen greft ve çıkarılan blok kemik greftlerinin kemik öğütücü yardımıyla partikül haline getirilmesi



Resim 15. TGF'in penset yardımı ile çıkarılması



Resim 16. Partikül halindeki kemik grefti ile TGF'in karıştırılması



Resim 17. Oluşturulan defektler ve greft materyallerinin uygulanışı

Greftlerin yerleştirilmesinden sonra cerrahi alan serum fizyolojik ile yıkanarak atık dokular uzaklaştırıldı. Kemik yüzeyinden diseke edilen kaslar 3/0 katgüt suture (Doğsan®, Trabzon, Türkiye), cilt ise 3/0 ipek suture kullanılarak (Doğsan®, Trabzon, Türkiye) primer olarak suture edildi (Resim 18).



Resim 18. Operasyon alanının suture edilmesi

3.4 Postoperatif Takip

Ameliyat sonrası üç (3) gün süreyle tüm tavşanlara enfeksiyon kontrolü için intramuskuler (IM) 5 mg/kg amikasin sülfat/gün (Amikozit® 500 mg flakon, Eczacıbaşı, Türkiye) antibiyotik ve ağrı kontrolü için de intraperitoneal 5 mg/kg/gün tramadol hidroklorür (Contramal® 100mg ampul, Abdiibrahim, Türkiye) analjezik enjekte edildi (Resim 19).



Resim 19. Postoperatif uygulanan amikasin sülfat ve tramadol hidroklorür

Tavşanlar normal şehir suyu ve %21 protein içeren hazır özel pellet yem ile bazal miktarda (ad libitum) beslendi. Çalışmada etik kurallara uygun olarak deneye tabi tutulan her hayvan deney süresince 21-22°C oda sıcaklığında, %50 nem ayarlı, optimize edilmiş küçük hayvan bakım odalarında, tek tavşanlık kafeslerde ayrı ayrı barındırıldı (Resim 20). Gün içerisinde yapılan kontrollerde tavşanların genel sağlık durumları, genel güçsüzlük, yem ve su alımında azalma, dispne, cilt ve tüy değişikliği, kafes temizliği takip edildi.



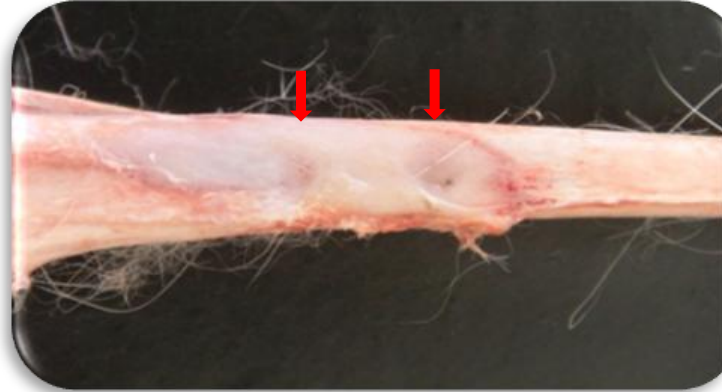
Resim 20. Tavşanların barınma ortamları ve kafesleri

3.5 DeneY Hayvanlarından Kemik Örneği Elde Edilmesi

Postoperatif 30 ve 60. günlerde, ketamin hidroklorür intramuskuler dozu iki katına çıkarılarak deneY hayvanlarının sakrifikasyon işlemleri tamamlandı. Tavşanların sağ ve sol bacaklarındaki tibiayı çevreleyen yumuşak dokular diseke edilerek tibiaya ulaşıldı. Tibialar rezeke edildi. Defekt bölgelerini içine alan tibial kemik örnekleri tek tek %10'luk formalin (Merck®, Darmstadt, Almanya) içerisinde histolojik kesitler alınmak üzere muhafaza edildi.

3.6 Kesit Hazırlama Yöntemi

Elde edilen kemik örnekler kemik dokusunun histomorfometrik analizine izin verecek şekilde histolojik kesit hazırlama aşamalarından geçirilerek hazırlandı (Resim 21). Bu aşamalar sırasıyla şöyledir.



Resim 21. Postoperatif tibianın rezeksiyonu ve iyileşen defektler

3.6.1 Fiksasyon ve Formalinden Arındırma İşlemi

%10'luk tamponlu nötral formalin içerisinde en az 72 saat fikse edilen dokuları formalinden arındırmak için örnekler önce akan çeşme suyunda sonra tamponlu fosfat solüsyonunda (Merck®, Darmstadt, Almanya) en son ise distile suda yıkandı. Bu işlemler sonunda dokular formalinden arındırılmış oldu.

3.6.2 Dekalsifikasyon İşlemi

Dekalsifikasyon işlemi için boyaya ve kemik dokuya zarar vermeden dekalsifiye etme yeteneği yüksek olan TBD-2 (Merck®, Darmstadt, Almanya) dekalsifiyer solüsyonu kullanıldı. 24 saat bu solüsyon içerisinde bekletilen kemik örneklerinin kesilebilecek kadar dekalsifiye olanları solüsyon içerisinden alınırken yeterince dekalsifiye olmayanları bir süre daha bekletildi. Tüm örnekler dekalsifiye olduktan sonra 3-4 saat akan suda yıkandı. Kemik örnekleri üzerlerine örnek numaraları yazılan doku takip kasetleri ile kasetlenerek doku takibi işlemine geçildi.

3.6.3 Doku Takibi İşlemi

Doku takip işlemi kapalı devre otomatik ototeknikon cihazında (Thermo Shandon® Pathcenter, Pensilvanya, ABD) gerçekleştirildi (Resim 22). Doku takibi için parafin tekniği kullanıldı. Bu takip cihazı ile doku takip kasetleri içerisindeki dokulara ısı, pres, vibrasyon ve titrasyon uygulamaları otomatik olarak gerçekleştirildi. Daha sonra sırasıyla;

1. %10'luk tamponlu nötral formalin (Merck®, Darmstadt, Almanya) uygulama,
2. Alkol (Fluka®, Buchs, İsviçre) uygulama,
3. Ksilen (Merck®, Darmstadt, Almanya) uygulama ve
4. Parafin (İsolab®, Wertheim, Almanya) uygulamalarından geçirilerek doku takip işlemi sona erdirildi.



Resim 22. Otomatik doku takip cihazı

3.6.4 Bloklama İşlemi

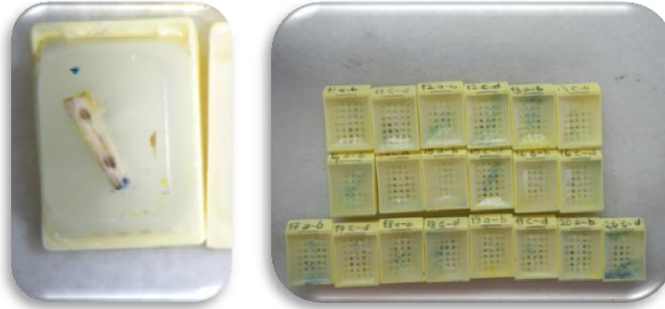
Takip işlemi tamamlanan dokular bloklama işlemine tabi tutuldu. Bu işlem doku takip kaseti (Thermo Shandon®, Pensilvanya, ABD) içerisinde gerçekleştirildi (Resim 23). Bloklama sonrası dokular dondurucuda (Thermo Shandon® Histocenter 3, Pensilvanya, ABD) -20 °C’de donduruldu (Resim 24 ve 25).



Resim 23. Bloklama cihazı ve kaset içerisinde bloklama yöntemi



Resim 24. Blokları -20°C 'de dondurma cihazı



Resim 25. Kaset içerisinde bloklanmış ve dondurulmuş dokular

3.6.5 Kesit Alma İşlemi

Dondurularak kesit almaya hazır hale getirilen dokulardan tam motorize mikrotom cihazı (Thermo Shandon® Rotary, Pensilvanya, ABD) (Resim 25 ve 26) yardımıyla daire şeklinde ki defekt hattına paralel olacak şekilde horizontal olarak ikiye ayrılan tibianın (toplam 2 adet) her bir parçasının kesi yüzeyinden 4 µm kalınlığındaki ilk kesitler elde edildi. Bu kesitler sıcak su banyosuna alınarak dokuların kırışıklığının açılması sağlandıktan sonra lam (Isolab®, Wertheim, Almanya) üzerine taşındı. Lamın üzerine taşınan kesitler kurutuldu.



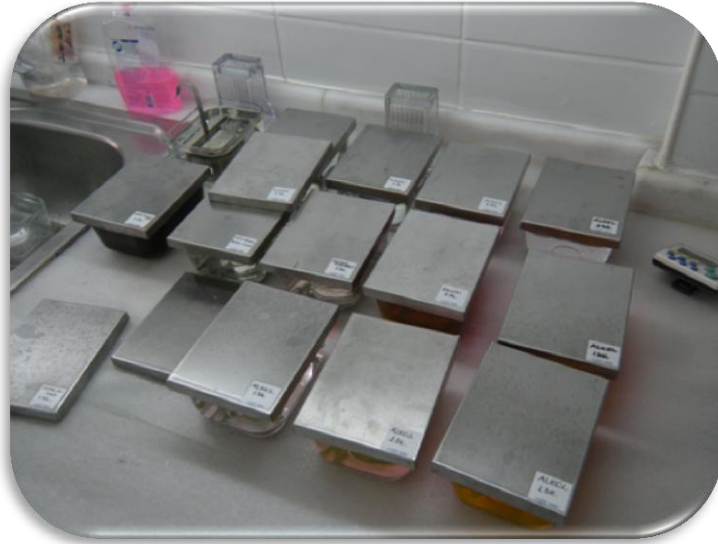
Resim 26. Tam motorize mikrotom cihazı

3.6.6 Hematoksilen-Eozin Boyama İşlemi

Boyama işleminde sırasıyla şu işlemler uygulandı (Resim 27):

1. Ksilende bekletme
2. Alkolde bekletme
3. Hematoksilen boyası (Merck®, Darmstadt, Almanya) içinde bekletme

4. Suda yıkama
5. Asit alkol (Fluka®, Buchs, İsviçre) içinde bekletme
6. Suda yıkama
7. Amonyaklı suda bekletme
8. Suda yıkama
9. Eozin boyası (Merck®, Darmstadt, Almanya) içinde bekletme
10. Alkolde bekletme ve
11. Ksilende bekletme



Resim 27. Hematoksilen Eozin boyama işlemi

3.6.7 Kesitleri Kapama İşlemi

Kesitler ksilenden çıkarıldıktan sonra üzerine 1 damla entellan (Merck®, Darmstadt, Almanya) damlatılarak lamelle (Isolab®, Wertheim, Almanya) kapatıldı.

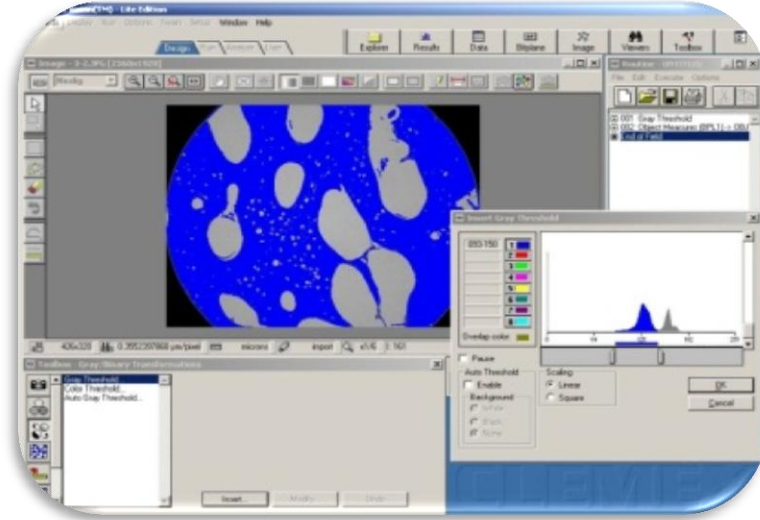
3.7 Histomorfometrik Analiz

Hematoksilen eozin ile hazırlanan preparatlar Nikon Eclipse E-400 (Nikon, Tokyo, Japonya) ışık mikroskobu ile değerlendirildi (Resim 28). Bu değerlendirme esnasında aynı zamanda ışık mikroskobuna bağlı bulunan Nikon Coolpix 5000 (Nikon, Tokyo, Japonya) ile de fotoğraflandı. Fotoğraflar çekilirken aynı mikroskop büyütmesinde Nikon micrometer microscope slide (MBM11100 Stage Micrometer Type A) görüntüsü de dijital olarak kaydedildi. Tüm görüntüler bilgisayar ortamına aktarıldı ve Clemex Vision Lite 3.5 Image Analysis programı (Clemex Technologies, Quebec, Kanada) ile değerlendirilmeye başlandı. Değerlendirilmeye başlama esnasında ilk olarak Nikon micrometer microscope slide görüntüsü ile uzunluk kalibrasyonu yapıldı. Daha sonra her preparat için mümkün olduğunca aynı bölgeleri kapsayan $562375,2 \mu\text{m}^2$ 'lik alanlar seçildi ve tüm işlemler bu birim alanda gerçekleştirildi. Her olguda $562375,2 \mu\text{m}^2$ 'lik alandaki osteoblast ve osteoklastlar işaretlenerek adı geçen görüntü analiz sistemi ile otomatik olarak saydırıldı. Yeni kemik oluşum alanları da aynı birim alanda görüntü analizi programı ile hesaplandı (Resim 29). Bu hesaplama işlemi için görüntüler gri tonlamaya tabi tutuldu. Ardından bu gri tonlamadaki resimlerde kemik koyuluğundaki alanlar renklendirildi (Resim 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37). Sonunda bu renkli alanlar μm^2 cinsinden hesaplandı. Alan hesaplamasındaki bu işlemlerin tümü Clemex Vision Lite 3.5 Image Analysis programı (Clemex Technologies, Quebec, Kanada) ile gerçekleştirildi.

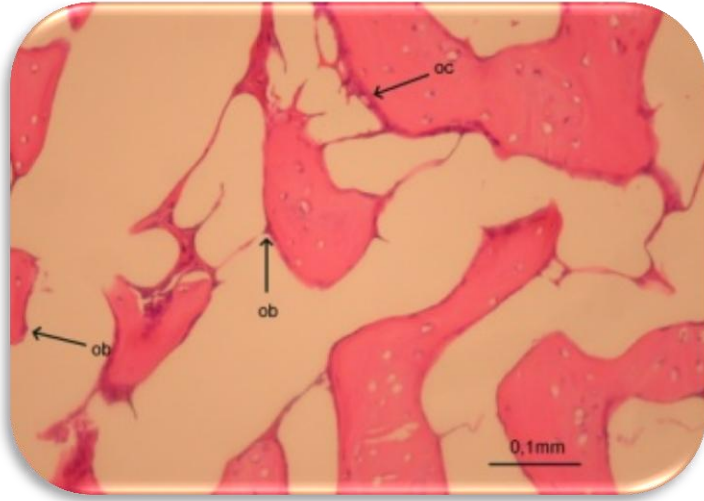
Histomorfometrik analiz işlemleri Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. Görüntü analizini yapan patolog, grupları ve olguları bilmeden değerlendirdi.



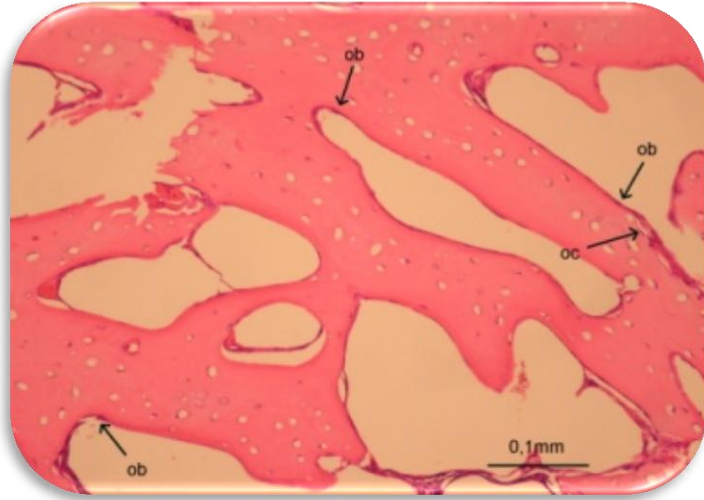
Resim 28. Nikon Eclipse E-400 ışık mikroskobu



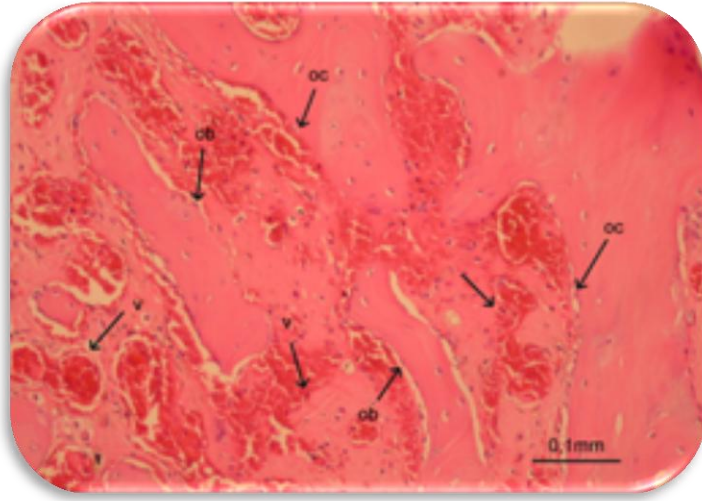
Resim 29. Clemex Vision Lite 3.5 Image Analysis programı ile kesitlerin gri tonlamaya tutulması



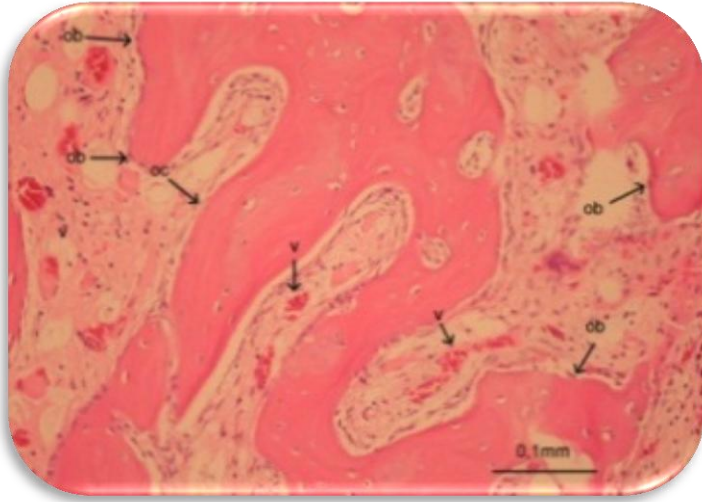
Resim 30. A grubunun 1.1.o örneğine (Grup 1, sadece otojen greft uygulanan defekte) ait histolojik kesit; Ob: Osteoblast Oc: Osteoklast v:Ven (x10 ve HE)



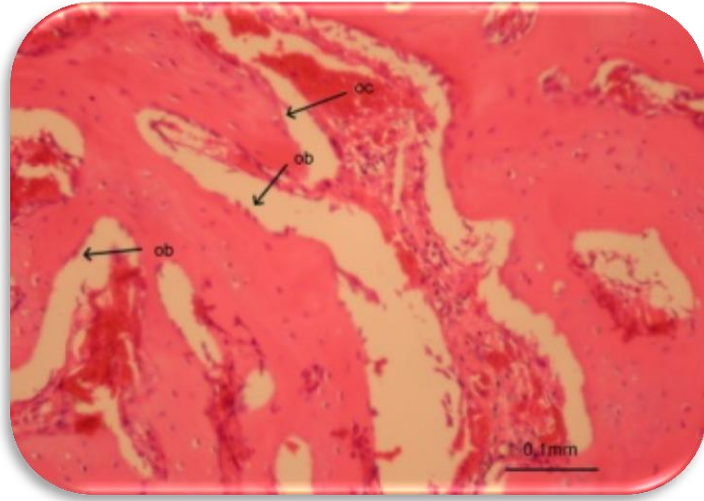
Resim 31. B grubunun 1.1.b. örneğine (Grup 1, boş bırakılan defekte) ait histolojik kesit; Ob: Osteoblast Oc: Osteoklast v:Ven (x10 ve HE)



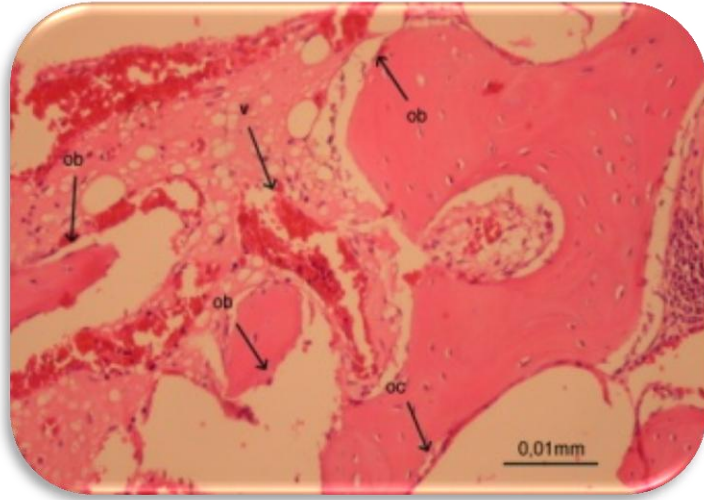
Resim 32. C grubunun 1.3.to. örneğine (Grup 1, TZF+otojen greft uygulanan defekte) ait histolojik kesit; Ob: Osteoblast Oc: Osteoklast v:Ven (x10 ve HE)



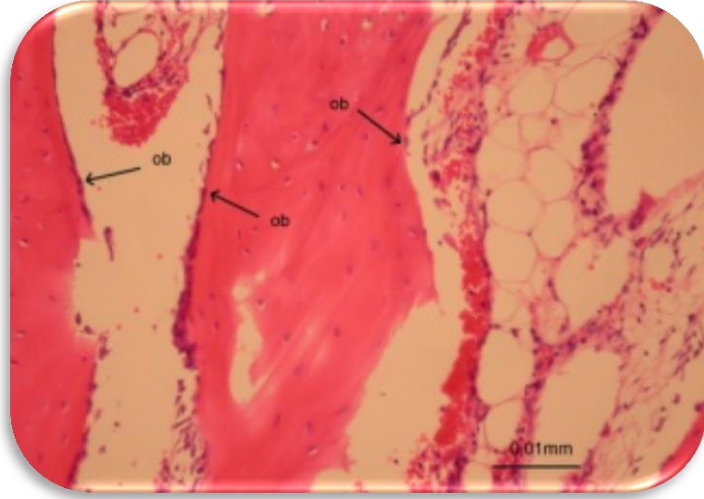
Resim 33. D grubunun 1.3.t örneğine (Grup 1, sadece TZF uygulanan defekte) ait histolojik kesit; Ob: Osteoblast Oc: Osteoklast v:Ven (x10 ve HE)



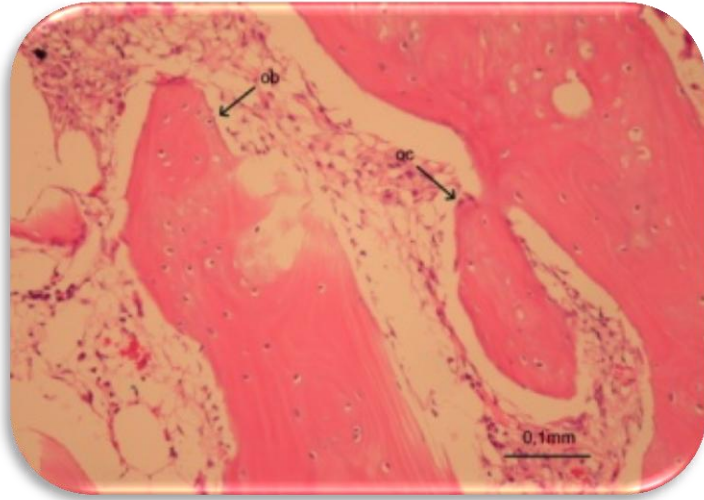
Resim 34. A grubunun 2.4.o örneğine (Grup 2, sadece otojen greft uygulanan defekte) ait histolojik kesit; Ob: Osteoblast Oc: Osteoklast v:Ven (x10 ve HE)



Resim 35. B grubunun 2.4.b örneğine (Grup 2, boş bırakılan defekte) ait histolojik kesit; Ob: Osteoblast Oc: Osteoklast v:Ven (x100 ve HE)



Resim 36. C grubunun 2.3.to örneğine (Grup 2, TZF+otojen greft uygulanan defekte) ait histolojik kesit; Ob: Osteoblast Oc: Osteoklast v:Ven (x10 ve HE)



Resim 37. D grubunun 2.9.t örneğine (Grup 2, sadece TZF uygulanan defekte) ait histolojik kesit; Ob: Osteoblast Oc: Osteoklast v:Ven (x10 ve HE)

3.8 İstatistik

Araştırmada istatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for Social Sciences, Chicago IL, ABD) 16.0 yazılım paket programı kullanılarak yapıldı.

Çalışmada üzerinde durulan parametrelerden elde edilmiş olan osteoblast ve osteoklast sayıları transforme edildikten sonra yeni kemik oluşum alanı ile birlikte bu 3 parametreye, parametrik testlerin ön şartlarından olan normal dağılıma uyum şartının sağlanıp sağlanmadığı Anderson-Darling testi uygulanarak bakılmıştır. Yine parametrik testlerin en önemli şartlarından biri olan varyans kovaryans matrisinin homojenliği ön şartının sağlanıp sağlanmadığı da Box's M testi ile irdelenmiştir. Parametrik testlerin ön şartları sağlandığı için çalışmada üzerinde durulan parametreler bakımından elde edilen rakamlar faktöriyel düzende tekrarlanan ölçümlü varyans analizi tekniği ile analiz edilmiştir. Çalışmada osteoblast ve osteoklast özellikleri karakök transformasyonuna tabi tutularak analize dahil edilmiştir. Grup parametresinin Grup 1 ve Grup 2 olmak üzere 2 seviyesi, defekt faktörünün de A-B-C-D olmak üzere 4 seviyesi mevcuttur. Tekrarlanan ölçümler defekt parametresinin seviyelerinde gerçekleştirilmiştir. Ortamlar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde çoklu karşılaştırma yöntemlerinden Tukey testi uygulanmıştır.

4. BULGULAR

4.1 Çalışma Grupları

Araştırmaya dahil edilen 24 adet deney tavşanının 1 adedi fungal enfeksiyona bağlı olarak, 3 adedi postoperatif tibia fraktürü nedeni ile, 3 adedi ise histolojik kesit alma işlemi sırasında defekt bölgesinden uygun kesit alınamaması nedeni ile çalışma dışı bırakılmıştır. Operasyon sonrasında ve sakrifikasyon işlemine kadar hiçbir denekte osteomyelit, abse formasyonu, yara yüzeyinde açılma görülmemiştir (Tablo 4). Grup 1’de, dokuz (9), Grup 2’de, sekiz (8) deney hayvanı olmak üzere toplamda onyediyedi (17) deney hayvanı yani otuzdört (34) tibia çalışmaya dahil edilmiştir. Grup 1’deki denekler, operasyonları takiben 1. ay (30. gün) sonunda, Grup 2’deki denekler ise operasyonları takiben 2. ay (60. gün) sonunda sakrifiye edilmişlerdir.

Tablo 4. Çalışma dışı bırakılan tavşanlar ve tibiaların gruplara göre dağılımı (Deney hayvanı ve tibia sayısı (n))

	Enfeksiyona Bağlı Çalışma Dışı Bırakılan Deney Hayvanları	Tibia Fraktürü Oluşan Denek Sayısı	Histolojik Kesit Alma Sırasında Oluşan Problemler Nedeniyle	Çalışmaya Dahil Edilen Denek Sayısı	Toplam Tibia Sayısı
Grup 1	1	1	1	9	18
Grup 2	-	2	2	8	16

Çalışmamızda, Grup 1 ve Grup 2 olarak adlandırılan her bir ana grup 4 alt gruba ayrılmaktadır. Her 2 grupta daha öncede belirtildiği gibi bu gruplar şöyledir (Tablo 5).

A grubu: Sağ tibiadaki ilk defekte sadece partikül haline getirilmiş otojen kemik grefti uygulandı.

B grubu: Sağ tibiadaki ikinci defekt kontrol grubu olarak boş bırakıldı.

C grubu: Sol tibiadaki ilk defekte partikül haline getirilmiş otojen greft ve TZF karıştırılarak birlikte uygulandı.

D grubu: Sol tibiadaki ikinci defekte sadece TZF greft materyali olarak uygulandı.

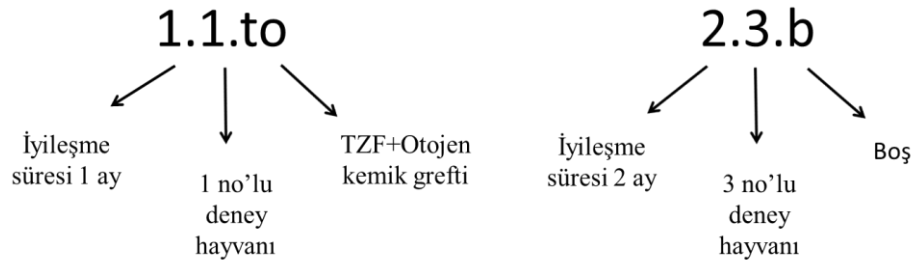
Tablo 5. Gruplar, Alt Gruplar, Örnek Numaraları

Ana Gruplar	Grup 1 Postoperatif iyileşme dönemi 30 gün				Grup 2 Postoperatif iyileşme dönemi 60 gün			
	A Otojen Greft (o)	B Boş (b)	C TZF+ Otojen Greft (to)	D TZF (t)	A Otojen Greft (o)	B Boş (b)	C TZF+ Otojen Greft (to)	D TZF (t)
Örnek No	1.1.o	1.1.b	1.1.to	1.1.t	2.1.o	2.1.b	2.1.to	2.1.t
	1.2.o	1.2.b	1.2.to	1.2.t	2.2.o	2.2.b	2.2.to	2.2.t
	1.3.o	1.3.b	1.3.to	1.3.t	2.3.o	2.3.b	2.3.to	2.3.t
	1.4.o	1.4.b	1.4.to	1.4.t	2.4.o	2.4.b	2.4.to	2.4.t
	1.5.o	1.5.b	1.5.to	1.5.t	2.5.o	2.5.b	2.5.to	2.5.t
	1.6.o	1.6.b	1.6.to	1.6.t	2.6.o	2.6.b	2.6.to	2.6.t
	1.7.o	1.7.b	1.7.to	1.7.t	2.7.o	2.7.b	2.7.to	2.7.t
	1.8.o	1.8.b	1.8.to	1.8.t	2.8.o	2.8.b	2.8.to	2.8.t
	1.9.o	1.9.b	1.9.to	1.9.t	2.9.o	2.9.b	2.9.to	2.9.t
	1.10.o	1.10.b	1.10.to	1.1.t	2.10.o	2.10.b	2.10.to	2.10.t

Ana gruplar ve alt gruplar arasında sayıca fazla örnek olduğundan karışıklığı önlemek ve kolay anlaşılabilirliği sağlamak amacıyla örnekler sırasıyla iyileşme süresi, deney hayvanı numarası ve defekte uygulanan materyale göre şu şekilde numaralandırılmıştır (Şekil 4 ve 5).



Şekil 4. Her bir deney hayvanının sağ ve sol tibiasında ayrı ayrı oluşturulan deneysel defektler ve bu defektlere uygulanan materyaller



Şekil 5. Örneklerin numaralandırılması

4.2 Histomorfometrik Bulgular

Her olguda 562375,2 μm^2 'lik alandaki osteoblast ve osteoklastlar işaretlenerek Clemex Vision Lite 3.5 Image Analysis sistemi ile otomatik olarak saydırıldı. Yeni kemik oluşum alanları da aynı birim alanda hesaplandı (Tablo 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13).

Tablo 6. Grup 1, A defekti, 9 deney hayvanı osteoblast sayısı, osteoklast sayısı, yeni kemik oluşum alanı değerlerinin histomorfometrik değerlendirmesi

Grup A Örnek No.	Osteoblast Sayısı	Osteoklast Sayısı	Yeni kemik oluşum alanı (μm^2)
1.1.o	24	2	251263,1
1.2.o	23	7	348124,0
1.3.o	42	8	281172,2
1.4.o	14	4	189717,2
1.5.o	24	3	311526,5
1.6.o	21	5	310921,8
1.7.o	21	3	293770,9
1.8.o	-	-	-
1.9.o	19	3	181986,1
1.10.o	24	2	225173,6

Tablo 7. Grup 1, B defekti, 9 deney hayvanı osteoblast sayısı, osteoklast sayısı, yeni kemik oluşum alanı değerlerinin histomorfometrik değerlendirmesi

Grup B Örnek No.	Osteoblast Sayısı	Osteoklast Sayısı	Yeni kemik oluşum alanı (μm^2)
1.1.b	25	2	339536,7
1.2.b	21	3	377672,0
1.3.b	29	5	138951,8
1.4.b	25	9	178726,6
1.5.b	37	4	195144,5
1.6.b	20	4	339920,8
1.7.b	31	4	272884,0
1.8.b	-	-	-
1.9.b	27	5	336181,7
1.10.b	24	3	192273,8

Tablo 8. Grup 1, C defekti, 9 deney hayvanı osteoblast sayısı, osteoklast sayısı, yeni kemik oluşum alanı değerlerinin histomorfometrik değerlendirmesi

Grup C Örnek No.	Osteoblast Sayısı	Osteoklast Sayısı	Yeni kemik oluşum alanı (μm^2)
1.1.to	30	0	264772,7
1.2.to	49	2	368260,2
1.3.to	62	5	342670,1
1.4.to	55	1	312604,6
1.5.to	46	4	358775,4
1.6.to	39	0	292883,0
1.7.to	40	3	378450,6
1.8.to	-	-	-
1.9.to	42	0	397477,2
1.10.to	40	3	407344,7

Tablo 9. Grup 1, D defekti, 9 deney hayvanı osteoblast sayısı, osteoklast sayısı, yeni kemik oluşum alanı değerlerinin histomorfometrik değerlendirmesi

Grup D Örnek No.	Osteoblast Sayısı	Osteoklast Sayısı	Yeni kemik oluşum alanı (μm^2)
1.1.t	41	3	245588,7
1.2.t	43	2	341571,4
1.3.t	54	3	362618,9
1.4.t	64	1	303977,6
1.5.t	52	0	408522,2
1.6.t	49	0	321260,6
1.7.t	59	1	360678,8
1.8.t	-	-	-
1.9.t	50	3	370417,4
1.10.t	41	3	245588,7

Tablo 10. Grup 2, A defekti, 8 deney hayvanı osteoblast sayısı, osteoklast sayısı, yeni kemik oluşum alanı değerlerinin histomorfometrik değerlendirmesi

Grup A Örnek No.	Osteoblast Sayısı	Osteoklast Sayısı	Yeni kemik oluşum alanı (μm^2)
2.1.o	-	-	-
2.2.o	39	2	293770,9
2.3.o	21	3	172592,8
2.4.o	45	2	318301,7
2.5.o	32	1	225143,8
2.6.o	26	3	311948,1
2.7.o	36	3	312604,6
2.8.o	38	3	344636,4
2.9.o	25	2	265101,3
2.10.o	-	-	-

Tablo 11. Grup 2, B defekti, 8 deney hayvanı osteoblast sayısı, osteoklast sayısı, yeni kemik oluşum alanı değerlerinin histomorfometrik değerlendirmesi

Grup B Örnek No.	Osteoblast Sayısı	Osteoklast Sayısı	Yeni kemik oluşum alanı (μm^2)
2.1.b	-	-	-
2.2.b	54	0	336181,7
2.3.b	22	3	301221,7
2.4.b	35	2	236968,2
2.5.b	20	1	258772,2
2.6.b	38	5	344636,5
2.7.b	42	1	321260,6
2.8.b	33	2	203065,3
2.9.b	29	2	265949,1
2.10.b	-	-	-

Tablo 12. Grup 2, C defekti, 8 deney hayvanı osteoblast sayısı, osteoklast sayısı, yeni kemik oluşum alanı değerlerinin histomorfometrik değerlendirmesi

Grup C Örnek No.	Osteoblast Sayısı	Osteoklast Sayısı	Yeni kemik oluşum alanı (μm^2)
2.1.to	-	-	-
2.2.to	44	1	378186,5
2.3.to	49	2	336314,2
2.4.to	26	0	282778,1
2.5.to	53	2	399631,3
2.6.to	61	1	318315,5
2.7.to	46	0	378186,5
2.8.to	37	0	360825,5
2.9.to	37	1	478094,0
2.10.to	-	-	-

Tablo 13. Grup 2, D defekti, 8 deney hayvanı osteoblast sayısı, osteoklast sayısı, yeni kemik oluşum alanı değerlerinin histomorfometrik değerlendirmesi

Grup D Örnek No.	Osteoblast Sayısı	Osteoklast Sayısı	Yeni kemik oluşum alanı (μm^2)
2.1.t	-	-	-
2.2.t	56	0	407344,7
2.3.t	52	1	278225,2
2.4.t	43	1	333733,6
2.5.t	41	0	324250,4
2.6.t	58	1	372142,9
2.7.t	52	0	446170,0
2.8.t	35	2	299409,2
2.9.t	30	1	302059,7
2.10.t	-	-	-

4.3 İstatistiksel Bulgular

Ana gruplar ve alt gruplar arasında osteblast sayısı, osteoklast sayısı ve yeni kemik oluşum alanı karşılaştırmasında Tukey testi bulguları şöyledir.

4.3.1 Ana Gruplar ve Alt Gruplar Arasında Osteblast Sayısı Karşılaştırmasında Tukey Testi Bulguları

Osteoplast sayısı bakımından elde edilen verilere yapılan varyans analizi sonucunda, “defekt x grup” interaksiyonu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Bunun anlamı; defekt parametresinin seviye ortalamaları arasındaki farkların Grup 1’de başka Grup 2’de başka olduğudur. Başka bir deyişle gruplar arasındaki farklılığın defektten defekte sabit kalmayıp değiştiğidir. Nitekim bu durum Tukey testi sonuçlarında da bu esasa göre yapılarak Tablo 14, 21, 22, 23, 28 ve 29’da değerlerin hemen yan tarafında italik latin harfleriyle gösterilmiştir. Buna göre; tablolarda değerlerin yanında yer alan büyük harfler (örn: 23,56 *Bb*), defektler arasında (sağdan-sola) istatistiksel farklılığı, küçük harfler ise gruplar arasındaki (yukarıdan aşağıya) istatistiksel farklılığı göstermektedir. Bu durum aşağıda örnekler ile gösterilmiştir.

Örnek 1:

A (Otojen)	B (Boş)
32,75 <i>Ca</i>	34,13 <i>BCa</i>



İstatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur.



Örnek 2:

A (Otojen)
23,56 <i>Bb</i>
32,75 <i>Ca</i>



İstatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır.



Tablo 14. Ana Gruplar ve Alt Gruplar Arasında Osteoblast Sayısı

Osteoblast Sayısı	A (Otojen)	B (Boş)	C (TZF+Otojen)	D (TZF)	Genel (Tüm Defektler)
Grup 1	23,56 <i>Bb</i>	26,56 <i>Ba</i>	44,78 <i>Aa</i>	50,78 <i>Aa</i>	36,42
Grup 2	32,75 <i>Ca</i>	34,13 <i>BCa</i>	44,13 <i>ABa</i>	45,88 <i>Aa</i>	39,22
Genel	27,88	30,12	44,47	48,47	

Grup 1’de osteoblast sayıları bakımından A ve B grubu ile C ve D grupları kendi aralarında anlamlı farklılık göstermezken A ve C, A ve D, B ve C, B ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$).

Grup 2’de osteoblast sayıları bakımından A ve B grubu, B ve C grubu ile C ve D grupları kendi aralarında anlamlı farklılık göstermezken A ve C, A ve D, B ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$).

A grubunun osteoblast sayısı, Grup 1 ve Grup 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı iken B, C, D gruplarının osteoblast sayıları Grup 1 ve Grup 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemiştir ($p<0.05$).

Detaylı açıklayacak olursak; osteoblast sayısı, tüm defektler için 1. ay ($36,42\pm 2,31$) ve 2. ay ($39,22\pm 2,00$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p<0.05$).

Çalışmamızda, 1. ay grubunda osteoblast sayısı bakımından otojen greft ($23,56\pm 2,54$) uygulanan defekt ile boş defekt ($26,56\pm 1,75$) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defekt ($44,78\pm 3,17$) ile sadece TZF uygulanan defekt ($50,78\pm 2,49$) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defekt ($44,78\pm 3,17$) ile boş bırakılan defekt ($26,56\pm 1,75$) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defekt ($44,78\pm 3,17$) ile sadece otojen greft uygulanan defekt ($23,56\pm 2,54$) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. Sadece TZF uygulanan defekt

(50,78±2,49) ile boş bırakılan defekt (26,56±1,75) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. Sadece TZF uygulanan defekt (50,78±2,49) ile sadece otojen greft uygulanan defekt (23,56±2,54) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur (p<0.05).

Çalışmamızda, 2. ay grubunda osteoblast sayısı bakımından otojen greft uygulanan defekt (32,75±2,90) ile boş bırakılan defekt (34,13±3,89) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defekt (44,13±3,83) ile sadece TZF uygulanan defekt (45,88±3,60) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defekt (44,13±3,83) ile boş bırakılan defekt (34,13±3,89) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ancak istatistiksel olarak farklılık olmasa da TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defektin (44,13±3,83) osteoblast sayısının boş defekte göre (34,13±3,89) sayıca fazla görülmektedir. TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defekt (44,13±3,83) ile sadece otojen greft uygulanan defekt (32,75±2,90) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. Sadece TZF uygulanan defekt (45,88±3,60) ile boş bırakılan defekt (34,13±3,89) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. Sadece TZF uygulanan defekt (45,88±3,60) ile sadece otojen greft uygulanan defekt (32,75±2,90) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur (p<0.05).

Ana gruplar ve alt gruplar arası osteoblast sayısı tanıtıcı istatistik değerleri Tablo 15, 16, 17, 18, 19, 20'de gösterilmiştir.

Tablo 15. Alt Gruplar Arasında Osteoblast Sayısı Tanıtıcı İstatistik Değerleri

Osteoblast Sayısı Defekt	Toplam Hayvan Sayısı	Ortalama	Standart Hata	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
A	17	27,88	2,18	9,00	14,00	45,00
B	17	30,12	2,19	9,05	20,00	54,00
C	17	44,47	2,39	9,84	26,00	62,00
D	17	48,47	2,17	8,93	30,00	64,00

Tablo 16. Ana Gruplar Arasında Osteoblast Sayısı Tanıtıcı İstatistik Değerleri

Osteoblast Sayısı Genel	Toplam Defekt Sayısı	Ortalama	Standart Hata	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Grup 1	36	36,42	2,31	13,84	14,00	64,00
Grup 2	32	39,22	2,00	11,30	20,00	61,00

Tablo 17. Grup 1 ve Grup 2 A Defektinin Osteoblast Sayısı

Osteoblast Sayısı Defekt A	N	Ortalama	Standart Hata	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Grup 1	9	23,56	2,54	7,63	14,00	42,00
Grup 2	8	32,75	2,90	8,21	21,00	45,00

Tablo 18. Grup 1 ve Grup 2 B Defektinin Osteoblast Sayısı

Osteoblast Sayısı Defekt B	N	Ortalama	Standart Hata	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Grup 1	9	26,56	1,75	5,25	20,00	37,00
Grup 2	8	34,13	3,89	11,00	20,00	54,00

Tablo 19. Grup 1 ve Grup 2 C Defektinin Osteoblast Sayısı

Osteoblast Sayısı Defekt C	N	Ortalama	Standart Hata	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Grup 1	9	44,78	3,17	9,52	30,00	62,00
Grup 2	8	44,13	3,83	10,83	26,00	61,00

Tablo 20. Grup 1 ve Grup 2 D Defektinin Osteoblast Sayısı

Osteoblast Sayısı Defekt D	N	Ortalama	Standart Hata	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Grup 1	9	50,78	2,49	7,48	41,00	64,00
Grup 2	8	45,88	3,60	10,19	30,00	58,00

4.3.2 Ana Gruplar ve Alt Gruplar Arasında Osteoklast Sayısı Karşılaştırmasında Tukey Testi Bulguları

Osteoklast sayısı bakımından, elde edilen verilere yapılan varyans analizi sonucunda “defekt x grup” interaksiyonu istatistiksel olarak önemli değildir. Defekt parametresinin seviye ortalamaları arasındaki farklılıklar ise istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.01$). Tukey testi sonuçları Tablo 21’de ortalama değerler üzerinde gösterilmiştir.

Tablo 21. Ana Gruplar ve Alt Gruplar Arasında Osteoklast Sayısı

Osteoklast Sayısı	A (Otojen)	B (Boş)	C (TZF+Otojen)	D (TZF)	Genel (Tüm Defektler)
Grup 1	4,111	4,333	2,000	1,556	3,000 <i>a</i>
Grup 2	2,375	2,000	0,875	0,750	1,500 <i>b</i>
Genel	3,294 <i>a</i>	3,235 <i>a</i>	1,471 <i>b</i>	1,176 <i>b</i>	

Tüm alt grupların osteoklast sayıları değerlendirildiğinde Grup 1 ve Grup 2 arasında anlamlı farklılık bulunmuştur. Bu durum tüm defektlerde benzer şekilde görülmektedir ($p<0.01$).

Grup 1 ve Grup 2’nin her ikisinde de A ve B ile C ve D grubunun osteoklast sayıları kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı değil iken A ve C, A ve D, B ve C, B ve D gruplarının aralarında osteoklast sayıları bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.01$).

Detaylı açıklayacak olursak; osteoklast sayısı, tüm defektler için 1. ay ($3,00\pm 0,361$) ve 2. ay ($1,500\pm 0,211$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Çalışmamızda, 1.ay grubunda otojen greft uygulanan defekt ($4,111\pm 0,716$) ile boş defekt ($4,333\pm 0,667$) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defekt ($2,000\pm 0,624$) ile sadece TZF uygulanan defekt ($1,556\pm 0,412$) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık

bulunmamıştır. TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defekt ($2,000\pm 0,624$) ile boş bırakılan defekt ($4,333\pm 0,667$) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmasa da TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defektin ($2,000\pm 0,624$) osteoklast sayısının boş defekte ($4,333\pm 0,667$) göre sayıca az olduğu görülmektedir. TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defekt ($2,000\pm 0,624$) ile sadece otojen greft ($4,111\pm 0,716$) uygulanan defekt arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. Sadece TZF uygulanan defekt ($1,556\pm 0,412$) ile boş bırakılan defekt ($4,333\pm 0,667$) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. Sadece TZF uygulanan defekt ($1,556\pm 0,412$) ile sadece otojen greft uygulanan defekt ($4,111\pm 0,716$) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.01$).

Çalışmamızda, 2. ay grubunda otojen greft uygulanan defekt ($2,375\pm 0,263$) ile boş defekt ($2,000\pm 0,535$) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defekt ($0,875\pm 0,295$) ile sadece TZF uygulanan defekt ($0,750\pm 0,250$) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defekt ($0,875\pm 0,295$) ile boş bırakılan defekt ($2,000\pm 0,535$) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmasa da TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defektin ($0,875\pm 0,295$) osteoklast sayısının boş defekte ($2,000\pm 0,535$) göre sayıca az olduğu görülmektedir. TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defekt ($0,875\pm 0,295$) ile sadece otojen greft ($2,375\pm 0,263$) uygulanan defekt arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. Sadece TZF uygulanan defekt ($0,750\pm 0,250$) ile boş bırakılan defekt ($2,000\pm 0,535$) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. Sadece TZF uygulanan defekt ($0,750\pm 0,250$) ile sadece otojen greft uygulanan defekt ($2,375\pm 0,263$) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.01$).

Ana gruplar ve alt gruplar arası osteoklast sayısı tanıtıcı istatistik değerleri Tablo 22, 23, 24, 25, 26, 27’de gösterilmiştir.

Tablo 22. Alt Gruplar Arasında Osteoklast Sayısı Karşılaştırmasında Tukey Testi Sonuçları

Osteoklast Sayısı Defekt	Toplam Hayvan Sayısı	Ortalama	Standart Hata	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
A	17	3,294 <i>a</i>	0,444	1,829	1,000	1,000
B	17	3,235 <i>a</i>	0,511	2,107	0,000	9,000
C	17	1,471 <i>b</i>	0,375	1,546	0,000	5,000
D	17	1,176 <i>b</i>	0,261	1,074	0,000	3,000

Tablo 23. Ana Gruplar Arasında Osteoklast Sayısı Karşılaştırmasında Tukey Testi Sonuçları

Osteoklast Sayısı Genel	Toplam Defekt Sayısı	Ortalama	Standart Hata	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Grup 1	36	3,000 <i>a</i>	0,361	2,165	0,000	9,000
Grup 2	32	1,500 <i>b</i>	0,211	1,191	0,000	5,000

Tablo 24. Grup 1 ve Grup 2 A Defektinin Osteoklast Sayısı

Osteoklast Sayısı Defekt A	N	Ortalama	Standart Hata	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Grup 1	9	4,111	0,716	2,147	2,000	8,000
Grup 2	8	2,375	0,263	0,744	1,000	3,000

Tablo 25. Grup 1 ve Grup 2 B Defektinin Osteoklast Sayısı

Osteoklast Sayısı Defekt B	N	Ortalama	Standart Hata	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Grup 1	9	4,333	0,667	2,000	2,000	9,000
Grup 2	8	2,000	0,535	1,512	0,000	5,000

Tablo 26. Grup 1 ve Grup 2 C Defektinin Osteoklast Sayısı

Osteoklast Sayısı Defekt C	N	Ortalama	Standart Hata	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Grup 1	9	2,000	0,624	1,871	0,000	5,000
Grup 2	8	0,875	0,295	0,835	0,000	2,000

Tablo 27. Grup 1 ve Grup 2 D Defektinin Osteoklast Sayısı

Osteoklast Sayısı Defekt D	N	Ortalama	Standart Hata	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Grup 1	9	1,556	0,412	1,236	0,000	3,000
Grup 2	8	0,750	0,250	0,707	0,000	2,000

4.3.3 Ana Gruplar ve Alt Gruplar Arasında Yeni Kemik Oluşum Alanı Karşılaştırmasında Tukey Testi Bulguları

Yeni kemik oluşum alanı bakımından, elde edilen verilere yapılan varyans analizi sonucunda “defekt x grup” interaksyonu ve grupların ortalamaları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildir. Fakat defektlerin seviye ortalamaları arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Tukey testi sonuçları Tablo 28’de ortalama değerler üzerinde gösterilmiştir.

Tablo 28. Ana Gruplar ve Alt Gruplar Arasında Yeni Kemik Oluşum Alanı

Yeni Kemik Oluşum Alanı	A (Otojen)	B (Boş)	C (TZF+Otojen)	D (TZF)	Genel (Tüm Defektler)
Grup 1	265962	263477	347027	334436	302725
Grup 2	280512	283507	366541	345417	318994
Genel	272809 B	272903 B	356210 A	339603 A	

Tüm alt grupların yeni kemik oluşum alanları değerlendirildiğinde Grup 1 ve Grup 2 arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p<0.01$). Bu durum tüm defektlerde benzer şekilde görülmektedir.

Grup 1 ve Grup 2’nin her ikisinde de A ve B ile C ve D grubunun yeni kemik oluşum alanları kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı değil iken A ve C, A ve D, B ve C, B ve D gruplarının aralarında yeni kemik oluşumu bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.01$).

Detaylı açıklayacak olursak; yeni kemik oluşum alanı, tüm defektler için 1. ay (302725 ± 11930) ve 2. ay (318994 ± 11621) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Çalışmamızda, 1.ay grubunda, otojen greft uygulanan defekt (265962 ± 19220) ile boş bırakılan defekt (263477 ± 29456) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defekt (347027 ± 16099) ile sadece TZF uygulanan defekt (334436 ± 16178) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defekt (347027 ± 16099) ile boş bırakılan defekt (263477 ± 29456) arasında istatistiksel olarak

anlamli farklilik bulunmuştur. TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defekt (347027±16099) ile sadece otojen greft uygulanan defekt (265962±19220) arasında istatistiksel olarak anlamli farklilik bulunmuştur. Sadece TZF uygulanan defekt (334436±16178) ile boş bırakılan defekt (263477±29456) arasında istatistiksel olarak anlamli farklilik bulunmuştur. Sadece TZF uygulanan defekt (334436±16178) ile sadece otojen greft uygulanan defekt (265962±19220) arasında istatistiksel olarak anlamli farklilik bulunmuştur (p<0.01).

Çalışmamızda, 2.ay grubunda, otojen greft uygulanan defekt (280512±20126) ile boş bırakılan defekt (283507±17832) arasında istatistiksel olarak anlamli farklilik bulunmamıştır. TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defekt (366541±20744) ile sadece TZF uygulanan defekt (345417±20614) arasında istatistiksel olarak anlamli farklilik bulunmamıştır. TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defekt (345417±20614) ile boş bırakılan defekt (283507±17832) arasında istatistiksel olarak anlamli farklilik bulunmuştur. TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defekt (366541±20744) ile sadece otojen greft uygulanan defekt (280512±20126) arasında istatistiksel olarak anlamli farklilik bulunmuştur. Sadece TZF uygulanan defekt (345417±20614) ile boş bırakılan defekt (283507±17832) arasında istatistiksel olarak anlamli farklilik bulunmuştur. Sadece TZF uygulanan defekt (345417±20614) ile sadece otojen greft uygulanan defekt (280512±20126) arasında istatistiksel olarak anlamli farklilik bulunmuştur (p<0.01).

Ana gruplar ve alt gruplar arası yeni kemik oluşum alanı tanıtıcı istatistik değerleri Tablo 29, 30, 31, 32, 33, 34'te gösterilmiştir.

Tablo 29. Alt Gruplar Arasında Yeni Kemik Oluşum Alanı Karşılaştırmasında Tukey Testi Sonuçları

Yeni Kemik Oluşum Alanı Tüm Defekt	Toplam Hayvan Sayısı	Ortalama	Standart Hata	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
A	17	272809 B	13582	56001	172593	348124
B	17	272903 B	17361	71580	138952	377672
C	17	356210 A	12772	52662	264773	478094
D	17	339603 A	12596	51933	245589	446170

Tablo 30. Ana Gruplar Arasında Yeni Kemik Oluşum Alanı Tanıtıcı İstatistik Değerleri

Yeni Kemik Oluşum Alanı Genel	Toplam Defekt Sayısı	Ortalama	Standart Hata	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Grup 1	36	302725	11930	71578	138952	408522
Grup 2	32	318994	11621	65741	172593	478094

Tablo 31. Grup 1 ve Grup 2 A Defektinin Yeni Kemik Oluşum Alanı

Yeni Kemik Oluşum Alanı Defekt A	N	Ortalama	Standart Hata	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Grup 1	9	265962	19220	57660	181986	348124
Grup 2	8	280512	20126	56926	172593	344636

Tablo 32. Grup 1 ve Grup 2 B Defektinin Yeni Kemik Oluşum Alanı

Yeni Kemik Oluşum Alanı Defekt B	N	Ortalama	Standart Hata	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Grup 1	9	263477	29456	88369	138952	377672
Grup 2	8	283507	17832	50437	203065	344637

Tablo 33. Grup 1 ve Grup 2 C Defektinin Yeni Kemik Oluşum Alanı

Yeni Kemik Oluşum Alanı Defekt C	N	Ortalama	Standart Hata	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Grup 1	9	347027	16099	48297	264773	407345
Grup 2	8	366541	20744	58674	282778	478094

Tablo 34. Grup 1 ve Grup 2 D Defektinin Yeni Kemik Oluşum Alanı

Yeni Kemik Oluşum Alanı Defekt D	N	Ortalama	Standart Hata	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Grup 1	9	334436	16178	48535	245589	408522
Grup 2	8	345417	20614	58305	278225	446170

5. TARTIŞMA

Oral ve maksillofasiyal cerrahi ile ilgilenen araştırmacılar sürekli olarak kemik greftleme tekniklerini geliştirmek için çalışmalar yapmaktadır. Daha hızlı olgunlaşan ve daha yoğun kemik ile iyileşmeyi sağlayacak yöntemlerin geliştirilmesinin yanısıra kemik defektlerinin kendiliğinden ya da kemik grefti ve kemik benzeri alloplastik maddelerin daha az komplikasyonla kemik ile bütünlüşmesine yardımcı olacak yöntemler üzerinde çalışmaktadırlar (Raghoobar 2005).

Kemik metabolizmasının bazı kimyasal, elektriksel ve mekanik uyarılarca düzenlendiği, kemik iyileşmesi sırasında trombosit, makrofaj ve fibroblastlardan bazı polipeptid büyüme faktörlerinin salgılandığı bilinmektedir. Bu proteinler kemik iyileşmesi sırasındaki karmaşık prosesi düzenleyerek migrasyon, proliferasyon ve diferansiasyon ile rezorpsiyon arasındaki hassas dengeyi sağlamaktadırlar. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, kemik iyileşmesinde rol alan birçok kemik uyarıcı faktör tanımlanmıştır. Son yıllarda rekombinant teknolojinin gelişmesi, bu yolla elde edilen büyüme faktörlerinin kemik iyileşmesi üzerine etkilerinin daha iyi ortaya konulmasına yardımcı olmuştur. Çalışmalar en çok dönüştürücü büyüme faktörü (TGF) ailesinden olan kemik morfojenik proteinler (BMP) üzerine yoğunlaşmış olmakla birlikte, kemik iyileşmesindeki etkisi ortaya konulan diğer büyüme faktörleri TGF- β , PDGF, FGF, VEGF ve IGF'dür. Bunların deneysel çalışmalarda kemik iyileşmesi üzerine etkinliği gösterilmiştir. Bazılarının sınırlı da olsa klinik uygulaması yapılmasına rağmen, rutin klinik kullanıma girmeleri mevcut koşullarda maliyetinden dolayı çok zordur (Boden 1999, Khan et al., 2000, Mathes 2006).

Trombositten zengin fibrin (TZF) ise kan kaynaklı maddelerin yeni nesil ürünüdür. Transplante edilebilen doku tipleri içerisinde yeniden yapılanma ve yer değiştirme olaylarının rol aldığı kemik dokusu en sık kullanılan dokudur. Transplante edilen dokunun osteojenik, otojenik kalite ve kantitesi çok önemlidir. TZF, bireyin kendisinden elde edildiği için otolog özellik gösterirken içeriğindeki fibrin sayesinde immün kontrolü sağlamakta ve kök hücreleri indükleyip yüksek kalite yara iyileşmesi ve anjiyogenez sağlamaktadır. Kolay elde edilmesi, yüksek miktarda büyüme faktörleri ve sitokinler içermesi, içeriğinin herhangi bir biyokimyasal

işlemlerle değiştirilmemesi dolayısıyla yabancı doku reaksiyonu geliştirmemesi ve maliyetinin az olması TZF'in önemli avantajlarından (Dohan et al., 2010).

Greft materyali seçiminde, alıcı kemik yatağı özellikleri, greft malzemesinin osteojenik, osteokondüktif, osteoindüktif potansiyelleri ve hastanın genel sağlık durumu gibi pek çok faktör göz önünde bulundurulmalıdır. Otojen kemik greft materyali kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda osteoindüktif, osteokondüktif ve osteojenik etkileri nedeni ile öncelikli olarak tercih edilmektedir (Lundgren et al., 1997).

Kemik grefti, uygulanacağı bölgeye blok ya da partikül formda yerleştirilebilmektedir. Blok kemik greftleri yapısal bütünlüklerinin iyi olması, stabilizasyon sağlamaları ve korteks yapısının greftleme sonrası gelişecek rezorbsiyona karşı koyması ile öne çıkmaktadır (Lundgren et al., 1997). Bu avantajlarına rağmen blok kemik greftlerinin içerisinde yeni kan damarı oluşum hızı partikül kemik greftlerine göre daha yavaştır. Bu nedenle partikül kemik greftleri blok kemik greftlerine göre daha hızlı olgunlaşmaktadır (Garg 2004, Felice et al., 2009). Çalışmamızda bu hızlı olgunlaşma özelliğinden yararlanmak için trefin frezler yardımı ile toplanan blok kemik greftleri, kemik öğütücü ile partikül haline getirilmiştir. Her bir denekte oluşturulan dört adet kemik defektine, yalnız partikül otojen greft, TZF ile birlikte partikül otojen greft ve yalnız TZF uygulaması yapılmış, bir defekt ise kontrol grubu olmak üzere boş bırakılmıştır. Böylece eşsiz fibrin mimarisi ve içerdiği büyüme faktörleri sayesinde kemik iyileşmesi üzerinde hızlandırıcı etkileri olduğu bilinen trombositten zengin fibrin (TZF) ile partikül otojen kemik greftinin birlikte kullanımının kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine etkileri histolojik olarak incelenmiştir.

Deneklerin her iki tibia kemiği kullanılarak deney ve kontrol grubu aynı hayvanda oluşturulmuştur. Böylelikle deney ve kontrol grubunun aynı hayvan üzerinde oluşturularak, deney hayvanı farklılığından kaynaklanacak olumsuzlukların önüne geçilmesi planlanmıştır. Develioğlu et al. (2005) çalışmalarında aynı hayvanda oluşturulan deney ve kontrol gruplarının hayvan farklılığından doğabilecek değişiklikleri elimine ettiğini bildirmiştir. Çalışmamızla benzer olarak Stubbs et al. (2004), Walsh et al. (2008), Lee et al. (2011), tavşan tibialarında yaptıkları

çalışmalarda her iki tibia kemiği üzerinde defektler oluşturularak deney ve kontrol gruplarını aynı deney hayvanı üzerinde oluşturmuşlardır.

Deneysel olarak hazırlanan kemik defektlerinin kritik boyutlarda oluşturulması önemlidir. Kritik boyutta defekt, yaşam boyu kendiliğinden iyileşemeyecek en küçük boyuttaki defek olarak tanımlanmıştır (Schmitz et al., 1986). Her deney hayvanı için bu boyut değişmektedir. Dodde et al. (2000), Jan et al. (2006), Moghadam et al. (2004), tavşan kalvaryumunda yaptıkları çalışmalarda kritik boyutta defektler için 15 mm çaplı defektlerin oluşturulması konusunda görüş belirtirlerken tavşan tibiaları için bu boyutun 2-8 mm olduğunu belirten çalışmalar bulunmaktadır. Tavşanların anatomik farklılıkları göz önüne alındığında bu beklenen bir durumdur (Greiff 1979, Cacchioli et al., 2006). Walsh et al. (2003), Guehennec et al. (2005) yaptıkları çalışmalarda ağırlığı 3-3,5 kg olan bir tavşan için tibianın ortalama 8 mm genişliğinde olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda tibianın diyafiz bölgesi operasyon sahası olarak belirlenerek ortalama diyafiz çapları 6-7 mm olan tibiaların yarısı çapında kritik boyutta defektler planlanmıştır. Tavşan tibialarında toplam dört adet defekt oluşturulması ve defektler sebebiyle tibianın yeterli mekanik direnci sağlayamayıp kırılmasının önüne geçilmesi amacıyla her deney hayvanında iki tibia üzerinde ikişer adet defekt oluşturulmuş ve 3-4 mm çapında defektler hazırlanması uygun bulunarak 3,3 mm'lik trefin frez ile deneysel defektler oluşturulmuştur. Defektler arası mesafenin 3 mm'den fazla olmasına dikkat edilmiştir.

Çalışmamızda iyileşme süresi boyunca tavşanlarda tibia fraktürü oluşmamıştır. Ancak antibiyotik uygulanması sırasında ayak tırnaklarının kafese takılması sonucu tibia fraktürü oluşan 3 adet deney hayvanı çalışma dışı bırakılmıştır. Kahraman (2010), tavşan tibialarına trefin frez ile defektler oluşturularak yaptığı çalışmada, 3 mm'den az mesafe bırakılan tibialara binen kuvvetler karşısında kemik direncinin azaldığını ve kırık oluştuğunu, 3 mm ve daha fazla mesafe bırakılanlarda ise kemiğin daha dirençli olduğunu belirtmiştir.

Kemik grefti elde edilmesinde trefin frezler; kullanım kolaylığı sağlaması, komplikasyonunun az olması ve standart boyutta defektler oluşturabilmesi nedeni ile tercih edilmektedir. Trefin frez kullanılarak mandibular simfiz, mandibular ramus, maksiller tüber bölgesi ve iliak kemikten otojen kemik grefti toplanabildiği bilinmektedir. Çeşitli çalışmalar sonucunda greft materyalinin trefin frez kullanılarak

kolaylıkla elde edildiği ve verici sahada az hasar oluşturduğu bildirilmiştir (Ilankovan et al., 1998, Nkenke et al., 2001, Raghoobar et al., 2001, Dörtbudak et al., 2002, Alfaro et al., 2005). Çalışmamızda kullandığımız tavşan tibialarında deneysel olarak yapay kemik defektlerini oluşturmak ve aynı zamanda blok kemik grefti toplamak için trefin frez kullanılmıştır. Ayrıca aynı trefin frez kullanılarak standart boyutta defektlerin oluşturulması hedeflenmiştir. Çalışmamızda trefin frez kullanılarak greft alınmasının; kolay uygulanabilen, düşük verici saha rahatsızlıklarına neden olan, 3 boyutlu kemik rekonstrüksiyonu ve defekt boyutlarında standardizasyonu sağlayan bir yöntem olduğu sonucuna varılabilir. Bu konudaki bulgularımız Raghoobar et al. (2001) ve Alfaro et al. (2005)'in çalışma bulguları ile uyumludur.

Choukroun'un TZF'i insanlar için dizayn edilmiştir. Dolayısıyla insan kan hacmine ve kan basıncına göre adapte edilmiştir. Deney hayvanları ile yapılan araştırmalarda kan alındıktan sonra vital bulgularda herhangi bir değişiklik gözlenmeksizin hayvanın yaşaması isteniyorsa, dolaşımda bulunan toplam kan miktarının % 10'undan fazlasının alınmaması gerektiği belirtilmiştir (McGuill and Rowan 1989, Waynforth and Flecknell 1992, van Zutphen et al., 1993, Morton et al., 1995). Toplanan kan hacminin, deney hayvanının total kan hacminin %15-20'sini geçmesi halinde arteriyel basınç ve kardiyak atımda azalma görüldüğü, alınan kan miktarı %30-40'a çıktığında ise hipovolemi ve kardiyovasküler yetmezlik sebebiyle hayvanın ölümüne sebep olduğu bildirilmiştir (Waynforth and Flecknell 1992, Morton et al., 1995, Issi 2008). Dohan et al. (2006d), yeterli kan alınabilmesi ve kan alındıktan sonra hayati tehlike oluşmaması için TZF'in köpek, babun, domuz, keçi, sığır ve at gibi insanlarla benzer ölçülerde veya daha büyük hayvanlarda yapılmasının uygun olduğunu belirtmiştir. Ancak deney hayvanı olarak tavşan kullanıldığında TZF hazırlamak için 6-10 ml kanın yeterli olduğunu bildiren çok sayıda deneysel çalışma bulunmaktadır (Phurisat 2008, Jang et. al., 2010, Lee et al., 2010, Tunalı et al., 2012). Tavşandan daha küçük deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda bu miktarda kanın alınması mümkün olmamaktadır. Van Zutphen (1993)'e göre, ortalama ağırlığı 25 gr olan fare 2.6 ml, ortalama ağırlığı 250 gr olan rat 28 ml, ortalama ağırlığı 4 kg olan tavşan 250 ml, ortalama ağırlığı 10 kg olan köpek 850 ml kan hacmine ve ortalama ağırlığı 30 kg olan domuz ise 1950 ml

ortalama kan hacmine sahiptir. Çalışmamızda literatür bilgileri ışığında, büyük boy deney hayvanları arasında en kolay bakım, barınma ve beslenme özelliklerine sahip olan Yeni Zelanda tavşanı deney hayvanı olarak seçilmiştir. Tavşanların vital bulguları ile ilgili herhangi bir değişiklik oluşmaması için dolaşımdaki toplam kan hacminin %10' unu geçmeyecek şekilde 6-8 ml kan alınmıştır.

Deney hayvanı olarak tavşan kullanılan araştırmalarda, kan alımı için intrakardiyak teknik ve santral kulak veninden kan alım tekniği tercih edilmektedir (Graham 2006, Jang et al., 2010, Lee et al., 2010). Çalışmanın sonlandırılması ve fazla miktarda kan alınması gerektiği durumlarda intrakardiyak kan alım tekniği tercih edilir. Ancak atriyumdan kan alındığında perikarda kan sızması buna bağlı olarak kalp durması ve ölüm riskinden dolayı bu tekniğin sakıncalı olduğu bildirilmiştir (Morton et al., 1995). Bu nedenle çalışmanın sonlandırılması durumunda bu tekniğin kullanılması daha uygundur. Santral kulak veninden kan alım tekniği ise, tavşanlarda damarların ve dokuların frajil bir yapıda oluşu ve santral venin her zaman bulunamaması sebebiyle kan alımını güçleştirebilir (Graham 2006). Hem kalpten hem de kulak veninden kan alarak yaptığımız pilot çalışmada intrakardiyak kan alımı sırasında toplanan kanın daha basınçlı ve hızlı bir şekilde temin edildiği saptanmıştır ancak zor ve tecrübe gerektiren bir teknik olması nedeniyle hayati komplikasyonların önlenmesi düşünüldüğünde deneyimli kişiler tarafından uygulanması gerekli görülmüştür. Çalışmamızda 24 adet deney hayvanı kullanılmış ve her bir deney hayvanının santral kulak veninden 6-8 ml kan alınarak TZF oluşturulmuştur. Santral kulak veninden kan alınmasının kolay bir işlem olduğu, yeterli miktarda kan alınabildiği ve alınan kanın hayvanlarda herhangi bir sistemik sorun oluşturmadığı gözlenmiştir.

Kemik metabolizmasının düzenlenmesinde cinsiyet hormonlarından östrojenin önemli etkisi olduğu ve östrojen hormonu eksikliğinde kemik iyileşmesinin geciktiği bilinmektedir (Kagel et al., 1995). Dişi hayvanlarda kemik metabolizmasının, menstruel siklus döneminde cinsiyet hormonu seviyelerinden etkilendiği göz önünde bulundurularak deney hayvanı olarak erkek Yeni Zelanda tavşanı seçilmiştir.

Tavşanların çene ve yüz bölgesi, cerrahi çalışmalar açısından çeşitli zorluklar içermektedir. Kemikte bulunan yaranın ağız ortamıyla ilişkide olması durumunda enfeksiyon riski artmaktadır. Tavşan çenelerine yapılan operasyonlar sonrasında

enfeksiyon, ağrı ve cerrahi bölgeye zarar verme riski nedeni ile hayvanların diyetlerinde zorunlu olarak değişiklik yapmak gerekmektedir (Morton et al., 1995). Uzun kemiklerin manüplasyonlarının kolay olması ve postoperatif dönemde iyileşmenin daha az riskli olması gibi avantajlarından dolayı araştırmamız tavşan tibiaları üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çene kemiklerinin oluşumu ve kemik defektlerinin iyileşmeleri intramembranöz kemikleşme yoluyla olmaktadır. Kemikleşme tipleri birbirinden farklı olsa da yapılan araştırmalar sonucunda vücudun herhangi bir bölgesindeki kemik dokusunun iyileşmesi ile ilgili elde edilen bulguların, başka bir bölgedeki kemik iyileşmesi için de geçerli olabileceği ortaya konmuştur (Dziedzic-Goclawska et al., 1988, Hall and Miyake 1995).

Kemik doku üzerine yapılan çalışmalarda kemik iyileşmesinin değerlendirme süreleri arasında ortak bir görüş yoktur (Schmidmaier et al., 2001, Demircan ve ark., 2008, Gielkens et al., 2008). Uusitalo et al. (2001), histolojik olarak defektin yeni kemik dokuyla ilk haftada dolduğunu, aynı zamanda kortikal kemiğin kapanmasının 6 hafta sonunda gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Tavşanlarda yaptıkları kemik iyileşmesi ile ilgili çalışmalarda Miranda et al. (2006), 7., 15., 30., 60. günlerde, Ohya et al. (2005), 2., 4., 8. haftalarda, Aghaloo (2005), 1., 2., 4. aylarda, Yıldız (2006), 14., 30., 60. günlerde, Butterfield (2005), 2., 4., 8. haftalarda, Jung et al. (2005), 4. hafta sonunda, Nagata et al. (2009), 4. ve 12. hafta sonunda, Hatakeyama et al. (2008) ise 2. hafta sonunda hayvanları sakrifiye etmişlerdir. Aghaloo et al. (2002, 2004) tavşanlarda TZP ile yaptıkları çalışmada tavşanları 4., 8. ve 16. haftalarda sakrifiye etmişlerdir. Yazawa et al. (2004) tavşanlarda 1., 4. ve 8. haftalarda radyolojik ve histolojik değerlendirme yapmışlardır. Aghaloo et al. (2004), Yazawa et al. (2004), Butterfield et al. (2005), Jung et al. (2005)'ın yaptıkları çalışmalarda 1. ve 2. haftalarda kemikleşmenin başladığını 6. ve 8. haftalarda da defektlerin dolduğunu bildirmektedirler. Kemikteki aktivasyon, rezorpsiyon ve formasyon aşamaları sigma periyodu olarak adlandırılmaktadır. Bu periyod insanlarda 3-6 ay, tavşanlarda ise yalnızca 6 haftadır (Parfitt et al., 1990). Bu bilgiler doğrultusunda, çalışmamızda tavşan tibialarındaki kemik iyileşmesini değerlendirmek için 30. ve 60. gün sonundaki iyileşmeler esas alınmış ve bu süreler sonunda hayvanlar sakrifiye edilmiştir.

TZF, osteojenik potansiyelin arttırılması için günümüze kadar geliştirilen kan kaynaklı ürünler arasında eşsiz fibrin mimarisi, yoğun lökosit içeriği, kolay uygulanabilmesi ve ekonomik bir yöntem olmasıyla dikkati çekmektedir. TZF’de fibrin yapıştırıcı ve TZP’den farklı olarak fibrin polimerizasyonu için antikoagülan (heparin, sığır trombini, kalsiyum klorid, EDTA) kullanılmamaktadır. Sığır trombini kullanımının faktör V, faktör XI ve trombine karşı antikor oluşturarak hayati koagülopatilere yol açabileceği belirtilmiştir (Sanchez et al., 2003). Landesberg et al. (1998), TZP hazırlanması sırasında rekombinant insan trombini, otolog trombin ya da saflaştırılmış trombin gibi alternatif metodların kullanımı ile ilgili ileri çalışmalar yapılmasını önermiştir. Biyokimyasal madde ilave edilmemesi nedeniyle TZF’in sadece santrifüje edilmiş doğal kan ürünü olduğu ve kandaki doğal fibrin yapısından daha sıkı yapıda fibrin içerdiği ayrıca bireylerde herhangi bir immün reaksiyona yol açmayan otolog bir yapı olduğu belirtilmiştir (Dohan et al., 2006b). Fibrin pıhtı içerisindeki trombositler, α -granüllerinden düşük hızda büyüme faktörü salınımına izin verirler. TZF’de büyüme faktörü salınımı kemik yapımının başladığı ilk 7 gün boyunca artar ve 14. günde pik yapar daha sonra 28. güne kadar azalarak devam eder. TZP’de ise büyüme faktörlerinin, ilk 24 saatte pik yaptığı daha sonraki günlerde ise çok az miktarda salınarak 7 gün sonunda salınımın durduğu belirtilmiştir (Dohan et al., 2006b, 2006c). TZF’de büyüme faktörlerinin optimal yara iyileşmesini sağlayacak hızda salgılandığı bildirilmiştir (Dohan et al., 2009). TZF’in diğer trombosit ürünleri ile karşılaştırılmasını yapan az sayıda çalışma bulunmakla birlikte, yapılan bir çalışmada TZP ve TZF’in biyolojik yapısının rat osteoblastlarındaki proliferasyon ve farklılaşma üzerine etkileri değerlendirilmiştir. TZF’in büyüme faktörlerini devamlı salgılamasının, rat osteoblastlarının proliferasyonu ve diferansiasyonu üzerinde TZP’ya göre daha güçlü ve daha uzun süreli etkisi olduğu belirtilmiştir (He et al., 2009). Dohan et al. (2006c) ise TZF’in TZP’ya göre daha kısa iyileşme süresi olduğunu bildirmişlerdir. Literatürde kan kaynaklı ürünler arasında belirtilen üstün özellikleri nedeniyle araştırmamızda TZF kullanılması planlanmıştır.

Choukroun et al. (2006a), TZF elde etmek için venöz kanın 3000 rpm devirde, 10 dakika süresince santrifüj edilmesi gerektiğini belirtmiştir. Ancak Sacco (2006)’a atfen, Rodella et al. (2011) yaptığı çalışmada 2700 rpm devirde, 12 dakika süren

santrifüj işlemi sonrası daha sıkı ve yoğun kıvamda TZF oluştuğunu belirtmiştir. Çalışmamızda, bu nedenle tavşanların kulak veninden alınan kan 2700 rpm devirde 12 dakika boyunca santrifüj edildi. Dohan et al. (2011), farklı tüplerin (cam veya cam kaplı plastik) kullanımının ve kompresyon prosedürlerinin (kuvvetli veya sert) TZF membranının fibrin mimarisinde etkili olup olmadığını araştırmışlardır. Sonuçta santrifüjün oluşturduğu kuvvete bağlı olarak alınan kanın içerisindeki trombositlerin % 97'sinin, lökositlerin ise %50' den fazlasının TZF pıhtısı içerisinde bulunduğu ve spesifik üç boyutlu dağılım gösterdiği bildirilmiştir. Trombositlerin ve fibrinin, kırmızı kan hücreleri tabakasının birkaç milimetre uzağında geniş koagülasyon kümeleri oluşturduğu ve fibrin ağı oldukça yoğun ve olgun olduğu gösterilmiştir. Kullanılan farklı tüplerin ve kompresyon tekniklerinin TZF mimarisinde önemli bir değişiklik yaratmadığı görülmüştür. Yapılan pilot çalışmada kullandığımız cam tüplerden TZF'in önce bir spatül yardımıyla duvarlardan ayrılması sonra penset ile tutularak alınması gerektiği tecrübe edilmiştir. Bunun üzerine çalışmada daha kolay manüplasyona izin veren cam partikül içeren plastik tüpler tercih edilmiştir (Vacuette, Greiner Bio-One, GmbH, Kremsmunster, Austria). TZF'in bu tüplerden sadece bir penset yardımı ile kolaylıkla çıkarılabildiği görülmüştür.

TZF'in fibrin ağı içerisindeki lökositlerin aktive olması ve sitokinlerin fibrin ağı ile birleşmesinin bağışıklıktaki rolü önemlidir. Sitokinlerin devamlı salınımı greft materyali içerisindeki enflamatuar ve enfeksiyöz olayların kontrolünde önemli rol oynar. Fibrin ağı rejenerasyon bölgesine integrasyonu, hücre migrasyonunu kolaylaştırır. Bu durum özellikle neoanjiogenez, vaskülarizasyon ve greftin canlılığını sağlayan endotelial hücreleri ve kök hücreleri için önem taşımaktadır. Trombosit sitokinleri, fibrin matriks rezorbe oldukça salınırlar ve iyileşmede rol alırlar. Bu devamlı salınım prosesi organizma tarafından iyileşmeye yardımcı olmak ve bağ doku remodelasyonunu sağlamak için kullanılmaktadır. Bu sitokin içeriği ile TZF pıhtısı bir tür immün regülasyon nodu olarak değerlendirilebilir. TZF'in enfeksiyonlara karşı savunma kapasitesi bu sitokinlerin kemotaktik özellikleri ve neovaskülarizasyonu hızlandırma yetenekleri sayesinde olmaktadır. TZF bu özelliği ile kemik greftlerinde enflamasyonu ve sepsis riskini kontrol edebilmektedir (Simonpieri et al., 2009a, 2009b). Bu durum TZF kullanımı sonrasında postoperatif dönemde enfeksiyon oluşmamasını açıklayabilmektedir. Çalışmamızda sadece 1 adet

deney hayvanı enfeksiyona bağlı olarak çalışma dışı bırakılmıştır. Bu hayvanın tüy ve cilt rengindeki değişimler gözlendiğinde fungal etkenlere bağlı olarak enfeksiyon oluştuğu görülmüştür.

Dohan et al. (2006c) ve Choukroun et al. (2006a), TZF kullanımının postoperatif ağrı ve ödemi azalttığı, minör enfeksiyöz olayları sınırladığını rapor etmişlerdir. Simon et al. (2009) ve Kim et al. (2012) deneysel defektlere TZF uyguladıkları çalışmalarında hayvanlara işlemden sonra üç gün süreyle antibiyotik vermişlerdir. Postoperatif dönemde herhangi bir enflamasyon bulgusuna rastlanmadığını bildirmişlerdir. Bu iki çalışma da Dohan et al. (2006a) ve Choukroun et al. (2006a)'in bulgularını desteklemektedir. Çalışmamızda da tüm tavşanlara enfeksiyon kontrolü için intramuskuler (IM) 5 mg/kg amikasin sülfat/gün (Amikozit® 500 mg flakon, Eczacıbaşı, Türkiye) ameliyat sonrası üç (3) gün süreyle uygulanmıştır. Çalışmamıza dahil edilen diğer hayvanların tümünde postoperatif dönemde enfeksiyon, yara iyileşmesinde gecikme, yabancı cisim reaksiyonu görülmemiştir. Ameliyat sonrası makroskopik gözlemlerimiz sonucunda komplikasyon yaratacak boyutta ödeme rastlanmamıştır. Bu sebeple, bulgularımız TZF kullanımının postoperatif ödemi ve ağrıyı azaltmaya yardımcı olduğunu bildiren araştırmaları destekler niteliktedir.

TZF'in sıkı, esnek ve güçlü yapısı ile sütüre edilebilmesine olanak sağlaması, klinik uygulamalarda; primer olarak kapatılamayacak durumdaki yara kenarlarının iyileşmesini hızlandırabileceğini ve klinik uygulamalarda avantaj yaratabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda tüm hayvanlarda operasyon sahaları, TZF defektlere uygulandıktan sonra, periost içeren tam kalınlıkta flep ile örtülerek primer olarak kapatılmış ve postoperatif dönemde yara bölgelerinde açılma gözlenmemiştir. Klinik olarak TZF'in kesilmesine ve sütüre edilmesine olanak sağlaması, oda sıcaklığında stabil olması, manipülasyona zaman sağlaması, kolayca hazırlanması, doğal fibrin ağına benzerliği, biyolojik ve biyomimetik özellikleri ile hücre migrasyonu ve proliferasyonuna izin vermesi, kritik olan ilk 7 gün boyunca hızlı yara iyileşmesini sağlaması, biyokimyasal madde ve antikoagülan kullanımını gerektirmemesi, farklı greft materyalleri ile birlikte kullanıldığında materyalin integrasyonunu arttırması gibi özellikleri avantajları arasında belirtilmiştir (Choukroun et al., 2006a). Otolog bir yapı olduğu için sadece düşük miktarlarda ürünlerin oluşturulması, verici kişiye

spesifik olması nedeniyle allojenik greft materyalleri gibi doku bankalarının kullanılmasına imkan vermemesi gibi dezavantajları da belirtilmiştir (Dohan et al., 2011).

Otojen kemik grefti, kemik iyileşmesinde altın standart olarak kabul edilmektedir. Otojen kemiğin yüksek osteojenik potansiyeli sebebiyle kemik defektlerine uygulanmasının başarılı sonuçlar verdiği özellikle de partikül otojen kemik greftlerinin damarlanmayı artırarak osteogenezi arttırdığını bildiren çok sayıda çalışma vardır. (Axhausen 1956, Rivault ve ark., 1971, Renvert ve ark., 1985). Ancak çalışmamızda hem 1. ay grubunda hem de 2. ay grubunda, sadece otojen kemik grefti uygulanan defektler ile boş bırakılan defektler arasında osteoblast sayısı ve yeni kemik oluşumu bakımından anlamlı farklılık görülmemiştir. Otojen greftin, beklenen pozitif etkiyi göstermemesine partikül otojen greftin bir membran ile stabilize edilmemesi dolayısıyla defektler içerisinde sabit kalamamış olması sebep olarak gösterilebilir.

Simonpieri et al. (2009b), TZF'i birkaç milimetrelik parçalar halinde keserek greft materyali ile karıştırıldıktan sonra yara bölgesine uygulamışlardır. TZF kullanımıyla daha iyi postoperatif kontrol, integrasyonda ve biyomateryal remodelasyonunda artış saptayarak işlemin başarılı olduğunu bildirmişlerdir. Del Corso et al. (2009a), TZF'in greft materyaliyle birlikte kullanıldığında partiküller arasında biyolojik bir yapıştırıcı görevi görerek neoanjiogenezi, osteoblastik çoğalmayı ve farklılaşmayı stimüle ederek kemik rejenerasyonunu arttırdığını bildirmiştir. Çalışmamızda ise TZF, parçalanmadan jelatinöz formda kullanılmıştır. TZF ile birlikte otojen greft uyguladığımız defektler ile yalnız otojen greft uygulanan defektler arasında ise osteoblast sayısı ve kemik oluşum alanları bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. TZF ile birlikte otojen greft uyguladığımız defektlerde gözlenen yüksek osteoblast sayısı ve kemik oluşum alanları değerlendirildiğinde bu grupta membran kullanılmamasına rağmen TZF'in otojen greft materyalini stabilize ederek kemik rejenerasyonunu arttırdığı düşünülebilir. Bu bulgu tek başına defekte yerleştirilen partikül otojen greftin kemik iyileşmesine olumlu etki göstermeme durumunu açıklarken greftin defektler içerisinde stabil kalamamış olması varsayımını da güçlendirmektedir. TZF ile birlikte kullanımı, partikül formundaki greftlerin migrasyon problemini ortadan kaldırabilir.

Simonpieri et al. (2009b) yaptıkları çalışmada fibrin pıhtının mekanik rol oynamasıyla TZF'in, greft biyomateryalini koruduğunu ve stabilize ettiğini dolayısıyla TZF'in kemik partikülleri arasında biyolojik birleştirici olarak rol aldığını ve oluşan kohezyon kuvvetiyle greftin, iyileşmenin erken dönemlerinde gerekli olan biyokimyasal güce sahip olduğunu belirtmişlerdir. Bu durumda partikül otojen greftin TZF membran ile örtülmesi de stabilizasyonu sağlamak açısından dikkate alınabilir.

Antikoagülan kullanan 50 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada hastaların antikoagülan tedavileri kesilmeden diş çekimleri yapılmış ve çekim soketlerine TZF uygulanmıştır. 38 hastada tam hemostaz sağlanırken 10 hastada hafif kanama 2 hasta da ise lokal kanama durdurma teknikleri ile durdurulabilen hemoraji meydana gelmiştir. Antikoagülan tedavisi gören hastalarda, TZF'in diş çekimi gibi cerrahi işlemler sonrası güçlü hemostatik etkisi ile güvenle kullanılabilceği bildirilmiştir (Sammartino et al., 2011). Dolayısıyla çalışmamızda, TZF'in içerdiği trombosit ve fibrin yapısı nedeniyle sahip olduğu hemostatik etkinin de stabilizasyon açısından önemli olduğu, kemik içi defektlerden gelen kanın daha kısa sürede pıhtılaşmasına olanak sağlayarak, greft partiküllerinin ortamdaki uzaklaşmasını engelleyebileceği ve defekt içerisinde sabit kalmasına yardımcı olabileceği sonucuna da varılabilir.

TZF, membran olarak kullanıldığında da içerdiği yüksek miktardaki büyüme faktörleri nedeniyle iyileşmeyi ve yara kenarlarının kapanmasını hızlandırırken greft materyalini stabilize eder ve yara bölgesini dış etkenlerden korur (Simonpieri et al., 2009a). Literatürde TZF'in membran formunda kullanımıyla ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. Toffler et al. (2009), demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik grefti (DDKG), TZF matriks ve TZF membran kombinasyonunu kemik defekti, alveoler kret augmentasyonu ve sinus augmentasyonu işlemlerinde uygulamışlardır. Bu çalışmada TZF membran kret augmentasyonu işleminde, greft materyalini korumak ve stabilize etmek amacıyla kullanılmıştır. Bu olguların klinik olarak gözlemlendiği çalışma sonucunda TZF'in kemik iyileşmesine etkisini ve kemik greftlerinin maturasyonunu arttırdığını bildirmişlerdir. Simonpieri et al. (2009b) yaptıkları iki aşamalı çalışmada % 0.5'lik metronidazol solüsyonu ile demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik grefti (DDKG), TZF matriks ve TZF membran uygulayarak alveoler kret augmentasyonu yapmışlardır. TZF membranı cerrahi

bölgeyi korumak ve yumuşak doku iyileşmesini hızlandırmak amacıyla kullanılmışlardır. TZF kullanımının postoperatif ağrı ve ödemi azalttığı, minör enfeksiyöz olayları sınırladığı rapor edilmiştir. Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu işlemlerinde ise TZF, membran olarak kullanıldığında hem grefti korur hem de yara iyileşmesini hızlandırır (Dohan et al., 2006a). TZF'in *in vitro* olarak insan fibroblastları için iskelet oluşturması kemik doku mühendisliği uygulamaları için yararlı bulunmuştur (Dohan et al., 2009b). Ayrıca, sinüs tabanı elevasyonunda partiküler greftleme yöntemi ile kullanılabilmesi gibi membran şeklinde de kullanılarak osteotom kullanımı sırasında sinüs membranını koruyabilir (Toffler et al., 2010). Sinüs elevasyonu esnasında tespit edilemeyen bir perforasyonun kapatılması amacıyla TZF membran greftten önce yerleştirilmesi önerilmektedir. Çünkü sinüs membranı kendisini 15 günde tamir edebilirken TZF membran ortalama 3 haftada rezorbe olmaktadır (Choukroun et al., 2006b, Zumstein et al., 2011). Tunalı et al. (2012) ise tavşanlar üzerinde yaptıkları çalışmada TZF'in rezorpsiyon sürecinin 10. günde başladığını ve 30. güne kadar devam ettiğini bildirmişlerdir.

TZF membran ile kollajen membranın (BioGide, Osteohealth Co., Shirley, NY) karşılaştırıldığı bir çalışmada, bu membranların doku mimarisinde iskelet oluşturma kapasiteleri değerlendirilmiştir. TZF'in insan periosteal hücrelerinin proliferasyonu için oluşturduğu iskeletin, kollajen membranından üstün olduğu gösterilmiştir. TZF membranının kemik dokusu mühendisliği için *in vitro* periosteal hücre kültüründe kullanımının uygun olduğu bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada TZF membran ve kollajen membranın her ikisinin de kemik rejenerasyonunda uygun iskelet yapı sağlayacak materyaller olduğunu ancak TZF membranının canlı hücre içermesi ve greft partiküllerini bir arada tutma kapasitesinden dolayı daha üstün olduğunu belirtmişlerdir (Gassling et al., 2011). Literatür incelendiğinde TZF membran uygulamasının, basit manipülasyona izin veren bir yöntem olması, etkili ve daha hızlı iyileşme göstermesi, bariyer membranlarının yerleştirilme, stabilizasyon zorluğu ve eksoze oluşu gibi dezavantajlarını elimine etmesi gibi sebeplerden ötürü ideal bir bariyer görevi görebileceği düşünülebilir. TZF optimal bir kan pıhtısı olduğundan, farklı greft materyalleri ile kombinasyonu greft materyalinin integrasyonunu arttırmaktadır, çünkü fibrin, fizyolojik bir yapıştırıcı görevi görerek greft materyalleri arasındaki kohezyonu artırır (Dohan et al., 2011). Çalışmamızda

bu özellik değerlendirilerek TZF'in greft materyali olarak kullanımının partikül otojen greftin stabilizasyonunu sağladığı göz önünde bulundurulmuş ve stabilizasyon için membran kullanımına gerek duyulmadan uygulama yapılmıştır. Simon et al. (2009) köpekler üzerinde yaptıkları diğer bir çalışma çekim soketlerine; TZF matriks, TZF membran ve demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik grefti (DDKG) ve kollajen membran (BioGide, Osteohealth Co., Shirley, NY) uygulamışlardır. Denekler 4 gruba ayrılmıştır. Birinci gruba sadece TZF, ikinci gruba TZF ve DDKG birlikte, üçüncü gruba TZF ve kollajen membran, dördüncü gruba ise DDKG ve kollajen membran uygulanmıştır. TZF ile tedavi edilen bölgelerde TZF ile tedavi edilmemiş bölgelere göre iyileşmenin daha hızlı olduğunu ve 3. haftada soketlerin tamamen kemikle dolduğunu bildirmişlerdir. TZF ve TZF ile birlikte kollajen membran uygulanan grup arasında kemik iyileşmesi açısından fark görülmediği belirtilmiştir. Bu da bize TZF varlığının membran kullanım gerekliliğini ortadan kaldırdığını düşündürmektedir. Bizim araştırmamızda, TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defektlerin yalnız otojen greft uygulanan defektlere göre kemik iyileşmesi bakımından daha olumlu sonuçlar vermesi bu düşüncüyü destekler niteliktedir.

TZF, özellikle çekim soketlerinde tek başına veya bir dolgu materyali ile beraber kullanılabilir (Dohan et al., 2006b). TZF, çekim soketlerinde dolgu materyali olarak kullanıldığında, neovaskülarizasyon için stabil kan pıhtısı olarak görev alır ve doku rekonstrüksiyonunu hızlandırır (Choukroun et al., 2006a). Literatürde TZF'in greft materyali olarak kullanımını değerlendiren çalışmalar mevcuttur. Diss et al. (2008), osteotomla yapılan sinus elevasyonu ve ardından yapılan implant uygulamalarından sonra TZF'i tek başına greft materyali olarak uygulamışlar ve apikal kemik seviyesindeki değişiklikleri radyografik olarak incelemişlerdir. Elde edilen sınırlı kemik yüksekliğine rağmen kemiğin, iyileşmenin 2 ve 3. ayında abutment sıkıştırılması sırasında uygulanan 25 Ncm'lik tork kuvvetine yeterli direnci gösterdiğini belirtmişlerdir. Sinüs elevasyonu ile elde edilen kemik kazancı ise ortalama 3,2 mm olarak bulunmuştur. Zhao et al. (2011), TZF'in diş çekim soketine yerleştirildiğinde kemik densitesini arttırdığını ve implant yerleştirilmesi esnasında soketin tamamen kemik ile dolduğunu bildirmişlerdir.

Choukroun et al. (2006a), çekim bölgelerinin korunması amacıyla elde ettikleri TZF'i, TZF kutu (PRF Box, Process Ltd., Nice, France) içerisine yerleştirerek kalın küçük parçalar haline getirerek çekim kavitelerine kolaylıkla yerleştirilebildiğini göstermişlerdir. Alhijazi et al. (2011) yaptıkları başka bir çalışmada ise diş çekiminden sonra elde edilen TZF'e kompresyon uygulamadan direkt operasyon sahasına uygulayarak soket koruma işlemi uygulamışlardır. İşlemden 4 hafta sonra yapılan kontrollerde TZF uygulanan tarafta daha hızlı kemik iyileşmesi olduğunu belirtmişlerdir. Choukroun et al. (2006a), maksilladaki kist boşluğuna TZF uygulayarak 2 ay sonra defektin yoğun, kortikal kemik ile dolduğunu yine diğer vakalarında çekim soketine TZF uygulayarak operasyon sonrasında ağrı, kuruluk ve pürülan komplikasyon oluşmadığını bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise, TZF'in daha hızlı iyileşme sağlaması nedeniyle soket korumada başarılı olduğu rapor edilmiştir (Simon et al., 2009). Bununla birlikte Gürbüz et al. (2010), çift taraflı yumuşak doku retansiyonlu yirmi yaş dişlerini aynı seans opere ederek tek taraftaki çekim boşluğuna TZF uygulamış diğer tarafı ise boş bırakmışlardır. 4 hafta sonra sintigrafik değerlendirme sonuçları karşılaştırıldığında TZF yerleştirilen tarafta daha az ağrı oluştuğunu ancak kemik iyileşmesinde belirgin farklılık görülmediğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmalarda TZF'in greft materyali olarak uygulandığı durumlarda kemik iyileşmesine olumlu yönde etki ettiği gösterilmekle birlikte TZF'in tek başına uygulandığı vakalarda kesin bir yargıya ulaşılamamıştır. Phurisat (2008) yapmış olduğu deneysel çalışmada tavşan kalvaryumlarına 10x10 mm boyutlarında ikişer adet kritik boyutta defekt oluşturmuştur. 8 hafta sonunda tüm hayvanları sakrifiye etmiştir. Denekleri 4 gruba ayırmıştır. Birinci gruba otojen kemik grefti ve boş defekt, ikinci gruba otojen kemik grefti ile birlikte deproteinize sığır kemiği kombinasyonu ve yalnız deproteinize sığır kemiği üçüncü gruba TZF ile birlikte otojen kemik grefti ve yalnız TZF, dördüncü gruba ise TZF ve otojen kemik grefti ile deproteinize sığır kemiği kombinasyonu ve TZF ile birlikte deproteinize sığır kemiği kombinasyonu uygulamıştır. Tüm defektleri kemik iyileşmesi bakımından birbirleriyle karşılaştırmıştır. 8. hafta sonunda, TZF uygulanan defektlerde boş bırakılan defektler ile otojen greft uygulanan defektlere göre kemik oluşumunun daha fazla olduğunu bildirmiştir. Yalnız TZF uygulanan ve boş bırakılan gruplar

arasında yeni kemik oluşumu bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadığını ancak TZF grubunda kemik oluşum alanının sayısal olarak boş defekt grubuna göre oldukça yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

TZF'in dolgu maddesi olarak görev alacağı düşünülerek çalışmamızda TZF'in matriks formu (greft materyali) kullanılmıştır. Sadece TZF uygulanan defektler ile sadece otojen greft uygulanan defektler ve sadece TZF uygulanan defektler ile boş bırakılan defektlerin karşılaştırılması yapılmıştır. 1.ay gruplarında sadece TZF uygulanan defektlerde osteoblast sayıları ve kemik oluşum alanlarının boş bırakılan defektlere ve sadece otojen greft uygulanan defektlere göre daha fazla olduğu görülmüştür. Bu defektler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. TZF ile ilgili yapılan hücre kültürü çalışmaları TZF'in osteoblastların proliferasyon ve farklılaşmasını hızlandırdığını göstermiştir. TZF'in bu özelliği ile kemik rejenerasyonuna katkı sağladığını belirtmişlerdir (Dohan et al., 2007, Dohan et al., 2009b, He et al., 2009, Gassling et al., 2009, Dohan et al., 2010). Chang et al. (2010), insan osteoblastları üzerinde yaptığı hücre kültürü çalışmasında TZF'in ekstraselüler sinyal düzenleyici protein kinaz (p-ERK) ekspresyonunu regule ederek osteoblast proliferasyonunu sağladığını ve TZF'in osteoprotegerin (OPG) salınımını artırıp osteoklastogenezi baskılayarak yeni kemik oluşumunu arttırdığını rapor etmiştir. Çalışmamızda boş defektlere ve sadece otojen greft uygulanan defektlere göre TZF uygulanan defektlerin osteoblast sayıları ve yeni kemik oluşum alanlarının belirgin şekilde farklı olduğu göz önüne alındığında bahsedilen çalışmaların bulguları ile uyumlu olarak TZF'in yeni kemik rejenerasyonuna yardımcı olduğu sonucuna varılabilir. 2. ay sonunda elde edilen osteoblast sayıları ve kemik oluşum alanı değerlerinin ise 1. ay değerlerine çok yakın olduğu görülmüştür. 1. ay ve 2. ay arasında TZF uygulanan ve boş bırakılan defektler ile TZF uygulanan ve sadece otojen kemik grefti uygulanan defektlerde kemik iyileşmesi yönünden anlamlı farklılık bulunmamıştır. Bu bulgu TZF'in erken dönem yeni kemik oluşumunu arttırdığını 1. aydan sonra ise herhangi bir değişiklik yaratmadığını göstermektedir. TZF kullanımının erken dönem kemik iyileşmesi üzerindeki etkisi, trombositlerin büyüme faktörü salınımının, angiogenezin pik yaptığı ve kemik yapımının başladığı ilk 7 gün boyunca artarak 14. günde pik yapması ve 28 gün boyunca devam etmesi ile açıklanabilir. Çalışmamızın bulguları Choukroun et al. (2006b), Simon et al.

(2009), Zhao et al. (2011)'in TZF uygulamasının erken dönem yeni kemik oluşumunu arttırdığını gösteren bulgularıyla da paralellik göstermektedir. 1. aydan sonra kemik oluşumunda anlamlı bir fark yaratmaması ise Phurisat (2008)'in çalışma bulgularını desteklemektedir.

TZF, farklı greft materyalleri ile kombine olarak kullanılabilir. Greft materyalleri ile birlikte kullanıldığında partiküller arasında biyolojik bir yapıştırıcı görevi görerek kemik rejenerasyonunu artırır (Dohan et. al, 2011). TZF'in birlikte uygulandığı greft materyalinin integrasyonunu ve maturasyonunu arttırdığına dair görüşler de mevcuttur (Choukroun et al., 2006b, Dohan et al., 2006c, Toffler et al., 2009, Sohn 2010). Literatürde TZF'in birçok greft materyali ile birlikte kullanımı rapor edilmiştir. Lee et al. (2010)'in 10 Yeni Zelanda tavşanı üzerinde yaptıkları çalışmada, deneklerin parietal kemiklerine 9 mm çapında yuvarlak şekilli defektler oluşturulmuştur. Sağ tarafa TZF ve ipek protein uygulanmış, sol taraf ise boş bırakılmıştır. Yapılan histolojik inceleme sonucu TZF ve ipek proteinin birlikte uygulandığı tarafta daha hızlı kemik iyileşmesi olduğunu bildirmişlerdir. Buna benzer olarak Jang et al. (2010) yine 10 Yeni Zelanda tavşanı üzerinde yaptıkları çalışmada, deneklerin tibilarına 7 mm'lik trefin frezle 2 adet monokortikal defekt oluşturmuşlar ve defekt boyutlarından daha dar olan 3 mm çapında 10 mm uzunluğunda 2 adet implant yerleştirmişlerdir. Deney grubundaki implant çevresinde bulunan defektlere TZF ve ipek protein birlikte uygulanmış, kontrol grubu defektleri ise boş bırakılmıştır. 8 hafta sonra denekler sakrifiye edilerek histomorfometrik analizleri yapılmıştır. Deney grubunun yeni kemik formasyonunun, kontrol grubuna göre daha yüksek değerler gösterdiğini belirtmişlerdir. TZF konusunda birçok araştırması olan Choukroun et al. (2006b), sinüs tabanı elevasyonunda kemik rejenerasyonunu arttırmak için TZF'in dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftiyle (DKKG) beraber kullanılma potansiyelini araştırmışlar ve 8. ayın sonunda TZF ve DKKG kombinasyonunun kemik rejenerasyonunu arttırdığını göstermişlerdir.

Bu çalışmalar göz önünde bulundurulmakla beraber, otojen greftlerin altın standart olması ve literatürde TZF ile kombine kullanımına dair çok az çalışma bulunması, erken ve geç iyileşme dönemini birlikte değerlendiren başka bir çalışmaya rastlanmaması nedeniyle araştırmamızda diğer greft materyalleri yerine otojen kemik grefti kullanımı tercih edilmiştir. Çalışmamızda 1. ay grubu ve 2. ay

grubunun her ikisinde de TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defektlerin boş bırakılan defektlere göre osteoblast sayıları ve kemik oluşum alanları değerlendirildiğinde TZF ile birlikte otojen greft uygulanan defektlerin yeni kemik oluşumunu arttırdığı sonucuna varılmıştır. Lee et al. (2007)'in, 6 köpek üzerinde çift taraflı olarak sinus membranı elevasyonu yaptıkları çalışmanın sonuçları, bu bulgularımızı desteklemektedir. Bu çalışmada sağ sinus boşluğuna TZF ve otojen kemik grefti karıştırılarak uygulanırken sol sinus boşluğuna ise sadece otojen kemik grefti uygulanmıştır. Aynı zamanda 2 implant yerleştirilmiştir. TZF ile otojen kemik greftinin kombine kullanıldığı tarafta kemik implant yüzeyinin % 40,5, kemik yüksekliğinin ortalama 12,2 mm sadece otojen kemik grefti uygulanan tarafta ise kemik implant yüzeyinin % 32,3, kemik yüksekliğinin ortalama 10,7 mm olduğunu belirtmişlerdir. TZF'in otojen kemik ile kombine olarak kullanımı üzerine yapılan bu 2 çalışma incelendiğinde, bulgularımızla uyumlu olarak TZF'in otojen kemiğin rejeneratif potansiyelini arttırdığını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda, TZF'in otojen kemik greftleri ile birlikte kemik iyileşmesi üzerine etkisi sadece TZF uygulanan defektler ile osteoblast sayısı ve yeni kemik alanı oluşumu açısından karşılaştırılmıştır. 1. ay grubu ve 2. ay grubunun her ikisinde de, osteoblast sayısı ve yeni kemik alanı oluşumu arasında TZF ve otojen greft birlikte uygulanan defektler lehinde sayısal olarak belirgin farklılık görülmekle birlikte bu fark, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bulgularımız ile uyumlu olarak Phurisat (2008), 8. haftada TZF ve otojen grefti birlikte uyguladığı grupta, yalnız TZF uyguladığı gruba göre histomorfometrik olarak daha fazla kemik oluştuğunu, ancak 2 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadığını rapor etmiştir. TZF ile otojen kemik grefti kombinasyonunun kemik iyileşmesinde ve greftin remodeling sürecinde etkili olabileceğini belirtmiştir. Phurisat (2008)'in bulgularına ilaveten, bizim bulgularımızda 1. ay grubunda sayısal olarak farklılık tespit edilmiş ancak bu fark anlamlı bulunmamıştır. Bu sonuçlara göre klinik uygulamalarda, osteokondüktif, osteoindüktif ve osteojenik özelliklerinden dolayı "altın standart" olarak kabul edilen otojen greft ile erken dönem iyileşmesinde etkili olan TZF'in birlikte kullanımı ile ilgili farklı zaman aralıklarını da değerlendiren ileri çalışmaların yapılmasının yararlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda farklı zaman aralıklarının kemik iyileşmesine olan etkisini değerlendirmek amacıyla 1. ay grubundaki tüm defektler ile 2. ay grubundaki tüm eşdeğer defektlerin karşılaştırılması yapılmıştır. TZF uygulanan eşdeğer defektlerin tümünde 1. ay ve 2. ay bulguları arasında osteoblast sayıları ve kemik oluşum alanları bakımından anlamlı farklılık görülmemiştir. Bu durum, TZF'in erken dönem kemik iyileşmesini arttırdığı bulgusunu desteklemektedir. Ancak osteoklast sayıları incelendiğinde tüm defekt gruplarında osteoklast sayılarının 1. ay grubunda 2. ay grubuna göre sayısal olarak daha fazla olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir. 1. ay grubunda osteoklastik aktivitenin 2. ay grubuna göre daha fazla olması osteoklastların ömrünün ve osteoklastik aktivitenin 2 hafta olması ile açıklanabilir. Osteoblastlar ve osteoklastlar birbirlerine zıt mekanizmalar ile çalışmaktadırlar. Kemik yapımı esnasında osteoblast aktivasyonunda artma, osteoklastik aktivitede azalma olmaktadır (Hall and Miyake 1995). Dolayısıyla tüm alt gruplarda osteoklast sayılarının, osteoblast sayılarına göre tam tersi sayısal bulgular vermesi bulgularımızın güvenilirliğini ve doğruluğunu kanıtlar niteliktedir. Bulgularımız doğrultusunda 1. ay ve 2. ay grubunda iyileşme potansiyellerinin aynı olması, uzun dönem değerlendirmeler söz konusu olduğunda avantaj sağlamasa da özellikle klinik çalışmalar düşünüldüğünde erken dönemde hızlı kemik oluşumuna neden olarak pozitif bir durum yaratabilir.

Kemik grefti uygulanan sahanın erken olgunluğa ulaşması klinisyenin daha erken bir zamanda implant uygulamasını ve hastanın estetik ve fonksiyonel ihtiyaçlarını karşılayacak sabit ve hareketli protezlerine daha erken bir zamanda kavuşmasını sağlayacaktır. Kist ve tümör gibi patolojilerin rezeksiyonu sonrası oluşan defektlerin rekonstrüksiyonu ile simetri ve fasiyal estetiğin erken dönemde elde edilmesi için daha az bekleme süreci ve fonksiyonların erken kazanılması mümkün olabilecektir.

TZF'in kemik iyileşmesi üzerine olan etkisinin değerlendirilmesiyle, hekim için eldesi ve uygulanabilirliği kolay, hasta için ekonomik, erişilebilirliği rahat ve oral cerrahide kullanımı için otolog özellikleriyle kemik dokuyu ilgilendiren her türlü girişimde tedavi planı için yol gösterici, sık tercih edilecek bir yöntem olacağı ve TZF ile ilgili klinik ve deneysel ileri çalışmaların yoğunluk kazanacağını düşünmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Yeni Zelanda tavşanlarından; hayati tehlike oluşmadan TZF elde etmek için 6-8 ml kan alınmasının uygun olduğu görülmüştür.
2. Tavşan tibialarından otojen kemik elde etmek ve kemik defekti oluşturmak için 3,3 mm çapında trefin frez ile açılan kaviteler arasında 3 mm'den fazla mesafe bırakmanın kırık oluşma riskini azaltacağı sonucuna varılmıştır.
3. TZF'in kolay uygulanabilen, otojen kaynaklı ve ekonomik bir yöntem olduğu saptanmıştır.
4. TZF hazırlanması sırasında cam partikül içeren plastik tüplerin daha kolay manüplasyona izin verdiğini belirtmek mümkündür.
5. TZF kullanımını alıcı ya da verici sahada enfeksiyon riski oluşturmadan postoperatif ödem ve enfeksiyonun kontrol altında tutulmasına destek olabilir.
6. TZF'in birlikte uygulandığı partikül otojen kemik greftinin rejeneratif potansiyelini arttırdığı sonucuna varılabilir.
7. Partikül otojen greft uygulanması planlanan durumlarda, partikülleri stabilize etmek amacıyla otojen greft ile TZF'in birlikte kullanılmasının kemik iyileşmesinde olumlu etkilerinin olduğu saptanmıştır.
8. Osteoblastları indüklemeye kapasitesiyle TZF, yalnız başına kullanıldığında da yeni kemik rejenerasyonunu arttırmaya yardımcı olabilir.
9. TZF'in hemostatik etkisinin de stabilizasyon açısından önemli olduğu, kemik içi defektlerden gelen kanamanın daha kısa sürede pıhtılaşmasına olanak sağlayarak, greft partiküllerinin ortamdaki uzaklaşmasını engelleyebileceği ve defekt içerisinde sabit kalmasına yardımcı olabileceği sonucuna varılabilir.
10. TZF kullanımının, erken dönem yeni kemik oluşum miktarını artırarak kemik dokunun üzerinde yapılacak işlemlere daha erken dönemde hazır hale gelebileceği ve ileri cerrahi uygulamalar için bekleme süresini kısaltabileceği sonucuna varılmıştır.
11. TZF uygulamasının, kemik defekti onarımı, yetersiz alveoler kemik miktarının artırılması ve implant cerrahisi gibi maksillofasiyal cerrahi

pratiğinde rutin yapılan işlemlerdeki etkinliğinin araştırılması için farklı zaman aralıklarında ileri deneysel ve klinik çalışmalar yapılması önerilebilir.

ÖZET

KEMİK DEFEKTLERİNİN İYİLEŞMESİNDE TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN (TZF)'İN ETKİLERİNİN DENEYSEL OLARAK ARAŞTIRILMASI; HİSTOMORFOMETRİK DEĞERLENDİRME

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, bireyin kendi kanından otojen olarak hazırlanan TZF'in, içerdiği çeşitli büyüme faktörleri nedeniyle, yara ve kemik iyileşmesini hızlandırma potansiyeline sahip olabileceği belirtilmekte ve günümüzde hem tıp hem de diş hekimliği uygulamalarında TZF kullanımında belirgin bir artış görülmektedir. TZF'in sınırlı sayıda klinik uygulamalarının yanı sıra mevcut çalışmaların daha çok deneysel ve uygun TZF/greft kombinasyonlarını araştırmaya yönelik olduğu görülmektedir. Deneysel çalışmalarda TZF/partikül otojen greft kombinasyonunun kullanıldığı, farklı zaman aralıklarını değerlendiren kontrollü bir deneysel araştırmaya literatür bilgilerimiz dahilinde rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı, tavşanlarda oluşturulan defektlere TZF ve TZF ile partikül otojen greft kombinasyonu uygulamasının farklı zaman aralıklarında kemik iyileşmesi üzerine olan etkisini araştırmaktır.

Çalışmamızda 24 adet iskeletsel gelişimini tamamlamış Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Hayvanlar rastgele 2 gruba ayrıldı. Her hayvanın sağ ve sol tibia kemiğine ikişer adet 3,3 mm'lik defektler oluşturuldu. Defektlere partikül haline getirilmiş otojen kemik grefti, TZF ve otojen kemik grefti kombinasyonu ve sadece TZF uygulandı. Bir defekt ise kontrol grubu olarak boş bırakıldı. 1. gruptaki tüm deney hayvanları 30 gün, 2. gruptaki tüm deney hayvanları ise 60 gün sonra sakrifiye edildi. Hayvanlardan elde edilen örnekler histomorfometrik olarak incelendi. Verilerin istatistiksel analizleri yapıldı.

Histomorfometrik analizler sonucunda, TZF'in hem yalnız başına kullanıldığında hem de otojen greft ile birlikte uygulandığında defektlerde kemik iyileşmesini hızlandırdığı gözlemlendi.

Bu çalışmanın sonuçları, TZF'in erken dönem yeni kemik oluşumu miktarını arttırarak kemik iyileşmesine olumlu etki ettiğini göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Kemik İyileşmesi, Otojen Greft, Trombositten Zengin Fibrin, Büyüme Faktörleri, Histomorfometri.

ABSTRACT

EXPERIMENTAL INVESTIGATION ON EFFECTS OF PLATELET RICH FIBRIN (PRF) FOR BONE DEFECTS HEALING; HISTOMORPHOMETRICAL EVALUATION

In recent studies, it is pointed out that “Platelet-rich fibrin (PRF)”, which is derived autogenously from the own blood of the individuals might have the potential to increase regeneration and accelerate the healing of the wound, due to the various growing factors it consists. And a significant increase recorded in the number of researches on clinical evaluation of PRF both in medicine and dentistry is noteworthy. In addition to limited number of clinical studies, it is observed that current studies are mostly experimental and focused on the researches of appropriate PRF/graft combination. In experimental studies, we haven't find any controlled experimental study in literature about PRF and particulate autogenous graft combination in different time intervals. Therefore, the aim of our study is to evaluate, the efficiency of PRF and PRF/autogenous graft combination on bone healing in different time intervals.

In this study, 24 skeletally mature New Zealand rabbits were used. Animals were divided randomly into 2 groups. 3,3 mm two bone defects were created on the right and left tibia for each. Particulate autogenous bone graft only, only PRF and combination of PRF/autogenous bone graft was performed to defects. One defect was left empty as a control group. The animals in the first experimental group were sacrificed after 30 days. The animals in the second experimental group were sacrificed after 60 days. Histomorphometrical and statistical analysis was performed.

Histomorphometrical analyzes showed that either PRF used alone or used in conjunction with autogenous bone graft, PRF accelerate the healing of bone defects.

The results of this study verified that PRF increase new bone formation and has a positive effect on early bone healing.

Key Words: Bone Healing, Autogenous Graft, Platelet Rich Fibrin, Growth Factors, Histomorphometry

KAYNAKLAR

Aghaloo TL, Moy PK, Freymiler EG. Evaluation of platelet-rich plasma in combination with anorganic bovine bone in the rabbit cranium: A Pilot Study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004; 19(1): 59-65.

Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A Pilot Study. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; 60 (10): 1176-1181.

Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG. Evaluation of platelet rich plasma in combination with freeze dried bone in the rabbit cranium: A pilot study. *Clin Oral Imp Res* 2005; 16: 250-257.

Alfaro FH, Pages CM, Garcia E. Palatal core graft for alveolar reconstruction: a new donor site. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005; 20: 777-783.

Alhijazi A, Mohammed S. Evaluation of the effect of platelet rich fibrin matrix on bone healing. *J Bagh College Dentistry* 2011; 23(4): 65-70.

Altunatmaz K. Kırık iyileşmesinin biyolojisi ve biyolojik osteosentez. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg* 2004; 30: 141-147.

Amler MH. Osteogenic potential of non vital and synthetic implant materials. *J Periodontol* 1987; 58: 758-763.

Anitua E, Sanchez M, Orive G, Andia I. The potential impact of the preparation rich in growth factors (PRGF) in different medical fields. *Biomaterials* 2007; 28(31): 4551-4560.

Ataoglu T, Gürsel M. *Periodontoloji* Konya: Bahçivanlar Yayınevi, 1999: 9-12.

Aukhil I. Biology of wound healing. *Periodontology* 2000; 22: 44-50.

Axhausen W. The osteogenetic phases of regeneration of bone; A historial and experimental study. *J Bone Joint Surg Am* 1956; 38(3): 593-600.

Bancroft JD, Stevens A: *Theory and Practice of Histological Techniques*. 4th ed. Newyork: Churchill Livingstone, 1996: 309-339.

Baron R. *Anotomy and ultrastructure of bone: Primer on the Metabolic Bone Disease and Disorder of Mineral Metabolism* 4th Ed., Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 1999.

Bauer TW, Muschler GF. Bone graft materials. *Clinical Orthopedics and Related Research* 2000; 371: 10-27.

Bensaid W, Triffitt JT, Blanchat C, Oudina K, Sedel L, Petite H. A biodegradable fibrin scaffold for mesenchymal stem cell transplantation. *Biomaterials* 2003; 24: 2497-2502.

Boo JS, Yamada Y, Okazaki Y, Hibino Y, Okada K, Hata K, et al. Tissue-engineered bone using mesenchymal stem cells and a biodegradable scaffold. *J Craniofac Surg* 2002; 13: 231-239.

Boden SD: Bioactive factors for the bone tissue engineering. *Clinical Orthopedics and Related Research* 1999; 367: 84-94.

Brown LF, Lanir N, McDonagh J, Tognazzi K, Dvorak AM, Dvorak HF. Fibroblast migration in fibrin gel matrices. *Am J Pathol* 1993; 142: 273-283.

Butterfield KJ, Bennett J, Gronowicz G, Adams D. Effect of platelet rich plasma with autogenous bone graft for maxillary sinus augmentation in a rabbit model. *J Oral Maxillofac Surg* 2005; 63: 370-376.

Cacchioli A, Ravanetti F, Soliani L, Borghetti P. Preliminary study on the mineral apposition rate in distal femoral epiphysis of new zealand white rabbit at skeletal maturity. *Anatomia, Histologia, Embryologia* 2012; 41(3): 163-169.

Carlson NE, Roach RB. Platelet-rich plasma. Clinical applications in dentistry. *Dentistry & Medicine* 2002; 133: 1383-1386.

Chang C, Tsai CH, Chang YC. Platelet-rich fibrin modulates the expression of extracellular signal-regulated protein kinase and osteoprotegerin in human osteoblasts. *Journal Of Biomedical Materials Research* 2010; 95(1): 327-331.

Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. Une opportunit en parodontologie: le PRF. *Implantodontie* 2001; 42: 55-62.

Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006a; 101(3): 56-60.

Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part V:

histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006b;101(3): 299-303.

Cila A. Kemik Greftleri ve Kemik Greftlerinin Yerini Tutabilecek Maddeler. *TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi* 2004.

Cireli E. *Genel Histoloji Hücre Ve Dokular* 6. Baskı, İzmir: Ege Üniversitesi, 1999.

Constantino PD, Freidman CD. Soft tissue augmentation and replacement in the head and neck. *Otolaryngol Clin North Am* 1994; 27: 1-12.

Cowin SC. *Bone Mechanics Handbook* 2nd Ed., Boca, Raton, London, New York, Washington: CRC Press, 2001; 1: 1-68.

Çetin M, Çapan Y. bFGF (Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü) ve Formülasyonlarında Yeni Yaklaşımlar. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi* 2004; 24(2): 107-124.

Dasgupta B, Corkill M, Kirkham B, et al. Serial estimation of IL-6 as a measure of systemic disease in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1992; 19: 22-25.

Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) membranes in periodontal surgery: understanding the biomaterial or believing into the magic of growth factors? *J Periodontol* 2009a; 80(11): 1694-1697.

Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Clinical evaluation of a modified coronally advanced flap alone or in combination with a platelet-rich fibrin membrane for the treatment of adjacent multiple gingival recessions: A 6-month study. *J Periodontol.* 2009b; 80(11): 1694-1697.

Del Corso M, Toffler M, Dohan DM. Use of autologous leukocyte and platelet-rich fibrin (L-PRF) membrane in post avulsion sites: An overview of Choukroun's PRF. *The Journal of Implants and Advanced Clinical Dentistry* 2010; 1(9): 27-36.

Demircan S, İşler SC, Cakarar S, Yuzbasioglu E, Soluk M, Cebi Z et al. The effects of Ankaferd Blood Stopper on short term bone tissue healing: An experimental study on mice [in Turkish]. 8th Oral Surgery Congress, 24-29th May 2008, Bodrum, Muğla, Turkey

Develioğlu H, Koptagel E, Gedik R, Dupoirieux L. The effect of a biphasic ceramic on calvarial bone regeneration in rats. *Journal of Oral Implantology* 2005; 31(6): 309-312.

Diss A, Dohan DM, Mouhyi J, Mahler P. Osteotome sinus floor elevation using Choukroun's platelet-rich fibrin as grafting material: A 1-year prospective pilot study with microthreaded implants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008; 105(5): 572-579.

Dodde R, Yavuzer R, Bier UC, Alkadri A, Jackson IT. Spontaneous bone healing in the rabbit. *J Craniofac Surg* 2000; 11: 346-349.

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 Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006a; 101(3): 37-44.

Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006b; 101(3): 45-50.

Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006c; 101(3): 51-55.

Dohan DM, Choukroun J. PRP, cPRP, PRF, PRG, PRGF, FC... How to find your way in the jungle of platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006d; 103: 305-306.

Dohan DM, Del Corso M, Charrier JB. Cytotoxicity analyses of Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) on a wide range of human cells: The answer to a commercial controversy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 103: 587-593.

Dohan DM, Peppo GM, Doglioli P, Sammartino G. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): A gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates. *Technologies Growth Factors* 2009a; 27(1): 63-69.

Dohan Ehrenfest DM, Diss A, Odin G, Doglioli P, Hippolyte MP, Charrier JB. In vitro effects of Choukroun's PRF (platelet-rich fibrin) on human gingival fibroblasts, dermal prekeratinocytes, preadipocytes and maxillofacial osteoblasts in

primary cultures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009b; 108(3): 341-352.

Dohan DM, Doglioli P, Peppo GM, Del Corso M, Charrier JB. Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) stimulates in vitro proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose-dependent way. *Archives of Oral Biology* 2010; 55(3): 185-194.

Dohan DM, Del Corso M, Diss A, Mouhyi J, Charrier JB. Three-dimensional architecture and cell composition of a choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane. *Annals of Maxillofacial Surgery* 2011; 1: 53-57.

Dörtbudak O, Bernhart RHT, Mailath G. Inlay autograft of intramembranous bone for lateral alveolar ridge augmentation: A new surgical technique. *Journal of Oral Rehabilitation* 2002; 29: 835-841.

Dvorak HF, Harvey VS, Estrella P, Brown LF, McDonagh J, Dvorak AM. Fibrin containing gels induce angiogenesis. Implications for tumor stroma generation and wound healing. *Lab Invest* 1987; 57: 673-686.

Dziedzic-Goclawska A, Emerich J, Grzesik W, Stachowicz W, Michalik J, Ostrowski K. Differences in the kinetics of the mineralization process in endochondral and intramembranous osteogenesis in human fetal development. *J Bone Miner Res* 1988; 3: 533-539.

El-Sharkawy H, Kantarci A, Deady J, Hasturk H, Liu H, Alshahat M, Van Dyke TE. Platelet-rich plasma: Growth factors and pro and antiinflammatory properties. *J Periodontol* 2007; 78(4): 661- 669.

Erkoçak A. *Genel Histoloji* Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, 1975.

Everts PA, Van Zundert A, Schonberger JP, Devilee RJ, Knappe JT. What do we use: Platelet-rich plasma or platelet-leukocyte gel? *J Biomed Mater Res* 2008; 85(4): 1135-1136.

Felice P, Lezzi G, Giuseppe L, Piattelli A, Marchetti C. Reconstruction of atrophied posterior mandible with inlay technique and mandibular ramus block graft for implant prosthetic rehabilitation. *J Oral Maxillofac Surg* 2009; 67: 372-380.

Feng X, Clark RA, Galanakis D, Tonnesen MG. Fibrin and collagen differentially regulate human dermal microvascular endothelial cell integrins: stabilization of alpha/beta3 mRNA by fibrin. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 913-919.

Freihofer HPM. Autogenous bone and bovine bone mineral as grafting materials in maxillofacial surgery. *College of Dental Science, University of Nijmegen, The Netherlands* 2000.

Fuerst GM. Enhanced bone-to-implant contact by platelet-released growth factors in mandibular cortical bone: A histomorphometric study in minipigs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003; 18: 685-690.

Garg AK. *Bone Biology, Harvesting, Grafting For Dental Implants*. China: Quintessence Publishing, 2004.

Gassling VLW, Ail Y, Springer IN, Hubert N, Wiltfang J. Platelet-rich plasma and Platelet-rich fibrin in human cell culture. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 108: 48-55.

Gassling V, Hedderich J, Ail Y, Purcz N, Wiltfang J, Douglas T. Comparison of platelet rich fibrin and collagen as osteoblast-seeded scaffolds for bone tissue engineering applications. *Clin Oral Impl Res* 2011; xx: 1-9.

Gielkens P, Schortinghuis J, Jong J, Charlotte M, Van Leeuwen MB, Raghoobar GM, et al. A comparison of micro-CT, microradiography and histomorphometry in bone research. *Archives of Oral Biology* 2008; 53(6): 558-566.

Graham J. Common procedures in rabbits. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract* 2006; 9: 367-388.

Greiff J. Bone healing in rabbits after compression osteosynthesis: A comparative study between the radiological and histological findings. *Injury* 1979; 10: 257-267.

Guehenec LL, Goyenvalle E, Aguado E, Houchmand CE, Enkel B, Pilet P et al. Small animal models for testing macroporous ceramic bone substitutes. *J Biomed Mater Res Appl Biomater* 2005; 15: 69-78.

Guyton AC, Hall JE. *Tıbbi Fizyoloji* 11. Baskı, İstanbul: Nobel Basımevi, 2007.

Gürbüzer B, Pıkdöken L, Tunalı M, Urhan MD, Küçükodacı Z, Ercan F. Scintigraphic evaluation of osteoblastic activity in extraction sockets treated with platelet-rich fibrin. *Oral Maxillofac Surg* 2010; (68): 980-989.

Hall BK, Miyake T. Divide, accumulate, differentiate: cell condensation in skeletal development revisited. *Int J Dev Biol* 1995; 39: 881-893.

Hatakeyama M, Beletti ME, Barbosa DZ, Dechichi P. Radiographic and histomorphometric analysis of bone healing using autogenous graft associated with platelet rich plasma obtained by 2 different methods. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008; 105: 13-18.

He L, Lin Y, Hu X, Zhang Y, Wu H. A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 108(5): 707-713.

Hertig AT. Angiogenesis in the early human chorion and in the primary placenta of the macaque monkey. *Contrib Embryol* 1935; 25: 39-81.

Hsu C, Chang J. Clinical implications of growth factors in flexor tendon wound healing. *The Journal of Hand Surgery* 2004; 29(4): 551-563.

Ilankovan V, Stronczek M, Telfer M, Peterson LJ, Stassen LFA, 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): 434-439.

Italiano JE, Jr Richardson JL, Patel-Hett S, Battinelli E, Zaslavsky A, Short S, et al. Angiogenesis is regulated by a novel mechanism: Pro and antiangiogenic proteins are organized into separate platelet alpha granules and differentially released. *Blood* 2008; 111(3): 1227-1233.

İçten O, Günhan Ö, Mocan A, Celasun B. Effect of tricalciumphosphate on new bone formation: An experimental study in beagles. *J Nihon Univ Sch Dent* 1989; 31: 507-517.

Issi M. Laboratuvar hayvanlarında kan alma teknikleri *Bornova Vet Kont Araşt Enst Derg* 2008; 30(44): 43-48.

Jablanski S. *Illustrated Dictionary of Dentistry* W.B. Philadelphia: Saunders Company, 1982.

Jan AM, Sándor G, Iera D, Mhawi A, Peel S, Wayne Evans A et al. Hyperbaric oxygen results in an increase in rabbit calvarial critical sized defects. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontology* 2006; 101(2): 144-149.

Jang ES, Park JW, Kweon H, Lee KG, Kang SW, Baek DH, et al. Restoration of peri-implant defects in immediate implant installations by Choukroun platelet-rich

fibrin and silk fibroin powder combination graft. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010; 109: 831-836.

Jee WSS. Integrated Bone Tissue Physiology: Anatomy and Physiology. In: Cowin SC editor. *Bone Mechanics Handbook*. 2nd ed., Florida: CRC Press, 2001: 1-68.

Jensen OT. *The Sinus Bone Graft* Illinois: Quintessence books, 2000.

Jones AL. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 in fracture care. *J Orthop Trauma* 2005; 19: 23-25.

Jung RE, Schmoekel HG, Zwahlen R, Kokovic V, Hammerle CHF, Weber E. Platelet rich plasma and fibrin as delivery systems for recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Clin Oral Impl Res* 2005; 16: 676-682.

Junqueira, LC, Carneiro J, Kelley RO. *Temel Histoloji* 8. Baskı, İstanbul: Barış Kitabevi Ltd. Sti., 1998: 132-151.

Junqueira LC, Carneiro J. *Basic Histology* 10th ed., New York: McGraw-Hill, 2003: 144-146.

Junqueira LC, Carneiro J. *Temel Histoloji: Text & Atlas*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2009.

Kagel EM, Majeska RJ, Einhorn TA. Effects of diabetes and steroids on fracture healing. *Curr Opin Orthop* 1995; 6(5): 7- 13.

Kahraman H. Trombositten Zengin Plazma Kullanımının Monoblok İnyel Ototogreft İyileşmesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi. *Sağlık Bilimleri Enstitüsü* 2010. Isparta, Süleyman Demirel Üniversitesi (Prof.Dr. Şenol TÜZÜM).

Kanakamedala A, Ari G, Sudhakar U, Vijayalakshmi R, Ramakrishnan T, Emmadi P. Treatment of a furcation defect with a combination of platelet-rich fibrin (PRF) and bone graft-a case report. *ENDO (Lond Engl)* 2009; 3(2) :127-135.

Kawamura M, Urist MR. Human fibrin is a physiologic delivery system for bone morphogenetic protein. *Clin Orthop* 1988; 235: 302-310.

Kazura JW, Wenger JD, Salata RA, Budzynski AZ, Goldsmith GH. Modulation of polymorphonuclear leukocyte microbicidal activity and oxidative metabolism by fibrinogen degradation products D and E. *J Clin Invest* 1989; 83: 1916-1924.

Kekilli E, Yağmur C, Ertem K, Türkbilen B. Kemik greftlerinde nükleer tıp uygulamaları. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2005; 25: 261-279.

Khan SN, Tomin E, Lanr JM. Clinical applications of bone graft substitutes. *Orthop Clin North Am* 2000; 31: 389-396.

Kılıçoğlu SS. Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2002; 55: 143-150.

Kim BJ, Kwon TK, Baek HS, Hwang CH, Chung IK, Jeong JS. A comparative study of the effectiveness of sinus bone grafting with recombinant human bone morphogenetic protein 2-coated tricalcium phosphate and platelet-rich fibrin mixed tricalcium phosphate in rabbits. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2012; 113: 583-592.

Kostopoulos L, Karring T. Role of periosteum in the formation of jaw bone. An experiment in the rat. *J Clin Periodontol* 1995; 22: 247-254.

Kökden A, Türker M. Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan kemik greftleri ve biyomateryaller. *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 1999; 2: 2.

Ksander GA, Ogawa Y, Chu GH, McMullin H, Rosenblatt JS, McPherson JM. Exogenous transforming growth factor-beta 2 enhances connective tissue formation and wound strength in guinea pig dermal wounds healing by secondary intent. *Ann Surg* 1990; 211(3): 288-294.

Kutlu BK. Trombositten Zengin Plazma Emdirilmiş Kitosan Temelli Taşıyıcıdan PDGF, TGF- β ve IGF-1 Büyüme Faktörlerinin Salım Kinetiklerinin Saptanması ve Kitosan Taşıyıcı Jel ile Uygulanan Trombositten Zengin Plazmanın Periodontal Ligament Hücreleri ve Sementoblastlar Üzerindeki Etkilerinin Belirlenmesi: İn Vitro *Sağlık Bilimleri Enstitüsü* 2011. Ankara, Hacettepe Üniversitesi (Prof. Dr. Rahime M. NOHUTCU).

Landesberg R, Moses M, Karpatkin M. Risks of using platelet rich plasma gel. *J Oral Maxillofac Surg* 1998; 56: 1116-1117.

Lanir N, Ciano PS, Van de Water L, McDonagh J, Dvorak AM, Dvorak HF. Macrophage migration in fibrin gel matrices. II. Effects of clotting factor XIII, fibronectin, and glycosaminoglycan content on cell migration. *J Immunol* 1988; 140: 2340-2349.

Lee HY, Choi BH, Jung JH, Zhu SJ, Lee SH, Huh Y. Maxillary sinus floor augmentation using autogenous bone grafts and platelet enriched fibrin glue with simultaneous implant placement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 103(3): 329-333.

Lee EH, Kim JY, Kweon HY, Jo YY, Min SK, Park YW, et al. A combination graft of low-molecular-weight silk fibroin with Choukroun platelet-rich fibrin for rabbit calvarial defect. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010; 109: 33-38.

Lee JW, Kim SG, Kim JY, Lee YC, Choi JY, Dragos R et al. Restoration of a peri-implant defect by platelet-rich fibrin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2011; xx: 1-5.

Leisner S, Shahar R, Aizenberg I, Lichovsky D, Levin-Harrus T. The effect of short-duration, high-intensity electromagnetic pulses on fresh ulnar fractures in rats. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2002; 49: 33-37.

Lind M. Growth factors: possible new clinical tools. A review. *Acta Orthop Scand* 1996; 67(4): 407-417.

Lind M. Growth factor stimulation of bone healing. Effects on osteoblasts, osteomies, and implants fixation. *Acta Orthop Scand Suppl* 1998; 283: 2-37.

Loike JD, Sodeik B, Cao L, Leucona S, Weitz JI, Detmers PA. CD11c/CD18 on neutrophils recognizes a domain at the N terminus of the A alpha chain of fibrinogen. *Proc Natl Acad Sci* 1991; 88: 1044-1048.

Lucarelli E. Platelet-derived growth factors enhance proliferation of human stromal stem cells. *Biomaterials* 2003; 24: 3095-3100.

Lundgren AK, Sennerby L, Lundgren D. An experimental rabbit model for jaw-bone healing. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1997; 26(6): 461-464.

Lundquist R, Dziegiel MH, Agren MS. Bioactivity and stability of endogenous fibrogenic factors in platelet-rich fibrin. *Wound Repair Regen* 2008; 16: 356-363.

Lynch SE, Buser D, Hernandez RA. Effects of the platelet-derived growth factor/insulin-like growth factor-I combination on bone regeneration around titanium dental implants. Results of a pilot study in beagle dogs. *Journal of Periodontology* 1991; 62: 710-716.

Lynch SE. Tissue engineering: Applications in oral and maxillofacial surgery and periodontics. Hanover Park, IL: Quintessence Publishing, 2008.

Madhok R, Crilly A, Watson J. Serum IL-6 levels in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1993; 52: 232-234.

Martin P, Leibovich SJ. Inflammatory cells during wound repair: The good, the bad and the ugly. *Trends Cell Biol* 2005; 15(11): 599-607.

Marx RE, Kline SN, Johnson RP, Malinin TI, Mathews JG, Gambil V. The use of freeze-dried allogenic bone in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Surg* 1981; 39: 264-274.

Marx RE, Saunders T. Reconstruction and rehabilitation of cancer patients. In: Fonseca RJ Davis, WH. eds. *Reconstructive Preprosthetic Oral and Maxillofac Surg* Philadelphia: W.B. Saunders. 1986: 347-428.

Marx RE, Eichstaed R, Carlson ER, 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: 638-646.

Mathes SJ. Repair and Grafting of Bone. In *plastic Surgery 2nd ed.* Saunders Philadelphia: Elsevier, 2006: 4; 639-718.

Matsubara T, Suardita K, Ishii M, Sugiyama M, Igarashi A, Oda R et al. Alveolar bone marrow as a cell source for regenerative medicine: Differences between alveolar and iliac bone marrow stromal cells. *Journal of bone and mineral research* 2005; 20(3): 399-409.

McGuill MW, Rowan AN. Biological effects of blood loss: Implications for sampling volumes and techniques. *News* 1989; 31: 5-20.

Miranda SR, Filho HN, Padovan EM, Daniel A, Daniela R, Mariza N, et al. Use of platelet rich plasma under autogenous onlay bone grafts. *Clin Oral Impl Res* 2006; 17: 694-699.

Mire-Sluis AR, Thorpe R. Interleukin-4 proliferative signal transduction involves the activation of a tyrosine specific phosphatase and the dephosphorylation of an 80-kDa protein. *J Biol Chem* 1991; 266(27): 18113-18118.

Misch CE. *Contemporary Implant Dentistry* St. Louis: Mosby, 2003.

Mocan A, Kışınışı R. Non-rezorbe hidroksiapatitler ve klinik uygulaması. *Gazi Üniv Diş Hek Fak Derg* 1990; 7: 203-214.

Moghadam HG, Sándor GK, Holmes HH, Clokie CM. Histomorphometric evaluation of bone regeneration using allogenic and alloplastic bone substitutes. *J Oral Maxillofac Surg* 2004; 62(2): 202-213.

Moojen DJ, Everts PA, Schure RM, Overdevest EP, Van Zundert A, Knappe JT, et al. Antimicrobial activity of platelet-leukocyte gel against *Staphylococcus aureus*. *J Orthop Res* 2008; 26(3): 404-410.

Morton DB. Advances in refinement in animal experimentation over the past 25 years. *Altern Lab Anim* 1995; 23(6): 812-822.

Mosesson MW, Siebenlist KR, Meh DA. The structure and biological features of fibrinogen and fibrin. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 936: 11-30.

Nagata MJH, Melo LGN, Messoria MR, Bomfim SRM, 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: 775-783.

Nall MD, Richard E, Colvin P, Schultz G, Fein D, Cassisi NJ. Transforming growth factor- β 1 improves wound healing and random flap survival in normal and irradiated rats. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1996; 122(2): 171-177.

Nasr HF, Aichelmann-Reidy ME, Yukna RA. Bone and bone substitutes. *Periodontol* 1999; 19: 74-86.

Nehls V, Herrmann R. The configuration of fibrin clots determines capillary morphogenesis and endothelial cell migration. *Microvasc Res* 1996; 51: 347-364.

Newman MG. *Carranza's Clinical Periodontology* St. Louis: W.B. Saunders, 2002.

Niekisch R. Application possibilities of fibrin glue in dentistry and maxillofacial surgery. *Zahn Mund Kieferheilkd Zentralbl.* 1980; 68(6): 555-561.

Nielsen HJ, Werther K, Mynster T, Svendsen MN, Rosendahl S, Elley T, Skov F. Bacteria-induced release of white cell and platelet-derived vascular endothelial growth factor in vitro. *Vox Sang* 2001; 80(3): 170-178.

Nkenke E, Schultze F, Mosgau S, Martin TR, Frank K, Neukam FW. Morbidity of harvesting of chin grafts: A prospective study. *Clin Oral Impl Res* 2001; 12: 495-502.

Ohya M, Yamada Y, Ozawa R, Ito K, Takahashi M, Ueda M. Sinus floor elevation applied tissue engineered bone: Comparative study between mesenchymal

stem cells/platelet rich plasma (PRP) and autogenous bone with PRP complexes in rabbits. *Clin Oral Impl Res* 2005; 16: 622-629.

Oursler MJ. Osteoclast synthesis, secretion and activation of latent transforming growth factor- β . *J Bone Miner Res* 1994; 9: 443-452.

Öber A, İzzetoğlu GT. *Histoloji* 1. Baskı, Ankara: Nobel Basımevi, 2006.

Parfitt A. Bone forming cells in clinical conditions. In: *Hall B (ed) The Osteoblast and Osteocyte* UK: Telford Press, 1990: 351-429.

Petri III WH. Evaluation of antibiotic-supplemented bone allograft in a rabbit model. *J Oral Maxillofac Surg* 1991; 49: 392-396.

Phurisat K. Effect of Platelet Rich Fibrin on Composite Graft of Autogenous Bone and Deproteinized Bovine Bone in New Bone Formation in Rabbit Calvarial Defect. *Master of Science in Oral and Maxillofacial Surgery*. Prince of Songkla University 2008.

Pike MC, Synderman R. Structure and function of monocytes and macrophages. In: *Arthritis and allied conditions*. McCarty DJ, Koopman WJ (Eds). Philadelphia: Lea and Febiger, 1993: 347-375.

Rabie ABM, Chay SH, Wong AMK. Healing of autogenous bone in the presence and absence of homologous demineralized intramembranous bone. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 2000; 117: 288-297.

Raghoobar GM, Louwse C, Kalk WW, Vissink A. Morbidity of chin bone harvesting. *Clin Oral Impl Res* 2001;12: 503-507.

Raghoobar GM, Schortinghuis J, Liem RSB, Ruben JL, Wal JE, Vissink A. Does platelet rich plasma promote remodeling of autologous bone grafts used for augmentation of the maxillary sinus floor. *Clin Oral Impl Res* 2005; 16: 349-356.

Reed GL, Fitzgerald ML, Polgar J. Molecular mechanisms of platelet exocytosis: insights into the “secrete” life of thrombocytes. *Blood* 2000; 96: 3334-3342.

Rendu F, Brohard-Bohn B. The platelet release reaction granules' constituents, secretion and function. *Platelets* 2001; (12): 261-273.

Renvert S, Garrett S, Nilvéus R, Chamberlain AD, Egelberg J. Healing after treatment of periodontal intraosseous defects. Factors influencing the healing response. *J Clin Periodontol* 1985; 12(9): 707-715.

Revell PA. *Pathology of Bone*. Great Britain, Berlin Heidelberg: Springer Verlag, 1986; 30: 203-231.

Rivault AF, Toto PD, Levy S, Gargiulo AW. Autogenous bone grafts: osseous coagulum and osseous retrograde procedures in primates. *J Periodontol* 1971; 42(12): 787-796.

Rodella LF, Favero G, Boninsegna R, Buffoli B, Labanca M, Scari G. Growth factors, CD34 positive cells and fibrin network analysis in concentrated growth factors fraction. *Microsc Rec Tech* 2011; 74(8): 772-777.

Sahni A, Odrljin T, Francis CW. Binding of basic fibroblast growth factor to fibrinogen and fibrin. *J Biol Chem* 1998; 273: 7554-7559.

Sammartino G, Dohan DM, Carile F, Tia M, Bucci P. Prevention of hemorrhagic complications after dental extractions into open heart surgery patients under anticoagulant therapy: The use of leukocyte and platelet-rich fibrin. *Journal of Oral Implantology* 2011; 37(6): 681-690.

Sanchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI. Is Platelet rich plasma the perfect enhancement factor? A current review *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003; 18: 93-103.

Schenk RK. Bone Regeneration: Biological Basis. In: *Buser D, Dahlin C. Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry*. Hong Kong: Quintessence Publishing, 1994: 49-100.

Schmidmaier G, Wildemann B, Bail H, Lucke M, Fuchs T, Stemberger A, et al. Local application of growth factors (insulin-like growth factor-1 and transforming growth factor-beta 1) from a biodegradable poly (D, L-lactide) coating of osteosynthetic implants accelerates fracture healing in rats. *Bone* 2001; 28(4): 341-350.

Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clinical Orthopaedics & Related Research* 1986; 205: 299-308.

Simon BI, Zatcoff AL, Kong JJW, O'Connell SM. Clinical and histological comparison of extraction socket healing following the use of autologous platelet-rich fibrin matrix (prfm) to ridge preservation procedures employing demineralized freeze

dried bone allograft material and membrane. *The Open Dentistry Journal* 2009; 3: 92-99.

Simonpieri A, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. The relevance of Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part I: A new grafting protocol. *Implant Dent* 2009a; 18(2): 102-111.

Simonpieri A, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. The relevance of Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part II: implant surgery, prosthodontics and survival. *Implant Dent* 2009b; 18(3): 220-229.

Sohn DS, Moon JW, Moon YS, Park JS, Jung HS. The use of concentrated growth factor (CGF) for sinus augmentation. *J Oral Implant* 2009; 38: 25-38.

Soydan, N. *Genel Histoloji* İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi. İstanbul: İ.Ü. Basımevi ve Film Merkezi, 1992.

Stubbs D, Deakin M, Chapman-Sheath P, Bruce W, Debes J, Gillies RM, Walsh WR. In vivo evaluation of resorbable bone graft substitutes in a rabbit tibial defect model. *Biomaterials* 2004; 25: 5037-5044.

Şençimen M, Gülses A, Özkaynak Ö, Varol A, Okçu KM, Doğan N. Trombositten zengin fibrin membran kaplı otojen kemik grefti ile tek taraflı alveol yarığı onarımı. *Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 2009; 33(3): 37-42.

Tamimi FM, Torres J, Tresguerres I, Clemente C, López-Cabarcos E, Blanco LJ. Bone augmentation in rabbit calvariae: Comparative study between Bio-Oss and a novel beta-TCP/DCPD granulate. *J Clin Periodontol* 2006; 33(12): 922-928.

Toffler M, Toscano N, Holtzclaw D, Del Corso M, Dohan DM. Introducing platelet rich fibrin (prf) to the reconstructive surgery milieu. *The Journal of Implant & Advanced Clinical Dentistry* 2009; 1(6): 21-32.

Toffler, M. Osteotome-mediated sinus floor elevation using only platelet-rich fibrin: An early report on 110 patients. *Implant Dentistry* 2010; 19(5): 447-455.

Tokgöz G. Sitokinler. *Klinik immünoloji* 1997; 11: 85-100.

Tomin E, Beksaç B, Lane ML. Amerika Birleşik Devletlerinde ortopedik girişimlerinde otogreftlerin yerine kullanılan materyallere toplu bakış. Derleme. *Journal of Arthroplasty & Arthroscopic Surgery* 2002; 13: 114-129.

Tuskan C, Yalırık M. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Biyomateryaller. İstanbul: *İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Yayınları*, 2002: 17-52.

Tunalı M, Özdemir H, Pıkdöken L, Gürbüz B, Oruç S. Endodontik-periodontal kombine kemik içi defektlerin tedavisinde trombosit zengin fibrin membran ile otojen kemik greftinin kombine kullanımı. *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 2009; 12(1): 43-46.

Tunalı M, Özdemir H, Küçükodacı Z, Akman S, Fıratlı E. In vivo evaluation of titanium-prepared platelet-rich fibrin (T-PRF): A new platelet concentrate. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2012; XX: XX. doi./10.1016/j.bjoms.2012.08.003.

Uusitalo H, Rantakokko J, Ahonen M, Jämsä T, Tuukkanen J, KäHäri V, et al. A metaphyseal defect model of the femur for studies of murine bone healing. *Bone* 2001; 28(4): 423-429.

Van Zutphen LFM, Baumans V, Beynen AC. *Principles of Laboratory Animal Science*. Amsterdam: Elsevier, 1993.

Walsh WR, Sheath PJC, Cain S, Debes J, Bruce WJM, Svehla MJR, et al. A resorbable porous ceramic composite bone graft substitute in a rabbit metaphyseal defect model. *Journal of Orthopedic Research* 2003; 21: 655-661.

Waynforth HB, Flecknell PA. Anesthesia and postoperative care. In: Waynforth HB, Flecknell PA, editors. *Experimental and surgical technique in the rat*, 2nd ed. London: Academic Press, 1992: 382.

Weiler A, Förster C, Hunt P, Falk R, Jung T, Unterhauser NF, et al. The influence of locally applied platelet-derived growth factor-bb on free tendon graft remodeling after anterior cruciate ligament reconstruction. *The American Journal of Sports Medicine* 2004; 32(4): 888-891.

Whitman H, 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): 1294-1299.

Yazawa M, Ogata H, Kimura A, Nakajima T, Mori T, Watanabe N. Basic studies on the bone formation ability by platelet rich plasma in rabbits. *J Craniofac Surg* 2004; 15(3): 439-446.

Yıldız M. Kemik İyileşmesinde Trombositten Zengin Plazmanın Etkisinin Deneysel Olarak Değerlendirilmesi. *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Doktora Tezi 2006, Ankara, Ankara Üniversitesi (Prof. Dr. Asriye Mocan).

Zhang X, Naik A, Xie C, Reynolds D, Palmer J, Lin A et al. Periosteal stem cells are essential for bone revitalization and repair. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2005; 5: 360-362.

Zhao JH, Tsai CH, Chang YC. Clinical and histologic evaluations of healing in extraction socket filled with platelet-rich fibrin. *Journal of Dental Sciences* 2011; 6: 116-122.

Zumstein MA, Bielecki T, Dohan DM. The future of platelet concentrates in sports medicine: platelet-rich plasma, platelet-rich fibrin, and the impact of scaffolds and cells on the long-term delivery of growth factors. *Oper Tech Sports Med* 2011; 19: 190-197.

EKLER

EK 1: SDÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Kararı

S.D.Ü. SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ YÖNETİM KURULU KARARLARI

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR NO
13.09.2010	30	01

01- Enstitümüz Ağız Dış Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora öğrencisi (0740308002) Nesligül NİYAZ KÖKDERE'nin Araştırma Projesi teklifi ile ilgili Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 13.09.2010 tarih ve B.30.2.SDÜ.0.21.12.00/204-02/670 sayılı yazısı ve eklerinin görüşülmesi.

Enstitümüz Ağız Dış Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora öğrencisi (0740308002) Nesligül NİYAZ KÖKDERE'nin Araştırma Projesi teklifi ile ilgili Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 13.09.2010 tarih ve B.30.2.SDÜ.0.21.12.00/204-02/670 sayılı yazısı ve ekleri görüldü.

Adı geçen öğrencinin tez konusu ile aynı olan "Kemik Defektlerinin İyileşmesinde Trombositten Zengin Fibrin (TZF)'in Etkilerinin Deneysel Olarak Araştırılması; Histomorfometrik Değerlendirme" başlıklı proje uygun görülmüş olup, Araştırma Projeleri Yönetim Birimine teklifine,

Oy birliği ile karar verildi.

(İMZA) Prof. Dr.Serpil DEMİRCİ Enstitü Müdürü
(İMZA) Yrd.Doç.Dr.Duygu K.DOĞUÇ Enstitü Müdür Yardımcısı
(İMZA) Yrd.Doç.Dr.Elçin ESENLİK TOKLU Enstitü Müdür Yardımcısı

(İMZA) Doç.Dr.Ahmet KOYU Üye
(İMZA) Doç.Dr.Osman SULAK Üye
(İMZA) Yrd.Doç.Dr.Ferdi BAŞKURT Üye

Mustafa SAYGIN
Öğrenci Temsilcisi

(İMZA)
Raportör
Erol KAYA
Enstitü Sekreteri



EK 2: SDÜ DeneY Hayvanları Yerel Etik Kurulu Kararı

SÜLEYMAN DEMİREL ÜNV. HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
21.07.2010	23	01

SDÜ. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 21 TEMMUZ 2010 tarihinde Saat 15:00'de toplanarak aşağıdaki kararları almıştır,

01-Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi A.D. Doç. Dr. **Tımuçın BAYKUL** 'un yürütücüsü olduğu, Prof. Dr. Mustafa Cihat AVUNDUK, Nesligül Niyaz KÖKDERE'nin yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı, "**KEMİK DEFEKTLERİNİN İYİLEŞMESİNDE TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN (TZF)'İN ETKİLERİNİN DENEYSEL OLARAK ARAŞTIRILMASI; HİSTOMORFOMETRİK DEĞERLENDİRME**" konulu çalışma;

DeneY Hayvanının	Türü	Cinsiyeti	Sayısı	Yaşı
	Tavşan Yeni Zelanda	Erkek	24	6 – 8 Aylık

Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Mustafa NAZIROĞLU BAŞKAN	Yrd. Doç.Dr. Efkân UZ BAŞKAN YARDIMCISI	Prof.Dr. Fatih GÜLTEKİN ÜYE
KATILMADI		
Prof. Dr. Münire ÇAKIR ÜYE	Doç. Dr. Sema BİRCAN ÜYE	Yrd. Doç. Dr.Bilge ÇADIR ÜYE
		
Vet. Hekim İsmail UZ ÜYE	Ecz. Mustafa Serhan DERYAL ÜYE	Vet. Hekim İshak Suat ÖVEY ÜYE
	KATILMADI	KATILMADI

EK 3: SDÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Destekleme Protokolü

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİ
DESTEKLEME PROTOKOLÜ

Toplantı Tarihi : 15.09.2010
Toplantı No : 2010/04

Proje No : 2314-D-10
Proje Yöneticisi : Prof. Dr. Timuçin BAYKUL
Yöneticinin Adresi : Sağlık Bilimleri Enstitüsü , Ağız Dış Çene Hastalıkları ve Cerrahisi

Proje Başlığı : "Kemik Defektlerinin İyileşmesinde Trombositten Zengin Fibrin (TZF)'in Etkilerinin Deneysel Olarak Araştırılması; Histomorfometrik Değerlendirme "

Proje Bütçesi (TL) : 9.954,00
Proje süresi : Başlangıç Tarihi : 15.09.2010 Bitiş Tarihi: 15.03.2013 - 30 ay

İMZA
Prof.Dr.Mehmet KİTİŞ
B.A.P. Komisyon Başkanı

İMZA
Prof.Dr.YıldırımSONGÜR
Komisyon Üyesi

İMZA
Doç.Dr.İlker Hüseyin ÇARIKÇI
Sosyal Bilimler Enstitüsü Müdürü
Komisyon Üyesi

İMZA
Doç.Dr.Nevin AYTEMİZ
Komisyon Üyesi

İMZA
Prof.Dr.Mustafa KUŞÇU
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü
Komisyon Üyesi

İMZA
Doç.Dr.Ali M. BAYRAKTAROĞLU
Güzel Sanatlar Enstitüsü Müdürü
Komisyon Üyesi

İMZA
Doç.Dr.Sedat AKTAN
Komisyon Üyesi

İMZA
Prof.Dr.Serpil DEMİRCİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü
Komisyon Üyesi

İMZA
Prof.Dr.Ata Ulku AKÇİL
Su Ürünleri Enstitüsü Müdürü
Komisyon Üyesi


İMZA
Doç.Dr.Kamil EKİNCİ
Komisyon Üyesi

PROJE YÖNETİCİSİNE TEBLİGAT
Sayın: **Prof. Dr. Timuçin BAYKUL**
Süleyman Demirel Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunun yukarıdaki kararı uyarınca sunduğumuz projenin belirtilen şartlarda desteklenmesine karar verilmiştir.

Proje protokolünü imzalamak üzere aşağıda belirtilen tarih ve saatte Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nde hazır bulunmanızı rica eder, başarılarınızın devamını dilerim.

Tarih ve Saat :


Prof.Dr.Mehmet KİTİŞ
Bilimsel Araştırma Projeleri
Komisyon Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

09.12.1983 tarihinde Adapazarı'nda doğdum. İlkokul öğrenimimi Denizli Hürriyet İlkokulu, Orta Öğrenimimi Kocaeli 24 Kasım Anadolu Lisesi, Lise öğrenimimi ise Denizli Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 2001 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesini kazandım. Lisans ve yüksek lisans eğitimimin son döneminde Erasmus öğrenci değişim programıyla Oulu Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Finlandiya'da bulundum. 2006 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesinden dönem birincisi olarak mezun oldum. Özel bir klinikte diş hekimi olarak çalışma hayatına başladım ve 2007 yılında Antalya Ağız Diş Sağlığı Merkezine atanarak 9 ay diş hekimi olarak görev yaptım. 2008 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'na girmeye hak kazanarak doktora eğitimime başladım.