



T.C.

YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DIŞ ÇENE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

RATLARDA PARİETAL KEMİKTE
OLUŞTURULAN KRİTİK BOYUTLU
DEFEKTLERDE SİSTEMİK PROPOLİS
UYGULANMASI İLE YENİ KEMİK
OLUŞUMUNDAKİ
FARKLILIKLARIN HİSTOMORFOMETRİK
AÇIDAN İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

DIŞ HEKİMİ
CENKER SELÇUK

İSTANBUL, 2017



T.C.

YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AĞIZ DIŞ ÇENE CERRAHİSİ

ANABİLİM DALI

**RATLARDA PARIETAL KEMİKTE
OLUŞTURULAN KRİTİK BOYUTLU
DEFEKTLERDE SİSTEMİK PROPOLİS
UYGULANMASI İLE YENİ KEMİK
OLUŞUMUNDAKİ
FARKLILIKLARIN HİSTOMORFOMETRİK
AÇIDAN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

DIŞ HEKİMİ

CENKER SELÇUK

DANIŞMAN

DOÇ. DR. AHMET ARSLAN

İSTANBUL, 2017

TEZ ONAYI FORMU

Kurum : Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

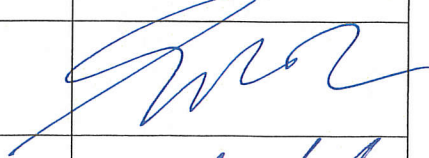
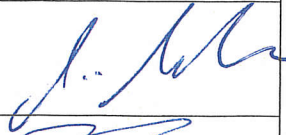
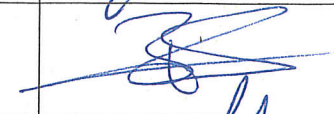
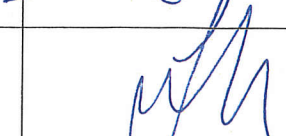
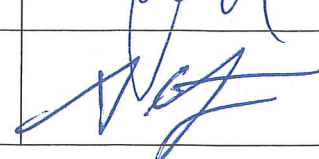
Program : Ağız Diş ve Çene Cerrahisi

Tez Başlığı : Ratlarda parietal kemikte oluşturulan kritik boyutlu defektlerde sistemik propolis uygulanması ile yeni kemik oluşumundaki farklılıkların histomorfometrik açıdan incelenmesi.

Tez Sahibi : Dt. Cenker SELÇUK

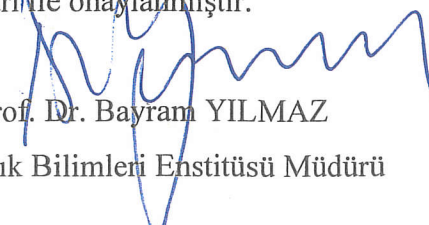
Tarihi : 31/05/2017

Bu çalışma jürimiz tarafından kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı, Adı-Soyadı (Kurumu)	İmza
Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Nurhan GÜLER Yeditepe Üniversitesi	
Tez danışmanı:	Doç. Dr. Ahmet ARSLAN Yeditepe Üniversitesi	
Üye:	Doç. Dr. Berkay Tolga SÜER Sağlık Bilimleri Üniversitesi	
Üye:	Doç. Dr. Sertan ERGUN İstanbul Üniversitesi	
Üye:	Yrd. Doç. Dr. Alev CUMBUL Yeditepe Üniversitesi	

ONAY

Bu tez Yeditepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun ~~02.../06...2017~~ tarih ve ~~2017/10-01~~...sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Bayram YILMAZ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

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

Dt. Cenker SELÇUK





anneme...

TEŞEKKÜR

Eđitim aldđđm sűre içinde bilgi ve tecrűbesini esirgemededen ve özveri ile sunan, eđitlik ve adaletli olma ilkesini hiçbir zaman kaybetmeden ađdađ bir akademik eđitim veren **Sn. Prof. Dr. Nurhan Gűler'e**

Eđitimim sűresince anlayıřlı ve arkadařça tavırları ile bana sorunsuz bir sűre yařatan aynı zamanda hem pratik hem de teorik alanda bilgi birikimlerini kayıtsızca paylařan ve geliřimimde önemli rol oynayan **Sn. Doç. Dr. H. Ahmet Arslan'a**

Lisanűstű eđitimimden yıllar sonra doktora eđitimi almama katkı sađlayan, gűler yűzű ve yűksek enerjisi ile desteđini esirgemeyen **Sn. Prof. Dr. Kemal Őenift'e**

Her zaman yanımda olan ve bir öğrenciden ziyade bir arkadaş olarak görerek akademik bilgilerini bana aktaran Yeditepe Ŭniversitesi Ağız Diş ene Cerrahisi  ğretim görevlileri **Sn. Doç. Dr. Ceyda  ztomruk'a**, **Sn. Doç. Dr. Ediz Deniz'e**, **Sn Yrd. Doç. Dr Fatih Cabbar'a**, **Sn. Öğretim Görevlisi Dr. ağrı Burdurlu'ya**,

Histolojik araştırmalarım sırasında sabırla bana yardım eden ve bilgilerini paylaşan **Sn.Yrd. Doç.Dr. Alev Cumbul'a**

YŬDETAM'da yapmış olduğum çalışmalarım sırasında özveri ile bana yardım eden **Sn. Vet. Hek. Engin Sűmer** ve **Sn. Selim Dođan'a**

Gerek doktora eđitimim sűresinde gerekse tez çalıřmamda her zaman yanımda olan **Sn. Yrd. Doç. Dr. G. Merve Yalçın'a**

Beraber çalıştığımız b lűm arkadaşlarıma ve ameliyathane personeline

Bana yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen babam **İsmet Selçuk** ve kardeşim **Ethem Selçuk'a**

Her zaman yanımda olan sevgili eşim **Eda Selçuk'a**, biricik kızlarım **Defne Selçuk** ve **Eliz Selçuk'a**

Ve... Annem **Fevziye Selçuk'a...**

İten teřekkűrlerimi sunarım...

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	i
ONAY SAYFASI	ii
BEYAN	iii
İTHAF	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
RESİM LİSTESİ	xi
SEMBOLLER ve KISALTMALAR	xiii
İNGİLİZCE ÖZET	xv
TÜRKÇE ÖZET	xvii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kemik Dokusu	3
2.2. Kemik Histolojisi	3
2.2.1. Kemik Matriksi	4
2.2.2. Organik Matriks	4
2.3. Kemik Hücreleri	5
2.3.1. Osteoprogenitör (Osteogenik) Hücreler	5
2.3.2. Osteoblastlar	5
2.3.3. Osteositler	6
2.3.4. Osteoklastlar	7

2.4. Kemik Zarları	8
2.4.1. Periosteum	8
2.4.2. Endosteum	8
2.5. Kemik Oluşumu	8
2.5.1. İntramembranöz Kemik Oluşumu	9
2.5.2. Endokondral Kemik Oluşumu	9
2.6. Kemik Dokusu İyileşmesi	11
2.6.1. Enflamasyon Evresi	12
2.6.2. Onarım Evresi	13
2.6.3. 'Remodelling' Evresi	14
2.7. Kritik Büyüklükte Kemik Defekti	14
2.8. Kemik Greftleri	15
2.8.1. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Kemik Greftleri	16
2.9. Propolis	19
2.9.1. Propolis Tarihçesi	20
2.9.2. Propolisin Fiziksel Özellikleri	21
2.9.3. Propolisin Kimyasal Özellikleri	22
2.9.4. Propolisin Biyolojik Özellikleri	26
2.9.5. Propolisin Anti-oksidan Özellikleri	27
2.9.6. Propolisin Anti-Bakteriyal Etkisi	28
2.9.7. Propolisin Anti-inflamatuvar Etkisi	30
2.9.8. Propolisin Toksik Etkisi	31
3.GEREÇ YÖNTEM	32
4.BULGULAR	45
5.TARTIŞMA	58

6.SONUÇLAR	71
7.KAYNAKLAR	72
8.EK-1: Etik Kurul Onay Belgesi	86
9.ÖZGEÇMİŞ	87



TABLO LİSTESİ

		Sayfa
Tablo 2.1	Propolisin fiziksel özellikleri	22
Tablo 2.2	Propoliste tanımlanmış bileşenler ve sayıları	25
Tablo 4.1	Gruplar arasındaki total kemik hacimlerinin karşılaştırılması.	46
Tablo 4.2	Gruplar arası kemik yüzdelerinin karşılaştırılması	49



ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Flavonoidlerin zincir yapıları	23
Şekil 2.2 CAPE (Kafeik asit fenetil ester)	24
Şekil 3.1 Histomorfometrik olarak ölçülecek alanın sınırlarının belirlenmesi	41
Şekil 3.2 Ölçüm yapılacak alanın büyütülmesi	42
Şekil 3.3 Cavelieri Prensibi ile değerlendirme yapılacak alana ölçüm cetvelinin rastgale atılması (x10)	42
Şekil 3.4 Ölçüm cetveli ile total alana denk gelen nokta sayısının hesaplanması	43
Şekil 3.5 Ölçüm cetveli ile kemik alana denk gelen nokta sayısının hesaplanması	43
Şekil 3.6 Ölçüm cetveli ile fibröz alana denk gelen nokta sayısının hesaplanması	44
Şekil 4.1 A3/B3/C3 gruplarının total kemik hacimlerinin karşılaştırılması	47
Şekil 4.2 A6/B6/C6 gruplarının total kemik hacimlerinin karşılaştırılması	47
Şekil 4.3 A3/B3/C3 grupları arasındaki kemik hacmi yüzdelerinin karşılaştırılması.	50
Şekil 4.4 A6/B6/C6 gruplarının kemik hacmi yüzdelerinin karşılaştırılması	51

RESİM LİSTESİ

	Sayfa
Resim 1.1 Arı kovanından elde edilmiş propolis örneği	25
Resim 3.1 Ratların kafes içi görüntüleri.	32
Resim 3.2 Ratların dorsa ventral pozisyonda stereotaktik frame aygıtında stabil pozisyona getirilmesi	35
Resim 3.3 Rat kafatası diyagramı Çağrı burdurlu tezinden	36
Resim 3.4 5 mm çapındaki trefayn frez ile sağ parietal kemikten bikortikal kemik fragmanının çıkarılması.	36
Resim 3.5 Ratların gavaj yolu ile beslenmesi	37
Resim 3.6 Alloplastik sentetik kemik grefti((ReOss, Intra-Lock, USA)	38
Resim 3.7 Diseke edilmiş rat kalvaryumu.	39
Resim 3.8 Streoloji çalışma alanı	40
Resim 4.1 A3 grubuna ait Ratın kalvaryumunun histolojik görüntüsü. (x5; x10; x20 ve x40 büyütme) Hematoksilen eosin ile boyanmıştır.	52
Resim 4.2 B3 grubuna ait Ratın kalvaryumunun histolojik görüntüsü. (x5; x10; x20 ve x40 büyütme) Hematoksilen eosin ile boyanmıştır	53
Resim 4.3 C3 grubuna ait Ratın kalvaryumunun histolojik görüntüsü. (x5; x10; x20 ve x40 büyütme) Hematoksilen eosin ile boyanmıştır.	54
Resim 4.4 A6 grubuna ait Ratın kalvaryumunun histolojik görüntüsü. (x5; x10; x20 ve x40 büyütme) Hematoksilen eosin ile boyanmıştır.	55
Resim 4.5 B6 grubuna ait Ratın kalvaryumunun histolojik görüntüsü. (x5; x10; x20 ve x40 büyütme) Hematoksilen eosin ile boyanmıştır.	56

Resim 4.6 C6 grubuna ait Ratın kalvaryumunun histolojik görüntüsü.

57

(x5; x10; x20 ve x40 büyütme) Hematoksilen eosin ile boyanmıştır.



SEMBOLLER ve KISALTMALAR

ALP	Alkalen fosfataz
ALT	Alanin aminotransferaz enzimi
AST	Aspartat aminotransferaz enzimi
BMP	Bone morphogenetic proteins
cAMP	Siklik 6 adenozin fosfat
CAPE	Kafeik asit fenetil ester
CAT	Katalaz
CSF-1	Koloni stimule edici faktör-1
DDKKA	Dondurulmuş-Kurutulmuş Kemik Allogreftleri
DO	Distraksiyon osteogenez
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
GAG	Glikozaminoglikan
GP	Glutatyon peroksidaz
GR	Glutatyon redüktaz
HA	Hidroksilapatit
HDS	Honestly Significant Difference
HE	Hematoksilen eosin
HIV	Human Immunodeficiency Virus
KBD	Kritik boyutlu defekt
LDL	Low Density Lipoprotein

M-CSF	Makrofaj koloni-stimule edici faktör
MIC	Minimum inhibitör konsantrasyonu
MRSA	Metisilin dirençli Stafilokok aureus
NO	Nitrik oksit
OPG	Osteoprotegerin
PLGA	Poly laktik co-glikolik asid
PNL	Polimorf çekirdekli lökositler
RANKL	Receptor for activation of nuclear factor kappa B
ROT	Reaktif Oksijen Türlerine
SOD	Süperoksit dismutaz
α-TCP	Alpha-tricalcium phosphate
TCP	Trikalsiyum fosfat
TTCP	Tetracalcium phosphate
YÜDETAM	Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi

ABSTRACT

Selcuk, C. (2017). Histomorphometric examination of the differences in the formation of new bone in the defects by administering systemic propolis to the rats in the critical defect model to be formed in the parietal bone in the calvarium of the rats. The aim of this experimental study is to determine the early and late new bone formation histomorphometrically by creating a critical size defect in the parietal bone in the calvarium of the intended rats and administering propolis via systemic gavage. In our experimental study, thirty rats were divided into six groups randomly. For the experiments each group has 5 rats were used in 6 groups of 30 Sprague-Dawley male rats ranging from 300-400 g. In the control groups, defects were formed in the calvarium of the rats and the defect was left empty and fed to the daily routine. B3 and B6 groups were left empty and 100 mg / kg systemic propolis was administered via gavage for 3 and 6 weeks. In the C3 and C6 groups, the defects of the rats were filled with alloplastic bone grafts and were also administered via a systemic propolis gavage at 100 mg / kg daily for 3 and 6 weeks. The first 3 groups of the experimental animals were sacrificed 21 days later and the second 3 groups were sacrificed 42 days later and the parietal bones were dis-carded. Histomorphometric examination was performed using a CCD digital camera (Optronics Microfire 1600x1200P, Goletaca, USA), a video card (ATI FireGL Advance Micro Device, Camberly, UK), a computerized motorized table (Heidenhein, Traunreut, Germany) and a light microscope (Leica DM 4000B, Wetzlar, Germany). Stereoinvestigator 7,5 (Microbrightfield, Willison, USA) program was used for the measurement. In addition, the Leica C Plan X10 lens (NA = 0.22) was used for volume measurements. As a result of the histomorphometric examination of the calvarias of the rats that were sacrificed for the 3 rd week comparing B3 and A3 group, it is found that there was a statistically significant difference in bone formation according to A3 group in B3 lgroup ($p = 0.001$). We also observed that there was a significant difference when comparing the A3 group and the C3 group to the new bone formation ($p = 0.004$). A statistically significant difference was not observed between group A6 and groups B6 and C6 when we performed a histomorphometric study of the rats we sacrificed for the 6th week (Respectively: $p = 0,762$, $p = 0,964$). Our results 3 weeks to observe early bone formation, it is obtained a statistically significant difference between the control group (A3) and the graft group (C3) ($p = 0.004$). There

was no statistically significant difference between the empty group (B3) and the grafted group (C3). ($P = 0.981$). According to the results of the rats sacrificed at the 6th week following late bone formation, There was no statistically significant difference between the control group (A6) and the graft group (C6) and between the null group (B6) and the graft group (C6). (In the order of $p = 0.964$, $p = 0.994$). As a result, we observed that the systemically administered propolis in this experimental model has a positive effect on early bone formation and has a statistically significant difference. However, no late effect on bone formation of administration of systemic propolis was observed.



ÖZET

Selçuk, C. (2017). Ratlarda parietal kemikte oluşturulan kritik boyutlu defektlerde sistemik propolis uygulanması ile yeni kemik oluşumundaki farklılıkların histomorfometrik açıdan incelenmesi. Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, İstanbul 2017. Bu deneysel çalışmanın amacı ratların kalvaryumunda bulunan parietal kemikte kritik boyutlu defekt oluşturup sistemik olarak gavaj yolu ile propolis verilerek erken ve geç dönem yeni kemik oluşumunun histomorfometrik olarak incelenmesidir. Çalışmamızda otuz adet rat randomize olarak altı gruba ayrıldı. Deney için 5'erli 6 grup olacak şekilde ağırlıkları 300-400 gr arasında değişen 30 Spraque-Dawley erkek rat kullanıldı. Kontrol gruplarında (A3 ve A6) ratların kalvaryumunda defekt oluşturuldu ve defekt boş bırakılıp günlük rutin beslenmeleri sağlandı. B3 (Defekti boş bırakılan ve 3. hafta sakrifiye edilen grup) ve B6 (Defekti boş bırakılan ve 6. haftada sakrifiye edilen grup) gruplarındaki ratların defektleri boş bırakılarak 3 ve 6 hafta gavaj yolu ile günlük 100mg/kg sistemik propolis verildi. C3 (Defekte greft uygulanan ve 3. hafta sakrifiye edilen grup) ve C6 (Defekte greft uygulanan ve 6. hafta sakrifiye edilen grup) gruplarında ise ratların defektleri alloplastik kemik greftleri ile dolduruldu ve yine 3 ve 6 hafta günlük 100 mg/kg sistemik propolis gavaj yolu ile verildi. Deney hayvanlarından ilk 3 grup 21 gün sonra ikinci 3 grup ise 42 gün sonra sakrifiye edildi ve parietal kemikleri diseke edildi. Histomorfometrik inceleme, CCD dijital kamera (Optronics Microfire 1600x1200P, Goleta CA, ABD) ,görüntü kartı (ATI FireGL Advance Micro Device, Camberly, İngiltere), bilgisayar kontrollü motorize tabla (Heidenhein, Traunreut, Almanya) ve ışık mikroskobu(Leica DM 4000B, Wetzlar, Almanya) ile beraber seroloji çalışma istasyonunda incelenmiştir. Ölçüm işlemi ise Stereoinvestigator 7,5 (Microbrightfield, Willison, ABD) programı kullanılmıştır. Ayrıca hacim ölçümlerinde Leica C Plan X10 objektif (NA=0,22) kullanılmıştır. Yapmış olduğumuz çalışmada 3.haftada sakrifiye ettiğimiz ratların kalvaryumundaki histomorfometrik inceleme sonucunda; B3 ve A3 grubunu karşılaştırdığımız zaman, B3 grubunda A3(Kontrol grubu) grubuna göre kemik oluşumunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu gördük (p=0,001). Yine A3 grubu ile C3 grubunu yeni kemik oluşumu ile ilgili karşılaştırdığımız zaman anlamlı bir fark oluştuğunu gözlemledik

($p=0,004$). 6.haftada sakrifiye ettiğimiz ratların histomorfometrik incelemesini yaptığımız zaman A6(Kontrol grubu) grubu ile B6 ve C6 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmemiştir (Sırası ile: $p=0,762$; $p=0,964$).Yapmış olduğumuz çalışmada erken kemik oluşumunu gözlemek için 3.haftada sakrifiye edilen ratlar arasında çıkan sonuçlara göre ; kontrol grubu (A3) ile greft kullanılan grup (C3) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde ettik ($p= 0,004$). Boş bırakılan grup (B3) ile greft uygulanan grup (C3) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ($p= 0,981$). Geç kemik oluşumunu takip ettiğimiz 6. haftada sakrifiye edilen ratlar arasında çıkan sonuçlara göre; kontrol grubu (A6) ile greft kullanılan grup (C6) arasında ve boş bırakılan grup (B6) ile greft uygulanan grup (C6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. (Sırası ile; $p= 0,964$; $p= 0,994$). Sonuç olarak deneysel olarak oluşturduğumuz bu modelde sistemik olarak verilen propolisin erken dönem kemik oluşumunda pozitif etkisi olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu gözlemledik. Bununla birlikte geç dönem kemik oluşumunda sistemik olarak verilen propolisin herhangi bir etkisinin olmadığı saptandı.

Anahtar kelimeler: kritik boyutlu defekt, propolis, alloplastik kemik greftleri, rat



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Maksillofasiyal bölgede; travma, kist, tümör, diş çekimlerine ve periodontal rahatsızlıklara bağlı olarak kemik bütünlüğü bozulur. Bu gibi durumlardan sonra kemik oluşumu istenilen düzeyde ya da hiç olmayabilir. Böylece hem estetik açıdan hem de fonksiyon açısından kayıplar meydana gelir. Kemik rekonstrüksiyonunu sağlamak için günümüzde çeşitli ogmentasyon ve tedavi teknikleri uygulanmaktadır ve bu konuyla ilgili araştırmalar artarak devam etmektedir. Kemik greftlerinin kullanımı uzun yıllardır tercih edilen bir tedavi şeklidir. Bununla birlikte kemik greftlerinin kendi içlerinde avantaj ve dezavantajları vardır. Bu durum karşısında son yıllarda araştırmacılar kemik greftine alternatif olabilecek ya da beraber kullanabilecekleri farklı materyalleri araştırmaya başlamışlardır. Yeni materyalinin araştırılması genelde defekte lokal uygulanarak ya da deneklere sistemik olarak verilerek yapılmış ve olumlu, olumsuz veya başka araştırmalara rehber olabilecek sonuçlar elde edilmiştir.

Çok eski tarihlerden beri tıp alanında çeşitli tedaviler için kullanılan propolis özellikle son dönemlerde birçok araştırmaya konu olmuştur. Propolisin içeriğinde bulunan bileşenler ve mineraller anti-oksidan, anti-bakteriyal, anti-inflamatuvar ve antimikrobiyal etkilerinden dolayı kemik oluşumunda hem nicelik hem de nitelik olarak pozitif etkileri bazı araştırmalarda görülmüştür. Literatürde propolis ile ilgili yapılan çalışmalar genelde sistemik hastalıklara olan etkisini araştırmak için yapılmıştır. Bununla birlikte periyodontoloji alanında propolisin lokal uygulamaları çeşitli formlarda araştırılmış ve pozitif etkileri rapor edilmiştir. Propolisin yeni kemik oluşumuna yönelik hem sistemik hem de lokal uygulamaları ile ilgili araştırmalar çok daha az miktardadır. Bu çalışmayı yapma amacımız ratlara sistemik olarak verilen propolisin yeni kemik oluşumuna etkisini araştırmaktır.

Oral ve maksillofasiyal cerrahide greft materyallerinin kullanım amaçları, kemik rejenerasyonunun sağlanması, osteotomi açıklıklarının kapatılması, alveoler kret yükseltmesidir. Bununla birlikte hangi defektlerde hangi greft materyalinin kullanılması gerektiği tam olarak net değildir. Otogreftler en fazla tercih edilen greftlerin başında gelir. Fakat otojen kemik greftlerinin bilinen dezavantajları nedeniyle, araştırmacılar başka materyaller bulmaya yönelmişlerdir.

Geçmişte otogreft kullanımına alternatif olarak sıklıkla allogreftler tercih edilmekteydi. Fakat hastalıkları transfer etme riski, yabancı cisim reaksiyonu oluşturma gibi riskleri ortadan kaldırmak ve yapılan işlemlerde osteojenik aktiviteyi zayıflatmasından dolayı allogreftlerin kullanımı da gün geçtikçe azalmıştır.

Çalışmamızda sentetik kemik grefti kullanmayı tercih ettik. Bunun nedeni diğer kemik greftleri materyallerinin dezavantajlarını elimine etmek ve son yıllarda büyük aşama kaydeden sentetik kemik greftlerinin avantajlarını gözlemlemek idi.

Yapmış olduğumuz literatür araştırmasında ratlara günlük sistemik olarak propolis verilerek yeni kemik oluşumuna etkisini gösteren başka bir çalışma bulunmamaktadır. Biz de çalışmamızda özellikle propolisin anti-bakteriyel, anti-oksidan ve anti-inflamatuvar özelliklerinden dolayı erken ve geç dönemde yeni kemik oluşumuna etkilerini görmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik Dokusu

Kemik dokusu bir bağ dokusudur ve iskelet sisteminin ana bileşenidir. En önemli özelliği ekstraselüler matriksin kalsifiye olmasıdır. Başlıca görevleri; beyin ve göğüs kafesi içindeki organları korumak, kasları desteklemek, vücut sıvılarında belirli oranda bulunması gereken fosfat, kalsiyum ve diğer iyonların deposu olarak işlev görmek ve lökosit üretiminden sorumlu kemik iliği için barınak oluşturmaktır. Vücudun en sert dokusu olan kemik bu özelliğine göre oldukça iyi kanlanan bir dokudur. Gelişimi sırasında yapısına katılan kapiller ile perfüzyonu sağlar. Osteositler kapillerin en az 0,2 mm yakınında olacak şekilde konumlanmıştır (1, 2, 3).

Kemik rijit bir yapıya sahip olmasının yanında dışarıdan gelen kuvvetlerle şekillenebilecek kadar dinamik bir dokudur. Üzerine gelen basınç rezorpsiyona neden olurken, gerilim kuvveti yeni kemik oluşumuna neden olur (4). Kemik dokusuna gelen güçlü ve deforme edici kuvvetler elastisite sınırını aşmadığı sürece tekrar eski şekline dönebilir. Rotasyonel kuvvetler karşısında direnci daha az olup aksiyal kuvvetler karşısında direnci yüksektir (5).

Sert bir yapıya sahip olan kemik dokusu üzerinde histolojik çalışma yapabilmek ve mikrotomla kesebilmek için belirli aşamalardan geçmesi gerekir. Kemik hücrelerini ve matriksini araştırmak için önce dekalsifiye edilmesi gerekir. Bunun için etilendiamintetraasetik asit (EDTA) gibi bir kalsiyum şelatörü kullanılabilir. Doku dekalsifiye olduktan sonra kesilebilir ve boyanabilir (3).

2.2. Kemik Histolojisi

Kemik 2 kısımdan oluşur;

-Kemik Matriksi

-Kemik Hücreleri

2.2.1. Kemik Matriksi

Kemik matriksi kompresyona, bükülme, eğilme ve gerilme kuvvetlerine karşı koyar. Çözünmeyen kalsiyum tuzları sayesinde çok sert bir yapıya sahip olması yanında, çok miktardaki kollajen fibrilleri ile de gerilmeye karşı dayanıklıdır. Kollajen ağırlıklı olarak tip 1'dir, az miktarda da tip 5 mevcuttur (3).

-Organik Matriks

-İnorganik Matriks

2.2.2. Organik Matriks

Kemik kuru ağırlığının %35 ini oluşturan organik matriks kemiğin formunu verir ve inorganik tuzların şekillenmesini sağlar. Organik matriksin %90 ını tip 1 kollajen yapar. Çapraz bağlı liflerden oluşmuş olup tendon ve derideki kollajene benzerler. Bununla beraber kondrotin sülfat ve keratan sülfat gibi glikozaminoglikanları (GAG) içerir. Kemikteki glikoproteinler hidroksiapatite bağlanan osteokalsin, osteoblast ve osteoklastların üzerindeki integrinler ve hidroksiapatite bağlanan osteopontinlerdir. Vitamin D, bu glikoproteinlerin sentezini artırır. Kemik sialoproteini ise osteoklast ve osteoblastların üzerindeki integrinlere bağlanarak bu hücrelerin kemik matriksine tutunmasını sağlar (4,6). Eğer organik komponent uzaklaştırılırsa orijinal şekli korumakla beraber kemik çok kolay kırılabilir bir hale gelir (4).

Normal bir kırık iyileşmesinin geç evrelerinde kemik yapısında tip 2 kollajene (kıkırdak, kartilaj) rastlanmıştır. Bu bulgu ile beraber, kallus içerisinde endokondral kemikleşmenin normal kırık iyileşmesinin yerini aldığı inancını artırmıştır. Kemik kırıklarında kemiğin fiksasyon için kompresyon plakları kullanılırsa, minimal kallus oluşur ve primer olarak tip 1 kollajen görülür (7).

İnorganik Matriks

İnorganik matriks kemik kuru ağırlığının %65'ini oluşturur. Kalsiyum, fosfor, bikarbonat, sitrat, magnezyum, sodyum ve potasyum içerir. Kalsiyum ve fosfor esas olarak 'hidroksiapatit kristalleri' şeklinde bulunur. Hidroksiapatit kristalleri kollajen boşlukları arasında depolanırlar. Bununla birlikte yüzey iyonları ise su ile birleşir ve iyon alışverişini gerçekleştirir (6). Yüzeydeki hidroksiapatit kristallerin etrafında sudan oluşmuş bir kabuk bulunur. Buna hidrasyon kabuğu denir ve iyonlar kristalin yüzeyi ile

hidrasyon kabuğu arasında serbestçe dolaşırlar(8). Kemik dokusunun sertliği kollagen doku ile hidroksiapatit kristalleri arasındaki etkileşime bağlıdır. Eğer kemik dekalsifiye edilirse orijinal şekli korumakla beraber kolay bükülebilir hale gelir (4).

2.3.Kemik Hücreleri

-Osteoprogenitör (Osteogenik) Hücreler

-Osteoblastlar

-Osteositler

-Osteoklastlar

2.3.1. Osteoprogenitör (Osteogenik) Hücreler

Embriyonik mezenşimden köken alan osteoprogenitor hücreler, mitoz bölünürler ve osteoblastlara farklılaşabilirler. Düşük oksijen seviyelerinde kondrojenik hücelere dönme yetenekleri vardır. İğsi bir şekilleri vardır. Özellikle hızlı ve yoğun kemik büyümesi sırasında aktif rol oynarlar (1). Periostun iç katmanında, endosteumda, havers kanallarında bulunur. Periostun ince iç tabakası “Osteojenik tabaka” olarak adlandırılır ve osteoprogenitor hücreler içerir. Endosteum veya periosttaki osteoprogenitor hücreler, stimule edildiklerinde, iyi vaskülarize olan bölgelere yerleşirlerse osteoblastlara, vaskülarize olmayan yerlere yerleşirlerse kondroblastlara dönüşürler (3).

2.3.2. Osteoblastlar

Osteoblastların kökenlerini osteoprogenitor hücrelerden alır. En başta Tip 1 kollajen, proteoglikanlar ve glikoproteinler olmak üzere, kemik matriksinin organik protein komponentinin sentezinden sorumludur. Ayrıca receptor for activation of nuclear factor kappa B (RANKL), osteokalsin, osteopontin, osteonektin, kemik sialoproteini ve (M-CSF) makrofaj koloni-stimule edici faktör (M-CSF) üretir. Osteoblastlar, kemik yüzeyine örtülü olarak yerleşmişlerdir. Osteoblastlar osteositlere sinapslarla temas kurarken komşu osteoblastlarla kısa kollar ile temas kurarlar. Bu uzantılarla “gap junction”lar oluşturulur ve osteositler arası “gap junction” sayısı osteoblastlar arasındakilerden fazladır.

Osteoblast hücrelerinin membranı, alkalen fosfataz (ALP) açısından zengindir. Aktif olarak kemik oluşumu sırasında, bu hücreler yüksek düzeyde ALP salgırlar ve kandaki enzim seviyesini yükseltirler. Bu durumda kemik oluşumunu, kan ALP seviyesini ölçerek kontrol edilmesine olanak sağlar. Osteoblastlar, sekretuar ürünlerini üretir ve her bir hücre ürettiği ekstraseluler matriks tarafından çember altına alınır. Bu durumdan sonra osteoblastlar artık “osteosit” olarak adlandırılır ve yerleştiği yere de “lakuna” adı verilir. Kemik matriksinin büyük bir bölümü kalsifiye olur ve osteoblastlar, kalsifiye matriksten, ince nonkalsifiye bir tabaka olan “osteoid” (kalsifiye olmayan kemik matriksi) ile ayrılırlar.

Matriks oluşturmayı sürdürmeyen yüzey osteoblastları daha yassı şekilli bir forma dönüşürler ve bone-lining hücreleri adını alırlar. Osteoprogenitor hücrelere benzemelerine rağmen, bölünebilme yetenekleri yoktur ve sadece, uygun stimuluslarla eski üretken hallerine dönüşebilirler(1).

2.3.3.Osteositler

Osteositler, osteoblastlardan köken alan ve lakünada bulunan kalsifiye kemik matriksi içinde sıkışmış matür kemik hücreleridir. Her mm³'de 20.000 –30.000 adet bulunur. Bu hücrelerin sitoplazmik uzantıları, lakünalardan çevreye uzanan tünel şeklindeki boşluklarda (“kanalikül”) bulunur. Bu uzantılarla osteositler komşu osteositlerle temas ederler. Gap junction aracılığı ile hücreler arası iyon ve küçük molekül alışverişi gerçekleştirilir. Kanaliküllerde bulunan ekstraselüler sıvı osteositler için gerekli besin ve metabolitleri taşır. Lakünaların şekline uyum sağlamış olan osteositlerin nükleusları yassılaştırılmış ve sitoplazmaları organel bakımından fakirleşmiştir.

Osteositler her ne kadar inaktif hücreler gibi görünseler de, kemiğin onarımı esnasında gerekli maddeleri salgırlar. Siklik 6 adenozin fosfat (cAMP), osteokalsin ve insülin benzeri büyüme faktörü salgılayarak kemik gerilmelerine cevap veren kemiğin mekanik transdüksiyonundan sorumludurlar (1).

2.3.4.Osteoklastlar

Osteoklastların eskiden yapılan incelemelerinde monositlerin birleşmesiyle oluştuğuna inanılmaktaydı. Fakat son yıllarda yapılan çalışmalarla birlikte prekürsörlerinin kaynağı kemik iliği olduğu görülmüştür. Mononukleer fagositik sistemin bir parçası olan prekürsörler kemik iliğine yerleşirler. Osteoklastların kemik rezorpsiyonundan sorumlu osteoklaststimulan faktör, koloni stimule edici faktör-1(CSF-1) , osteoproteğerin (OPG) ve kalsitonin reseptörleri vardır. Bu hücreler kemik rezorpsiyonu bittikten sonra büyük ihtimalle apoptozise uğrarlar. Osteoklastlar sığ çukurlar olan Howship lakünalarında yerleşmişlerdir ve kemik rezorpsiyonu bu çukurlarda meydana gelir.

Osteoklastların çapı 150 mikrometredir ve 50'ye yakın nukleusları olan geniş multipl nukleuslu hücrelerdir. Sitoplazmaları asidofilik boyanır. Bu hücrelerin oluşumu makrofaj koloni-stimule edici faktör tarafından stimule edilir ve mitozaya uğrar. Osteoblastlar üç uyarıcı molekül salgılayarak osteoklastların farklılaşmasını düzenlerler. Bu uyarıcı moleküller; makrofaj koloni-stimule edici faktör (M-CSF), nukleer faktör kappa B aktivasyon reseptörü ligandı(RANKL) ve osteoproteğerin(OPG) molekülleridir.

Osteoklastlar morfolojik olarak 4 bölgeden meydana gelir.

1. Bazal zon: Multipl nukleuslar ve Golgi kompleksleri başta olmak üzere birçok organeli içine alır.

2. “Ruffled border”: Parmaksı uzantılarıyla kemik rezorpsiyonundan direkt sorumlu olan bölgedir.

3. “Clear” zon: “Ruffled border”ı çevreleyen bölgedir. Osteoklastın kemiği rezorbe edebilmesi için aktin halkasının oluşması gerekmektedir. Aktin halkasının oluşmasında çok büyük rolü olan aktin mikroflaman bu bölgede bol miktarda bulunur.

4. Vezikuler zon: Bazal zon ve “ruffled border” arasındadır. Fazla sayıda endositotik ve egzositotik vezikul içerir (1).

2.4. Kemik Zarları

2.4.1. Periosteum

Periost iç tabaka ve dış tabaka olmak üzere 2 ayrı tabakadan meydana gelir. Dış tabaka fibrotik olup daha çok kollajen içerir. İç tabaka ise damar ve hücreden zengindir. Ligamanlar, tendonların kemiğe bağlandığı bölgeler, sinovyal eklemler, interossöz membranlar bölgesi hariç tüm kemiklerin dış yüzeyini örten zardır. Periostun içerdiği hücreler osteoblastlara farklılaşabilir. Aynı zamanda bu hücreler kemiğin dış bölgesinde hyalin kıkırdak üretebilir. Yaşlanmayla birlikte periostun yapısında değişiklikler oluşur. İlerleyen yaşa bağlı olarak periost incelik ve osteojenik kapasitesi azalır. Çocuklarda ise iç tabaka kalın ve daha aktiftir. Yaşlanmaya bağlı periosttaki aktif kemik mekanizmasının azalmasına rağmen hayat boyu kemik yaparlar (9).

Periostun kemiğe bağlanması Sharpey lifleri aracılığı ile olur. Kollajen yapıdaki dış tabaka demetler halindeki Sharpey lifleri vasıtasıyla matris içine girerek kemiğe tutunur. Bu liflerin çevresindeki matris ya hiç kalsifiye olmamış ya da az kalsifiye olmuştur. Tendonların, kasların yapışma yerlerinde ve kafatasında bol miktarda bulunurlar (10).

2.4.2. Endosteum

Endosteum periosta göre daha ince bir zar tabakasıdır. Kemiğin içindeki bütün boşlukları örterler. Tek katlı yassı osteoprogenitör hücreler ve az miktarda retiküler bağ dokusundan oluşmuşlardır. Hem hemopoetik hem de osteojenik özellik gösterirler. Osteojenik etkilerini gelişimleri bittikten sonra da devam ettirirler (11).

2.5. Kemik Oluşumu

Kemik oluşumu 2 şekilde olur;

- İntramembranoz Kemik Oluşumu

-Endokondral Kemik Oluşumu

2.5.1. İntramembranöz Kemik Oluşumu

Mezenkimal hücreler osteoblastlara diferansiye olarak kemik matriksini oluştururlar. Yassı kemiklerin çoğu bu yolla iyileşir. Mandibulanın proc. coronoideus ve simfizi hariç tüm bölgelerinde sternum, pelvis, kranium gibi yassı kemiklerde, kısa ve uzun kemiklerin kompakt kısımlarında görülür. Primer kemikleşmenin merkezi olan trabeküler kemik yapılarını oluştururlar.

Mezenkimal hücreler mitoz bölünmeye uğraması ile birlikte osteoprogenitör hücreler ve osteoblastlar oluşur ve yeni kemik oluşumu devam eder. Kalsifikasyondan ve osteoid oluşumundan sonra osteoblastlar osteosit hücrelerine dönerler. Kanselöz yapı içerisindeki trabekuler yapının miktarı yeterli olunca içlerindeki interstisyel vasküler bağ dokusundan kemik iliği meydana gelir. Kalsifiye olmamış mezenkimal hücreler ise periostium ve endostiuma geri dönerler. Periosteumun iç tabakası ve duranın periosteal tabakası kompakt kemiğe donerek iç ve dış tabakayı yaparlar (1).

2.5.2. Endokondral Kemik Oluşumu

Uzun ve kısa kemiklerin kemikleşmesi bu yolla olur. Kıkırdak çatı oluştuktan sonra kemikleşme başlar. İki aşamada oluşur:

1)Hyalin kıkırdak çatı oluşumu.

2)Hyalin kıkırdak yapının büyüyerek kemik çatıya bir model olması, rezorbsiyonu ve yeni kemik oluşması.

Primer kemikleşme merkezinin oluşumu

- Hyalin kıkırdak kemik oluşacağı bölgede model oluşturur. Kıkırdakta bulunan kondrositler hipertrofiye uğrar ve kalsifiye hale gelir. Kondrositlerin sitoplazmalarında glikojen depolanır ve vakuolize olurlar.

- Diyafiz kıkırdağında bulunan perikondriumda damarlanma başlar. Kıkırdak hücreleri osteoprogenitor hücrelere ve perikondrium periosta dönüşür.

-Yeni oluşan osteoblastlar kemik matriksi salgırlar ve intramembranoz kemikleşme vasıtası ile subperiostal kemik manşet oluşumunu kıkırdak yüzey üzerinde meydana getirirler. Bu manşet kondrositlerin beslenmesine mani olur. Bu durumdan dolayı iskemi oluşur ve sonucunda kondrositler hipertrofiye uğrayarak tahrip olur ve

ölürler. Kıkırdak model merkezinde yan yana boş kaviteler oluşur ve bunlar ilerleyen zamanlarda kemik iliği kavitesini yaparlar.

-Kıkırdak modele oksijen sağlanması ve beslenmesi, osteoklastların periostal delikler açmasını takiben osteoprogenitor hücreler, hematopoietik hücreler ve kan damarları aracılığı ile olur. Damar yolu ile gelen kalsiyum ve fosfor iyonları, alkalin fosfatazın yardımı ile birleşerek kıkırdak matrikse çöker ve diyafizde kemikleşme merkezi oluşur.

- Osteoprogenitor hücreler osteoblastlara dönüşerek kalsifiye kıkırdak yüzeyinde kemik matriksi oluşturup kıkırdak/kalsifiye kemik kompleksini meydana getiriler.

- Osteoklastlar subperiostal kemiğin kalınlaşmasıyla, oluşan kemik kompleksini rezorbe ederler ve kemik iliği genişler. İlerleyen zamanlarda epifizyal plaklar dışındaki kıkırdaklar kemikleşir.

Sekonder Kemikleşme Merkezinin Oluşumu

Osteoprogenitor hücreler epifiz kıkırdağını oluşturduktan sonra osteoblastlara dönüşüp kıkırdak modelin matriksini sentezlerler. Epifiz oluşumu yeterli seviyeye geldikten sonra eklem yüzeyi hariç tüm bölgeler kemikleşir. Eklem yüzeyleri ise kıkırdak özelliğini hayat boyu muhafaza eder. Epifiz plağındaki kemikleşme kemiklerin uzamasından sorumludur (1).

Erişkin bireylerde yalnızca sekonder kemik dokusu bulunur. Sekonder kemik dokusunun spongioz kemik (süngerimsi, kansellöz) ve kortikal kemik (kompakt, lameller) olmak üzere iki türü vardır. (12)

Spongioz kemik

Birbiriyle anastomoz yapan ince kemik trabeküllerinden oluşurlar. Trabeküllerin arasında kemik iliğinden zengin düzensiz boşluklar vardır. Spongioz kemiğin beslenmesi kemik iliğinde çok fazla sayıda bulunan kan damarları ve sitoplazma uzantıları vasıtası ile olur. Kısa ve uzun kemiklerin metafiz ve epifizlerinin iç kısımları ve yassı kemiklerin iç yüzeylerinde bulunurlar (12).

Kortikal kemik

Kortikal kemiğin ana yapısı, “Havers Sistem” olarak adlandırılan osteondur. Osteon; uzunlamasına vasküler havers kanallarını çevreleyen silindirik şekilli vasküler kemikten oluşmuştur. Horizontal biçimde dizilmiş olan volkman kanalları osteonları birleştirir. Kortikal kemiğin mekanik gücü, osteonların sıkı dizilimine bağlıdır. Yassı kemiklerin iç ve dış tabakalarını, uzun kemiklerin dış yüzünü oluştururlar (12).

2.6. Kemik Dokusu İyileşmesi

Hasar görmüş olan dokular belirli bir oranda kendilerini yenilerler ve kemik dokusu bu işi en iyi yapan dokulardan biridir. Oluşan kemik defekti ve kemik kırıklarının iyileşmeleri yaralanmanın hemen ardından oluşan bir dizi fizyolojik süreçten geçer. Kemik iyileşmesinde yaşanan bu karmaşık sürecin en önemli özelliklerinden biri skar dokusunun oluşmamasıdır. İyileşme genel olarak iki şekilde gerçekleşir: primer iyileşme ve sekonder iyileşme. Primer iyileşmede kırık bölgesi mutlaka hareketsiz kalması gerekmektedir, bu durumdan dolayı sekonder iyileşmeye göre daha az görülür. Kırık parçalar birbirine temas eder ve intramembranöz kemikleşme ile kortikal tabakasının yeniden şekillenmesi gerçekleşir. Örnek olarak kırık bölgesinin kompresyon tabakaları ve miniplaklar gibi çeşitli mekanizmalarla tespit edildiği durumlar verilebilir. Sekonder iyileşmede ise endokondral kemik oluşumu görülür. Hücre topluluklarının çoğalarak farklılaşırlar ve matriksi oluşturup iyileşmeyi gerçekleştirirler.

Kemik iyileşme süreci 3 evreden meydana gelir;

-Enflamasyon Evresi

-Onarım Evresi

-Yeniden Şekillenme(Remodeling) Evresi (13, 14, 15, 16).

2.6.1. Enflamasyon Evresi

Tüm doku travmalarında organizmanın verdiği ilk yanıt enflamasyon evresinde yaşanan olaylardır. Kemik kırıklarında; hücre ölümleri gerçekleşir, matriks hasar görür, periost ve endostta yırtıklar ve kırık kemik uçlarında dislokasyon meydana gelir. Travmanın hemen ardından kemiğin içinde bulunan kemik iliğinde ve etrafında kan ve lenf sıvısı toplanır. Bu sıvı birikir ve periostu kaldırır. Kanamayı durdurmak ve pıhtılaşmayı sağlamak için trombosit ve trombotik faktörler vasıtasıyla moleküler aracılar yaralanma bölgesine salınır. Oluşan hematoma yumuşak dokular tarafından sarılır. Sekonder kırık iyileşmelerinde hematoma önemli bir rolü vardır ki bu da oluşturduğu basınç kırık uçlarının bir arada tutulmasına yardımcı olmasıdır. Örneğin açık kırık yaralarında hematoma dışarıya boşalması ile birlikte iyileşme gecikir veya hiç olmaz. Yapılan bir deneyde hematoma organize olduktan sonra çıkartılmış ve sonucunda osteojenik uyarılmanın büyük oranda kaybolduğu öne sürülmüştür (13, 15, 17, 18).

Genel kanı hematoma fibrinden bir çatı oluşturarak onarım hücrelerinin faaliyetlerine yardımcı olduğu yönündedir. Kırık meydana geldikten sonra damarlarda geçici bir vazokonstriksiyon ve ardından vazodilatasyon meydana gelir. Bunun nedeni dokudaki mast hücrelerinin kırık bölgesine histamin salgılamasıdır. Kırık alanında vazodilatasyon ve plazma eksudasyonuna bağlı olarak ilk 24 saat içinde ödem oluşur. Polimorf çekirdekli lökositler(PNL), monosit ve lenfositleri içeren akut iltihap hücreleri, ödemli alana doğru hareket ederler (13, 15, 17, 18).

Birbirlerine komşu haversian sistemler arasında fazla anastomoz olmaz ve kırık hattının her iki tarafında belirli bir bölgede dolaşım durur. Bunun sonucunda kırık uçlarında nekroz alanlar oluşur. Nekrotik ürünlerin varlığı ve prostoglandinlerin salınımı akut iltihabın başlatılmasında önemli rol alır. Oluşan hematoma ilk 48 saatte organize olup fibrinden bir yapı oluşturur. Fibrinojen lizin, fenilalanin, gamaglobin ve albüminin de eklenmesi ile fibrine dönüşür. PNL ve makrofajların diyapedezi ile fibrin matriksi oluşur. Makrofaj, histiosit ve fibroblastların yaptığı kollajen de fibrin matriksi oluşumunda etkilidir. Artık fibrin ağından da kemik yapımı için hücre çoğalması başlar. İlk etapta kırık bölgesi pH'ı asidikken daha sonra ağır ağır nötrale döner ve ılımlı bir alkali seviyede kalır. (13, 15, 17, 18).

2.6.2. Onarım Evresi

Onarım evresi sırasında bölgedeki damarlanma ve buna bağlı oksijen tutulumu önem taşır. Periost damarları ilk dönemde, besleyici damarlar ise geç dönemde kanlanmayı sağlamakla görevlidirler. Her iki dönem de kılcıl damarlanma damarsal yapılarının temelini oluşturur. Fakat yeni kılcıl damar oluşumu, yeni kemik oluşturma işlemi kadar hızlı değildir. Bunun sonucunda damarlanmanın daha iyi olduğu yara kenarlarında osteoblastlar oluşurken yara bölgesinin ortalarına doğru kondroblastlar ve kondrositler oluşurlar.

Onarım Evresinde hematoma organizasyonunun yerini kılcıl damarların genişlemesi ile birlikte granülasyon dokusu alır. Bu evrenin hücreleri mezenkimal kaynaklı olup çok yönlü gelişebilme özelliği (pluripotent) olan hücrelerdir. Bu hücrelerin çoğu granülasyon bölgesinden, periostun yeni kemik oluşturma özelliğine sahip olan tabakasından ve endosteumdan salgılanır. Kırık bölgesindeki mezenkimal hücre çoğalması ilk 16 saatte saptanmıştır ve kırık sonrası 32 saatte en üst düzeye çıkar. Onarım evresi, kırık oluşumundan sonraki saatlerde başlar fakat yapısal olarak tipik hale gelmesi 7-12 gün sürer. Osteojenik hücreleri ve fibroblastların granülasyon dokusu oluşumunda önemli rolleri vardır. Fibroblastlar kollajen sentezlerken, kondroblastlar kollajen ve glikoaminoglikanları, osteoblastlar ise osteoid maddeyi salgırlar. Bu yapıya kallus adı verilir ve fibröz dokudan, kırıldaktan ve olgunlaşmamış kemik dokusundan oluşur. Yara bölgesini çevreleyip bölgenin hareket etmemesini sağlayarak iyileşmeye yardımcı olduğu düşünülmektedir. İlk etapta içeriğinden dolayı yumuşak kallus adını alır ve zamanla içindeki damarlanma artarak osteoblastik aktiviteyi destekler. Osteoid maddenin mineralizasyonu dayanıklılık açısından gereklidir. Osteoblastlar, tropokollajen salgılayarak kollajen liflerinin dizilimini düzenlerler. Bunların üzerine kalsiyum iyonlarının çökmeye başlamasıyla sert kallus oluşur. Kallusun etkisiz kısımlarının rezorpsiyonu ve trabeküler kemiğin stres çizgileri boyunca uzanması ile yeniden şekillenme evresi başlar (13, 15, 16, 19).

2.6.3. 'Remodelling' Evresi

Bu evre onarım evresinin ortasından başlar ve kemik iyileşmesinin diğer evrelerinden daha uzun sürer. Normal süresi 4-16 hafta sürerken, yıllar boyunca da devam edebilir. Onarım evresi sırasında oluşan mikroskobik olarak düzensiz kallusun, normal kemiğin lameler içeriğiyle değişmesi bu evrede gerçekleşir. Kalsifiye kıkırdak doku, osteoklastların rezorpsiyonu sonucunda trabeküler kemik dokusuna dönüşür. Ardından lameller kemik oluşur ve kas kuvvetleri ile mekanik etkenlere paralel olarak dizilmiş olan osteonlar içerir. Kemik iliğinin olduğu bölgedeki kallus dokusu osteoklastlar tarafından rezorbe edilir ve kemik dokusu olağan görünümünü kazanır (13, 15, 19).

2.7. Kritik Büyüklükte Kemik Defekti

Schmitz and Hollinger 1986 yılında kritik büyüklükteki kemik defekti'ni 'Organizmanın yaşamı boyunca kendiliğinden iyileşemeyecek en küçük boyuttaki kemik içi defekt' olarak tanımlamışlardır. Bu defektler kemik iyileşme modellerinde kullanılırlar (20). Ratlarda kritik büyüklükteki kraniyal kemik defektinin primer fibröz kallus dokusu ile dolduğu fakat üç aylık sürede minimum derecede kemikleşmenin olduğu tespit edilmiştir (21).

Takagi ve Urist ratlarda oluşturdukları 8mm çapındaki kemik defektini 6 ay sonra incelemişler ve bu süre sonunda fibröz iyileşme gerçekleştiğini bildirmişlerdir. (22). Hollinger ve Kleinschmidt yine ratlarda 8 mm çapında defekt oluşturup 13 ay sonra defekti incelemişler ve defektin kendi kendine iyileşme göstermediğini rapor etmişlerdir (23). Yapılan diğer bir çalışmada Mulliken ve Glowacki ratların pariyetal kemiklerinde 2 mm çapında bir defekt oluşturmuşlar ve 6 ay sonra ideal bir kemik dolumu bulamamışlardır (24,25). Yukarıdaki örnekler gibi çeşitli çaplarda defektler oluşturulmuş ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bununla birlikte sonuçların farklı olmasında defektin çapı dışında başka parametrelerde göz önünde bulundurulmalıdır. Yapılan çalışmalarda operasyon esnasında oluşturulan travma, kan desteğinin yetersiz olması, kemik iliği yetersizliği ve enfeksiyon gibi nedenlerin de sonuç üzerinde etkileri olduğu düşünülmektedir (26,27).

2.8. Kemik Greftleri

Greftin alıcı kemik doku ile birleşmesi için beş aşamadan geçmesi gerekmektedir (28,29).

1-İnflamatuvar cevap: İlk iki hafta içinde yeni damar ağının oluşması başlar ve greft materyali inflamatuvar cevabın merkezi haline gelir. Bunu takiben fibröz granülasyon dokusu greft kullanılan bölgede dominant hale geçer ve inflamatuvar cevap azalır.

2-Revaskülarizasyon: Greft içerisindeki vasküler invazyon gelişmeye başlayınca, primitif mezenkimal hücreler osteojenik hücrelere farklılaşmaya başlar. Aynı zamanda hematopoetik kemik iliği elementleri bu bölgede toplanarak revaskülarizasyon tamamlanır.

3-Osteoindüksiyon: Farklılaşmış perivasküler mezenkimal hücrelerin mitojenik aktiviteleri sonucunda yeni kemik oluşturma kapasitesindeki osteoprogenitör hücreler meydana gelir. Osteoindüktif materyaller iskelet sistemi dışında da kemik dokusu oluşturma yeteneğine sahiptirler.

4-Osteokondüksiyon: Alıcı bölgedeki perivasküler dokudan, grefte doğru oluşan kapiller büyüme, osteoprogenitör hücrelerin gelişimi şeklindedir. Canlı kemik greftlerinde osteokondüksiyon osteoindüktif bir işlem ile kolaylaştırılıp daha hızlı oluşması sağlanır.

5-Remodelling (creeping substitution): Kemik transplantasyonunda dinamik rekonstrüktif iyileşme işlemine verilen isimdir. Çıkan kan damarları ile beraber nekrotik kemiğin yerine geçen yeni kemik oluşumunu tanımlar (30).

2.8.1. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Kemik Greftleri

- Otojen kemik greftleri,
- Homojen kemik greftleri (allogreftler),
- Heterojen kemik greftleri(xenogreftler)
- Alloplastik kemik greftleri (31)

Otojen Kemik Greftleri

Otojen kemik greftinin en önemli avantajı; osteojenik hücreler içermesi ve immünolojik reaksiyona sebep olmamasıdır. Bununla birlikte verici bölgede ikinci bir operasyona ihtiyaç duyulması, postoperatif ağrının uzun süre devam etmesi, hareket kısıtlılığı yaşanması ve bakım süresinin fazla olması bu grubun dezavantajlarıdır. Otojen kemik greftleri kortikal ve kansellöz yapıda olabilir ve vücudun değişik bölgelerden değişik formlarda elde edilebilirler (32).

Kortikal greftler, dayanıklı ve sert bir yapı oluşturarak kemiğe form verirler. Fakat osteogenezisi artırıcı özellikleri yoktur (33).

Kansellöz kemik ve kemik iliğinin en temel avantajı osteogenezisi artırma özellikleridir. Bu özelliklerinin nedeni sahip oldukları canlı hücrelerin osteoblastlara dönüşebilmesi ve osteojeniteyi indükleme kapasitelerinin olmasıdır. Bu greftlerin bilinen tek dezavantajı; mekanik sağlamlılığı oluşturmamalarıdır (33).

Her iki kemiğin karışımı olan kortikokansellöz kemik greftlerinin kullanımı son zamanlarda hızla artmıştır. Fakat hem kortikal hem de kansellöz kemiklerin kuvvetli özelliklerini aynı oranda kombine edemezler. Kansellöz kemik gibi osteogenezisi artırıcı özelliğe sahip değildir. Bunun nedeni daha nonpöröz bir yapısı olan kortikal kemik tabakasına sahiptir. Kortikokansellöz greftlerin avantajı; kortikal greftler gibi mekanik sağlamlık ve form kazandırmak ve az miktarda osteogeneziste artmayı sağlamasıdır. Kortikokansellöz kemik genelde kaburga veya ilium kaynaklı olup aralarında büyük farklar vardır. Örneğin; kaburga, iliumdan daha az kansellöz kemik içermektedir (32).

İnsan kaynaklı Kemik Greftleri (Allogreftler)

Alıcı ile aynı türden olan, fakat genetik olarak farklı bireylerden elde edilen kemik dokularına allogreftler denir. Taze dondurulmuş kemik, dondurulmuş kurutulmuş kemik ve demineralize edilmiş kemik matriksi olarak sınıflandırılabilirler (34,35). Allogreftleri dondurma, dondurup kurutma gibi kriyobiolojik metodlar veya radyasyona tabi tutarak immünolojik komplikasyonlarından ve hastalık taşıma potansiyellerinden ortadan kaldırmak için kullanılan son tekniklerdir (36, 37).

Eğer kemik greftinin alındığı sahada kemik doku ve çevresindeki dokularda revaskülarizasyon iyiye bu allogreftler otojen greftten daha iyi sonuç verebilir (36, 38). İnsandan elde edilen allogreftin hazırlanması esnasında kemik matriksi içerisindeki tüm mikroorganizmalar zarar görür ve bundan dolayı Human Immunodeficiency Virus(HIV) dahil enfeksiyöz hastalıkların tamamen elimine edildiği belirtilmiştir (38).

Demineralize edilmiş kemik matriksi, kemikte bulunan mineral yapının ortadan kaldırılmasıyla üretilir. Yapılan işlemler esnasında kemiğin mekanik özellikleri azalır. Fakat kemik matriksinde zaten var olan bone morphogenetic proteins(BMP) gibi proteinler açığa çıkar. Böylece bu kemik greftleri uygulandıkları bölgelerde osteoindüktif etki gösterirler (34, 39, 40). Dondurulmuş kurutulmuş kemiklerde ise osteojenik indüksiyon kapasitesi azdır ve rezorbsiyon sırasında bir miktar fibröz doku ile yer değiştirir. Bunun sonucu olarak greft materyalinde küçülme olur ve greft tamamen yer değiştirdikten sonra kemik kaybının en az %50 olacağı göz önünde bulundurulmalıdır (36,38).

Heterojen Kemik Greftleri (Xenogreftler)

Heterojen terimi farklı türlerden alınan dokular için kullanılır. İnsanlarda kullanımı 17. yy' dan beri var olmasıyla birlikte özellikle maksillofasiyal bölgede çok sık olmamakla beraber çok daha yeni kullanılmaya başlanmıştır. Heterojen kemik greftleri daha çok çenelerdeki küçük defektleri doldurmak için kullanılır ve herhangi bir osseojenik potansiyelleri yoktur. Bunun yerine yeni kemik oluşumu için matriks oluşturduklarını belirtilmiştir. Bazı organik çözücüler ile işlemde geçirilirler ve bu işlemler sırasında immünojenitesinin çoğunu kaybederler. Sığır kemiği en çok tercih edilen heterojen greft kaynağıdır. Bu kemik etilen diamin ile 24 saat bekletilip organik

komponentlerinden ayrılırlar elde edilen kalsiyum matriks sterilize edilerek kullanıma hazır hale getirilir. Böylece alıcıda herhangi bir immün reaksiyona sebep olmazlar (41).

Yapılan çalışmalarda anorganik dana kemiği greftinin osteotomi alanlarında başarılı sonuçlar verdiği fakat, posttravmatik deformite ve hipoplastik alan düzeltmelerinde ise yeterli olmadığı görülmüştür (42).

Pyrost % 93'u hidroksilapatit (HA) ve %7'si alpha-tricalcium phosphate(α -TCP) olan tamamen deproteinize heterojen kemik greft materyalidir. Oral ve maksillofasiyal cerrahide oluşmuş olan kemik defektlerinde, greft gerektiren çeşitli osteotomilerde ve bazen de kemik greftleriyle karıştırılarak kullanılmaktadır (36, 43, 44, 45).

Mercan, yapısal olarak kemiğe çok yakındır ve biyolojik olarak inert bir madde olmasından dolayı ideal bir greft materyalidir. Doğal mercan, osteoklastlar tarafından yavaş yavaş rezorbe edilirken, serbest kalsiyum iyonları osteoblastlar tarafından kullanılarak yeni kemik oluşturulur (36, 46).

Alloplastik kemik greftleri

Alloplastik kemik greftleri büyük oranda osteointegrasyon ve osteoindüksiyon özellik taşımaktadır. Bunun yanında yabancı cisim reaksiyonu ve enflamasyona neden olabilirler. Enflamasyonun olduğu bölgelerde greft rezorbe olabilir ki bu dezavantajlarından biridir(47).

Otojen kemik greftleriyle karşılaştırıldıklarında ise bazı avantajları vardır ki bunlar, istenilen miktarda ve büyüklükte elde edilebilmeleri, donör sahaya ihtiyaç duyulmaması ve ilave anestezi süresinin gerekmemesi sayılabilir (48, 49).

İdeal bir alloplastik kemik greftinin özellikleri:

- Osteokondüktif ve osteoindüktif olmalı,
- Enfeksiyona karşı dirençli olmalı,
- Değişik sistemlerle bozulmadan steril edilebilmeli,
- Minimal düzeyde fibrotik reaksiyon göstermeli,
- Ucuz ve depolanması kolay olmalı,

- Kullanılması, şekillendirilmesi ve elde edilmesi kolay olmalı,
- Kırılma ve bükülmeye karşı dirençli olmalı,
- Mekanik basınç altında fiziksel değişikliklere uğramamalı,
- Kanserojen, iritan, alerjik ve sitotoksik olmamalı,
- Spesifik ve non-spesifik immün sistem mekanizmalarını harekete geçirmemeli,
- Uygulandıktan sonra yapısında herhangi bir değişiklik olmamalı,
- Hidrofilik olmalı,
- Uygulandığı dokuya fiziksel olarak benzemelidir (50,51).

Alloplastik kemik greftlerinin ne kadar başarılı olabileceği, uygulanacağı bölgeye, kimyasal birleşimine, fiziksel formuna, biostabilitesine, mekanik özelliklerine bağlıdır. İçeriklerinde bulunan kimyasal yapının vücutta da bulunması başarı oranını artırır. İskelet sistemi primer olarak kalsiyum, yumuşak dokularda da hidrokarbondan oluşur ki çoğunlukla alloplastik kemik greftleri bu iki yapının temeli olan karbon ve kalsiyumdan elde edilmişlerdir (47).

2.9. Propolis

İşçi arılar tarafından bitkilerin filiz ve tomurcuklarından toplanan propolis; bitki reçineleri, bitki salgıları ve arıların salgıladıkları enzimlerle biyokimyasal olarak değişime uğratılarak üretilen bir maddedir (52). Propolisin rengi toplandığı bitkinin kaynağına bağlı olarak sarı, yeşil ve koyu kahverengiye kadar değişim gösterir (53). Eter, kloroform, aseton, distile su ve diğer organik çözücülerde kısmen, %95'lik etil alkolde büyük ölçüde çözünebilen propolis, %70'lik etil alkolde ekstrakte edilerek tıbbi alanda kullanılabilir (54).

Propolis toplama görevi bir grup işçi arı tarafından yerine getirilir. Bu işlem daha çok ilkbaharda başlayıp sonbahara kadar sürer. Nektar kıtlığı olan dönemlerde propolis toplayıcı arılar bu görevlerini askıya alıp kovan için nektar toplamaya giderler. Koşullar düzeline tekrar eski görevlerine geri dönerler.

Propolis toplayıcı arılar mandibulaları yardımı ile propolisi bitkiden kopartır. Ağızda yumuşatıp kendi enzimlerini de ekleyip pelet haline getirirler. Daha sonra peleti ön ayaklarının yardımı ile arka bacaklarındaki polen sepetine aktarırlar. Propolis yüklü olarak kovana gelen arılar ayakları yardımı ile peteğe sıkıca tutunurlar. Bu sırada kovanda bulunan 10-21 gün yaşındaki genç arılar mandibulaları ile propolisi taşıyıcı arının polen sepetinden alırlar ve ihtiyaç duyulan yerlerde kullanırlar (55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63).

Propolisi arılar; kendilerini, yavru arıları ve kovan içerisindeki besinleri çeşitli mikrobik etkilere (virüsler, bakteriler, funguslar vb.) korumak için ve kovanların yapımı, korunumu ve devamlılığında kullanırlar (63, 64, 65, 66). Ayrıca propolis, kovanların çatlayan kısımlarının tamirinde, kovanın dışının izole edilmesinde, giriş deliklerinin daraltılmasında, kovanın içine giren zararlı maddelerin ve böcek, fare, sinek vs gibi canlıların mumyalanarak etkisiz hale getirilmesi işlemlerinde de kullanılır (63, 65, 67).

2.9.1. Propolis Tarihçesi

Propolis, binlerce yıldır insanoğlu tarafından kullanılmaktadır. Bununla birlikte propolis terimi ilk kez Yunan yazarlar tarafından kullanılmıştır. “Pro” ön, giriş, “polis” ise şehir anlamındadır. Böylece şehrin yani arı kovanının savunulması anlamına gelmektedir. Propolis günümüzde popülerliğini artırmakta birlikte hala hakkında pek çok araştırma yapılması gerekmektedir (55).

Propolis, çok eski dönemlerden beri çeşitli amaçlarda özellikle tıpta kullanılmaktadır. Eski Yunan yazıtlarında propolisi iltihap yapmış yaralar ve çürükler için kür olarak tanımlanırken, Roma’da yaralar üzerine konulan lapa benzeri karışımın yapımında pratisyenler tarafından kullanılmıştır. İbranice eski dökümanlarda “Tzori” olarak geçmektedir ve terapötik özellikleri ile ilişkilendirilir. Avrupa’daki 12.yy kayıtları, propolisin medikal preparatlarının, ağız ve yara enfeksiyonlarının tedavisi ve diş sağlığı için kullanımından bahseder (55, 68, 69, 70).

Propolisin farmakolojik özellikleri çok eski çağlardan beri insanlar tarafından kullanılmıştır. Propolisin antimikrobiyal etkinliği ile birlikte lokal anestetik, karaciğer koruyucu, anti ülseratif, immün sistemi stimüle edici ve antikanserojenik aktiviteleri de değişik araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (70).



Resim 2.1 Arı kovanından elde edilmiş propolis örneği

2.9.2. Propolisin Fiziksel Özellikleri

Propolis reçineli ve yapışkan bir maddedir ve rengi kaynağına ve depolama süresine bağlı olarak sarıdan koyu kahverengiye kadar değişir. Propolis 15°C altında ise katı ve kırılğan, 25–45°C’de yumuşak ve yapışkan, 60–70°C’de ise sıvı halinde bulunur (71). Ham propolisin bileşimi kaynağına göre değişmekle birlikte, genellikle % 50 reçine ve balsam (flavonoidler, fenolik asitler, esterler), %20-35 mum, %10-15 esansiyel ve aromatik yağlar, %2-5 polen ve %5 diğer organik ve inorganik maddelerden oluşmaktadır (72, 73, 74, 75).

Propolis, suda ve hidrokarbonlarda çok az miktarda çözünür. Genellikle alkolde çözünen propolis, eter ya da kloroformda ise tamamen çözünür (76). Eter, kloroform, aseton, distile su ve diğer organik çözücülerde kısmen, %95'lik etil alkolde büyük ölçüde çözünebilen propolis, %70'lik etil alkolde ekstrakte edilerek tıbbi alanda kullanılabilir (54).

Madde	Miktar
Balzam ve Reçine	% 50-70
Bitki mumu	% 30-50
Bitki poleni	% 5-10
Temel yağlar	% 10
Organik madde ve mineraller	%5

Tablo 2.1.Propolisin fiziksel özellikleri (73)

2.9.3. Propolisin Kimyasal Özellikleri

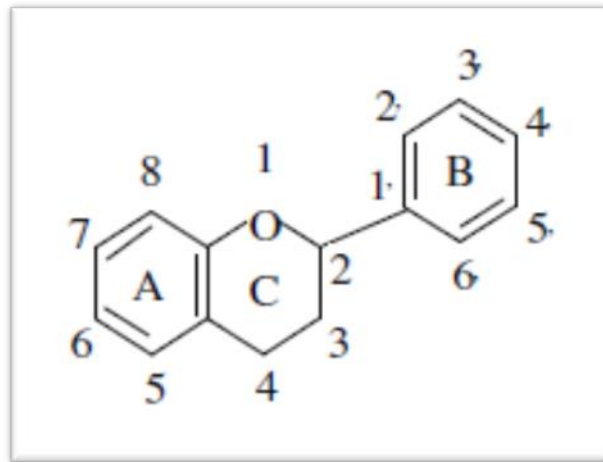
Propolisin kimyasal yapısını arıların toplamak için kullandığı bitki kaynağının bileşimi belirlemektedir (77). Örnek verecek olursak Akdeniz Bölgesi'nden toplanan propolis tek tip özellik gösterip, temel bileşeni diterpenik asitler iken Brezilya'da 12 farklı tipte propolis tanımlanmıştır (78, 79). Karasal iklime sahip bölgelerden toplanan propolisin ana kaynağının kavak bitkisi tomurcukları olduğu belirlenmiş ve bu propolisin çeşitli flavonoidlerini içeren fenolik bileşikler, aromatik asitler ve onların esterleri bakımından zengin olduğu belirlenmiştir (77). Yine tropik bölgelerde bal arıları başka propolis kaynaklarını tercih etmektedirler. Böylece tropik bölgelerde üretilen propolisin kimyasal yapısı kavak propolisinden tümüyle farklı olmaktadır (80). Tropikal bölgelerden toplanan propolisin karasal iklime sahip bölgelerden toplanan propolisten farklı kimyasal yapı göstermesinin nedeni, vejetasyon farklılığıdır (73, 80). Türkiye'de farklı bölgelerden toplanmış propolislerin ana bileşenlerinin naringenin, galangin,

krisin, pinobaksin, kuarsetin gibi flavonoidler ve kafeik asit gibi fenolik asitlerden oluştuğunu göstermiştir (81).

Bioflavonoidler antioksidan moleküller olduğundan, serbest radikal süpürmede çok önemli rol oynamaktadırlar. Propolisin çeşitli enzim sistemlerinde, hücre metabolizmasında ve enflamasyon gideriminde uyarıcı etki yaptığı araştırmalarla gözlenmiştir (82).

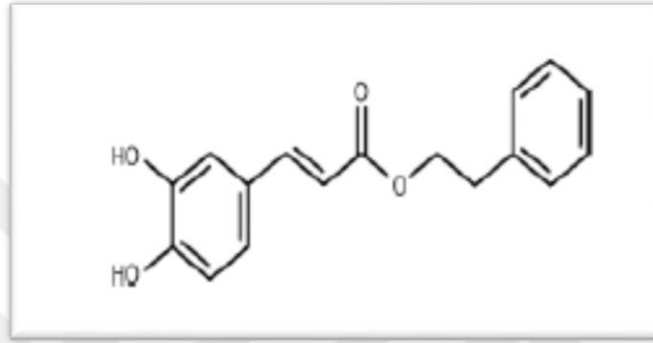
Yapılan incelemelerde tüm dünyada toplanan propolisin içinde 300 e yakın kimyasal bileşen tespit edilmiştir. Propolis; polifenoller (flavonoid aglikonlar, fenolik asitler) ve onların esterleri, fenolik aldehytler, alkoller ve ketonlar, seskiterpen kinonlar, kumarinler, tripenler (özellikle de stereoidler), aminoasitler ve inorganik bileşikler gibi çeşitli kimyasal bileşikler içermektedir (76,83).

Propolisin yapısında pinosembrin, akasetin, krisin, katesin, naringenin, galangin, luteolin, kamferol, apigenin, mirsetin, kuarsetin gibi flavonoidlerin yanı sıra kafeik asit ve sinamik asit gibi fenolik asitlerde saptanmıştır (84,85). Ayrıca propoliste Mg, Ca, I, K, Na, Cu, Zn, Mn ve Fe gibi elementlerle B1, B2, B6, C ve E vitaminleri ile çok sayıda yağ asidi tanımlanmıştır (85, 86, 87, 88). Flavonoidler organik kısmın en önemli bölümüdür ve üzerinde en fazla çalışma yapılmış maddelerdir. Propolisin biyolojik aktivitesinin önemli bir kısmından sorumludur (73, 86). Bu kısım pinosembrin, pinostrobin, kuersetin gibi maddeler ile farklı mineral ve oligo elemanlar içerir. Flavon ve flavonoidler propolise antifungal, antiviral, antibakteriyel ve antihipertansif özellikler kazandıran maddelerdir (55, 88)



Şekil 2.1. Flavonoidlerin zincir yapıları (90)

Caffeic Acid Phenethyl Ester(CAPE), propolis içeriğinde bulunan ve izole edilen çok geniş etkileri bulunan başka bir maddedir. Fenolik bir bileşik olan CAPE, propolisin biyolojik olarak aktif bileşenlerinden biri olmakla beraber, antioksidan, anti-inflamatuar, antiviral, immün uyarıcı, reperfüzyon hasar önleyici ve antikanser özellikleri bulunan bir bileşiktir. En önemli özelliklerinden biri tümör hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisidir (91, 92, 93).



Şekil 2.2. CAPE (Kafeik asit fenetil ester) (104)

CAPE en güçlü lipofilik antioksidanlardan birisidir (94). Meyve, sebze ve çayda da bulunan CAPE'in en etkili biyolojik tipi propolis içerisinde bulunan formudur (95).

Yapılan birçok hayvan deney modelinde propolisin osteoklastogenezi inhibe ettiği ve bu etkisini içeriğindeki aktif bir komponent olan CAPE aracılığıyla yaptığı ortaya çıkarılmıştır. Propolisin tüm bu etkileri nedeniyle yeni kemik oluşumuna katkısı olabileceği düşünülmektedir.

Bileşikler	Tanımlanan Bileşik Sayısı
Flavanoidler	38
Hidroksiflavonlar	27
Hidroksiflavononlar	11
Kalkonlar	2
Benzoik asit ve türevleri	12
Asitler	8
Esterler	4
Benzaldehit türevleri	2
Sinamil ve sinamik asit ve türevleri	14
Alkoller, ketonlar, fenoller	8
Heteroaromatik bileşikler	12
Terpen ve sekuterpen ve türevleri	7
Alifatik hidrokarbonlar	6
Sekuterpen ve triterpen hidrokarbonlar	11
Steroller ve steroid hidrokarbonlar	6
Mineraller	22
Şeker	7
Aminoasitler	24

Tablo 2.2. Propoliste tanımlanmış bileşenler ve sayıları (96)

2.9.4. Propolisin Biyolojik Özellikleri

Propolisin yapılan farklı çalışmalarında, metanol, etanol, su, yağ ve eter ekstratları hazırlanmıştır. Propolis örneklerinin orijinlerine göre biyolojik aktivitelerini araştıran birçok çalışma yapılmıştır. Örneğin Brezilya propolisinin sitostatik, serbest radikal koruyucu ve anti-bakteriyel özelliği belirtilmiştir. Yine Bulgar propolisinin içinde anti-paraziter, bakterisidal, anti-fungal özelliği keşfedilmiştir. Türk propolisinin ise anti-fungal, anti-oksidan, anti-bakteriyel, anti-karsinojenik ve yara iyileştirici gibi biyolojik aktiviteleri incelenmiştir (97).

Propolis birçok değişik ülkede elde edilmektedir. Bu durum kimyasal yapılarının farklı olmasına dolayısı ile farklı biyolojik aktiviteye sahip olmasına neden olmaktadır. Fakat bu durum her farmakolojik özellik için aynı değildir. Karasal ve ekvatorial bölgelerinden toplanan ve farklı kimyasal yapısı olan propolislerin birbirine benzer biyolojik aktiviteler göstermiştir (98, 99).

Propolis, anti-bakteriyel, anti-viral, anti-oksidan, anti-ülser, anti-fungal, anti-inflamatuar, anti-hipertansif, anti-tümör, anti-karsinojenik, lokal anestetik, sitotoksik, immünomodülatör, immünohistimülant gibi birçok biyolojik aktiviteye sahiptir. Bu özelliklerinden dolayı propolis bitkisel üretim, kozmetik, tıp alanında, apiterapide, biyokozmetik, diş hekimliği ve veterinerlik alanlarında kullanılmaları birçok ülkede önem kazanmıştır (100, 101). Ayrıca propolisin *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escheria coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Enterococcus faecalis* ve *Bacillus subtilis*'e karşı antibakteriyel etkisi belirlenmiştir (102, 103).

Flavanoidler propolisin önemli bileşenlerinden olup birçok bakteriye karşı etkisi olduğu bildirilmiştir. İçinde zengin flavanoid bileşenleri bulunan ürünlerin antibakteriyel aktiviteleri gram pozitif bakterilere karşı gram negatiflere göre daha etkilidir (102).

Yapılan araştırmalarda propolisin yapısında bazı mineraller de bulunmuştur.. Bunlardan bazıları; Kalsiyum (Ca), Magnezyum (Mg), Potasyum (K), Sodyum (Na), Demir (Fe), Bakır (Cu), inko (Zn) ve Mangan (Mn) olarak belirlenmiştir (104).

Propolisin diğer önemli bir bileşeni de sinamik asit ve turevleridir. Bu bileşenler gram (+) ve gram (-) bakterilere karşı güçlü antibiyotik özellik gösterirler. Bunun sonucunda yaraların iyileştirilmesinde etkili sonuçlar verdiği ortaya konulmuştur (105,106).

2.9.5. Propolisin Anti-oksidan zellikleri

Propolisin antioksidan etkisi araştırmacıların son yıllarda ilgi odağı haline gelmiş ve bu konu ile ilgili pek çok araştırma yapılmıştır. Serbest radikaller organizma tarafından üretilmekte ve hücre yaşlanmasına sebep olmaktadır. Bunun sonucunda Alzheimer, kanser türleri, Parkinson, kardiyovasküler rahatsızlıklar, vs gibi sistemik hastalıklara zemin hazırlarlar. Süperoksit dismutaz(SOD), katalaz(CAT), glutatyon peroksidaz(GP), glutatyon redüktaz(GR) organizmanın antioksidan enzimleri olup ile serbest radikalleri temizlerler. Bunların yetersiz olduğu durumlarda antioksidan vitaminler (zellikle C ve E) ikincil savunma hattı olarak devreye girerler (107).

Propolisin içeriğindeki biyoflavonoidler antioksidan moleküllerdir ve serbest radikal süpürücü özellikleri vardır. Flavanoidlerin kalp-damar sistemi üzerinde olumlu etkileri olup, kan dolaşımını düzenler ve kılcal damar atlamalarını azaltırlar. Kardiyovasküler hastalıklarda önemli rol oynayan LDL'yi oksidasyondan koruduğu belirlenmiştir. Ayrıca toksik maddelere karşı koruyucu özelliği olup yaşlanmayı geciktirdiği tespit edilmiştir. (108).

Propoliste bulunan flavanoidler ve turevlerinin, serbest radikalleri temizlemede, etkili bir rol üstlenmekte olup bazı flavanoidler, doymamış yağ asitleri peroksi radikalleriyle reaksiyona girer ve lipit peroksidasyonunun baslangıç aşamasına etki ederek temizleyici rol oynarlar. Bununla birlikte flavanoidler lipo oksijenaz ve siklo oksijenaz enzimlerini inhibe eder ve antioksidan etki gösterebilirler (109).

CAPE propolis ekstraktlarının önemli başlıca bileşenleridir. Yapılan araştırmalarda CAPE nin Reaktif Oksijen Türlerine (ROT) karşı reaksiyonu araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlarda CAPE içeren propolis özünün süperoksit anyon oluşumunu inhibe ettiği grlmştir (110).

Propolisin antioksidan özelliğinin başlıca mekanizması; serbest radikallerin meydana getirdiği DNA hasarlarını tamir edip lipid peroksidasyonuna neden olan polimerize zincir reaksiyonlarını kırarlar ve ROS'ları dokulardan uzaklaştırma görevinden kaynaklanmaktadır (111).

2.9.6. Propolisin Anti-Bakteriyel Etkisi

Arılar, propolisi başka canlıların içeri girmesini önlemek için, kovanın giriş deliğinde oluşan çatlakları onarmak, kovanın iç duvarlarını düzgün hale getirmek, ve kovan içerisine girmiş olan taşıyamayacakları kadar büyük canlıları da kaplayarak enfeksiyon oluşmasını engellemek için kullanırlar (111). Propolis; petek temizliğinde, kraliçe arının bıraktığı yumurtanın steril bir ortamda gelişmesinde ve yavruların enfeksiyonlara karşı korunmasında da etkili olmaktadır (54, 80, 113, 114).

Propolis ile ilgili yapılan birçok çalışmada antimikrobiyal özellikler taşıdığı görülmüş ve insan sağlığı için çok önemli olan vitaminler, mineral ve elementler de içerdiği açıklanmıştır. Aristo zamanından günümüze propolisin antimikrobiyal aktivitesi üzerine birçok bilimsel çalışma yapılmıştır (115).

Propolisin antimikrobiyal etkisi bakterileri, virüsleri, mantarları ve parazitleri kapsamaktadır. Propolisin antimikrobik etkinliğinin esas olarak pinosembrin, galangin, pinosilvin ve pinobanksin gibi flavonoidler, sinnamik asit, benzil pkuarat ve kafeik asit esterlerine bağlı olduğu bildirilmiştir (91,116).

Propolisin antibakteriyel etkileri özellikle gram (+) koklar ile gram (-) basiller üzerinde olduğu gözlenmiş ve içindeki antibakteriyel etki gösteren maddelerin en önemlisi kafeik asit ve esterleridir. CAPE immünomodülatör etki gösterdiği sonucuna varılmış ve gram (+) enfeksiyonlara karşı profilaktik olarak etkili olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda Sinnamik asit glikozil transferaz enziminin aktivitesini de inhibe ettiği rapor edilmiştir (91).

Brezilya propolisinin antibakteriyel etkisinde mevsimin etkisinin araştırıldığı bir çalışma yapılmış ve bu çalışmada propolisin düşük konsantrasyonlarında (% 0,4) gram(+) bakterilerin büyümesini inhibe ettiği görülmüştür. Yine aynı çalışmada gram (-) bakterileri ise daha az etkilediğini bildirmişlerdir. Ancak bu etkinin bakterisit değil

bakteriyostatik olduğunu söylemişlerdir. Mevsimsel etki ise bu çalışmada ortaya çıkmamıştır (117).

Popravko hem bitkilerden alınan propolis hammaddesini hem de propolisi kullanarak antimikrobiyal etki ve buğday tanelerinin filizlenmesini engelleyici etkilerini test etmiştir. Çıkan sonuca göre propoliste bulunan biyolojik aktif maddelerin temelini bitkilerden sentezlenen koruyucu maddeler olup bu maddelerin arıların kendi spesifik biyosentetik ürünü olmadığını ispat edilmiştir (118).

Yine Brezilya propolisi kökenli bir araştırmada periodontitis problemine sebep olan bakteriye karşı propolisin inhibitör aktivitesi test edilmiş ve test edilen tüm bakteri türlerinin propolis ekstraktlarına karşı duyarlı olduğu belirlenmiştir (119).

Türkiye’de farklı coğrafik bölgelerden (Bursa, İzmir, Kayseri, Sivas, Yozgat, Erzurum, Hatay, Artvin) toplanan propolis örneklerinin antibakteriyal etkilerini *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı incelenmiş ve sonucunda propolis örneklerinin tümü *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı bir aktivite göstermiş bununla birlikte *Escherichia coli* bakterisine karşı gözlenen antibakteriyal aktivite daha zayıf bulunmuştur (120).

İn-vitro bir çalışmada işe propolisin % 70’lik etanolik ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi üzerine çalışılmış ve periodontopatik mikroorganizmalar olan; *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* ve ayrıca *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* mikroorganizmalarına karşı testler yapılmıştır. Bunların sonucunda propolisin periodontal terapide destek olarak kullanılabileceği kanısına varılmıştır (121).

Türkiye’nin çeşitli bölgelerinden toplanan propolis örneklerinin üzerinde yapılan bir çalışmada propolisin antimikrobiyal aktivitesi onbir adet özellikle oral kavite enfeksiyonlarına neden olan anaerobik mikroorganizmalara karşı test edilmiştir. Bu deneyde agar dilüsyon yöntemi ve makro tüp dilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Sonuç olarak propolis örnekleri tüm test edilen anaerobik mikroorganizmalara karşı etkili olduğu ortaya çıkarılmıştır (122).

2.9.7. Propolisin Anti-inflamatuar Etkisi

Propolisin anti-inflamatuar etkisinin, trombosit agregasyonunu önlemesine, prostoglandinler ve lökotrienler gibi ekazonoidlerin sentezini inhibe etmesine ve histamin gibi enflamasyonda rol oynayan mediatörlerin salınımı engellemesine bağlı olduğu ileri sürülmüştür. Propolis ekstraktlarının önemli bir bileşeni olan CAPE dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe ederek anti-inflamatuar etki oluşturduğu belirtilmektedir (123,124).

Propolisin biyolojik olarak en aktif formu olan CAPE, inflamatuvar süreçte nötrofil migrasyonunu engelleyip inflamatuvar sürecin çıkmaz bir durum haline gelmesini önler (125, 126). CAPE araşidonik asit ve lineloik asidin 5-lipooksijenaz enzimiyle yıkımını inhibe eder ve nötrofillerden serbest oksijen radikali oluşumunu engeller (126, 127, 128, 129). Lipid peroksidasyonunu ve lipooksijenaz aktivitesini bloke eder. Antiinflamatuvar etkilerini araşidonik asit mekanizmasını düzenleyerek ve lökotiren üretimini azaltarak gösterdiği bilinmektedir (128).

İnsan kıkırdak dokusu ve kondrosit kültüründe propolis ekstraktı ile yapılan bir çalışmada kronik enflamasyonda salınan anahtar moleküller olan nitrik oksit (NO) ve glikozaminoglikanlar (GAGs) üzerine olan etkilerini incelenmiştir. Çalışmanın sonunda propolis ve onun aktif komponenti olan CAPE'nin IL-1 β üzerine ciddi etkileri olduğu bulunmuştur. Ayrıca propolis ekstraktının sahip olduğu aktif komponentlerden dolayı çok iyi serbest radikal temizleyici etkisinin olduğu ve kıkırdak dokuyu koruduğu ifade edilmiştir (130).

Formaldehit ile eklemlerde oluşturulan artritise karşı propolis ekstraktı lokal olarak kullanıldığında iyi derecede anti-inflamatuar etki göstermiştir. Çıkan sonuçlarda elde edilen bu anti-inflamatuar etki prednisolonun anti-inflamatuar etkisi ile karşılaştırıldığı zaman prednisolonun anti-inflamatuar etkisine çok yakın bulunmuştur. Artrit oluşturulmuş ratlarda propolisin AST ve ALT enzimlerinin seviyelerini kısmen düşürdüğü gösterilmiş olsa da bu etkinin mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir (131).

2.9.8. Propolisin Toksik Etkisi

Propolis miktarı aşırı olmadığı sürece toksik etki göstermez. Bazı flavonidler, Ames testinde mutajen etki göstermelerine karşın, propolis için mutajen sonuç vermemiştir. Propolise karşı bazı kişilerin aşırı duyarlı olabilecekleri, bundan dolayı alerjik etkilerinin de olabileceği belirtilmektedir (115). Yine normalden daha yüksek alımlarda propolisin insan ve hayvanlar için tehlikeli olabileceği göz önüne alınmalıdır (52, 132). Ancak propolisin belirtilen bu toksik etkilerini destekleyen literatür veriye rastlanmamıştır.

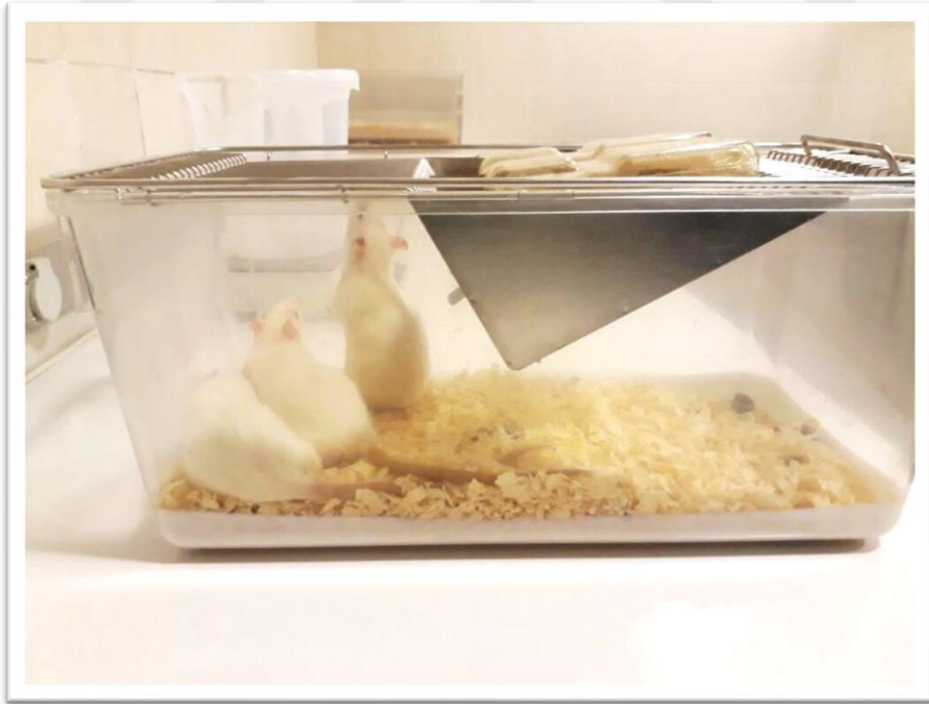
Sayıları az olmakla birlikte çeşitli propolis alerjisi ve kontak dermatit vakaları (133, 134) ve arıcılar arasında propolise karşı duyarlılıklar gözlenmiştir (135, 136). Diğer yandan, etanol ve su ile elde edilen saf propolisin histamin salgısını inhibe ederek anti-alerjik özellik göstermektedir (137).

Hollands ve ark. propolisin alkolle distile edilerek sağlanan özünü kullanılarak fare ve ratlar üzerinde bir dizi deney yapılmıştır. Kontrol gruplarına su içinde alkol veya sadece su verildi. İlk iki deneyde Wistar ratlar içtikleri suyun içine 1875 mg/kg/gün propolis 30 gün diğer deneyde ise 2470mg/kg/gün propolis 60 gün verildi. Her iki deneyde de kontrol grupları ile karşılaştırıldıkları zaman klinik görünümünde, davranışlarında, kilolarında, idrar yapmalarında ve mortalitede bir farklılık görülmedi. Yine histolojik değerlendirmede 30 günlük çalışmada değişiklik görülmezken 60 günlük çalışmada kontrol grubundan bir hayvanda hepatik nekroz görüldü (138).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızın hayvan deneyleri bölümü Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezi (YÜDATEM)'nde, histomorfometrik incelemeler bölümü de Yeditepe Üniversitesi Histoloji Anabilim Dalında yapıldı. Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan 14/10/2014 tarihinde alınan 415 etik kurul karar numarası onayı alındıktan sonra hayvan deneyine başlandı. (Ek-1)

Bu çalışma için kullanılacak olan ratlar, Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edildi. Denekler, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık olacak şekilde tutuldu. Rutin beslenmeleri serbest diyet ve içme suyu ile sağlandı. Oda ısıları 22 ± 2 °C' de sabit tutuldu ve buldukları odanın nispi nem oranının % 50±10 arasında olması sağlandı. Denekler 3'erli gruplar altında kafeslerde ve kafeslerin tabanlarında talaş olacak şekilde deney süresince barındırıldı(Resim 3.1).



Resim 3. 1 Ratların kafes içi görüntüleri.

Çalışmamızda otuz altı adet Rat randomize olarak altı gruba ayrıldı. Deney için 5'şerli 6 grup olacak şekilde ağırlıkları 300-400 gr arasında değişen 30 Spraque-Dawley erkek rat kullanıldı.

1.Grup(A3) (n=5): Defekt oluşturulmasının ardından defekt boş bırakıldı. 3. haftada sakrifikasyon.

2.Grup(A6) (n=5): Defekt oluşturulmasının ardından defekt boş bırakıldı. 6. haftada sakrifikasyon.

3.Grup(B3) (n=5): Defekt oluşturulmasının ardından sistemik propolis uygulandı. 3. haftada sakrifikasyon.

4.Grup(B6) (n=5): Defekt oluşturulmasının ardından sistemik propolis uygulandı. 6. haftada sakrifikasyon.

5.Grup(C3) (n=5): Defekt oluşturulmasının ardından lokal alloplastik greft(ReOss, Intra-Lock, USA) ve sistemik propolis uygulandı. 3. haftada sakrifikasyon.

6.Grup(C6) (n=5): Defekt oluşturulmasını ardından lokal alloplastik greft(ReOss, Intra-Lock, USA) ve sistemik propolis uygulandı. 6. haftada sakrifikasyon.

3.1.Materyalin Hazırlanması

Propolisin Hazırlanması

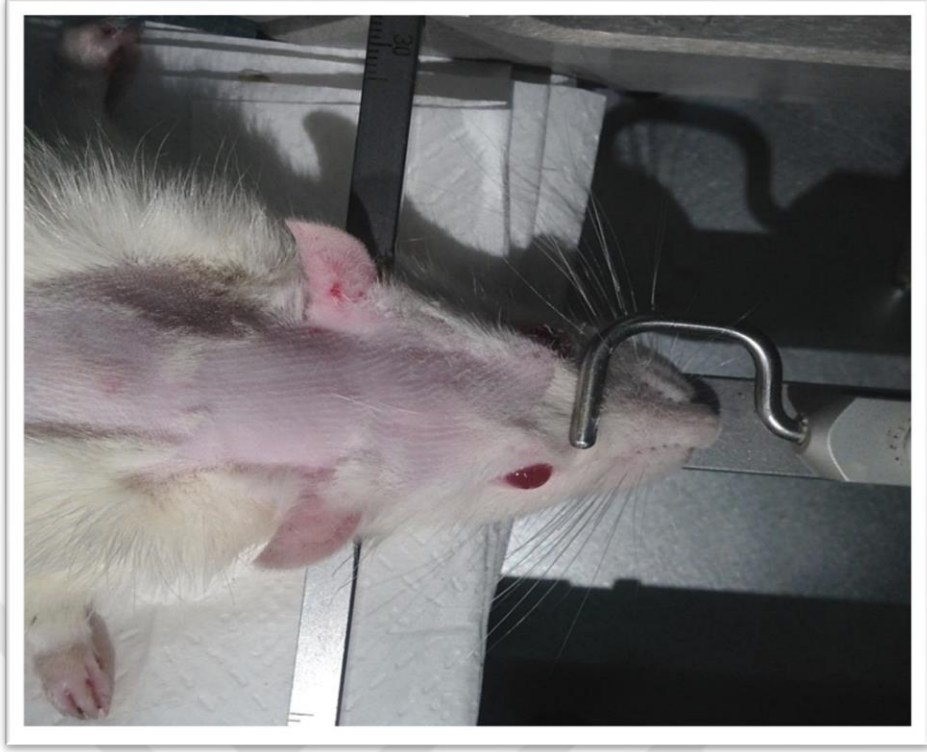
Çalışmamızda kullandığımız propolis Bursa ili Karacabey ilçesinin dağlık kesiminden elde edilmiştir. Uludağ Üniversitesi 'nde toplanan propolis işlem göreceği zamana kadar ışıktan ve güneş ışıklarından korunmuştur. Steril kaplarda %90'lık alkol ile işlemden geçirilmiştir. Bu işlem sayesinde balmumundan ayrılmış daha sonra mikser yardımı ile saf propolis elde edilmiştir. Elde ettiğimiz saf propolis cerrahi işlem yapılan tarihin ertesi günü 4 gruba sakrifiye edilecekleri tarihe kadar düzenli olarak verilmiştir. Her bir rata günde 100mg/kg propolis sistemik olarak gavaj yöntemi ile uygulanmıştır(166).

3.2 Cerrahi Teknik

Deney hayvanları genel anestezi altına, intramüsküler enjeksiyon yöntemi ve Ketamin HCl (Ketalar; Eczacıbaşı-Warner Lambert, İstanbul, Türkiye) 90 mg/kg oranında, trankilizan olarak α -2 adrenerjik agonisti Ksilizan (Rompun %2; Bayer, İstanbul, Türkiye) 8 mg/kg oranları ile alındı.

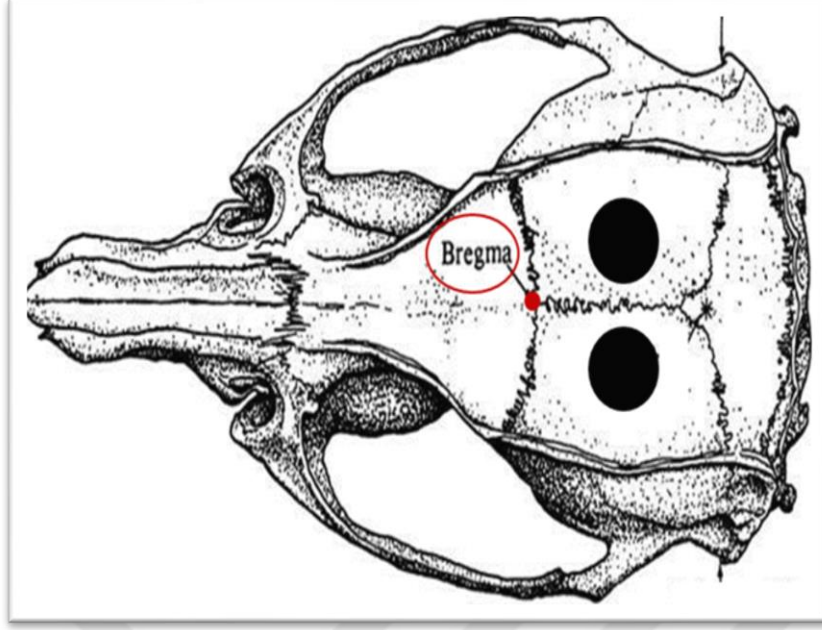
Anestezinin derecesini gözlemlmek için önce göz kapağı reflekslerinin kaybolması beklendi ve daha sonra çimdikleme refleksi ile değerlendirildi. Anestezi uygulanmamış taraftaki ayak çimdiklenerek tepki ölçüldü. Tepki veren hayvanlarda bir süre daha beklenerek tekrar test yapıldı. Tepki vermeye devam eden hayvanlara ek doz uygulaması yapıldı ve yeterli anestezi derinlik sağlanmış oldu.

Cerrahi işlem başlamadan önce denekler dorsa ventral pozisyonda stereotaktik frame aygıtında stabil pozisyona getirildi. Baş boyun bölgesinin hareketsiz kaldığı anlaşıldıktan sonra kulaklar arasında sagittal suture boyunca sınıra kadar 20-25 mm insizyon yapıldı. Subkutan dokular ve periostu içine alacak şekilde insizyon yapıldı ve kemik yüzeyi açığa çıkartılacak şekilde flap kaldırılarak kranyum ekspozite edildi (Resim 3.2)



Resim 3.2 Ratların dorsa ventral pozisyonda stereotaktik frame aygıtında stabil pozisyona getirilmesi.

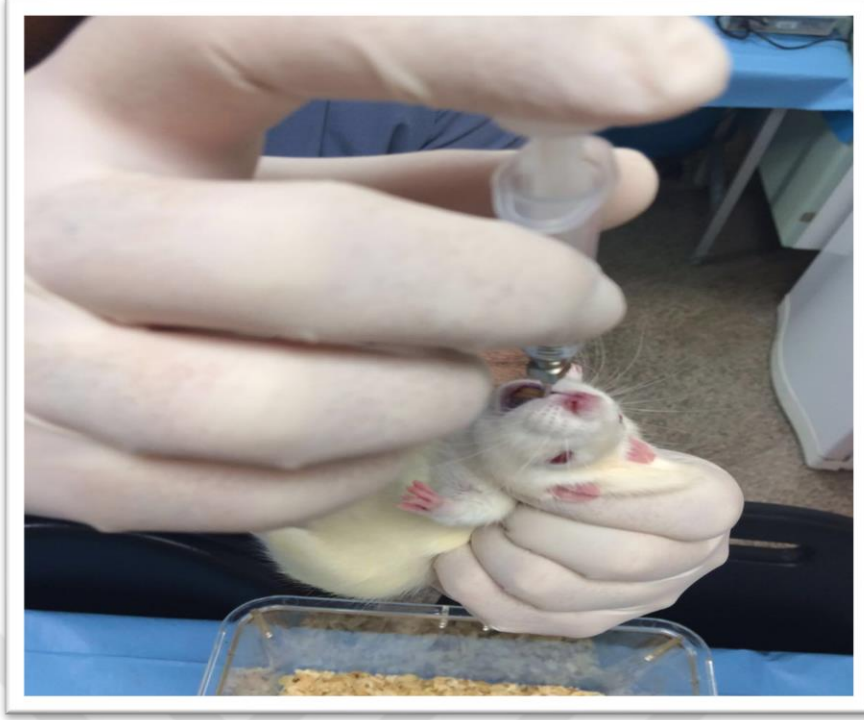
Referans olarak Bregma noktası alındı ve 5 mm çapındaki trefayn frez ile sağ parietal kemikten bikortikal kemik fragmanı irrigasyon altında çıkarıldı. Soğutma işlemi için % 0,9'luk steril sodyum klorür kullanıldı. Yapılan cerrahi işlemler esnasında deney hayvanlarının dura materinin zarar görmemesi için azami dikkat gösterildi(Resim 3.4)



Resim 3. 3 Rat kafatası diyagramı (106)



Resim 3.4 5 mm çapındaki trefayn frez ile sağ parietal kemikten bikortikal kemik fragmanının çıkarılması.



Resim 3. 5 Ratların gavaj yolu ile beslenmesi.

4 grubun(A3, A6, B3, B6) kavileri boş bırakıldı. Kalan 2 grupta(C3, C6) ise sentetik kemik graft(ReOss, Intra-Lock,USA) materyali kavite içine yerleştirildi. Daha sonra açılan flap, 3-0 ipek suture (İpek; Doğsan; Trabzon, Türkiye) ile primer olarak kapatıldı ve suture hattı Batticon ile silindi(Resim 3.6).



Resim 3.6 Alloplastik sentetik kemik grefti((ReOss, Intra-Lock, USA)

Operasyon sonrası hala genel anestezi etkisinde olan deney hayvanlarının vücut ısılarını korumak amacıyla ısıtıcıya yerleştirildi. Ayrıca sıvı kayıplarını engellemek için subkutan olarak 5 ml sodyum klorür enjekte edildi. Uyanmaya başladıkları zaman 3'erli gruplar halinde toplam 12 kafese yerleştirildiler.

Deney hayvanlarından ilk 3 grup 21 gün sonra ikinci 3 grup ise 42 gün sonra sakrifiye edildi. Sakrifikasyon, inhalasyon anestezisini takiben boyunlarının kırılması ile gerçekleştirildi ve parietal kemikleri diseke edildi(Resim 3.7)



Resim 3. 7 Diseke edilmiş rat kalvaryumu.

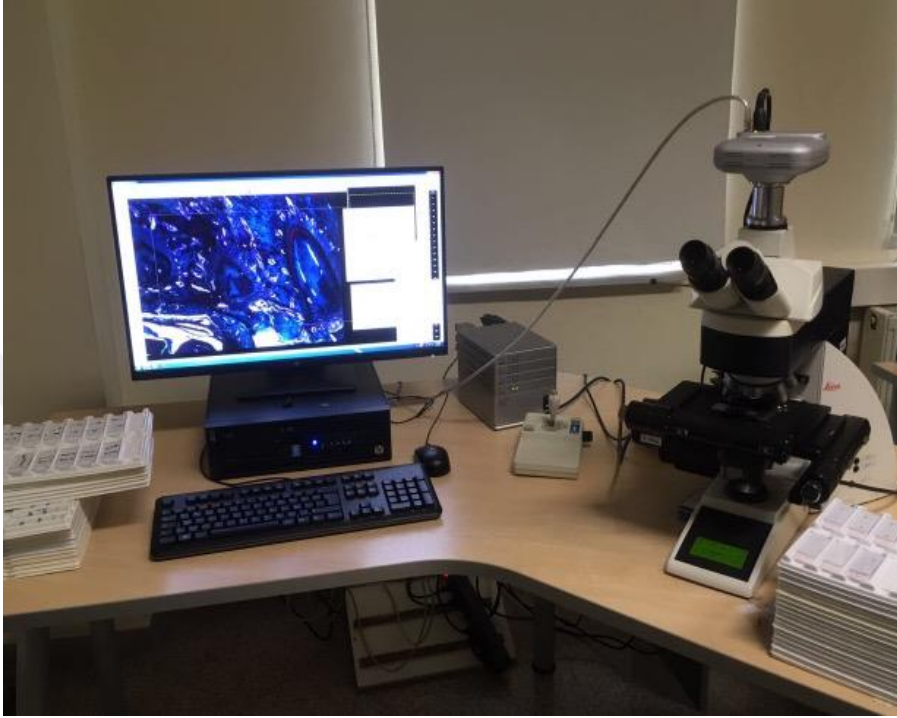
3.3 Histolojik Araştırma

Sakrifasyon işlemi bittikten sonra ratların kalvaryumları Morse solüsyonunda (%10 sodyum sitrat ve %22,5 formik asit) dekalsifiye edildi. Bu işlem 4 hafta sürdü ve haftada iki kere solüsyonlar değiştirildi. Kemiklerin dekalsifiye olduklarından emin olmak için kanül batırılarak test edildi. Yeterli yumuşama sağlandıktan sonra defekt alanı parafine vertikal yönde gömüldü.

Elde edilen bloklar 1/20 sistemik kesitleme örnekleme tekniği ile oranına göre Mikrotom cihazında seri olarak kesilmiştir. Her bir kesit defekt alanın periferinden merkezine doğru 10 ar mikron olacak şekilde alınmıştır. Poly L lisin kaplı lamlara aktarılan kesitler Masson-Trikom ile boyanarak lameller ile kapatılmıştır.

Histomorfometrik inceleme, CCD dijital kamera (Optronics Microfire 1600x1200P, Goleta CA, ABD) ,görüntü kartı (ATI FireGL Advance Micro Device, Camberly, İngiltere), bilgisayar kontrollü motorize tabla (Heidenhein, Traunreut, Almanya) ve ışık mikroskobu(Leica DM 4000B, Wetzlar, Almanya) ile beraber seroloji

çalışma istasyonunda incelenmiştir. Ölçüm işlemi ise Stereoinvestigator 10. 1 (Microbrightfield, Willison, ABD) programı kullanılmıştır. Ayrıca hacim ölçümlerinde Leica C Plan X10 objektif (NA=0,22) kullanılmıştır(Resim 3.8).



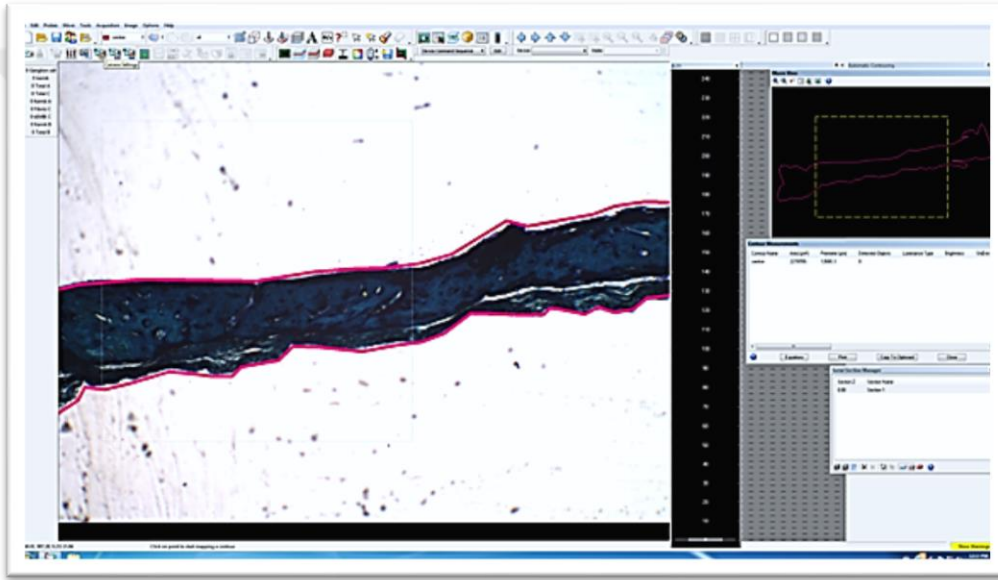
Resim 3.8 Stereoloji çalışma alanı

Alveoler kemik ölçümlerini Stereoloji istasyonunda Cavalieri prensibini kullanarak yaptık ve ilgili alana noktalı alan ölçüm cetvelini uyguladık. Kalvaryumda yapmış olduğumuz pilot çalışma sonrasında noktalı alan cetvelinin ölçüleri $d=100 \mu\text{m}$ olarak saptadık. Noktalı alan cetvelinin her noktası $10000 \mu\text{m}^2$ denk gelmektedir. Çıkan sonuçlar aşağıdaki formülde yerine yerleştirerek ortaya çıkmıştır.

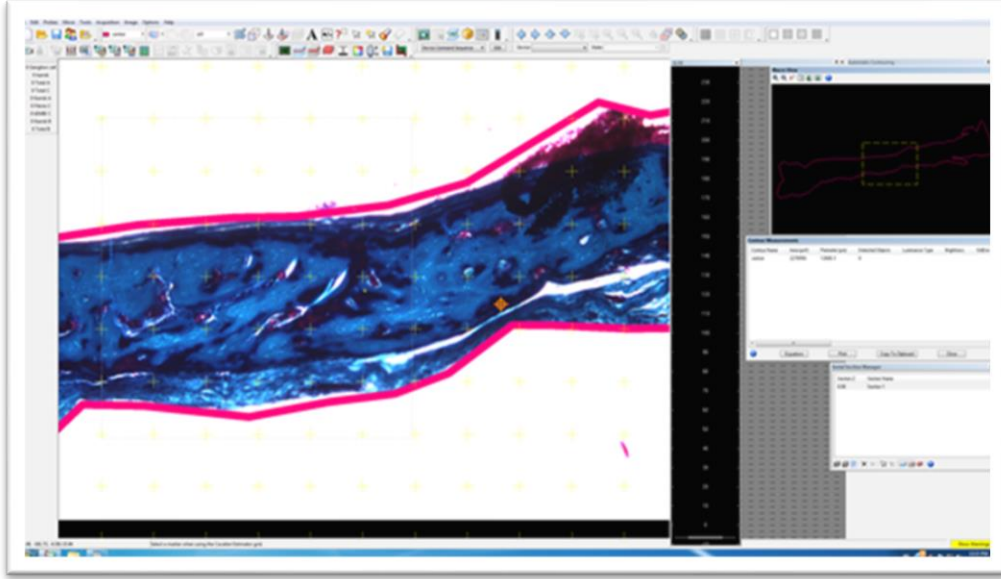
$$\text{Hacim (alveoler kemik)} = t \times a/p \times \Sigma p$$

Yukarıdaki formülde “t” ortalama kesit kalınlığını, “a/p” noktalı alan ölçüm cetvelindeki her bir noktanın gerçekte temsil ettiği alanı ifade etmektedir. Ölçüm sonucunda kesitlerin hacimleri toplanıp örnekleme oranı ile çarpılmış ve iyileşen kemiğin toplam hacimleri bulunmuştur.

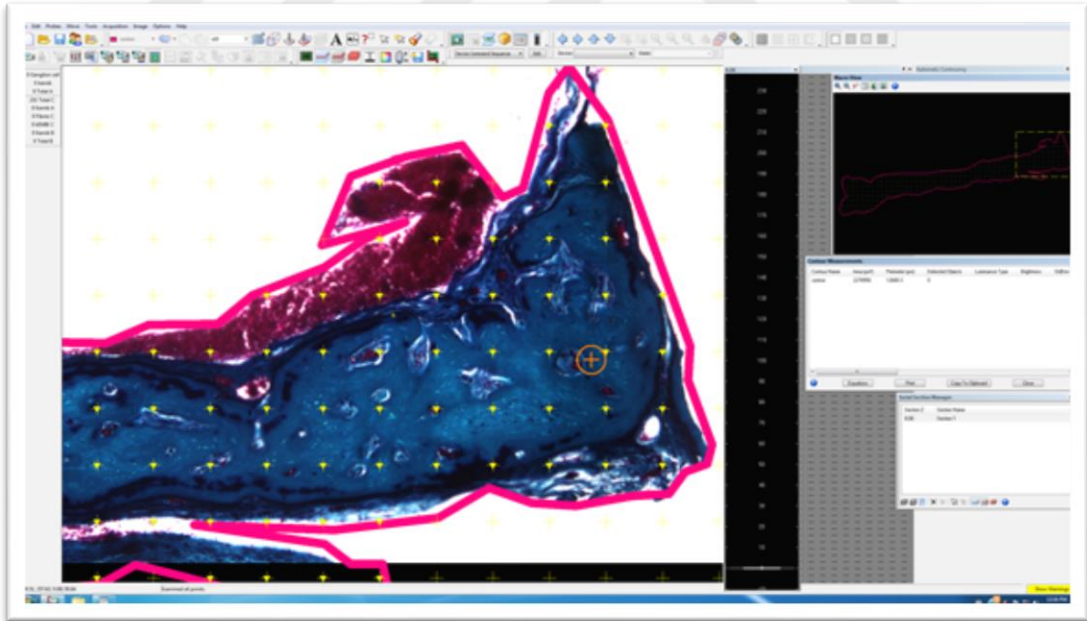
Yapmış olduğumuz hacim ölçümleri sırasında elde ettiğimiz kesit sayısı ve kullanılan nokta sıklığının yeterli olup olmadığını anlamak amacı ile hata kat sayılarına bakılmıştır. A3 grubu hata kat sayısı $0,010 \pm 0,003$ (Ortalama $\pm SH$), B3 grubu hata katsayısı $0,010 \pm 0,001$ (Ortalama $\pm SH$) C3 grubu hata katsayısı $0,010 \pm 0,002$ (Ortalama $\pm SH$), A6 grubu hata katsayısı $0,010 \pm 0,001$ (Ortalama $\pm SH$), B6 grubu hata katsayısı $0,010 \pm 0,003$ (Ortalama $\pm SH$), C6 grubu hata katsayısı $0,010 \pm 0,002$ (Ortalama $\pm SH$) bulunmuş ve her bir grup için değişim katsayılarına bakılmıştır.



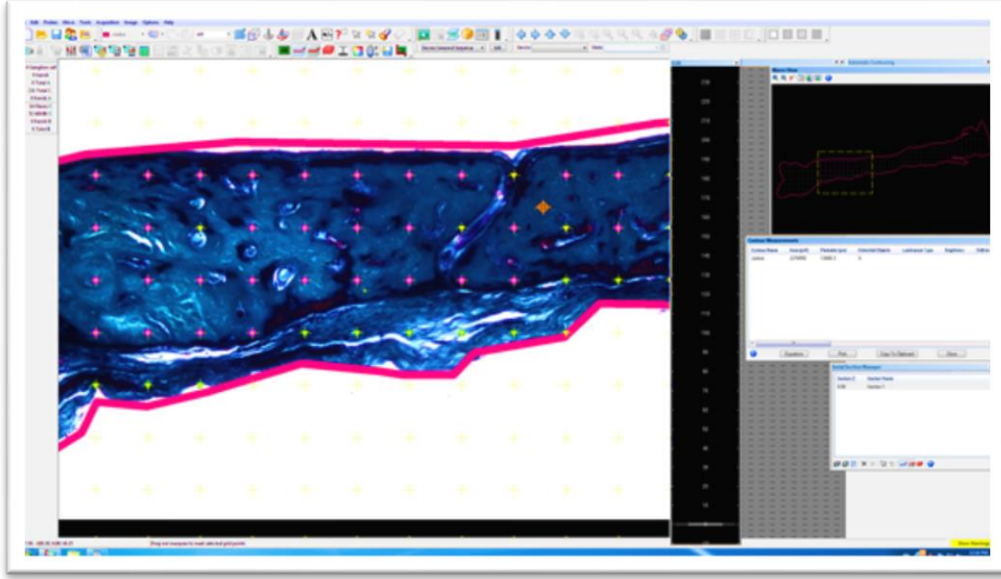
Şekil 3.1 Histomorfometrik olarak ölçülecek alanın sınırlarının belirlenmesi.



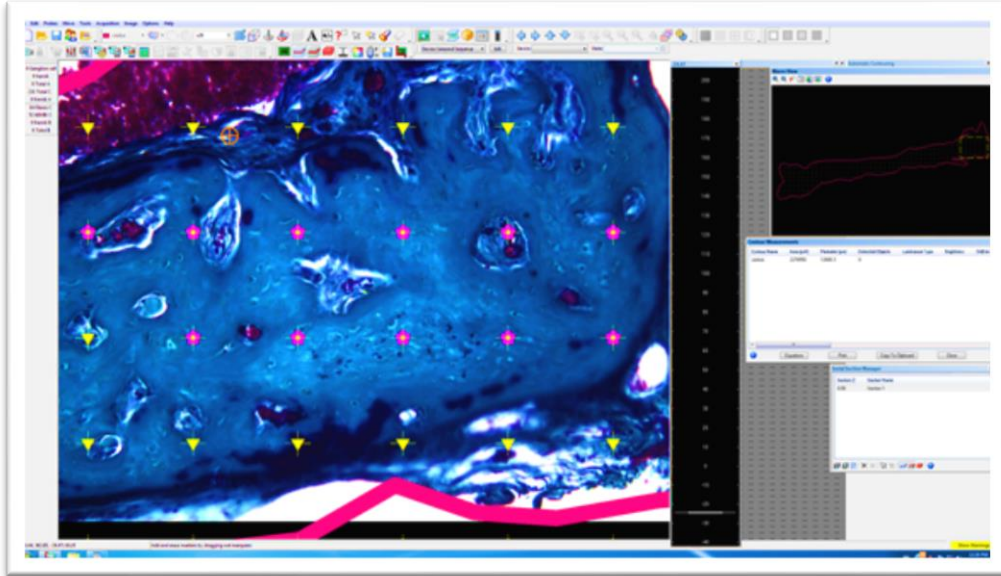
Şekil 3.2 Histomorfometrik olarak ölçüm yapılacak alanın $\times 10^7$ 'luk büyütme alınması.



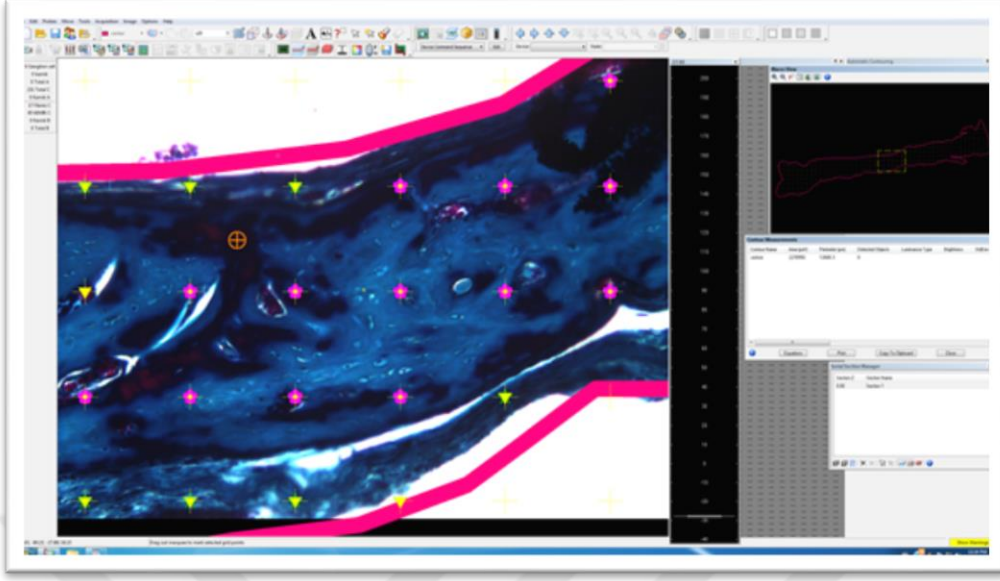
Şekil 3.3 Histomorfometrik olarak ölçüm yapılacak alanda $\times 10^7$ 'luk büyütmede Cavalieri Prensibi için noktalı alan ölçüm cetvelinin uygulanması (sarı üçgen marker kullanılmıştır)



Şekil 3.4 Cavalieri prensibini uygularken noktalı alan ölçüm cetvelinin çizimi yapılan ilgilenilen alanda tüm noktaların işaretlenmesi.



Şekil 3.5 İlgilenilen alanda kemik dokusuna denk gelen noktaların x 20'lik büyütmede işaretlenmesi (pembe çiçek marker kullanılmıştır)



Şekil 3. 6 İlgilenilen alanda fibröz bağ dokusuna dokusuna denk gelen noktaların x 20'lik büyütmede işaretlenmesi.

3.4. İstatiksel Değerlendirme

İstatiksel analizlerimizi Statistical Package For The Social Science (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programının 18.0 sürümü kullanılarak yapılmıştır. Bütün grupların parametrelerinin tanımlayıcı (ortalama, medyan, standart sapma, standart hata) istatistikleri hesaplanmıştır. Parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Oneway Onava testi ve farklılığın olduğu grubun belirlenmesinde Tukey HDS testi kullanılmıştır. Parametrik olmayan niteliksel verilerin ikili karşılaştırmalarında ise Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. İstatiksel anlamlılık değeri olarak $p < 0.05$ alınmıştır.

4.BULGULAR

4.1. Histomorfometrik Değerlendirme

Tüm alışma gruplarının ölçülen total kemik hacimleri ve kemik yüzdeleri ortalamaları ve standart sapmaları tablo 4.1 ve 4.2 de gösterilmiştir.

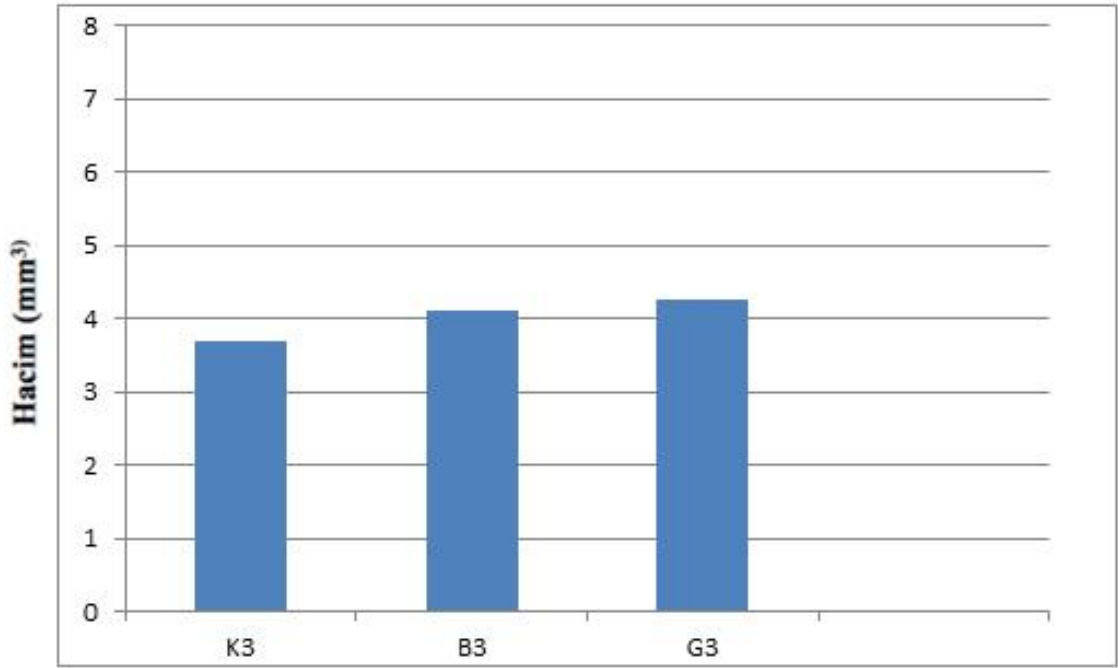
4.1.1 Total Kemik Hacmi

Çalışma grupları arasında ölçmüş olduğumuz total kemik hacimleri Tablo 4.1.'de gösterilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada Ratların kalvaryumunu histomorfometrik olarak total kemik hacimlerini incelediğimiz zaman; A3(Kontrol grubu) ile B3(3.Haftada sakrifiye edilen ve boş bırakılan grup), A3 grubu ile C3(3.Haftada sakrifiye edilen ve greft kullanılan grup), A6(Kontrol grubu) grubu ile B6(6.Haftada skrifiye edilen ve boş bırakılan grup) ve A6 grubu ile C6(6.Haftada sakrifiye edilen ve greft kullanılan grup) arasında anlamlı bir fark elde edilmedi (Sırası ile $p= 0,580$; $p= 0,235$; $p= 0,127$; $p= 0,289$). Yine B3 grubu ile C3 grubu, B6 grubu ile C6 grubu aralarında karşılaştırdığımız zaman anlamlı bir fark bulunmadı (Sırası ile $p= 0,986$; $p= 0,997$).

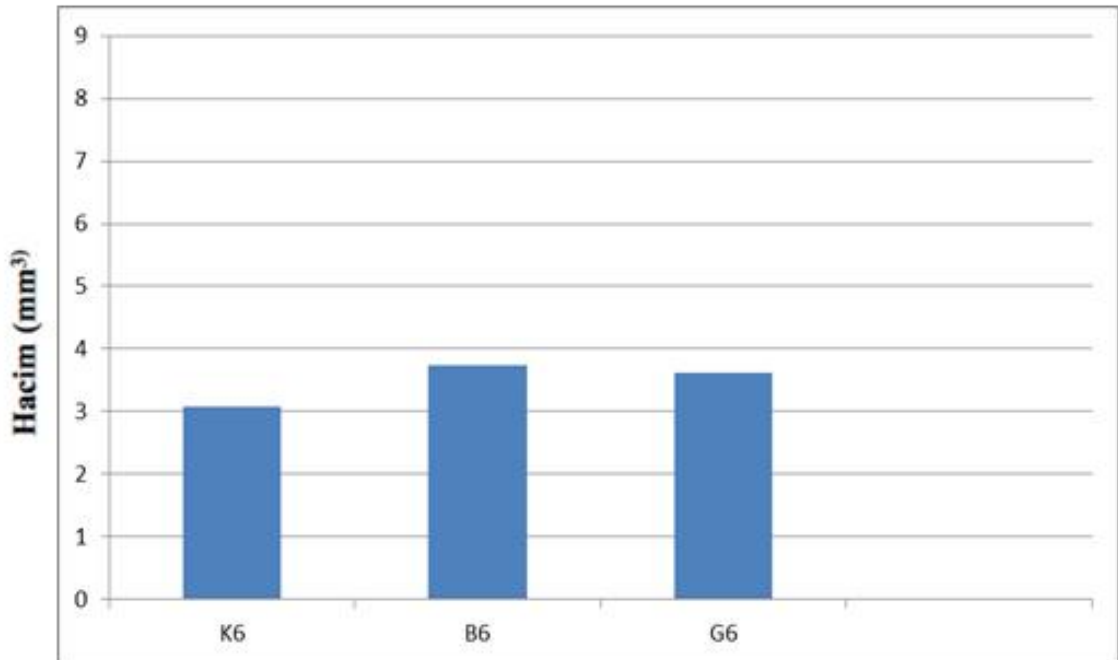
Tablo 4.1. Gruplar arasındaki total kemik hacimlerinin karşılaştırılması.

Grup	n	Ort ± SS(mm3)	P
A3	5	3,7060 ± 0,50162	0,580
B3	5	4,1160 ± 0,41095	
A3	5	3,7060 ± 0,50162	0,235
C3	5	4,2780 ± 0,27471	
A6	5	3,0840 ± 0,25986	0,127
B6	5	3,7420 ± 0,41354	
A6	5	3,0840 ± 0,25986	0,289
C6	5	3,6246 ± 0,44617	
B3	5	4,1160 ± 0,41095	0,986
C3	5	4,2780 ± 0,27471	
B6	5	3,7420 ± 0,41354	0, ,997
C6	5	3,6246 ± 0,44617	

Total Kemik Hacimleri



Şekil 4.1 A3/B3/C3 gruplarının total kemik hacimlerinin karşılaştırılması.



Şekil 4.2 A6/B6/C6 gruplarının total kemik hacimlerinin karşılaştırılması.

4.1.2. Kemik Yüzdesi

Çalışmamızda yapmış olduğumuz kemik yüzdesi ölçümlerimiz Tablo 4.2.'de gösterilmiştir. A3(3. haftada sakrifiye edilen kontrol grubu) grubu ile B3(3. haftada sakrifiye edilen ve boş bırakılan grup) grubu ve A3 ile C3 grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulduk. (Sırası ile ; $p= 0,001$; $p= 0,004$).

A6(6. haftada sakrifiye edilen kontrol grubu) grubu ile B6(6. haftada sakrifiye edilen ve boş bırakılan grup) grubu ve A6 grubu ile C6 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmadık (Sırası ile ; $p= 0,762$; $p= 0,964$).

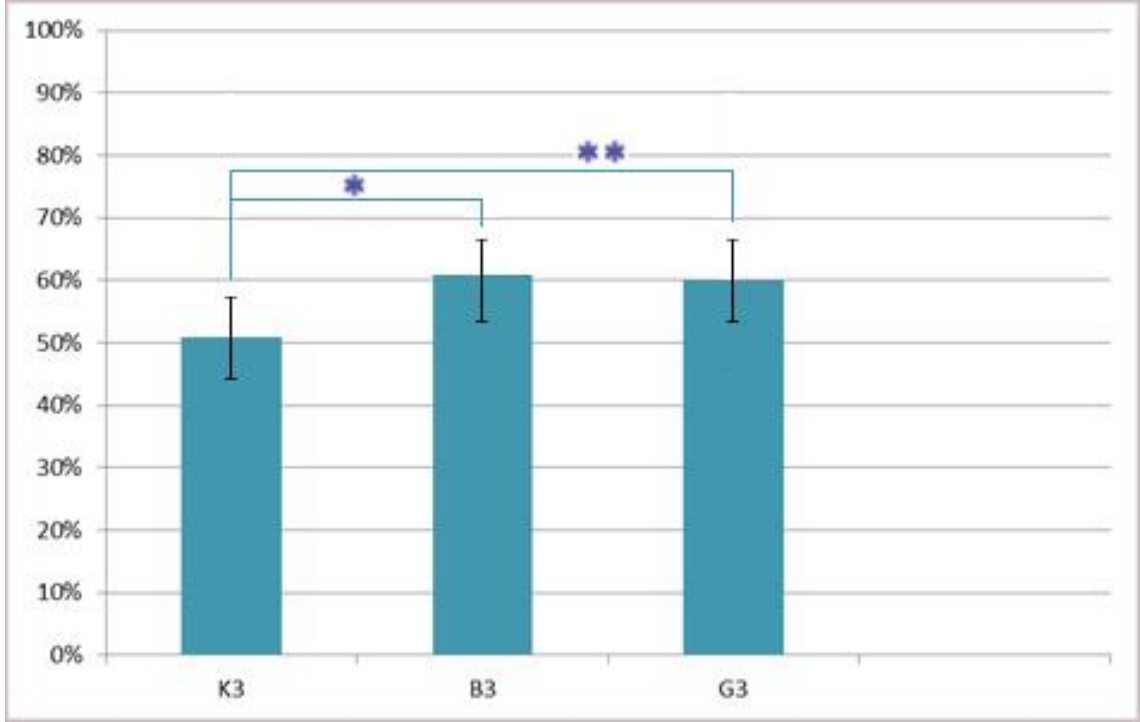
B3 grubu ile C3(3. haftada sakrifiye edilen ve greft uygulanan grup) grubu ve B6 grubu ile C6(6. haftada sakrifiye edilen ve greft uygulanan grup) grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde etmedik (Sırası ile ; $p= 0,981$; $p= 0,994$).

Tablo 4.2 Gruplar arası kemik yüzdelerinin karşılaştırılması

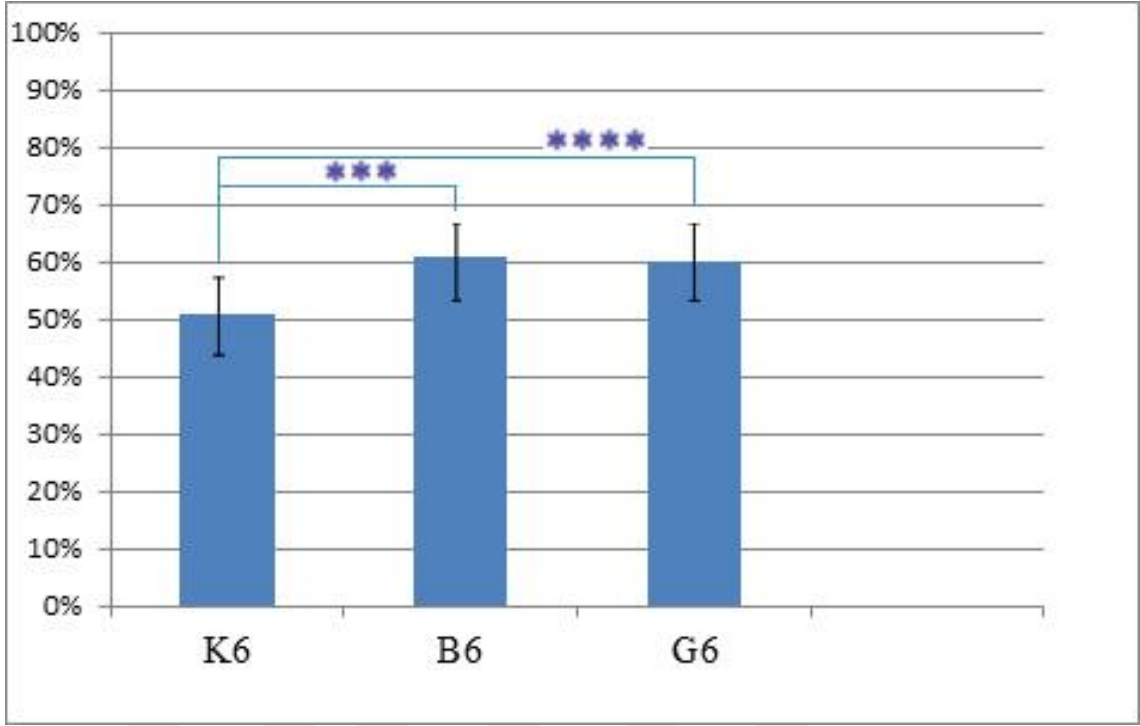
Grup	n	Ort ± SS(%)	P
A3	5	51,410 ± 6,4164	0,001*
B3	5	61,709 ± 2,9275	
A3	5	51,410 ± 6,4164	0,004**
C3	5	60,238 ± 1,4021	
A6	5	53,694 ± 1,8553	0,762
B6	5	56,541 ± 1,8252	
A6	5	53,694 ± 1,8553	0,964
C6	5	55,405 ± 3,0716	
B3	5	61,709 ± 2,9275	0,981
C3	5	60,238 ± 1,4021	
B6	5	56,541 ± 1,8252	0,994
C6	5	55,405 ± 3,0716	

Tukey Testi (*p<0,005; **p<0,005) ; SS: Standart Sapma

KEMİK HACMİ %

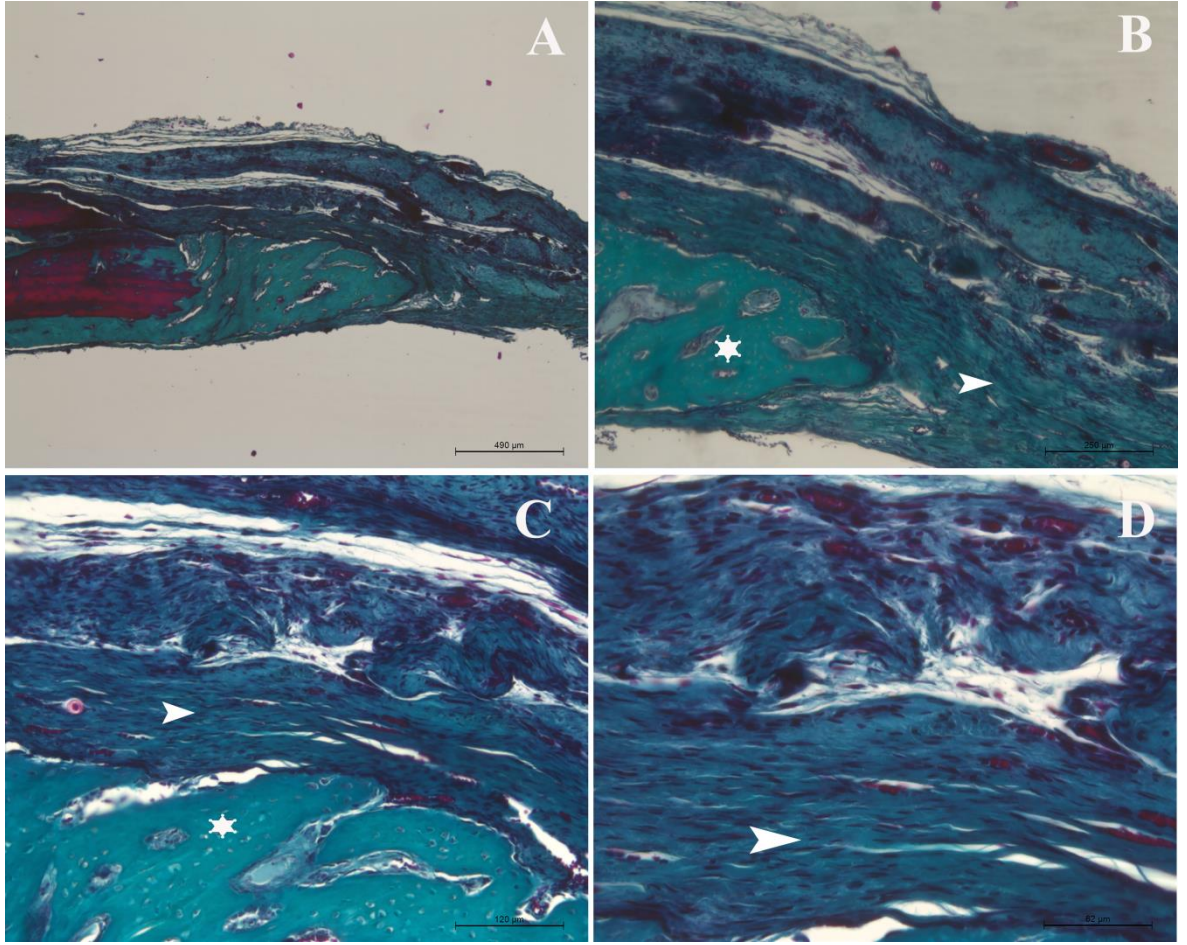


Şekil 4.3 A3/B3/C3 grupları arasındaki kemik hacmi yüzdelerinin karşılaştırılması.



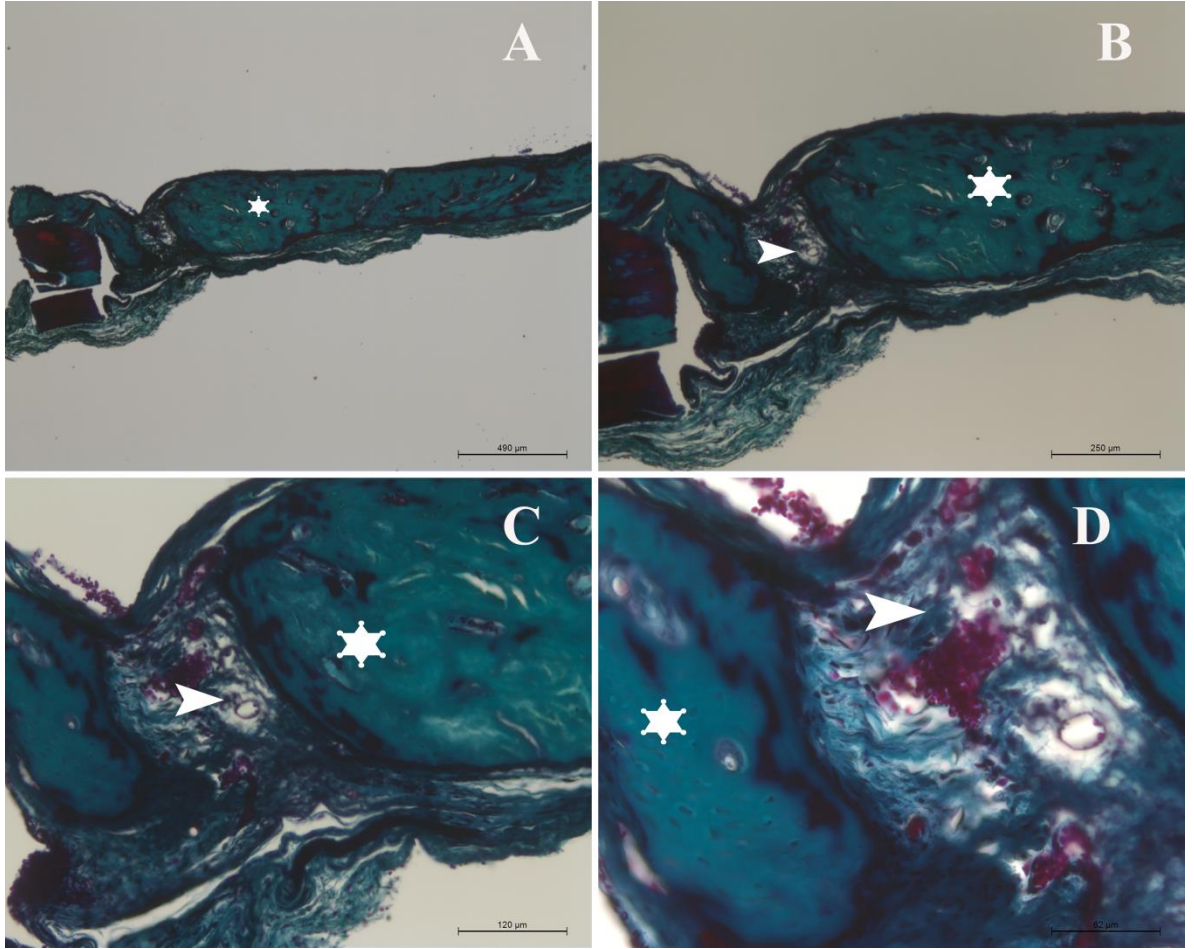
Şekil 4.4 A6/B6/C6 gruplarının kemik hacmi yüzdelerinin karşılaştırılması.

Kontrol grubu 3. hafta histolojik görüntüsü.



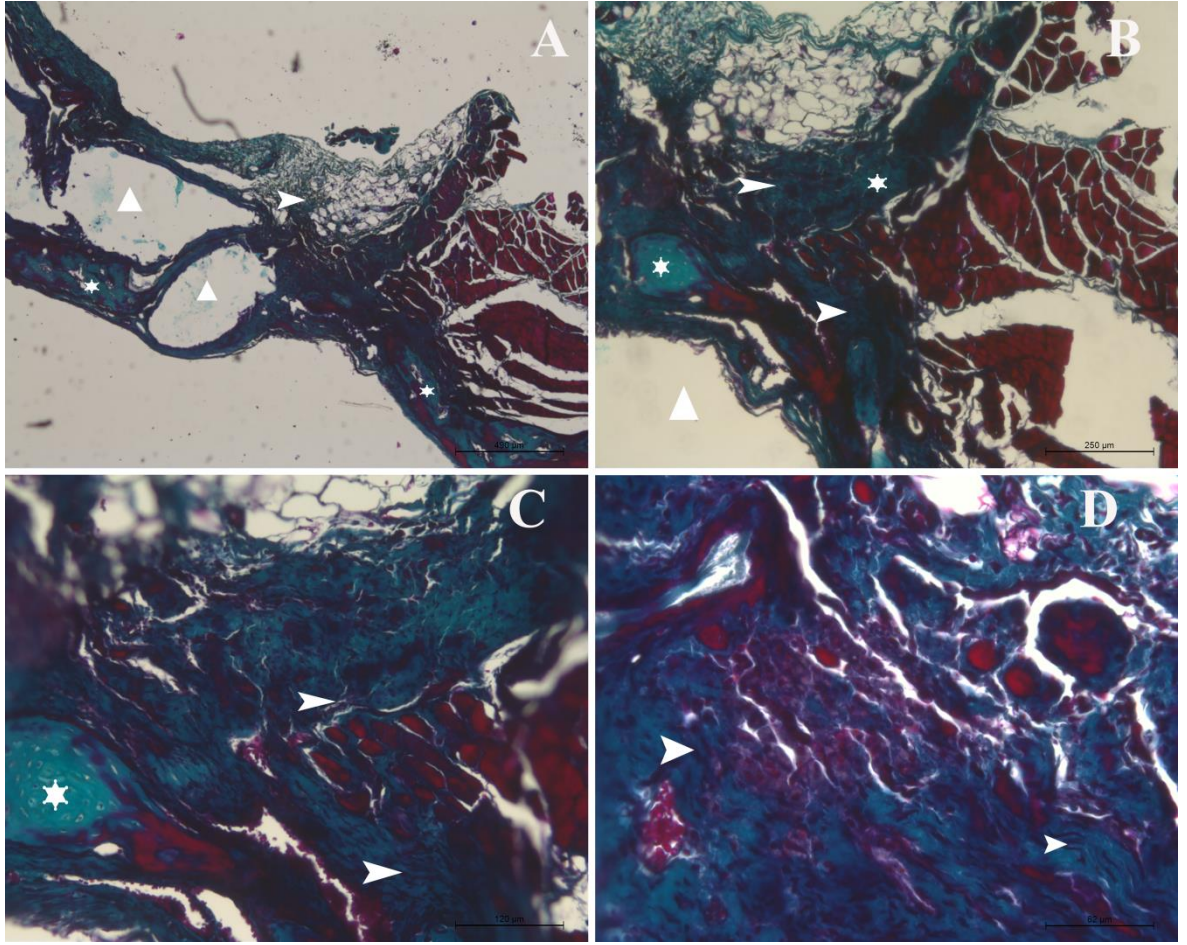
Resim 4.1. Kontrol 3. Hafta grubuna ait kalvaryum dokusunun histolojik olarak görüntüsü. A: x5'lik büyütme(bar= 490 µm), B: x10'luk büyütme(bar=250 µm), C: x20'lik büyütme(bar= 120 µm), D: x40'lık büyütme(bar= 62µm). Beyaz yıldız kemik alanlarını ve beyaz ok başı bağ dokusu alanlarını göstermektedir. Boyama Masson-Trikrom ile yapılmıştır.

Boş bırakılan grup 3. hafta histolojik görüntüsü.



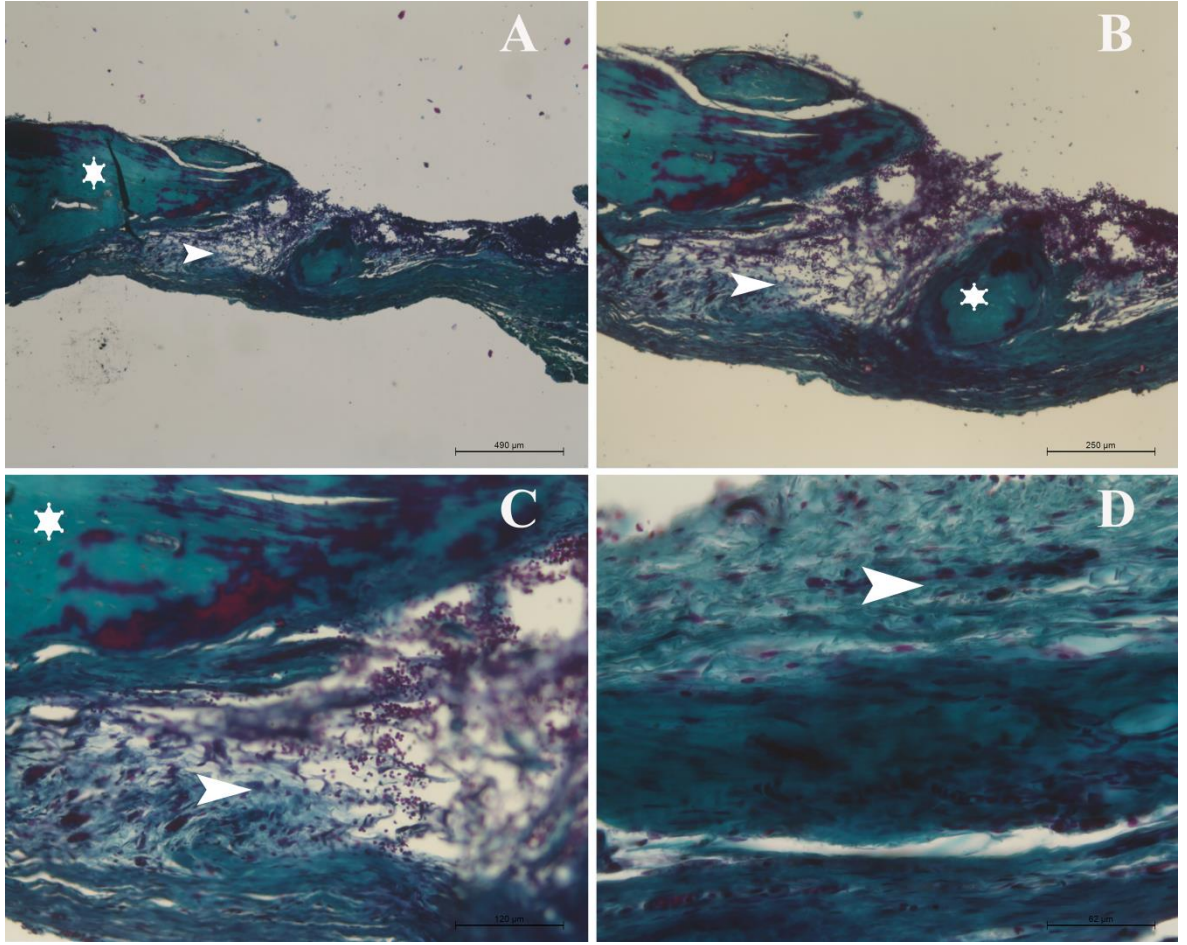
Resim 4.2 B3 grubuna ait kalvaryum dokusunun histolojik olarak görüntüsü. A: x5'lik büyütme(bar= 490 µm), B: x10'luk büyütme(bar=250 µm), C: x20'lik büyütme(bar= 120 µm), D: x40'lık büyütme(bar= 62µm). Beyaz yıldız kemik alanlarını ve beyaz ok başı bağ dokusu alanlarını göstermektedir. Boyama Masson-Trikrom ile yapılmıştır.

Greft uygulanan grup 3. hafta histolojik görüntüsü



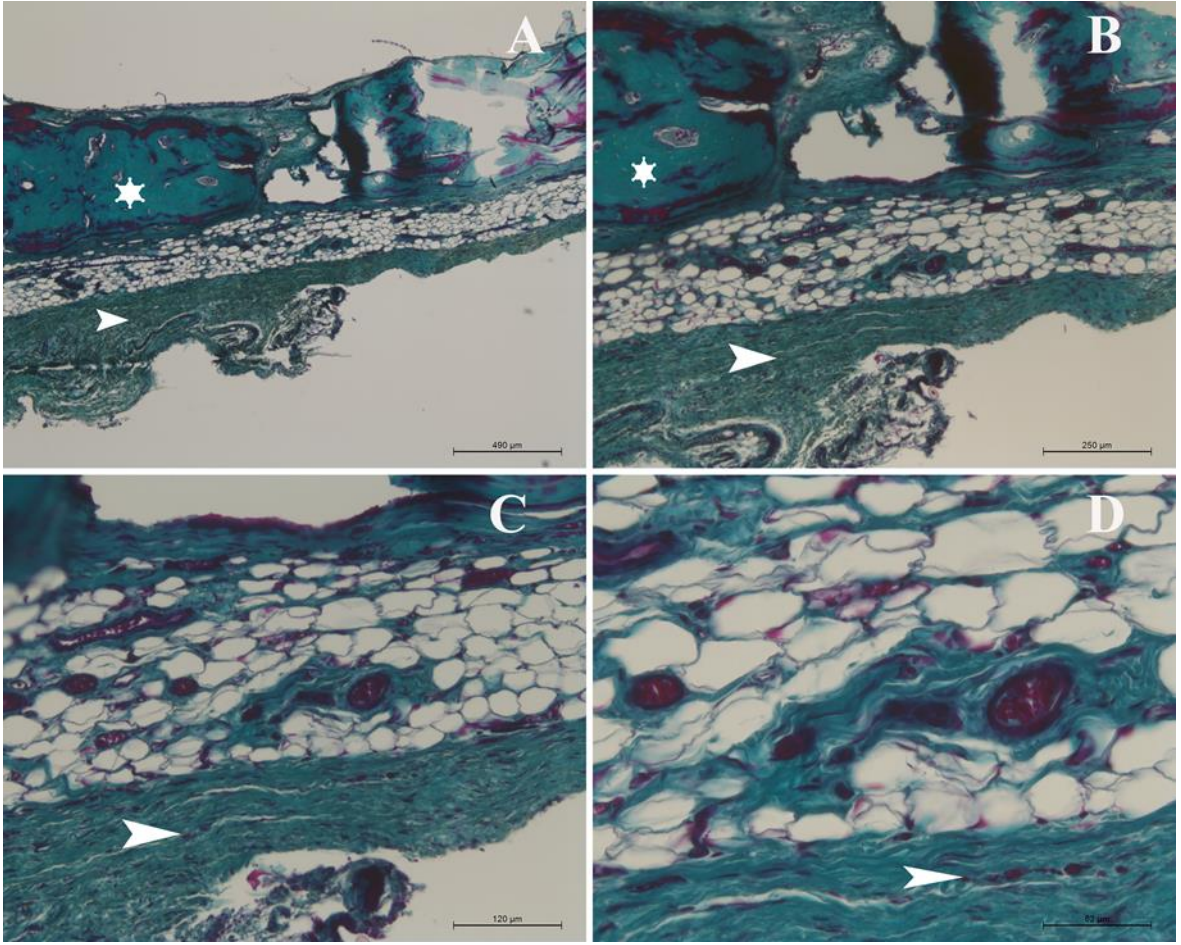
Resim 4. 3. C3 grubuna ait kalvaryum dokusunun histolojik olarak görüntüsü A: x5'lik büyütme(bar= 490 µm), B: x10'luk büyütme(bar=250 µm), C: x20'lik büyütme(bar= 120 µm), D: x40'lık büyütme(bar= 62µm). Beyaz yıldız kemik alanlarını, beyaz ok başı bağ dokusu alanlarını ve beyaz üçgen greft uygulanan alanları göstermektedir. Boyama Masson-Trikrom ile yapılmıştır.

Kontrol grubu 6. hafta histolojik görüntüsü.



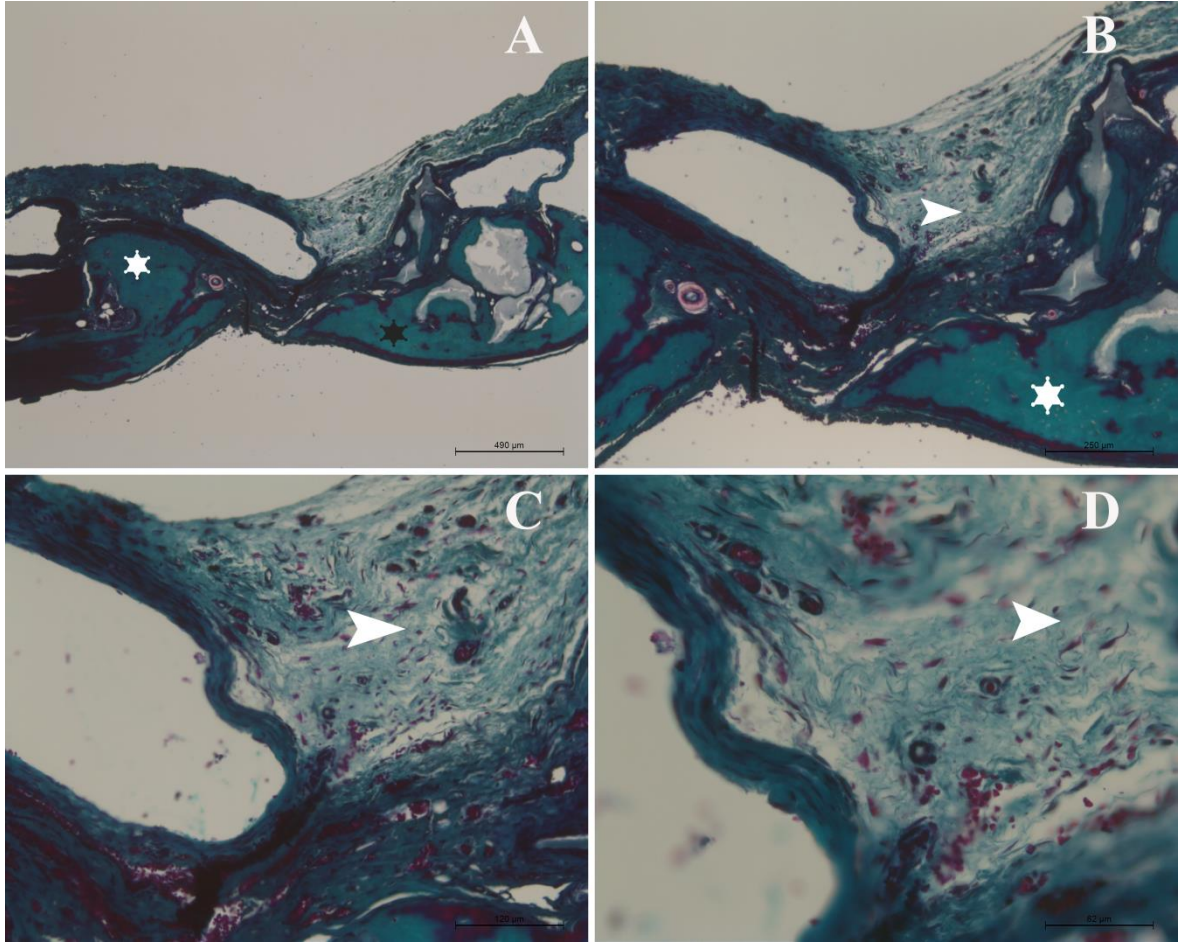
Resim 4. 4. Kontrol 6.hafta grubuna ait kalvaryum dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. A: x5'lik büyütme(bar= 490 µm), B: x10'luk büyütme(bar=250 µm), C: x20'lik büyütme(bar= 120 µm), D: x40'lık büyütme(bar= 62µm). Beyaz yıldız kemik alanlarını ve beyaz ok başı bağ dokusu alanlarını göstermektedir. Boyama Masson-Trikrom ile yapılmıştır.

Boş bırakılan grup 6. hafta histolojik görüntüsü.



Resim 4. 5. B6 grubuna ait kalvaryum dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. A: x5'lik büyütme(bar= 490 µm), B: x10'luk büyütme(bar=250 µm), C: x20'lik büyütme(bar= 120 µm), D: x40'lık büyütme(bar= 62µm). Beyaz yıldız kemik alanlarını ve beyaz ok başı bağ dokusu alanlarını göstermektedir. Boyama Masson-Trikrom ile yapılmıştır.

Greft uygulana grup 6.hafta histolojik görüntüsü.



Resim 4.6. C6 grubuna ait kalvaryum dokusunun histolojik olarak görüntüsü. A: x5'lik büyütme(bar= 490 µm), B: x10'luk büyütme(bar=250 µm), C: x20'lik büyütme(bar= 120 µm), D: x40'lık büyütme(bar= 62µm). Beyaz yıldız kemik alanlarını ve beyaz ok başı bağ dokusu alanlarını göstermektedir. Boyama Masson-Trikrom ile yapılmıştır.

5.TARTIŞMA

Maksillofasiyal bölgede, travma, kist, tümör, diş çekimlerine ve periodontal rahatsızlıklara bağlı olarak kemik bütünlüğü bozulur. Bu gibi durumlardan sonra kemik oluşumu istenilen düzeyde ya da hiç olmayabilir. Böylece hem estetik açıdan hem de fonksiyon açısından kayıplar meydana gelir. Kemik rekonstrüksiyonunu sağlamak için günümüzde çeşitli ogmentasyon ve tedavi teknikleri uygulanmaktadır ve bu konuyla ilgili araştırmalar artarak devam etmektedir. Kemik greftlerinin kullanımı uzun yıllardır tercih edilen bir tedavi şeklidir. Bununla birlikte kemik greftlerinin kendi içlerinde avantaj ve dezavantajları vardır. Bu durum karşısında son yıllarda araştırmacılar kemik greftine alternatif olabilecek ya da beraber kullanabilecekleri farklı materyalleri araştırmaya başlamışlardır. Yeni materyalinin araştırılması genelde defekte lokal uygulanarak ya da deneklere sistemik olarak verilerek yapılmış ve olumlu, olumsuz veya başka araştırmalara rehber olabilecek sonuçlar elde edilmiştir.

Çok eski tarihlerden beri tıp alanında çeşitli tedaviler için kullanılan propolis özellikle son dönemlerde birçok araştırmaya konu olmuştur. Propolisin içeriğinde bulunan bileşenler ve mineraller anti-oksidan, anti-bakteriyal, antienflamatuvar ve antimikrobiyal etkilerinden dolayı kemik oluşumunda hem nicelik hem de nitelik olarak pozitif etkileri bazı araştırmalarda görülmüştür.

Propolis, suda ve hidrokarbonlarda çok az miktarda çözülebilir. Genellikle alkolde çözünen propolis, eter ya da kloroformda ise tamamen çözünür (139). Eter, kloroform, aseton, distile su ve diğer organik çözücülerde kısmen, %95'lik etil alkolde büyük ölçüde çözünebilir propolis, %70'lik etil alkolde ekstrakte edilerek tıbbi alanda kullanılabilir (54).

Çalışmamızda kullandığımız propolis Bursa ili Karacabey ilçesinin dağlık kesiminden elde edilmiştir. Propolisi ham şekilde temin ederken özellikle hava kirliliğinin olmadığı ve zengin bitki örtüsünün bulunduğu bölgeyi tercih ettik. Bunun nedeni mümkün olduğunca doğal ve dış etkenlerden etkilenmemiş bir ürün elde etmek idi. Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanmış propolislerin ana bileşenlerinin naringenin, galangin, krisin, pinobaksin, kuarsetin gibi flavonoidler ve kafeik asit gibi fenolik asitlerden oluştuğu gösterilmiştir (81).

Toplanan propolis işlem göreceği zamana kadar ışıktan ve güneş ışıklarından korunmuştur. Steril kaplarda %90'lık alkol ile işlemden geçirilmiştir. Bu işlem sayesinde balmumundan ayrılmış daha sonra mikser yardımı ile saf propolis elde edilmiştir. Elde ettiğimiz saf propolis cerrahi işlem yapılan tarihin ertesi günü 4 gruba sakrifiye edilecekleri tarihe kadar düzenli olarak verilmiştir. Her bir rata günde 100mg/kg propolis gavaj yöntemi ile uygulanmıştır.

Propolis ekstraktları ile yapılan birçok çalışma olup özellikle antioksidan, antibakteriyel, antifungal, antitümoral, immünomodülatör etkilerinin yanı sıra başka yararlı biyolojik etkileri ispatlanmıştır (52). Yine propolisin önemli 53 farmakolojik aktif bileşenleri olan flavonoidler ve CA/CAPE gibi çeşitli fenoliklerin, antioksidan özelliklerine bağlı olarak nöroprotektif (54), radyoprotektif (140), kardiyoprotektif (141), gastroprotektif (142), hepatoprotektif (143) ve nefroprotektif (144) etkileri ispat edilmiştir. İçeriğinde yüksek miktarda flavanoid bulunan propolisin antioksidan etkinliği, özellikle flavonoid içeriği ile alakalıdır ve propolis ekstraktının kuru ağırlığının %25-30'unu flavonoidlerden oluşturmaktadır. Pinosembrin, akasetin, krisin, rutin, katesin, naringenin, galangin, luteolin, kamferol, apigenin, mirisetin ve kuarsetin önemli flavonoid bileşikler olarak bilinmektedir (145). Propolis içeren çalışmalarda en önemli flavonoid bileşiği olan krisinin antioksidan etkinliği tespit edilmiştir (146)

Propolisin biyolojik olarak en aktif formu olan CAPE, inflamatuvar süreçte nötrofil migrasyonunu engelleyip inflamatuvar sürecin çıkmaz bir durum haline gelmesini önler. (125, 126) CAPE araşidonik asit ve lineloik asidin 5-lipooksijenaz enzimiyle yıkımını inhibe eder ve nötrofillerden serbest oksijen radikali oluşumunu engeller (126, 127, 128, 129). Lipid peroksidasyonunu ve lipooksijenaz aktivitesini bloke eder. Antiinflamatuvar etkilerini araşidonik asit mekanizmasını düzenleyerek ve lökotiren üretimini azaltarak gösterdiği bilinmektedir (128).

Propolisin özelliklerinden biri de güçlü antimikrobiyal etkiye sahip olmasıdır ve bu yüzden, doğal antibiyotik olarak bilinir. Yapılan birçok araştırmada da propolisin, ileri antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Propolisin metisilin dirençli Stafilokok aureus(MRSA) da içinde bulunduğu 21 tür bakteri, 9 tür mantar, Giardia'nın da aralarında bulunduğu 3 protozoa türü ve ayrıca Herpes ve Influenza'nın da dahil olduğu virüsler üzerinde inhibitör etkisi olduğu görülmüştür. Bunların dışında propolisin büyük ölçüde tedavi edici özelliği vardır ki bunlar arasında, anti-kanser etki,

yara kapama ve doku tamir etkileri, sindirim sistemi etkileri, deri enfeksiyonları etkisi, kalp-damar sistemi etkileri ve diş sağlığına olan etkileri örnek gösterilebilir. (69)

Sinamik asit ve turevleri propolisin içeriğinde bulunan yapılardan biri olup yapılan çalışmalarda pıhtılaşmayı hızlandırdığı, gram (+) ve gram (-) bakterilere karşı antibiyotik etki gösterdiği sonucuna varılmıştır. Aynı zamanda propolisin içeriğinde bulunan bioflavonoidlerin, virüslerin enzim salgılamalarını ve üremelerini engelleyici özelliklerinin olduğu tespit edilmiştir. Koroner kalp, hipertansiyon ve damar sertliği rahatsızlıkları olan kişilerde yapılan bir araştırmada; 30 gün süre ile günde  kez alınan 300 mg propolis dozunun olumlu etkiler verdiği yapılan klinik çalışmalarla da ispatlanmıştır (76,83).

Propolisin yukarıda saydığımız özellikleri sayesinde özellikle maksillofasiyal bölgede hem nitelik hem de nicelik olarak daha iyi yeni kemik elde edilebileceğini düşündük. Aynı zamanda implant cerrahisinde osteointegrasyona katkı sağlayabileceği ve çeşitli nedenlerle alveol kemik yıkımını engelleyebileceği veya azaltacağını n gördük. Bu n grmz ile ilgili literatür araştırması yaptık. Propolis kullanımı ve sistemik hastalıklara etkisi ile ilgili pek çok araştırma olmasına karşın propolisin kemik iyileşmesi ile ilgili araştırmaları daha kısıtlıydı. Yapılan araştırmaların sonuçları itibari ile ileriye dönük araştırmalar için pozitif bir etkisi olduğu ve kemik oluşumu ve onarımında fayda sağlayacağı kanısına vardık.

Verilecek propolisin toksisitesini belirlemek amacıyla literatürde birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada oral LD50 dozunun ratlarda 7340 mg/kg dan fazla (147), diğer bir çalışmada LD50 dozunun 2050mg/kg ve LD100 dozunun 2750 mg/kg (148) olduğu, yine başka çalışmada ise propolisin toksik olmadığı, farelerde propolisin eter alkol solüsyonunun 350-700 mg/kg ve insanlarda 1.4 mg/kg/gün veya yetişkin bir insan için 70 mg/gün dozların tolere edildiği görülmüştür (52).

Dişi ve erkek fareler üzerine yapılan bir çalışmada oral olarak 700 mg/kg oranında propolis verildiği zaman propolisin iyi tolere edildiği ve 48 saatlik gözlem süresi sonunda ölüm gerçekleşmediği bildirilmiştir (131).

Genel olarak hayvanlarda yapılan ve propolisin içeriğinde bulunan flavonoidlerin LD50 dozunun 2000-10.000 mg/kg olduğu belirtilmiştir (149).

Tavşanlarda uygulanan propolis özütünün ve merheminin ratlarda irritasyona neden olmadığı rapor edilmiştir (150).

Balb-C fareler ve Wistar ratlarda intraperitoneal alt eşik dozu ratlarda 1-400 mg/kg, farelerde ise 10-100 mg/kg olduğu tespit edilmiştir (151). Çin ve Brezilyada'dan toplanan ve etanolik özütünden elde edilmiş solüsyonlar 5 haftalık farelere 2230-4000 mg/kg oranında verildiği zaman ölüm ve nekroskopide anormallikler gözlenmediği gibi vücut ağırlıklarının arttığı görülmüştür (152).

Wistar ratların içecekleri suya 30 gün süreyle 1875 mg/kg, farelerin içme suyuna ise 60 gün süreyle 2470 mg/kg propolis ilave edilmiş ve kontrol grubuna göre karşılaştırma yapılmıştır. Değerlendirme sonucunda hayvanların, kilolarında, davranışlarında, idrar çıkışlarında, klinik görüntüsünde ve ölüm oranlarında değişiklik olmadığı gözlenmiştir (123). Diğer bir çalışmada ratların içecekleri suya 63 gün boyunca 1 mg/kg propolis ilave edilmiş ve daha sonra kanları alınmıştır. Sonuçlara göre serumdaki glikoz veya amilaz aktivitesinde ayrıca karaciğer, pankreas, tükürük bezi gibi organlarda bir değişikliğe neden olmadığı bildirilmiştir (153).

Ratların kullanıldığı diğer bir çalışmada propolisin subkronik toksisitesi değerlendirilmiş ve 45 günlük çalışma süresinde hiçbir davranış ve klinik toksisite görülmemiştir (154).

Literatürde çok az miktarda olmakla birlikte propolis alerjisi, kontak dermatit vakaları ve arıcılık yapanların propolise karşı hassasiyetleri gözlenmiştir. Bununla birlikte propolisin hem etanol hem de su özütleri histamin salgılanmasını inhibe ederek anti-alerjik özellik gösterir (137).

Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sıvı propolis ekstratını ratlara gavaj yolu ile sakrifiye edene kadar her gün günde 1 defa verdik. Vereceğimiz dozun miktarını ve over doz miktarını hesaplamak için literatür çalışması yaptık. Ratlara verilen günlük doz miktarı genelde 50 mg/kg/günlük, 100 mg/kg/günlük ve 200 mg/kg/günlük olarak değişmekteydi. Bizde çalışmamızda ratlara 100mg/kg/günlük dozu gavaj yolu ile uyguladık.

Çalışmamızda deney hayvanının bağışıklık sistemi insanınki ile benzer olması gerekmektedir. Özellikle domuz, köpek, tavşan ve ratların immün sistemi insan immün sistemi ile benzerlik göstermektedir. Kolay bulunabilmesi, ucuz olması, barınma ve

beslenmesinin daha basit olması nedeni ile çalışmamızda Sprague-Dawley rat tercih ettik.

Kraniyal defektlerin rejeneratif kapasitelerinin deney hayvanlarında insanlara oranla daha iyi olduğu bilinmektedir. Kalvaryum hem morfolojik hem de embriyolojik açıdan bir membran prosesünden gelişim gösterir ve yüz bölgesinde bulunan membranöz yolla gelişen diğer kemikler ile benzerlik gösterir. Kalvaryum anatomik olarak iki kortikal tabakaya sahip olduğu için mandibula ile ve fizyolojik yapısı da atrofik mandibula ile benzer bir yapıya sahiptir. Sayılan bu sebeplerden dolayı kalvaryum bölgesi en çok tercih edilen deney bölgelerinin başında gelir. Parietal bölgeye açılan defektlerin tabanında dura mater üzerinde ise periost bulunmakta ve bu iki doku da, kemik oluşumuna öncülük edecek osteoprogenitör hücreleri içermektedir (155,156).

Parietal kemiklerde yapılacak cerrahi girişimin basit olması, operasyon sonrası hayvanın ilgili bölgeye zarar verme olasılığının düşük olması yine parietal kemiğin dura mater ve periostunun osteojenik potansiyeli gibi sebeplerden dolayı çalışmamızda tercih ettik. Bu avantajları ile birlikte kalvaryumun parietal bölgede yaklaşık 2 mm kalınlıkta olması, operasyon esnasında dura materin perforasyonu ile hemoraji ve beyin hasarı meydana gelebilmesi çalışmamızda hassas olmamızı gerektiren risk faktörlerini oluşturmaktadır.

Kritik boyutlu defekt (KBD) canlı kemik dokunun yaşadığı sürece hem fonksiyon hem de şekil olarak kendi kendine kapanma şansı olmayan boyuttaki defekt anlamına gelir. Bu boyutta oluşan defekt spontane olarak kemik doku ile değil bağ dokusu ile iyileşebilir. Kemik dokusunda oluşan yaralanmanın kritik boyutta olmasını; canlılığın türü, yaşı, cinsiyeti, defektin bulunduğu bölge ve derinliği, sistemik durumu gibi faktörler önemli rol oynar (26, 157, 158).

Takagi ve Urist ratlarda oluşturdukları 8mm çapındaki kemik defektini 6 ay sonra incelemişler ve bu süre sonunda fibröz iyileşme gerçekleştiğini bildirmişlerdir (22). Hollinger ve Kleinschmidt yine ratlarda 8 mm çapında defekt oluşturup 13 ay sonra defektini incelemişler ve defektin kendi kendine iyileşme göstermediğini rapor etmişlerdir (159). Yapılan diğer bir çalışmada Mulliken ve Glowacki ratların pariyetal kemiklerinde 2 mm çapında bir defekt oluşturmuşlar ve 6 ay sonra ideal bir kemik dolumu bulamamışlardır (24,25). Yukarıdaki örnekler gibi çeşitli çaplarda defektler oluşturulmuş ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bununla birlikte sonuçların farklı

olmasında defektin çapı dışında başka parametrelerde göz önünde bulundurulmalıdır. Yapılan çalışmalarda operasyon esnasında oluşturulan travma, kan desteğinin yetersiz olması, kemik iliği yetersizliği ve enfeksiyon gibi nedenlerin de sonuç üzerinde etkileri olduğu düşünülmektedir (27,158).

Yaptığımız literatür taramasında oluşturulacak kemik defektinin çapı hakkında net bir görüş bulamadık. Son yıllarda yapılmış olan birçok çalışmada ratlar için maksillofasiyal bölgede 5 mm çapında defekt uygulanmış ve bu boyutun kritik boyutlu defekt için yeterli olduğu öngörülmüştür (160, 161, 162). Biz de çalışmamızda 5 mm çapında kemik defekti oluşturduk.

Yapılan çalışmalarda kemik iyileşmesinin histolojik olarak incelendiği durumlarda farklı sakrifikasyon zamanları tercih edilmiştir. Genel olarak 2-8 hafta aralıklarında sakrifikasyon yapılmıştır. Biz çalışmamızda erken kemik oluşumunu takip etmek için 3.haftada geç dönem kemik oluşumunu görmek için 6.haftada sakrifikasyonu tercih ettik.

Gebara ve ark. in-vitro koşullarda propolisin % 70'lik etanolik ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesini periodontopatik mikroorganizmalar olan; *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* ve ayrıca *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (yabani tipleri) karşı test uygulamışlar ve çıkan sonuçlara göre propolisin periodontal terapide destekleyici olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür (121).

Pileggi ve ark. Fare kemik iliği kültüründe yapmış oldukları çalışmada propolisin osteoklast oluşumunu inhibe ettiğini görmüşler ve bu duruma propolisin antienflamatuar etkisinin neden olabileceğini belirtmişlerdir (163).

Santos ve ark. Brezilya'da bulunan Minas Gerais eyaletinden elde ettikleri propolis örneklerinden araştırmalar yapmışlardır. Propolisin sulu etanolik ekstraktı ve diğer fraksiyonları periodontitise neden olan bakterilere karşı inhibitör aktivitesi için test edilmiş ve sonuç olarak tüm bakteri türlerinin propolis ekstraktlarına karşı duyarlı olduğu görülmüştür (119).

Özen ve ark. Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden propolis örnekleri toplamışlar ve bu örneklerin antimikrobiyal aktivitesini gözlemlemişler. Özellikle oral kavite enfeksiyonlarına neden olan on bir adet anaerobik mikroorganizmalara karşı agar dilüsyon yöntemi ve makro tüp dilüsyon yöntemi kullanmışlardır. Propolis örnekleri etanol kontrolü ile karşılaştırıldığı zaman tüm test edilen anaerobik mikroorganizmalara karşı etkili olduğu görülmüştür (122).

Toker ve ark. periodontitis oluşturdukları ratlara sistemik olarak propolis vermişler ve araştırma sonunda propolis verilen gruplarda kemik kaybının anlamlı derecede azaldığını rapor etmişlerdir. Yine aynı çalışmada sistemik propolis verilen grubu 2 ye ayırmışlar. Bir gruba 100 mg/kg/günlük sistemik propolis verirken diğer gruba 200 mg/kg/günlük doz vermişler ve kemik kaybının azaldığı her iki grupta birbirlerinin arasında kemik kaybı azalma oranlarında anlamlı bir fark elde edememişlerdir (164).

Güney ve ark. araştırmalarında ratlarda femur kırığı oluşturmuş ve sistemik olarak propolis vermişlerdir. Çalışmanın sonunda araştırmacılar, deney grubundaki plazmada yüksek kemik mineral yoğunluğu ve histolojik skorlar ile daha yüksek antioksidan molekül seviyeleri tespit etmişler. Sistemik propolis verilen ratlarda daha iyi kemik iyileşme skorlarının propolisin güçlü antioksidan etkisinden kaynaklandığını bildirmişlerdir (165).

Altan ve ark. 24 rat ile yaptıkları çalışmada midpalatal süturu genişletme esnasındaki kemik oluşumunu histomorfometrik açıdan incelemişlerdir. Ratları 3 gruba ayırmışlar; birinci grup sadece genişletme yapılmış, ikinci grup ise genişletme yapılmış ve sistemik propolis verilmiş ratlardan oluşmaktaydı. Son grup ise kontrol grubu olarak değerlendirmeye alınmıştı. İkinci gruba 100mg/kg/günlük doz 12 gün boyunca verilmiştir. Ortaya çıkan sonuca göre 2. gruptaki yeni kemik oluşumu, diğer gruplara oranla belirgin olarak artmış olduğunu göstermiştir (166).

Bereket ve arkadaşları mandibulalarına distraksiyon osteogenez (DO) uyguladıkları tavşanlara sistemik propolis vererek kemik oluşumundaki farkı gözlemlemek için bir çalışma yapmışlar. Tavşanları 3 gruba ayırmışlar; 1. gruba sistemik olarak 100mg/kg günlük doz, 2. Gruba 200 mg/kg günlük doz vermişler 3.

grubu ise kontrol grubu olarak değerlendirmeye almışlardır. Tavşanların posterior mandibulalarına osteotomi ve distraksiyon yapmışlardır. Tavşanlar 32 gün sonra sakrifiye edilmişler, histomorfometrik ve röntgen çekilerek değerlendirme yapılmıştır. Çıkan sonuçlar neticesinde sistemik propolis verilen tavşanlarda kemik oluşumunun hızlandığını tespit etmişlerdir. Yine DO un konsadilasyon evresini kısaltacağı kanısına varmışlardır (167).

Al-Molla HB ve ark. 40 adet Yeni Zelanda tavşanının tibialarında yapmış oldukları hayvan deneyinde saf titanyum yüzeylerini propolis proteinleri ile kaplamışlardır. Deney sonucunda yapmış oldukları değerlendirme sonucunda kısa vadede osteointegrasyonun daha hızlı olduğu sonucuna varmışlardır (168).

Nakajima ve ark. toz haline getirdikleri propolis ile beraber periodontitis oluşturdukları farelere propolis tozlarını uygulamışlar ve çıkan sonuçlarda periodontopatik bakterilerde etkili olabileceği sonucuna varmışlardır (169).

Uzel ve ark. Anadolu'nun dört farklı bölgesinden propolis örnekleri toplamışlar ve antimikrobiyal aktivitesini, bazı oral patojenlerin de bulunduğu farklı mikroorganizma grupları üzerine araştırma yapmışlardır. Yine yaptıkları çalışmada propolis örneklerinin kimyasal kompozisyonlarını karşılaştırmışlardır. Antimikrobiyal aktivite analizi için minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC) makrodilüsyon yöntemi uygulanmış ve sonuç olarak gram pozitif bakteriler ve mayalara karşı büyük ölçüde antimikrobiyal aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir (75).

Özan ratlarda kırık iyileşmesine propolisin etkilerine yönelik bir çalışma yapmıştır. Yapılan çalışma sonucunda propolisin radyolojik ve histopatolojik olarak ratlar üzerine kırık iyileşmesini hızlandırdığı ve kemik kalitesini arttırdığını bildirmiştir (170).

Bizim çalışmamızda 3.haftada sakrifiye ettiğimiz ratların kalvaryumundaki histomorfometrik inceleme sonucunda; B3 ve A3 grubunu karşılaştırdığımız zaman, B3 grubunda A3 grubuna göre kemik oluşumunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu gördük ($p=0,001$). Yine A3 grubu ile C3 grubunu yeni kemik oluşumu ile ilgili karşılaştırdığımız zaman anlamlı bir fark oluştuğunu gözlemledik ($p=0,004$).

6.haftada sakrifiye ettiğimiz ratların histomorfometrik incelemesini yaptığımız zaman A6 grubu ile B6 ve C6 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmemiştir (Sırası ile : $p=0,762$; $p=0,964$).

Çalışmamızdan çıkan sonuçlara göre; sistemik olarak verilen propolis erken dönemde (3 hafta) yeni kemik oluşumunu artırdığı sonucuna vardık. Bu sonuç literatürde yapılan çalışmalar ile paralellik göstermiştir. Bununla birlikte geç dönem (6 hafta) yeni kemik oluşumunu sistemik olarak verilen propolisin her hangi bir etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır.

Gerek konjenital sebepler ile gerekse travma sonucu oluşmuş kemik defektlerinde ve dentofasiyal deformitelerde, operasyon sırasında gerçekleştirilen osteotomi alanlarında, sıklıkla kemik grefti ile rekonstrüksiyonlar yapılmıştır(171). Defekt meydana gelmiş bölgeler spontan iyileşmeye bırakılırsa, fibrotik yapının göç etmesi sonucunda bölgede fibröz doku oluşmaya başlar. Fibrotik iyileşmenin sonucunda ise klinik olarak kaynamama (non-union) ve enkapsülasyon gibi komplikasyonlar meydana gelir. Oluşan bu komplikasyonları engellemek ve kemik hücrelerinin ilgili bölgede rejenerasyonunu sağlamak için defektlerin greft materyali ile rekonstrüksiyonu gerekir(172). Bununla birlikte kemik defektlerine yerleştirilen greft materyalinin, implante edildiği dokuya uyum göstermesi ve aynı zamanda yeni doku oluşumuna katkıda bulunması, yani ideal greft özelliklerini taşıması tartışmaların değişmeyen başka bir noktası olmuştur (173).

İskelet sisteminin her bölgesinde olabileceği gibi oral ve maksillofasiyal bölgede de travmatik, enfeksiyöz, kistik, dejeneratif ve neoplastik kökenli lezyonlardan kemik defektleri oluşabilir. Oluşan kemik defektlerinin tedavileri maksillofasiyal cerrahinin önemli uğraş alanlarından. Bu yüzden araştırmacılar oluşan defektlerin onarımına katkı sağlayacak birçok araştırma yapmışlardır. Bu çalışmaların en önemlileri defektlerin onarımında kemik greftlerinin kullanılmasıdır.

Oral ve maksillofasiyal cerrahide greft materyallerinin kullanım amaçları, kemik rejenerasyonunun sağlanması, osteotomi açıklıklarının kapatılması, alveoler kret yükseltmesidir(174, 175). Bununla birlikte hangi defektlerde hangi greft materyalinin kullanılması gerektiği tam olarak net değildir. Otogreftler en fazla tercih edilen greftlerin başında gelir (176, 177). Fakat otojen kemik greftlerinin bilinen dezavantajları nedeniyle, araştırmacılar başka materyaller bulmaya yönelmişlerdir (178, 179).

Vaccaro ve ark. otojen kemik greftlerinin osteojenik potansiyelleri yükek olduğunu bununla birlikte otojen kemikten elde edilen miktarın yetersiz olması ve otojen greft alınan bölgenin morbiditesi gibi klinik problemler sebebiyle yapay greft materyallerine ihtiyaç duyulduğunu bildirmişlerdir(181,182). Otojen greftler verici bölgeden alınıp defekt bölgesine uygulanır ve altın standart olarak tanımlanır(180). Verici bölgenin morbiditesi ve sınırlı miktarda greft elde edilmesinden dolayı bilim adamlarını bu tedaviye alternatif tedaviler bulmaya yönlendirmiştir (181, 182).

Geçmişte otogreft kullanımına alternatif olarak sıklıkla allogreftler tercih edilmekteydi. Fakat hastalıkları transfer etme riski, yabancı cisim reaksiyonu oluşturma gibi riskleri ortadan kaldırmak ve yapılan işlemlerde osteojenik aktiviteyi zayıflatmasından dolayı allogreftlerin kullanımı da gün geçtikçe azalmıştır (183, 184).

Kemik benzeri maddelerin rezorbsiyonu kemik oluşumunun başarısını etkileyecek bir faktördür. Literatürde sığır kaynaklı greftlerin rezorbsiyonu tartışmalı bir konudur. Deneysel çalışmalarda deproteinize kansellöz bovin kemik rezorbsiyonunu gösteren histolojik kanıtları göstermiştir (185).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda alternatif tedavi seçeneği bulmak için sentetik materyal üzerinde durulmuş ve önemli gelişmeler görülmüştür. Bu araştırmalardan önce otogreft ve allogreftlere göre sentetik materyaller daha az kullanılmaktaydı. Dünya genelinde sentetik greft kullanımı bütün greftler içinde sadece %10 oranıyla sınırlıydı. Bu kadar düşük oranda kullanılma nedenleri; yetersiz deneysel ve klinik çalışmalarla birlikte tahmin edilemeyen rezorbsiyon süreleri, yabancı cisim reaksiyonu ve şekil verilmelerinin zor olmasıydı. Bununla birlikte tüm bu komplikasyonlar; kullanılan sentetik materyallerin modifiye edilmesi, yeni 113 sentetik materyalin bulunması ve yapılan araştırmaların sayısının artması ile yüksek oranda azalmıştır. Sentetik materyaller ile ilgili çalışmalar arttıkça, otogreftlere ve allogreftlere olan üstünlükleri ortaya çıkmış ve kullanımları yaygınlaşmıştır (186, 187).

Kaya ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada ksenojenik kemik grefti ile sentetik alloplast greftin osteogenezis üzerine etkileri olup olmadığını araştırmışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre greft materyali uygulanan kavitelere kontrol grubuna göre daha başarılı bir osteogenezis oluşumu görülmüştür. Ayrıca sentetik kemik alloplastlarının biouyumlu özelliklerinin daha iyi olduğu görüşünü bildirmişler, bu materyallerin

kraniomaksillofasiyal cerrahide kullanım alanlarını değerlendirmek için yeni çalışmalar yapılmasını vurgulamışlardır (188).

İdeal greft materyalini bulmak için çalışmalar yapılmış ve özellikle sentetik greft materyalleri içinde yer alan hidroksilapatit(HA) ve β -trikalsiyum fosfat üzerinde yapılan çalışmalar üzerine yoğunlaşılmıştır. Bifazik kalsiyum fosfat seramikleri; hidroksilapatit ve β -trikalsiyum fosfat karışımlarından elde edilmiştir. Bu karışımın en önemli özelliği, matrisinin mikro yapısıdır ve bir aę oluşturacakları zaman hücre sel ve vasküler penetrasyona daha fazla müsade eder. Bu durumda porlar arasında kemik oluşumu elde edilir.

Chatterjea ve ark. alışmalarında ratların kortikal kemiklerinde kritik boyutlu defektler oluşturmuşlar ve bu defektlerde kalsiyum fosfat kemik greftleri olan HA ve β -TCP uygulamışlardır. Araştırmalarında bu iki greft materyalinin oluşturduğu iyileşme ve enflamasyon cevabını incelemişlerdir. Ratların femurlarında kritik boyutlu kemik defektleri oluşturmuşlar, birinci gruba HA ikinci gruba da β -TCP kemik greftleri koymuşlardır. Çalışmanın sonunda elde ettikleri sonuç β -TCP'nin HA'ya göre önemli ölçüde daha fazla yeni kemik oluşumu sağladığı yönünde olmuş ve ayrıca da her iki greft materyalinin de osteoindüktif özelliğe sahip olmadığı belirlenmiştir. Bununla birlikte iki greft materyali de operasyon yapıldıktan 12 gün sonra enflamasyon açısından incelenmiş ve aralarında bir fark bulunamamıştır. Operasyondan 4 hafta sonra her iki greft materyalinde de yeni kemik oluşumu ile ilgili işaretler görölmüş, 8 hafta sonunda ise her iki greft materyali de yeni kemik oluşumunu sağlamış fakat aralarında enflamasyon açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır(189).

Küçük kistik defektlerde, dondurulmuş kurutulmuş kemik, solventlerle dehidrate edilmiş kemik ve TCP kullanılabilir. TCP ve HA greft materyali kret ogmentasyonunda da tercih edilir(190,191).

Kavak ve ark. ise yapmış oldukları çalışmada iki sentetik greft materyalini karşılaştırmışlar ve büyük kemik içi defektlerde tam bir osteogenezis oluşumu için kemik defektinin rekonstriksiyonunun greft materyali ile yapılması gerektiğini açıklamışlardır(192).

Scarano ve ark. yaptıkları çalışmada 94 hastaya 144 sinüs yükseltme operasyonunu 9 farklı greft materyali ile yapmışlar. Greft materyalleri olarak; otojen

greft, Demineralize Dondurulmuş-Kurutulmuş Kemik Allogreftleri(DDKKA), koralin kalsiyum karbonat, polilaktidpoliglikolid materyal, sentetik polimer, kalsiyumsülfat, bovine türevi ve peptid, anorganik bovin kemik, ve HA kullanılmıştır . Histomorfometrik inceleme sonucunda yeni kemik oluşumunu sırasıyla otojen greftte %40.1, DDKKA'de %29, koralin kalsiyum karbonatta %39, kalsiyumsülfatta %38, anorganik bovin kemikte % 39, HA'te %32 olarak belirtmişlerdir. Bütün biyomateryallerin biyoyumlu olduğunu ve güvenle kullanılabileceğini rapor etmişlerdir (193).

Piccinini ve ark.yapmış oldukları invivo histolojik çalışmada HA ve tetracalcium phosphate (TTCP) içeren granülleri karıştırmışlar ve kollajen membran ile üstünü örtmüşlerdir. İmplantasyon yapıldıktan 17 hafta sonra HA / TTCP sentetik kemik grefti osteokonduktive materyal olarak çok iyi performans göstermiş olup kemik hacmi ve implant yerleşimi için ideal bir kemik yoğunluğu göstermiştir. HA / TTCP granülleri, yeni kemik oluşumunu hızlandırarak greft iyileşmesi için gerekli zamanı azaltılabileceği ve yüksek miktarda yeni kemik elde edilebileceği düşünüldü(194).

Kim ve ark. ratların kalvaryumunda kritik boyutlu defekt açarak bir çalışma yapmışlardır. Çalışmanın amacı PLGA/HA apatit kaplamalı partiküller ile sığır kaynaklı Bio-Oss greft materyalinin osteojenik potansiyelini karşılaştırmak idi. Bu çalışmada 18 rat kullanılmış ve 3 gruba ayrılmışlar. Birinci gruptaki deney hayvanlarına PLGA/HA apatit kaplamalı partiküller, ikinci gruba sığır kaynaklı Bio-Oss greft materyali kullanılmış ve son grup kontrol grubu olarak boş bırakılmıştır. Histolojik değerlendirme sonucunda PLGA/HA apatit kaplamalı partiküllerin sığır kaynaklı Bio-Oss greft materyali kemik rejenerasyon potansiyeli açısından kıyaslanabilir derecede benzerlik gösterdiğini ispat etmişlerdir. Ayrıca sığır kaynaklı Bio-Oss greft materyali için alternatif olabileceğini düşünmüşlerdir (195).

Athanasiou ve ark. yaptıkları bir çalışmada farklı greft materyallerinin kritik kemik defektlerine uygulandığı zaman sağladıkları iyileşmeyi histolojik olarak incelemişlerdir. 90 adet Yeni Zelanda tavşanı 6 gruba ayrılmıştır. Gruplarda oluşturdukları 4,5 mm kritik boyutlu kemik defektlerine sırası ile otojen kemik grefti, insan kaynaklı kemik grefti, sığır kaynaklı kansellöz kemik grefti, kalsiyum fosfat hidroksiapatit, ve kalsiyum sülfat greftleri uygulamışlardır. Son gruptaki defektler ise

boş bırakılmıştır. Tavşanlar operasyon sonrası 1, 3 ve 6 ay sonrasında sakrifiye edilmiş ve alınan örnekler histolojik olarak incelenmiştir. Yapılan histolojik incelemeler sonucunda en başarılı kemik greftinin otojen kemik grefti olduğu belirlenmiş, otojen kemik greftinden sonra en başarılı kemik greftinin sığır kaynaklı kemik grefti olduğu belirtilmiştir. Diğer kemik greft materyallerinin hemen hemen aynı derecede iyileşme sağladığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak otojen kemik grefti dışında sığır kaynaklı kemik greftinin diğer kemik greft materyallerinden daha başarılı olduğu belirtilmiştir (196).

Fleckenstein ve ark ratların kalvaryumlarında kritik boyutlu kemik defekti oluşturmuşlardır. Kemik grefti materyali olarak dekalsifiye dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti ile beraber hidroksiapatit ve trikalsiyum fosfat karışımı kemik greftleri uygulamışlardır. 10. haftanın bitiminde histomorfometrik inceleme sonucunda en iyi yeni kemik oluşumunun dekalsifiye dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftinde olduğunu görmüşlerdir (197).

Hoda ve ark. 20 hasta üzerinde yaptıkları çalışmalarında, polylaktik co-glikolik asid (PLGA) in diş çekimi sonrası alveoler kretteki resorpsiyonu hangi seviyede engelleyebileceğini gözlemlemek istemişlerdir. PLGA yerleştirilen çekim boşluklarında kontrol grubuna göre alveoler kemik seviyesinde azalmanın 4, 12 ve 24 haftalık kontrollerinde anlamlı derecede daha az olduğunu ispat etmişlerdir. PLGA'nın kemik resorpsiyonunu azalttığı ve diş hekimliğinde basit ve kolayca kullanılabilceğini düşünmüşlerdir (198).

Yapmış olduğumuz çalışmada erken kemik oluşumunu gözlemlemek için 3 .haftada sakrifiye edilen Ratlar arasında çıkan sonuçlara göre ; kontrol grubu (A3) ile greft kullanılan grup (C3) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde ettik ($p=0,004$). Boş bırakılan grup (B3) ile greft uygulanan grup (C3) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ($p=0,981$).

Geç kemik oluşumunu takip ettiğimiz 6 .haftada sakrifiye edilen ratlar arasında çıkan sonuçlara göre ; kontrol grubu (A6) ile greft kullanılan grup (C6) arasında ve boş bırakılan grup (B6) ile greft uygulanan grup (C6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. (Sırası ile ; $p=0,964$; $p=0,994$).

6. SONUÇLAR

- Çalışmamızda sistemik olarak propolis verdiğimiz ratların kalvaryumunda yaptığımız histomorfometrik değerlendirme sonuçlarına göre erken dönem kemik oluşumunda propolisin pozitif etkisi olduğu sonucuna varılmıştır. Geç dönem kemik oluşumunda kontrol grubuna göre anlamlı bir fark elde edilmemiştir.

-Yine sentetik kemik grefti kullandığımız ratlarda erken dönemde kemik oluşumunun pozitif olduğunu ve geç dönemde anlamlı bir fark olmadığını gözlemledik.

- Propolisin yeni kemik oluşumunda pozitif ve hızlandırıcı bir etkisi vardır.

- Literatürde propolisin yeni kemik oluşumunda pozitif etkisinin olduğu birçok farklı çalışma vardır. Bizim çalışmamızda çıkan sonuçlar diğer çalışmalarla paralellik göstermektedir.

- Sistemik olarak verilen propolisin günlük dozu değiştirilerek ve propolisin lokal uygulanacağı yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

- 1) Gartner LP, Hiatt JL. *Color Textbook of Histology*. Philadelphia: W.B Saunders company, 3rd Edition, 2007; Chapter 7: 136-156.
- 2) Junqueira LC. *Junqueira's Basic Histology*. 12th edition. 2010; Chapter 8 (Bone).
- 3) Cormack DH. *Essential Histology*. 2nd Edition. 2001; 179-201.
- 4) Gartner LP, Hiatt JL. *Color textbook of Histology*. 2th edition. Philadelphia: W.B Saunders company; 2001; 129-155.
- 5) Nordin M, Frankel VH. *Biomechanics of Whole Bone and Bone Tissue*. Philadelphia: Lea and Febiger; 1980; 15-60.
- 6.) Junqueira LC. Carneiro J: *Basic Histology*. 10th ed. Lange: 2003; 141-154.
- 7) Prockop D.J, Kivirikko K.I, Tuderman L. The biosynthesis of collagen and its disorders. *N Engl J Med*. 1979; 301(2): 13.
- 8) Glimcher, M.J. *Handbook of Physiology: Endocrinology*. Baltimore: The Williams and Wilkins Company; 1976; 25-116.
- 9) Thaller SR, Kim, JC, Kawamoto HK. Calvarial bone graft donor site: A histological model in a rabbit model. *Ann. Plast. Surg.* 1989; 23: 390.
- 10) Paker S. *Histoloji*. Baskı 2; Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı Yayın No: 32: 1993.
- 11) Soydan N. *Genel Histoloji*. İ.Ü. Dişhekimliği Fakültesi. İstanbul: İ.Ü.Basımevi ve Film Merkezi. 1992; 50-85.
- 12) Junqueira LC, Carneiro J, Kelly RO. *Basic Histology*. Aytekin Y. *Temel Histoloji*, İstanbul: Barış Kitabevi; 1998; 132-146.
- 13) Doblare M, Garcia JM, Gomez MJ. Modelling bone tissue fracture and healing: a review. *Engineering Fracture mechanics*. 2004; 71: 1809- 1840.
- 14) Jee WSS, Cowin SC. *Integrated bone tissue physiology: Anatomy and physiology*. *Bone Mechanics Handbook*. 2nd ed. Florida: CRC pres: 2001; 1-68.
- 15) Kierszenbaum AL. *Histoloji ve hücre biyolojisi: Patolojiye giriş*. 4. Baskı. Ankara: Palme yayıncılık; 2006; 118.
- 16) Sikavitsas VI, Temenoff JS, Mikos AG. *Biomaterials and bone mechanotransduction*. *Biomaterials*; 2001; 22(9): 2581-2593.
- 17) Camlar EA, Vinci RJ. The anatomy and physiology of bone fracture and healing. *Clin Ped Emerg Med*. 2002; 3: 85-93.

- 18) Webb JCJ, Tricker JA. Review of fracture healing. *Current Orthopaedics*. 2000; 14(6): 457-463.
- 19) Ozaki A, Tsunoda M, Kinoshita S, Saura R. Role of fracture hematoma and periosteum during fracture healing in rats. *J Orthop Sci*. 2000; 5 (1): 64-70.
- 20) Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop Relat Res*. 1986; (205): 299-308.
- 21) Dupoirieux L, Pourquier D, Picot MC, Neves M. Comparative study of three different membranes for guided bone regeneration of rat cranial defects. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2001; 30(1): 58-62.
- 22) Takagi K, Urist MR. The role of bone marrow in bone morphogenetic protein-induced repair of femoral massive diaphyseal defects. *Clin Orthop Relat Res*. 1982; (171): 224-231.
- 23) Hollinger JO, Kleinschmidt JC. The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. *J Craniofacial Surgery* 1990; 1: 60-68.
- 24) Glowacki J, Altobelli D, Mulliken JB. Fate of mineralized and demineralized osseous implants in cranial defects. *Calcif Tissue Int*. 1981; 33(1): 71-76.
- 25) Mulliken JB, Glowacki J. Induced osteogenesis for repair and construction in the craniofacial region. *Plast Reconstr Surg*. 1980; 65(5): 553-560.
- 26) Develioğlu H. Kritik boyutlu ve kritik boyutlu olmayan defektler. Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hek. Fak. Derg. 2003; 6(1): 60-63.
- 27) Prolo DJ, Pedrotti PW, Burres KP, Oklund S. Superior osteogenesis in transplanted allogeneic canine skull following chemical sterilization. *Clin Orthop Relat Res*. 1982; (168): 230-242.
- 28) Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone grafting. *Orthopaedic Clinics of North America*. 1987; 18: 213-25.
- 29) Oikarinen J, Korhonen LK. Repair of bone defect by bone inductive material. *Acta Orthop. Scan*. 1979; 50: 21-6.
- 30) Burchardt H. The Biology of bone graft repair. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 1983; 174: 28-42.
- 31) Nolan PC, Nicholas RM, Mulholland BJ, Mollan RAB, VWilson DJ. Culture of human Osteoblasts on Demineralized Human Bone. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 1992; 74-B (2) : 284-286.
- 32) Peterson LJ, Tucker MR. *Contemporary of Maxillofacial Surgery*. The CV Mosby Company, 1988.

- 33) Beumer J, Curtis TA, Firteli DA. *Maxillofacial Rehabilitation*. The CV Mosby Company, 1979.
- 34) Şirin SY. Deneysel olarak meydana getirilen kemik defektlerine yerleştirilen farklı tipteki yapay kaynaklı greft materyallerinin kemikleşmesinde hiperbarik oksijen uygulamasının etkilerinin incelenmesi. *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*. 2005; İstanbul.
- 35) Garg AK. *Grafting Materials in Repair and Restoration*. In : Lynch SE, Genco RJ, Marx RE (Eds). *Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics*. Quintessence Publishing. Illinois; 1999; 83-102.
- 36) Kökden A, Türker M. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Kemik Greftleri ve Biyomateryaller. *Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*. 1999; 2(2): 134-140.
- 37) Fonseca RJ, Walker RV. *Oral and Maxillofacial Trauma*. Vol II . W B Saunders Company: 1991.
- 38) Kübler N, Reuther J, Kirchner T, Priessnitz B, Sebald W. Osteoinductive, Morphologic, and Biomechanical Properties of Autolyzed, Antigen-Extracted, Allogenic Human Bone. *J Oral Maxillofac Surg*. 1993; 51: 1346-1357.
- 39) Sandor GKB, Lindholm TC, Clokie CML. Bone regeneration of the craniomaxillofacial and dentoalveolar skeletons in the framework of tissue engineering. In: Ashammakhi N, Ferretti P (Eds). *Topics in Tissue Engineering* 2003; 1-46.
- 40) Zhang M, Powers RM Jr, Wolfenbarger L Jr. Effect(s) of the demineralization process on the osteoinductivity of demineralized bone matrix. *J Periodontol* 1997; 68: 1085-1092.
- 41) Kruger GO. *Text Book of Oral and Maxillofacial Surgery*. The C V Mosby Company, 1984.
- 42) Hislop WS, Finlay PM, Moos KF. A Preliminary study into the uses of Anorganic Bone in Oral and Maxillofacial Surgery. *British J.Oral Maxillofac. Surgery*.1993.
- 43) Urist MR. Bone: *Formation by autoinduction*. Science: 1965; 150: 893-897.
- 44) Karaca İ, Turker M, Akbay C. Experimental Investigation of Bone Regeneration Using Pyrost in Animals. *J.Nihon Univ.Sch.Dent*. 1994; 36: 95-101.
- 45) Karaca İ, Yaman S, Uğar DA, Aral L, Arıcioğlu A, İşman F. An Investigation of Serum Alkaline Phosphatase, Calcium and Phosphate Levels after Intraosseous Implantation of Pyrost in Humans. *Biochemical Archives*. 1997; 13: 69-74.
- 46) Papacharalambous SK, Anastasoff KI. Natural Coral Skeluton used as Onlay Graft for Contour Augmentation of the Face. A preliminary report. *Int J Oral and Maxillofac Surg*. 1993; 22: 260-264.

- 47) Bloomquist D.S, Turvey, T.A. *Modern practice in orthognatic and reconstructive surgery*. In Fonseca Volume 2, Philadelphia, London: WB Saunders Company; 2000; 513-21.
- 48) Ellis III E. *Surgical reconstruction of defects of jaws*. In Peterson LJ, eds. *Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery*. St. Louis. Cv Mosby: 1998; 680-4.
- 49) Khan SN, Tomin E, Lanr, JM. Clinical applications of bone graft substitutes. *Orthop Clin North Am*. 2000; 31: 389-96.
- 50) Moore WR, Grave SE, Bain GI. Synthetic bone graft substitutes. *Australian and New Zealand Journal of Surgery* 2001; 71: 354-61.
- 51) Szpalski M, Gunzburg RG. Applications of calcium phosphate-based cancellous bone void fillers in trauma surgery. *Orthopedics*. 2003; 25: 601-9
- 52) Burdock GA. "Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (Propolis)". *Food and Chemical Toxicology*. 1998; 36: 347-363,
- 53) Koru Ö, Toksoy F, Açikel CH, Tunca, YM, Baysallar M, Güçlü AÜ, Akça E, Tuylu AÖ, Sorkun K, Tanyüksel M and Salih B. "In vitro antimicrobial activity of propolis samples from different geographical origins against certain oral pathogens". *Anaerobe* 13. 2007; 140-145.
- 54) Nakajima Y, Shimazawa M, Mishima S and Hara H. "Water extract of propolis and its main constituents, caffeoylquinic acid derivatives, exert neuroprotective effects via antioxidant actions". *Life Sciences*. 2007; 80: 370-377.
- 55) Ghisalberti EL. 1979. Propolis: a Review. *Bee World* 1979; 60: 59-84.
- 56) Gary N.E. Activities and behavior of honey bees. *The Hive and Honey Bee*.(Chapter VIII), Dadant and Sons Hamilton Illinois: 1992; 269-272.
- 57) Bianchi EM. The preparation of the tincture, the soft extract, the ointment, the soap and other propolis based products. *Apiacta*: 1995; 3-4: 56-62.
- 58) Karacaoğlu M. *Propolisin yapısı ve kullanımı*. Teknik Arıcılık: 1997; 57: 18-25.
- 59) Krell R. *Beeswax and Propolis (For pleasure and Profit)*. International Bee Research Association, UK. 18. North Road, Cardiff CFI 3DY: 1998; 30.
- 60) Doğaroğlu M. *Modern Arıcılık Teknikleri*. İstanbul: Anadolu Matbaa ve Ambalaj San. Tic. ve Ltd. Şti. 1999; 296.
- 61) Tutkun E. *Teknik Arıcılık El Kitabı*. Ankara: Türkiye Kalkınma Vakfı Yayın No: 6, 2000; 235.
- 62) Gençay E. Sorkun K. *Propolis hakkında neler biliyoruz?* Teknik Arıcılık. 2002a; 75: 17-21.

- 63) Kumova U, Korkmaz A, Avcı BC ve Ceyran G. *Önemli bir arı ürünü: propolis*. *Uludağ Arıcılık Dergisi*. 2002; 2(2): 10-24.
- 64) Eroğlu HE, Tatlısen A ve Özkul Y. Mesane kanserli doku kültürlerindeki mikronukleous üzerine propolis ve mitomisin-c'nin etkileri. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi (E.Ü. Journal of Health Sciences)*. 2004; 13: 15-20.
- 65) Chu WH. Adjuvant effect of propolis on immunisation by inactivated *Aeromonas hydrophila* in carp (*Carassius auratus gibelio*). *Fish and Shellfish Immunology*. 2006; 21: 113-117.
- 66) Girgin G, Baydar T, Tüylü AO, Sorkun K, Salih B ve Sahin G. Effect of various propolis on erythrocyte superoxide dismutase and catalase activities: A preliminary study. *Abstracts/ Toxicology Letters*. 2006; 164: 138.
- 67) Marcucci MC. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*. 1995; 26: 83-99.
- 68) Erbaş D, Öz E, Öztürk G. *Fizyoloji-Sağlık Meslek Liseleri Ders Kitabı*. Ankara. Hatiboğlu Yayınevi. 1998; 149: 68.
- 69) <http://www.aridunyasi.com.tr/propolis-faydalari.html> (2012-11-07); 124.
- 70) Velikova M, Bankova V, Marcucci M, Tsvetkova I and Kujungiev A. Chemical composition and biological activity of propolis from brazilian meliponinae. *Z. Naturforsch.* 2000; 55c, 264: 785-789.
- 71) <http://www.belgeler.com/blg/2dd0/ari-sutu-polen-propolis> (2012-11-07)125.
- 72) Kumova U, Korkmaz A, Avcı BC, Güney C. Önemli bir arı ürünü: Propolis. *Uludağ Arıcılık Dergisi*. 2002; 156: 10-23.
- 73) Silici S. *Propolisin bazı antimikrobiyel ve farmakolojik aktiviteleri üzerine bir araştırma*. Adana: Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilimdalı. 2003; 232.
- 74) Şahinler N. Arı ürünleri ve insan sağlığı açısından önemi. *MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*. 2000; 5 (1 -2): 139 -148, 248.
- 75) Uzel A, Sorkun K, Öncəğ O, Çoğulu D, Gencay O, Salih B. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. *Microbiol Res.* 2005; 160: 189-195, 259.
- 76) Senel N, Yazar S, Çetinkale O, Bulan R, Konukoğlu D ve Özdemir S. Elektrik yaralanması sonrası kan akışkanlığındaki değişiklikler ve serbest oksijen radikallerinin kan akışkanlığı üzerine etkileri. *Türk plastik rekonstrüktif ve estetik, Cerrahi Dergisi*. 2007; Cilt15 / Sayı 1: 40-46, 228.

- 77) Marcucci MC. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*. 1995; 25: 83-99
- 78) Trusehva B, Popova M, Bankova V. et al. Bioactive constituents of Brazilian red propolis, evid based complementary. *Alternative Medicine*. 2006; 3: 249- 256.
- 79) Park YK, Alencar SM. et al. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002; 50: 2502–06: 201.
- 80) Bankova V, Popova M, Stefan B, Sabatini A. Chemical composition of propolis expected and unexpected results. *Z. Naturforsch.* 2002; 57c, 19: 530-533.
- 81) Poonkuzhali B, Srivastava A, Quernin MH. et al. Pharmacokinetics of oral busulphan in children with beta thalassaemia major undergoing allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 1999; 24 (1): 5-11, 204.
- 82) Kolankaya D, Selmanoglu G, Sorku, K. Protective effects of Turkish propolis on alcohol-induced serum lipid changes and liver injury in male rats. *Food Chemistry*. 2002; 78: 213-17, 150.
- 83) Kutluca S, Genç F ve Korkmaz A. *Propolis*. Samsun: Samsun Valiliği Tarım İl Müdürlüğü. 2006; 57: 157.
- 84) Santos VR, Pimenta FJ, Aguiar MC, Do Carmo MA, Naves MD, Mesquita RA. Oral candidiasis treatment with Brazilian ethanol propolis extract. *Phytother Res*. 2005; 19: 652-654, 223.
- 85) Walker P, Crane E. Constituents of propolis. *Apidologie*. 1987; 18: 327–34, 267.
- 86) Granje JM and Davey RW. Antibakteriyal properties of propolis (bee gleu). *J. of the Royal Society of Medicine*. 1990; 83, 159-160, 86.
- 87) Schkenderoff S. *Arı Ürünleri Kitap*. Sofya: Bulgarca. 1983; 225.
- 88) Vahonina T.B. (Rusça Çeviri). *Propolisin yapısı özellikleri pratikte uygulama imkanları eğitim makalesi*. No: 24, Moskova: 1976; 114: 260.
- 89) Prytyk E, Dantas AP, Salomão K, Pereira AS, Bankova VS, Castro SL and Aquino Neto FR. Flavonoids and trypanocidal activity of Bulgarian propolis. *J. Ethnopharmacol*. 2003; 88:189–193, 208.
- 90) Cook NC, Samman S. Flavonoids: chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. *J. Nutr Biochem*. 1996; 7: 66-76, 48.
- 91) Hepşen IF, Tilgen F, Er H. Propolis: Tıbbi özellikleri ve oftalmolojik kullanımı. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*. 1996; 3 (4), 386-391, 117.

- 92) Koo H, Rosalen PL, Cury JA. et al. Effects of compounds found in propolis on streptococcus mutans growth and on glucosyltransferase activity. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; 46: 1302-09, 151.
- 93) Russo R and Longo AV. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia.* 2002; 73 Suppl, 1: 21- 29, 216.
- 94) Tetik Ö, Gökçaya A. *Spinal kord korunması.* TGKDCD, 2000; 8(2): 578-92.
- 95) Gregory GJB. Spinal Cord Anatomy. Localization. And Overview Of Spinal Cord Syndromes. *Lifelong Learning Neurol.* 2008; 14(3): 11-35.
- 96) Hassan M. The role of busulfan in bone marrow transplantation. *Med Oncol.*1999; 16(3):166-76, 100.
- 97) Scheller S, Wilczok T, Imielski S, et al. Free radical scavenging by ethanol extract of propolis. *Int J Radiat Biol* 1990; 65: 461-463.
- 98) Banskota AH, Tezuka Y, Prasain JK, et al. Chemical constituents of brazilian propolis and their cytotoxic activities. *Journal of Natural Product.*1998; 61: 896–00, 24.
- 99) Jenkins RR, Tengji J. Catalase activity in sceletal muscle of varying filber types. *Experimentia.* 1981; 37: 67-68, 132.
- 100) Bankova VS, Castro SL and Marcucci MC. “Propolis: recent advances in chemistry and plant origin”. *Apidologie.* 2000; 31: 3-15.
- 101) Banskota AH, Tezuka Y and Kadota S. “Recent Progress in Pharmacological Research of Propolis”. *Phytotherapy Research.* 2001; 15: 561-571.
- 102) Tatlı SP. Effect of dietary Turkish propolis as alternative to antibiyotic on performance and digestibility in broilers exposed to heat stress. *Journal of Applied Animal Research.* 2008; 34: 193-196.
- 103) Silici S, Kutluca S. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology.* 2005; 99: 69-73.
- 104) Castaldo S and Capasso F. “Propolis, an old remedy used in modern medicine”. *Fitoterapia.* 2002; 73(1): 1-6
- 105) Hepşen İF, Tilgen F ve Er H. “Propolis: Tıbbi özellikleri ve Oftalmolojik kullanımları”. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi.* 1996; 3(4).
- 106) Sforcin JM. “Propolis and the immune system: a review”. *Journal of Ethnopharmacology.* 2007; 113: 1-14.

- 107) Mohammadzadeh S, Sharriatpanahi M, Hamedi M, Amanzadeh Y, Ebrahimi SES, Ostad SN. Antioxidant power of Iranian propolis extract. *Food Chem.* 2007; 103: 729-733, 171.
- 108) Kolankaya D, Selmanoğlu G, Sorkun K and Bekir S. “Protective effects of Turkish propolis on alcohol-induced serum lipid changes and liver injury in male rats”. *Food Chemistry.* 2002; 78: 213-217.
- 109) Türkez H, Yosuef MI, Geyikoglu F. Propolis prevents aluminum-induced genetic and hepatic damages in rat liver. *Food and Chemical Toxicology* 2010; 48: 2741-2746.
- 110) Russo AL, Longo R, Vanella A. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. 73 Suppl. *Fitoterapia.* 2002 Nov; 1:21-9.
- 111) El-khawaga O, Salem T, Elshal M. Protective role of Egyptian propolis against tumor in mice. *Clinica Chimica Acta.* 2003; 338: 11-16, 64.
- 112) Hady F, Hegazi A. Egyptian propolis 2nd chemical composition, antiviral and antimicrobial activities of east delta propolis. *Z. Naturforsch.* 2002; 57c: 386-394, 94.
- 113) Basnet P, Matsushige K, Hase K and Kadota S. Potent antihepatotoxic activity of dicaffeoyl quinic acids from propolis. *Biol. Pharm. Bull.* 1996; 19: 1479-484, 25.
- 114) Greenaway W, Scaysbrook T and Whatley, FR. The composition and plant origins of propolis: A report of work at Oxford. *Bee World.* 1990; 71 (3); 107-118,88.
- 115) Ötles S. *Bal ve Bal Teknolojisi.* Alasehir MYO Yayınları; 1995; 2: 41-44.
- 116) Aksoy Z, Dıgrak M. Bingöl yöresinde toplanan bal ve propolisin antimikrobiyal etkisi üzerinde in vitro araştırmalar. *Science and Eng. J. of Fırat Univ.* 2006; 18: 471-478.
- 117) Seven İ, Aksu T ve Seven PT. Propolis ve Hayvan Beslemede Kullanımı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*; 2007; 18 (2): 79-84.
- 118) Popravko SA, Sokolov IV. *Propolisin Bitkisel Kaynakları.* *Arıcılık Dergisi* 1980; No:2-Rusça.
- 119) Santos F A, Bastos E M A, Uzeda M, Carvalho M A R, Farias LM, Moreira ESA ve Braga FC. Bacteri. Antibacterial activity of Brazilian Propolis and Fractions Against Oral Anaerobic a. *Journal of Ethnopharmacology.* 2002; 80: 1-7.
- 120) Silici S. ve Kaftanoğlu O. Antimicrobial Analysis of Propolis Samples from Different Regions in Turkey. *Uludağ Arıcılık Dergisi*; 2003; 3 (3): 16-18.
- 121) Gebara ECE, Lima LA ve Mayer MPA. Propolis Antimicrobial Activity Against Periodontopathic Bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology.* 2002; 33: 365-369.

- 122) Özen T, Kılıç A, Bedir O, Koru Ö, Sorkun K, Tanyüksel M, Kılıç S, Gençay Ö, Yıldız O ve Baysallar M. In Vitro Activity of Turkish Propolis Against Anaerobic Bacteria Causing Oral Infections. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 2010; 16 (2): 293-298.
- 123) Kleinrok, Z., Borzecki, Z., Scheller, S., Matuga, W., 1978, Biological properties and clinical application of propolis: X. preliminary pharmacological evaluation of ethanol extract of propolis (Eep), *Arzneim Forsch/Drug Res*, 28: 291-292,147.
- 124) Strehl E, Volper R, Elstner EF. 1994, Biochemical activities of propolis extracts. Inhibition of dihydrofolate reductase. *Z Naturforsch.* 1994; 49: 39-43,243.
- 125) Sencer A, Aras Y, Akçakaya MO, Gömleksiz C, Can H, Canbolat A. Effects of combined and individual use of N-methyl-D aspartate receptor antagonist magnesium sulphate and caspase-9 inhibitor z-LEDH-fmk in experimental spinal cord injury. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2013; 14(9): 313-9.
- 126) Sayın M, Var A, Temiz C. The dose-dependent neuroprotective effect of alpha-lipoic acid in experimental spinal cord injury. *Neurol Neurochir Pol.* 2013; 47(4): 345-51.
- 127) TC Erhan. *Nöroşirürjide Temel Konular ve İlkeler.* Osmangazi Üniversitesi Basımevi; 2004.
- 128) Ho CH, Priebe MM, Chiodo AE, Scelza WM, Kirshblum SC. Spinal cord injury medicine. 1. Epidemiology and classification. *Arch Phys Med Rehabil.* 2007; 88(3): 49-54.
- 129) Pearse DD, Pereira FC, Andrade CM, Puzis R, Pressman Y, Golden K, Kitay BM, Blits B, Wood PM, Bunge MB. Transplantation of Schwann cells and/or olfactory ensheathing glia into the contused spinal cord: Survival, migration, axon association, and functional recovery. *Glia.* 2007; 55(9): 976-1000.
- 130) Cardile V, Panico A, Gentile B, Borrelli F, Russo A. Effect of propolis on human cartilage and chondrocytes. *Life Sciences* 2003; 73: 1027–1035.
- 131) Dobrowolski JW1, Vohora SB, Sharma K, Shah SA, Naqvi SA, Dandiya PC. Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *J Ethnopharmacol.* 1991; Oct;35(1): 77-82.
- 132) Talas ZS, Gülhan, M.F. 2009, Effect of various propolis concentrations on biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Ecotoxicol and Environm. Safety.* 1994-1998; 72: 251.
- 133) Hausen BM, Wollenweber E, Senff H, Post B. Propolis allergy. (II). The sensitizing properties of 1,1-dimethylallyl caffeic acid ester. *Contact Dermatitis* 1987; 17: 171–177.
- 134) Callejo A, Armentia A, Lombardero M, Asensio T. Propolis, a new bee-related allergen. *Allergy* 2001; 56: 579.

- 135) Rudeschko O, Machnik A, Dorfelt H, Kaatz HH, Schlott B, Kinne RW. A novel inhalation allergen present in the working environment of beekeepers. *Allergy* 2004; 59: 332–337.
- 136) Gülbahar O, Öztürk G, Erdem N, Kazandı AC, Kokuludag A. Psoriasiform contact dermatitis due to propolis in a beekeeper. *Annals of Allergy. Asthma & Immunology*. 2005; 94: 509–511.
- 137) Miyataka H, Nishiki M, Matsumoto H, Fujimoto T, Matsuka M, Isobe A, Satoh T. Evaluation of propolis (II): effects of Brazilian and Chinese propolis on histamine release from rat peritoneal mast cells induced by compound 48/80 and concanavalin A. *Biol & Pharm Bull*. 1998; 21: 723–729.
- 138) Hollands I, Vidal A, Gra B and Sotolongo M. Evaluation of the sub-chronic toxicity of Cuban propolis. [Estudio evaluativo de la toxicidad subcrónica del propóleo cubano]. *Revista Cubana de Ciencias Veterinarias*. 1991; 22: 91-100
- 139) Schmidt JO. *Bee products, chemical, composition and application. Bee products, properties, applications and apitherapy*. New York, Plenum Pres. 1996; 15: 16–21
- 140) Benkovi V, Orsolı N, Knezevic A. Evaluation of the Radioprotective Effects of Propolis and Flavonoids in Gamma-74 Irradiated Mice: The Alkaline Comet Assay Study. *Biol. Pharm, Bull*. 2008; 31: 167-72.
- 141) Benguedouar L, Boussenane HN, Wided K. Efficiency of propolis extract against mitochondrial stress induced by antineoplastic agents (doxorubicin and vinblastin) in rats. *Indian J Exp Biol*. 2008; 46: 112-19.
- 142) Gabbianelli R, Falcioni G. Antioxidative and gastroprotective activities of anti-inflammatory formulations derived from chestnut honey in rats. *Nutrition Research*. 2006; 26: 130– 37.
- 143) Banskota AH, Tezuka Y, Adnyana IK. Hepatoprotective and antihelicobacter pylori activities of constituents from brazilian propolis. *Phytomedicine*. 2001; 8: 16-23.
- 144) Celik S, Gorur S, Aslantas O. Caffeic acid phenethyl ester suppresses oxidative stress in escherichia coli-induced pyelonephritis in rats. *Mol cell Biochem*. 2007; 297: 131-38.
- 145) Walker P, Crane E. Constituents of propolis, *Apidologie*. 1987; 18: 327–34.
- 146) Khadra M, Ronald HJ, Lyngstadaas SP, Ellingsten JE, Haanes HR. Low-Level Laser Therapy Stimulates Bone-Implant Interaction: An Experimental Study in Rabbits. *Clin Oral Impl Res*. 2004; 15: 325–32.
- 147)) Arvouet-Grand A, Lejeune B, Bastide P, Pourrat A, Pnvat AM, Legret P. Extrait de propolis: II. Etude de la cicatrisation de plaies chez le lapin et chez le rat. *Journal De Pharmacie De Belgique (J Pharm Belg)* 1993; 48(3): 171-178.
- 148) Gritsenko VI, Tikhonov O, Pryakhin PR, Pasechnik IK. Photoelectrocolorimetric method of determining a polysaccharide preparation from propolis. *Chem Nat Comp* 1977; 13(5): 579-580.

- 149) Havsteen B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharmacol.* 1983; 32(7): 1141-8.
- 150) Arvouet-Grand A, Lejeune B, Bastide P, Pourrat A, Pnvat AM, Legret P. Extrait de propolis: II. Etude de la cicatrisation de plaies chez le lapin et chez le rat. *Journal De Pharmacie De Belgique (J Pharm Belg)* 1993; 48(3): 171-178.
- 151) Kleinrok Z, Borzecki Z, Sheller S, Matuga W. Biological properties and clinical application of propolis. *Arzneim Forsch* 1978; 28(2): 291-292.
- 152) Kaneeda J, Nishina T. Safety of propolis: Acute toxicity. *Honeybee Science* 1994; 15: 29-33.
- 153) Hollands I, Mandado S, Domingues C. Demostración ultraestrutural del efecto citohepatoprotector del propóleos. *Rev Cubana Cienc Vet.* 1991; 22: 85-90.
- 154) Mohammadzadeh S, Shariatpanahi M, Hamed M, Ahmadkhaniha R, Samadi N, Ostad SN. Chemical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis. *Food Chem.* 2007; 103: 1097-1103.
- 155)) Frame JW. A convenient animal model for testing bone substitute materials. *J.Oral Surg.* 1980; 38: 176.
- 156) Prolo DJ, Gutierrez RV, DeVine JS, Oklund SA. Clinicial utility of allogenal skull discs in human craniotomy. *Neurosurgery.* 1984; 14: 183.
- 157) Özeç İ, Kılıç E, Gümüş C, Göze F. Lokal olarak üç farklı dozda simvastatin uygulamasının kemik defekti iyileşmesi üzerine etkisinin değerlendirilmesi. *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hek. Fak. Dergisi.* 2007; 10(2): 82-86.
- 158) Donos N, Graziani F, Mardas N, Kostopoulos L. The use of human hypertrophic chondrocytes-derived extracellular matrix for the treatment of critical-size calvarial defects. *Clin Oral Implants Res.* 2011; 22(12): 1346-1353.
- 159) Hollinger JO, Kleinschmidt JC. The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. *J Craniofacial Surgery.* 1990; 1: 60-68.
- 160) Ün EC. Lokal olarak uygulanan rifamisin bone morfogenetik protein salınımı ve yeni kemik oluşumu üzerine etkilerinin deneysel olarak incelenmesi. Doktora Tezi. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı. Sivas. 2103.
- 161) Taşdemir OU. Rifamisin ile dekontamine edilen otojen blok kemiğin onley greft olarak kullanımının deneysel olarak incelenmesi. Doktora Tezi. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Sivas. 2011.
- 162) Baldık Y. Nitrik oksidin kemik iyileşmesinde rolü. Uzmanlık tezi. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı. İstanbul; 2000.
- 163) Pileggi R, Antony K, Johnson K, Zuo J, Shannon Holliday L. *Dent Traumatol.* 2009 Dec; 25(6):584-8.
- 164) Toker H, Ozan F, Ozer H, Ozdemir H, Eren K, Yeler H. *J. Periodontol.* 2008 Jun; 79(6):1089-94.

- 165) Guney A, Karaman I, Oner M, Yerer MB. *Phytother Res.* 2011 Nov; 25(11):1648-52.
- 166) Altan BA, Kara IM, Nalcaci R, Ozan F, Erdogan SM, Ozkut MM, Inan S. *Angle Orthod.* 2013 Mar; 83(2):286-91.
- 167)) Bereket C, Özkan F, Şener İ, Tek M, Altunkaynak BZ, Semirgin SU, Şenel E, Özdemir M. *The Journal Of Craniofacial Surgery [J Craniofac Surg]*, ISSN: 1536-3732, 2014 Sep; Vol. 25 (5).
- 168) Bushra Habeeb Al-Molla; Nada Al-Ghaban; Abbas Taher. In: *Journal of Dental Research and Review*, Vol 1, Iss 3, Pp 123-131 (2014); Wolters Kluwer Medknow Publications, Language: English, Database: Directory of Open Access Journals. 2014.
- 169) Nakajima M, Arimatsu K, Minagawa T, Matsuda Y, Sato K, Takahashi N, Nakajima T, Yamazaki K. *BMC Complement. Altern Med.* 2016 Aug; 30;16(1):329.
- 170) . Özkan F., 2006. Propolis'in Kırık İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Deneysel Olarak İncelenmesi (Doktora Tezi). Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Sivas.
- 171) Sanders D.L., Reinisch L. :Wound Healing and collagen thermal damage in 7,5 usec pulsed carbondioxide laser skin incisions, *Lasers. Surg. Med.* 2000,26: 22-32.
- 172) Mundell RD, Money MP, Siegel MI, Losken A. Osseous guided tissue regeneration using a collagen barrier membrane. *J Oral Maxillofac Surg.* 1993 51: 1004-12.
- 173) Tanrıku R, Erol B, Büyükbayram H. Kemik defektlerinin rejenerasyonunda yalnızca allojenik kemik greftinin ve kollajen membran ile birlikte kullanımının deneysel olarak araştırılması. *Türkiye Klinikleri Diş Hekimliği Bilimleri Dergisi.* 2001; 7: 65-70.
- 174) Beirne, O.R., Comparison of complications after bone removal from lateral and medial plates of anterior ilium for mandibular augmentation, *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 1986; 15: 269-272
- 175) Ray. R.D. Holloway, J.A. Bone implants. *J. Bone and Joint Surgery.* 1957;39(5): 1119-1128.
- 176) Seibert J, Nyvan, S. Localize ridge augmentation in dogs: a pilot study using membranes and hydroxyapatite. *J. Periodontol.* 1990; 61(3): 157-165
- 177) Ferraro J.W. Experimental evaluation of ceramic calcium phosphate as a substitute for bone grafts. *Plast. Reconst. Surg.* 1979; 63(5) : 634-640
- 178) Hosny M, Sharawy M. Osteoinduction in young and old rats using demineralized bone powder allografts. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 1985; 43: 925-931.
- 179) Terry B.C, Albright, J.E, Boker R.D. Alveolar ridge augmentation in the edentulous maxilla with use of autogenous ribs. *J. Oral Surg.* 1974; 32: 429-433
- 180) Cowin S.C., *Bone Mechanics Handbook*. 2nd edn. Boca, Raton, London, New York, Washington: CRC Press. 2001; Bölüm 1: 1-68, Bölüm 2: 1-24.

- 181) Vaccaro A.R. The role of the osteoconductive scaffold in synthetic bone graft. *Orthopedics* 2002; 25: 757-64
- 182) Veth R, Schreuder B, Beem H, Pruscynski ., Rooy J. Cryosurgery in aggressive, benign, and lowgrade malignant bone tumours. *Lancet Oncol.* 2005; 6: 25-34.
- 183) Brom MJ, Banta JV, Renshaw TS. Spinal fusion augmented by Luque-rod segmental instrumentation for neuromuscular scoliosis. *J Bone Joint Surg Am.*1989;71: 32-44.
- 184) Henman P, Finlayson D. Ordering allograft by weight: Suggestions for the efficient use of frozen bone-graft for impaction grafting. *J Arthroplasty.* 2000; 15: 368-71.
- 185) Yildirim M, Spiekermann H, Biesterfeld S, Edelhoff D. Maxillary sinus augmentation using xenogenic bone substitute material Bio-Oss in combination with venous blood. A histologic and histomorphometric study in humans. *Clin Oral Implants Res.* 2000 Jun; 11(3): 217–29.
- 186) Sanders DL, Reinisch L. Wound Healing and collagen thermal damage in 7,5 μ sec pulsed carbondioxide laser skin incisions. *Lasers. Surg. Med.* 2000; 26: 22-32.
- 187) Mundell RD, Money MP, Siegel MI, Losken A. Osseous guided tissue regeneration using a collagen barrier membrane. *J Oral Maxillofac Surg.* 1993; 51: 1004-12.
- 188) Kaya B., Ünlü G. Kistektomi ve apikal rezeksiyon operasyonlarındaki kemik defektlerinde sentetik alloplastlar ile ksenojenik greftlerin uygulanması *Dicle Tıp Dergisi.* 1999; 26:4:103-116.
- 189) Chatterjea A, Van Der Stok J, Danoux CB, Yuan H, Habibovic P, Van Blitterswijk CA, Weinans H, De Boer J. Inflammatory response and bone healing capacity of two porous calcium phosphate ceramics in critical size cortical bone defects. *J Biomed Mater Res A.* 2013.
- 190) Curtis TA, Ware WH, Beirne OR, Frankel ME. Autogenous Bone Graft for Atrophic Edentulous Mandibles: *A Final Report J Prosthet Dentistry.* 1987; 57: 73.
- 191) Tiwari R, Show GB, van der Waal. Reconstruction of the Mandible with Conventional Bone Graft: An Evaluation. *J Laryngol Otol.* 1994; 108: 369.
- 192) Kavak G, Vural A, Us H. A histopathological comparison of the effects of demineralized bone-powder and natural coral implants on osteogenesis. *Tr J of Medical Sciences.* 1994; 21: 191-5.
- 193) Scarano A, Degidi M, Iezzi G, Pecora G, Piattelli M, Orsini. G. Maxillary sinus augmentation with different biomaterials: a comparative histologic and histomorphometric study in man. *Implant Dentistry.* 2006; (15):2: 197-207.
- 194)) Piccinini M, Rebaudi A, Sglavo VM, Bucciotti F, Pierfrancesco R. *Implant Dent.* 2013 Feb; 22(1): 83-90.
- 195) Kim SS1, Kim BS. *Dent Mater J.* 2008 May;27(3): 368-75.

- 196) Athanasiou VT, Papachristou DJ, Panagopoulos A, Saridis A, Scopa CD, Megas P. Histological comparison of autograft, allograft-DBM, xenograft, and synthetic grafts in a trabecular bone defect: an experimental study in rabbits. *Med Sci Monit.* 2010; 16(1): 24-31.
- 197) Fleckenstein KB, Cuenin MF, Peacock ME, Billman MA, Swiec GD, Buxton TB, Singh BB, McPherson JC. Effect of a hydroxyapatite tricalcium phosphate alloplast on osseous repair in the rat calvarium. 2006; *J Periodontology* 77(1): p.39-45.
- 198) Hoda N, Saifi AM, Giraddi GB. *J. Oral Biol Craniofac Res.* 2016 Sep-Dec; 6(3):173-178.





**T.C. YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ, DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU
(YÜDHEK)**

ETİK KURUL KARARI

Toplantı Tarihi	Karar No	İlgi	Proje Yürütücüsü
14.10.2014	415	22.09.2014 Tarihli Yazı	Doç.Dr. Ahmet ARSLAN

‘Sistemik propolisın sıçan kalvaryumunda oluşturulan defekt modelindeki yeni kemik oluşumuna etkisinin histomorfometrik açıdan incelenmesi’ adlı bilimsel çalışma etik kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna oy birliğiyle karar verilmiştir.

Etik Onay Geçerlilik Süresi: 1 Yıl

GÖREVİ	ADI SOYADI	İMZA
Başkan	Prof. Dr. M. Ece GENÇ	
Başkan Yardımcısı	Prof. Dr. Erdem YEŞİLADA	
Raportör	Prof. Dr. Işıl Aksan KURNAZ	KATILMADI
Üye	Prof. Dr. Bayram YILMAZ	
Üye	Prof. Dr. Başar ATALAY	
Üye	Yard.Doç.Dr.Soner DOĞAN	
Üye	Yard. Doç. Dr. Ediz DENİZ	KATILMADI
Üye	Doç. Dr. C. Narter YEŞİLDAĞLAR	KATILMADI
Üye	Sumru KİRAZCI	

ÖZGEÇMİŞ

Cenker SELÇUK, 11.03.1973 yılında Manisa/Salihli’de doğmuştur. İlköğrenimini sırası ile Öğretmen Davut ve Altınordu İlkokulu’nda, orta ve lise öğrenimini Sekine Evren Anadolu Lisesi’nde tamamlamıştır. Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’nden 1999 yılında mezun olmuştur. 2011 yılında Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Cerrahisi Bölümü’nde başladığı doktora eğitimine devam etmektedir. Evli ve 2 kız çocuğu babasıdır.

