



T.C.

YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ORTODONTİ ANABİLİM DALI

**HIZLI ÜST ÇENE GENİŞLETME SONRASI SIÇANLARIN
MİDPALATAL SUTUR ALANINA UYGULANAN FARKLI
MOLEKÜL AĞIRLIKLI HYALURONİK ASİTİN KEMİK
OLUŞUMUNA ETKİSİNİN HİSTOMORFOMETRİK
OLARAK İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

DT. TUĞBA BEKÇİ SADIKOĞLU

DANIŞMAN

DOÇ. DR. DİDEM NALBANTGİL

YARDIMCI DANIŞMAN

DR. FEYZA ÜLKÜR

İSTANBUL – 2014

TEŞEKKÜR

Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde bulunduğum on iki yıllık diş hekimliği ve ortodonti doktora eğitimim boyunca bana olan desteği, güveni ve her yardımına ihtiyaç duyduğumda karşılaştığım babacan tavırları ile sunduğu imkanlar için Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dekanı ve Ortodonti Anabilim Dalı Başkanı Sayın **Prof. Dr. Türker Sandallı**'ya,

Doktora eğitimim boyunca kendisini tanıma imkanı bulduğum için ne kadar şanslı olduğumu hissettiğim, bütün zor anlarımın vazgeçilmez yardımcısı, ortodontiye ve bilime olan heyecanını her zaman hayranlıkla izlediğim, engin bilgi ve tecrübelerini büyük bir zevkle bizlerle paylaşan, alçakgönüllü kişiliği ile bizlere her zaman örnek olan canım hocam Sayın **Prof. Dr. Fulya Özdemir**'e,

Tezimin hazırlanması süresince ve ortodonti eğitimim boyunca hissettirdiği sonsuz destek ve emekleri için, yanında çalışmaktan her zaman onur duyduğum, varlığı, içtenliği, bakışı ve bir gülüşü ile bütün dünyamı aydınlatan, her zaman kendisini hayranlıkla örnek aldığım canım hocam, tez danışmanım Sayın **Doç. Dr. Didem Nalbantgil**'e,

Ortodonti eğitimim süresince her zaman minnet duyduğum, katkı ve desteğini hissettiğim, her zaman sabırla ve titizlikle eğiten ve her zaman ufkumu açan örnek ve mütevazı insan, canım hocam Sayın **Doç. Dr. Derya Çakan**'a,

Tezimin hazırlanması ve doktora eğitimim süresince üzerimde sayısız emeği olan, samimiyeti, desteği, sabrı, hoşgörüsü ve varlığı ile kendisine her zaman müteşekkir olduğum canım hocam, yardımcı tez danışmanım Sayın **Dr. Feyza Ülkür**'e,

Ortodonti eğitimim boyunca her zaman desteğini hissettiğim, bizleri sevgisi ve ilgisi ile her zaman bir arada tutan Sayın **Prof. Dr. Tülin Arun**'a,

Doktora eğitimim boyunca tecrübelerinden faydalandığım Sayın **Doç. Dr. Oğuz Öztoprak**'a, tecrübe ve desteklerini hiç bir zaman esirgemeyen değerli hocalarım Sayın **Yrd. Doç. Dr. Murat Tozlu**'ya ve Sayın **Dr. Burcu Nur**'a,

Tez hazırlığı sürecimde her zaman yanımda olan, insani ve ahlaki değerleri ile her zaman örnek aldığım değerli hocam Sayın **Prof. Dr. Ertuğrul Kılıç**'a, içten yardımları için, tezimin istatistiksel analizlerini yapan Sayın **Yrd. Doç. Dr. Çiğdem Kaspar**'a, tezimin histoloji kısmının hazırlanmasında sayısız emekleri olan, canım arkadaşım Sayın **Arş. Gör. Nilüfer Ulaş**'a ve sunmuş olduğu imkanlar için **Medipol Üniversitesi Histoloji Ana Bilim Dalı**'na,

Ortodonti eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan her zaman keyif aldığım sevgili arkadaşlarım Sayın **Dt. Miray Günyüz**'e, Sayın **Dt. Sabiha Ece Yücel**'e ve diğer çalışma arkadaşlarım ile tüm ortodonti bölümü çalışanlarına,

Diş hekimliği, doktora ve tez hazırlığı sürecim boyunca her anımda yanımda olan, üniversite hayatımın bana kazandırdığı en kıymetli ve candan dostlarım Sayın **Ecz. Pelin Piribaş**'a, Sayın **Dr. Fatma Bulut Bağcı**'ya, Sayın **Yrd. Doç. Dr. Hilal Özbey**'e, Sayın **Dt. Pınar Gökoğlu**'na, Sayın **Aylin Özikinci**'ye ve tüm arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca bana her zaman güçlü olmayı öğreten, maddi, manevi tüm destekleri ile bu günlere gelmemi sağlayan, her konuda varlığını yanımda hissettiren, vazgeçilmez koruyucum, desteğim ve hayatımın en büyük güç kaynağı canım annem Sayın **Ecz. Ayşe Neptün Bekci**'ye ve tüm aileme,

Hayatımın en kıymetli, özel ve zor dönemlerini beraber paylaştığım, gücümü ve neşemi varlığından aldığım, tez hazırlığı sürecimde beni bir an bile yalnız bırakmayan ve hayatımın her anını kolaylaştıran sevgili eşim Sayın **Ömer Faruk Sadıkoğlu**'na ve sayesinde tanıştığım ikinci aileme sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

HIZLI ÜST ÇENE GENİŞLETME SONRASI SIÇANLARIN MİDPALATAL SUTUR ALANINA UYGULANAN FARKLI MOLEKÜL AĞIRLIKLI HYALURONİK ASİTİN KEMİK OLUŞUMUNA ETKİSİNİN HİSTOMORFOMETRİK OLARAK İNCELENMESİ

Üst çene kemiği çeşitli nedenlerden dolayı alt çene kemiğine göre transversal yönde dar kalabilmektedir. Ortodontik tedavi sırasında bu durum tedavi edilebilmektedir. Üst çenenin transversal yön anomalilerinin tedavi yöntemlerinden birisi, hızlı üst çene genişletmesidir. Bu tür olgularda, tedavi sonrası elde edilen sonuçların kalıcı olabilmesi için uzun süreli pekiştirme tedavisine ihtiyaç duyulmaktadır. Yeterli pekiştirme sürecinin tamamlanmadığı durumlarda üst çenenin tekrar daralmasıyla nüks gerçekleşebilmektedir. Genişletilmiş midpalatal sutur alanında maksimum stabilite sağlanarak tedavi ve pekiştirme sürecinin kısaltılabilmesi amacıyla bu alanda kemik oluşumunun hızlandırılması gerekmektedir. Kemik oluşumu mekanizmasında rol oynayan materyaller vardır. Bunlardan biri de hyaluronik asittir. Midpalatal alanda etkinliği henüz denenmemiş olan, yüksek molekül ağırlıklı hyaluronik asit, kemik oluşumuna yönelik sağladığı yararlar ile bilinen bir maddedir.

Çalışmamızın amacı, hızlı üst çene genişletmesi uygulanan sıçanların midpalatal sutur alanına enjekte edilen farklı molekül ağırlıklı hyaluronik asit çözeltilisinin bu alandaki kemik oluşumu üzerine etkilerini histomorfometrik olarak incelemektir.

Bu amaçla ortalama ağırlıkları $215,42 \pm 36,37$ gr olan, 10-12 haftalık 24 adet erkek Sprague Dawley sıçanı kullanılmıştır. Sekizerli gruplara ayrılan 3 grup sıçanın üst çenesi heliksli genişletme apareyi kullanılarak transversal yönde genişletilmiştir. Genişletmenin 5. gününde heliksli genişletme apareyi çıkarılarak

retansiyon apareyi uygulanmıştır. Yüksek ve düşük molekül ağırlıklı hyaluronik asit ile serum fizyolojik solüsyonu midpalatal sutur alanına bölgesel olarak 0,05 ml (50 µl) enjekte edilmiştir. Enjeksiyonu takip eden 10. gün sonunda sıçanlar sakrifiye edilmiş ve üst çeneleri kesilerek alınmıştır. Histomorfometrik inceleme için alınan ve trimlenen enjeksiyon sahalarından keser dişlerin uzun eksenine paralel olacak şekilde, dişlerin kesici kenarlarından apekslerine doğru 10 µm kalınlığında uzunlamasına seri kesitler alınmıştır. Hematoksilen-eozin ile boyanan kesitler foto mikroskobu Nikon® Eclipse (Eclipse Ni-E; Nikon®, Tokyo, Japan) ile analiz edilmiş, hacim ölçümleri "Image J®" (US National Institutes of Health, Bethesda, MA, USA) yazılım programı ile değerlendirilmiştir.

Her grubun kemik alanı (µm²) ve kemik perimetresi (µm) ölçülmüş, osteoblast ve kapiller hücre sayımları yapılmıştır. Elde edilen osteoblast ve kapiller hücre sayılarının, kemik alanı (µm²) ve kemik perimetresi (µm) parametrelerine oranı değerlendirilmiştir. Histomorfometrik değerlendirmeler sonucunda, yüksek molekül ağırlıklı hyaluronik asit solüsyonu, düşük molekül ağırlıklı hyaluronik asit ve kontrol gruplarına kıyasla, midpalatal sutur alanında kemik yapımını arttırarak, istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek osteoblast ve kapiller hücre değerleri göstermiştir (p<0,05). Düşük molekül ağırlıklı hyaluronik asit ve kontrol grupları midpalatal sutur alanında kemik oluşumu açısından değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak birbirlerine göre anlamlı bir fark saptanmamıştır (p>0,05).

Çalışmamızda hızlı üst çene genişletmesi sonrası uygulanan yüksek molekül ağırlıklı hyaluronik asit solüsyonu ile midpalatal sutur alanında yeni kemik yapımı arttırılmıştır. Böylece retansiyon süresinin kısaltılabileceği, oluşabilecek nüks riskinin azaltılabileceği ve rütin üst çene genişletme sürecini takiben yüksek molekül ağırlıklı hyaluronik asit solüsyonunun midpalatal sutur alanına bölgesel olarak uygulanabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Hyaluronik asit, Hızlı üst çene genişletmesi, Ortodonti, Histomorfometri, Nüks, Sıçan

SUMMARY

HISTOMORPHOMETRIC EVALUATION OF THE EFFECTS OF DIFFERENT MOLECULAR WEIGHT HYALURONIC ACID ON BONE FORMATION IN THE EXPANDED MIDPALATAL SUTURE IN RATS

Various factors may cause maxillary transverse deficiency. This can be treated with orthodontic treatment. Rapid maxillary expansion is one of the common treatment procedures for this anomaly. Long term retention period is needed to maintain achieved results after expansion of narrow maxilla. When the duration of retention is insufficient, this may cause relapse. To expedite treatment while maximizing stability, an alternative approach to accelerate sutural bone formation is required. High molecular weight hyaluronic acid is a well-known substance with its bone formation capability which hasn't been tested on midpalatal suture area.

The aim of this study was to evaluate the histomorphometric effects of different molecular weight hyaluronic acid solutions on bone formation in response to expansion of the midpalatal suture, in rats.

Average weight of 215.42 ± 36.37 gr, 10-12 week old, 24 male Spraque-Dawley rats were used for this purpose. Three groups each consisting of 8, maxillas were subjected to transverse expansion with a helical-spring. On the 5th day of expansion, helical-springs were removed and replaced with retention wire. High and low molecular weight hyaluronic acid and saline solution was locally injected 0,05 ml (50 μ l) to the midpalatal suture. After the 10th day of injection, rats were sacrificed and their maxillas were dissected. For the histomorphometric evaluation, dissected and trimmed blocks were longitudinally sectioned serially at 10 μ m intervals parallel to long axes of incisor teeth. Sections which stained

with Hematoxylin-eosin were analysed with photo microscope Nikon® Eclipse (Eclipse Ni-E; Nikon®, Tokyo, Japan) and evaluated with the image analysis software, “Image J®” (US National Institutes of Health, Bethesda, MA, USA).

Bone area (μm^2), bone perimeter (μm), number of osteoblasts and number of capillary cells were measured for each group. Ratio of osteoblast cells and capillary cells to bone area (μm^2) and bone perimeter (μm) parameters were evaluated.

Histomorphometric evaluations revealed high molecular weight hyaluronic acid solution stimulated bone formation in midpalatal suture area and showed statistically higher osteoblast and capillary cell scores compared with the low molecular weight hyaluronic acid and control groups ($p < 0,05$). There were no statistically significant differences in between low molecular weight hyaluronic acid solution and control groups ($p > 0,05$).

Results of the study suggest that local injection of high molecular weight hyaluronic acid solution in midpalatal suture area after rapid maxillary expansion stimulated new bone formation which, may shorten the retention period, may reduce the risk of relapse and may be beneficial in routine maxillary expansion procedures.

Key words: Hyaluronic acid, Rapid Maxillary Expansion (RME), Orthodontics, Histomorphometry, Relapse, Rat

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEŞEKKÜR	I
ÖZET	III
SUMMARY	V
İÇİNDEKİLER	VII
ETİK KURUL ONAYI	X
KISALTALAR ve SİMGELER	XI
RESİM LİSTESİ	XIII
TABLO LİSTESİ	XV
ŞEKİL LİSTESİ	XVII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Oküzyon ve maloklüzyon	2
2.1.1. Maloklüzyon etyolojisi ve çeşitleri	2
2.2. Transversal yön anomalileri	3
2.2.1. Transversal yön anomalilerinde uygulanan tedaviler	3
2.3. Hızlı üst çene genişletmesinin endikasyonları	7
2.4. Midpalatal suturun yapısı	8
2.5. Hızlı üst çene genişletmesi ile midpalatal sutur alanında ve dentofasiyal yapılarda meydana gelen değişiklikler	8
2.6. Hızlı üst çene genişletmesi ile midpalatal sutur alanında meydana gelen stabilite, nüks ve pekiştirme	11
2.7. Kemiğin yapısı	13
2.7.1. Kemik yapının özellikleri	13
2.7.2. Kemikte meydana gelen gerilme ve sıkışma direnci	15

2.7.3. Kemik yapı hücreleri	16
2.7.3.1. Osteoprogenitör hücreler	16
2.7.3.2. Osteoblast hücreleri	16
2.7.3.3. Osteosit hücreleri	17
2.7.3.4. Osteoklast hücreleri	18
2.8. Kemik yapımı	18
2.8.1. İntramembranöz kemikleşme	19
2.8.2. Endkondral kemikleşme	20
2.9. Dentofasiyal suturlarda meydana gelen kemikleşme	22
2.10. Kemik yapınının onarımı (Kırık kemik iyileşmesi)	23
2.11. Kemik yapım yıkım metabolizması	24
2.12. Hyaluronik asit	25
2.12.1. Hyaluronik asitin kimyasal yapısı	25
2.12.2. Yüksek ve düşük molekül ağırlıklı hyaluronik asit	27
2.12.3. Hyaluronik asitin görevleri	29
2.12.4. Hyaluronik asidin yara iyileşme metabolizmasındaki rolü	32
2.12.5. Hyaluronik asidin insan ve hayvan çalışmalarındaki yeri	34
2.13. Deneysel hayvanı olarak sıçanların kullanılması	38
2.13.1. Sıçanların dentofasiyal yapıları ve anatomisi	39
2.13.2. Sıçanlarda kemik ve kemik iyileşme metabolizması	40
3. GEREÇ ve YÖNTEM	42
3.1. Gereç	42
3.1.1. Çalışmada kullanılan malzemeler	45
3.2. Yöntem	46
3.3. Örneklerin histolojik olarak incelenmesi	52
3.3.1. Kesitlerin hazırlanması	52

3.3.1.1. Parafin blok hazırlama prosedürü	53
3.3.1.2. Hematoksilen-eozin ile boyama prosedürü	57
3.3.2. Kesitlerin mikroskopik incelemesi	58
3.4. Örneklerin stereolojik olarak incelenmesi	58
3.4.1. "Imaje J" yazılım programı ile örneklerin hacimlerinden alan hesaplaması	59
3.5. İstatiksel değerlendirme	63
4. BULGULAR	64
4.1. Klinik bulgular	64
4.1.2. Ekspansiyon miktarı ve retansiyonun değerlendirilmesi	66
4.2. Histomorfometrik bulgular	66
4.3. Histopatolojik bulgular	76
5. TARTIŞMA	80
5.1. Amacın, gereç ve yöntemin tartışılması	80
5.2. Bulguların tartışılması	85
6. SONUÇ	94
7. KAYNAKÇA	95
ÖZGEÇMİŞ	115

ETİK KURUL ONAYI



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

ETİK KURUL KARARI

Toplantı Tarihi	Karar No	İlgi	Proje Yürütücüsü
30.11.2012	296	29.11.2012 tarihli yazı	Doç.Dr.Didem NALTBANTGİL

'Sıçanlarda Hızlı Üst Çene Genişletmesi Sonrası Hyaluronik asit Uygulanması ve Üst Çene Sutural Bölgesinde Oluşan Değişikliklerin İncelenmesi' başlıklı bilimsel araştırma Etik Kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna oybirliği ile 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	
Üye	Prof. Dr. Bayram YILMAZ	
Üye	Prof. Dr. Ertuğrul KILIÇ	
Üye	Doç. Dr. C. Narter YEŞİLDAĞLAR	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Ediz DENİZ	
Üye	Hatice ÖZTÜRK	KATILMADI
Üye	Semra TECÜMEN	KATILMADI

KISALTMALAR ve SİMGELER

%: Yüzde

°C: Derece

BT: Bilgisayarlı tomografi (Computurized tomography, CT)

cc: Santimetre küp

cps: Saniyedeki karakter sayısı (character per second)

Da: Dalton

dk: Dakika

DMA: Düşük moleküler ağırlık

HDM: Hücre dışı matriks (Extra celular matrix, ECM)

EHA: Esterleştirilmiş hyaluronik asit

GAG: Glikoz aminoglikan

gr: Gram

HA: Hyaluronik asit

HE: Hematoksilen-eozin

IgG: İmmun globulin G

ki: Kas içi (Intra muscular, im)

K: Kontrol grubu

kDa: Kilo dalton

kg: Kilogram

MA: Moleküler ağırlık

MDa: Milyon dalton (Moleküler ağırlık birimi)

mg: Miligram

ml: Mililitre

mm: Milimetre

mpas: Milipaskal-saniye (vizközite birimi)

N: Newton

NaHA: Sodyum hyaluronat

Nm: Nanometre

OA: Osteoartrit

OVD: Göz ile ilgili, akışkan, cerrahi cihazı (Ophthalmic viscosurgical device)

RHAMM: Hyaluronik asit taşıyıcı reseptör (Receptor for hyaluronan mediated modility)

HÜÇG: Hızlı üst çene genişletmesi (Rapid maxillar expansion, RME)

SF: Serum fizyolojik

sn: Saniye

TGF-B1: Dönüştürücü büyüme faktörü (Transforming growth factor-B1)

X: Büyütme

YMA: Yüksek moleküler ağırlık

µm: Mikrometre

RESİM LİSTESİ

Sayfa No

Resim 1: Sıçanların maksillofasiyal yapısının yandan (a), alttan (b) ve üstten (c) görünümü	40
Resim 2: Numaralandırılmış kafesler	43
Resim 3: Her kafese ikişer tane yerleştirilen sıçanların numaralandırılması ...	44
Resim 4: Deneklerin düzeneğe yerleştirilmesi ve dişlerinin frez ile delinmesi ..	46
Resim 5: Genişletme apareyinin dişlere yerleştirilmesi	47
Resim 6: Apareyin dişlere sabitlenmesi	47
Resim 7: Dişlerin genişleme miktarının ölçülmesi	48
Resim 8: Genişletme sonrası dişlerin köşeli tel ile sabitlenmesi	48
Resim 9: Her 3 gruba uygulanan solüsyonların 0,85 ml'lik enjektörleri	49
Resim 10: Genişletme sonrası midpalatal sutur alanına enjeksiyon uygulanması.....	49
Resim 11: YMA'lı HA, Healon GV®	51
Resim 12: DMA'lı HA, AMO® Vitrax II	51
Resim 13: SF solüsyonu	51
Resim 14: Deneklerin diseksiyon sonrası maksiller görüntüsü	52
Resim 15: Seri kesitlerin alındığı bölge ve kesitlerin yönü	53
Resim 16: Trimlenmiş dokuların bekletildiği etüv (Müve® EN-055)	54
Resim 17: Parafin cihazı (Bio-Optica® DP-8) (a) ve hazırlanan parafin blok örnekleri (b)	55
Resim 18: Seri kesitlerin alındığı mikrotom cihazı (Thermo-Microm HM® 340E)	56
Resim 19: Alınan kesit örnekleri	56

Resim 20: HE boyama kapları (a) ve boyanan kesitler (b)	57
Resim 21: Mikroskopik incelemelerin yapıldığı foto mikroskobu (Eclipse Ni-E; Nikon®, Tokyo, Japan)	58
Resim 22: "Image J®" görüntü inceleme programı genel görünümü	59
Resim 23: Tanımlanacak uzunluk için referans uzunluğunu ayarlama	60
Resim 24: "Image J®" programında seçilmek istenen alanın belirlenmesi.....	60
Resim 25: Ölçülmesi istenilen alanın görüntüsünün (a) diğer alanlardan ayrılması (b)	61
Resim 26: "Image J®" programında gerekli ölçüm parametrelerinin belirlenmesi	61
Resim 27: "Image J®" programında belirlenen parametrelerin sonuçlarının alınması	62

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1: Kemik doku hücreleri ve kemik dokuyu meydana getiren maddeler ..	14
Tablo 2: Kullanılan deney hayvanıyla ilgili bilgiler	42
Tablo 3: Kontrol ve deney gruplarının sıçan sayıları	44
Tablo 4: Deney gruplarına uygulanan YMA'lı ve DMA'lı HA solüsyonları ve özellikleri	50
Tablo 5: Deney ve kontrol grubundaki sıçanların deney süresince ağırlık değişimleri	65
Tablo 6: Alan ve çevre değerleri içinde bulunan osteoblast hücre sayıları arasındaki gruplar arası farkın değerlendirilmesi	66
Tablo 7: Alan değerleri içindeki osteoblast hücre sayılarının gruplar arası farkının ikili karşılaştırması	67
Tablo 8: Alan değerleri içindeki osteoblast hücre sayılarının ortalama ve standart sapmaları	67
Tablo 9: Çevre değerleri içindeki osteoblast hücre sayılarının gruplar arası farkının ikili karşılaştırması	69
Tablo 10: Çevre değerleri içindeki osteoblast hücre sayılarının ortalama ve standart sapmaları	69
Tablo 11: Alan ve çevre değerleri içinde bulunan kapiller hücre sayıları arasındaki gruplar arası farkın değerlendirilmesi	71
Tablo 12: Alan değerleri içindeki kapiller hücre sayılarının gruplar arası Farkının ikili karşılaştırması	72
Tablo 13: Alan değerleri içindeki kapiller hücre sayılarının ortalama ve standart sapmaları	72

Tablo 14: Çevre değerleri içindeki kapiller hücre sayılarının gruplar arası farkının ikili karşılaştırması	74
Tablo 15: Çevre değerleri içindeki kapiller hücre sayılarının ortalama ve standart sapmaları	74

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1: Midpalatal suturun morfolojik gelişişi	8
Şekil 2: Direk kemik oluşum mekanizmasının şematik gösterimi	20
Şekil 3: İndirek kemik oluşum mekanizmasının şematik gösterimi	22
Şekil 4: HA'nın kimyasal yapısı	26
Şekil 5: Sıçanların deney süresince ağırlık değişimlerinin şematik gösterimi ..	65
Şekil 6: Alan değerleri içindeki osteoblast hücre sayılarının şematik gösterimi	68
Şekil 7: Çevre değerleri içindeki osteoblast hücre sayılarının şematik gösterimi	70
Şekil 8: Alan ve çevre değerleri içindeki osteoblast hücre sayılarının şematik gösterimi	70
Şekil 9: Alan değerleri içindeki kapiller hücre sayılarının şematik gösterimi ..	73
Şekil 10: Çevre değerleri içindeki kapiller hücre sayılarının şematik gösterimi	75
Şekil 11: Alan ve çevre değerleri içindeki kapiller hücre değerlerinin şematik gösterimi	75
Şekil 12: Kontrol grubu, mikroskopik inceleme için histolojik kesitlerin HE boyaması. A, 10X büyütmedeki görüntüsü B, kutu içine alınmış alanın 40X büyütmedeki görüntüsü. } : sutur alanı, * : kapiller → : osteoblast	76
Şekil 13: YMA'lı HA grubu, mikroskopik inceleme için histolojik kesitlerin HE boyaması. A, 10X büyütmedeki görüntüsü B, kutu içine alınmış alanın 40X büyütmedeki görüntüsü. } : sutur alanı, * : kapiller → : osteoblast	77

Şekil 14: DMA'lı HA grubu, mikroskopik inceleme için histolojik kesitlerin HE boyaması. A, 10X büyütmedeki görüntüsü, B, kutu içine alınmış alanın 40X büyütmedeki görüntüsü. } : sutur alanı, * : kapiller → : osteoblast 78

Şekil 15: Kesitlerde sayılan osteoblast hücre sayılarının şematik gösterimi ... 78

Şekil 16: Kesitlerde sayılan kapiller hücre sayılarının şematik gösterimi 79

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Ortodontik tedaviler sağlıklı ve uyumlu bir yapı elde etmenin yanı sıra, ortodontik tedavi sonrasında bu durumun devamlılığını fonksiyonel ve estetik kazanımın geri dönüşümünün engellenmesini amaçlar.

Ortodontik tedavinin bitimi ile dişler ve iskelet yapı tedavi öncesi pozisyonlarına dönme eğilimi gösterir. Nüks olarak adlandırılan bu durum, yumuşak doku basınçları, büyüme ile meydana gelen değişimler, okluzal ve periodontal faktörlerden etkilenir (1).

Nükse engel olmak amacı ile ortodontik tedavilerin sonrasında bir pekiştirme dönemine ihtiyaç duyulmaktadır (2,3). Bu süreç nükse neden olan faktörlerin ortadan kaldırılması veya azaltılması amaçlanarak uygulanan tedavileri içermektedir (4).

Üst çenesine genişletme uygulanmış hastalarda uzun süre retansiyon uygulamak daha öncesinde zaten uzun süre ortodontik tedavi görmüş hastalarda motivasyon eksikliği yaratmaktadır. Retansiyon apareylerini kullanamayan hastalarda üst çene kemiğinin tekrar daraldığı görülmektedir (5).

İnsanlarda ve hayvanlarda kemik yapımını sağlayacak birçok ajan denenmesine rağmen ortodonti arşivlerinde genişletme sonrasında midpalatal suturda meydana gelen boşlukta kemik yapımını arttırmayı hedefleyen çalışmalar kısıtlıdır. Çalışmamızda üst çene midpalatal sutur alanında genişletme sırasında ve sonrasında kemik oluşum miktarının hızlandırılması ve bu sayede retansiyon döneminin kısaltılabileceği düşünülerek, genişletme uygulanan sıçanların üst çene midpalatal sutur alanına bölgesel olarak farklı molekül ağırlıklarında (MA) hyaluronik asit (HA) uygulanmış ve böylece HA'nın nüksü önlemeye olan etkisi araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Oklüzyon ve maloklüzyon

18. yüzyılın sonlarında modern ortodontinin kurucusu Edward H. Angle normal oklüzyonun ve maloklüzyonların sınıflamasını yapmıştır. Normal oklüzyon, nötral oklüzyon, ideal oklüzyon, anomali göstermeyen Angle sınıf I kapanış isimlerinin hepsi eşanıamlıdır. Normal oklüzyonda alt büyük azı üst büyük azıya göre bir küçük azının mezio-distal çapının yarısı kadar daha önde, daha mezialde konumlanarak kapanış yapmaktadır. Sağ-sol yönde ise üst dişler alt dişleri kutu kapağı gibi bukkalden örtmektedir (6,7).

Eğer kişinin alt ve üst çene dişlerinin maksimum interküspidasyon durumundayken alt çene eklem başlarında eklem çukurlarında ideal konumlarında ise bu kişide “ideal oklüzyon” var demektir. İdeal oklüzyon ideal kelimesinden de anlaşılacağı üzere erişilmek istenen ideal bir noktadır ve her insanda bulunması mümkün değildir. Oklüzyonun yukarıda bahsedilen normal veya ideal konumundan sapması durumu maloklüzyon olarak adlandırılır (6).

2.1.1. Maloklüzyonun etyolojisi ve çeşitleri

Maloklüzyonun oluşumunda oklüzyonu oluşturan temel yapılar olan alt ve üst dişler, alt ve üst çene kemikleri ve diğer yüz kemikleri, nöromusküler sistemi oluşturan çiğneme ve mimik kasları ve bunları besleyen duyuşal ve motor sinirler gibi yapılar; kalıtımsal etkenler, fiziksel etkenler, hastalıklar, travma, kalıtımsal anomaliler, kötü beslenme, kötü alışkanlıklar gibi etyolojik faktörler etkilidir (8,9).

Bu etyolojik faktörler doğum öncesinde, doğum sonrasında ve değişik yaşlarda etki edebilirler. Maloklüzyonun gelişiminde bir veya birden çok neden bir arada rol oynamakta olup bunların etki süresi de önemlidir (10-12).

Maloklüzyonlar çene içi (intramaksiller) ve çenelerarası (intermaksiller) anomaliler olarak 2'ye ayrılmaktadır. İnamaksiller anomaliler yer fazlalığı, yer darlığı ve buna bağlı olarak oluşan rotasyonlar, vestibulopozisyon, lingopozisyon, infrapozisyon, suprapozisyon, mesiopozisyon, distopozisyonda konumlanmış dişler gibi bölümlere ayrılırlar.

İntermaksiller anomaliler ise ön-arka (sagital) yön anomalileri, dik (vertikal) yön anomalileri ve sağ-sol (transversal) yön anomalileri olarak üç bölümde incelenmektedir (7,8). Üst çenenin darlık problemi transversal yön anomalilerindedir.

2.2. Transversal yön anomalileri

Transversal yön anomalileri unilateral ve bilateral çapraz kapanış, bukkal nonoklüzyon ve palatinal nonoklüzyon olarak bölümlere ayrılmış olup (8); genellikle üst çenenin alt çeneye göre yetersiz genişlikte olmasından kaynaklanır (13).

Normal oklüzyonun palatine doğru bozulmasına çapraz kapanış denir. Bu transversal yön anomalisi arka grup dişler arasında görülürse posterior çapraz kapanış olarak tanımlanır (8,14).

2.2.1. Transversal yön anomalilerinde uygulanan tedaviler

Ortodontide maloklüzyon çeşitlerinden olan transversal yön anomalileri ilk kez 1898 yılında Hipokrat tarafından tanımlanmıştır. Bu anomalinin

en sık görülen çeşitlerinden posterior çapraz kapanış tedavileri ortodontik tedaviler içinde önemli yer tutmaktadır (15).

Posterior çapraz kapanışın dişsel veya iskeletsel olması tedavi yaklaşımları açısından önemlidir. Apikal kemik kaidesi yeterli ve sadece dental bir darlık varsa sadece diş kavsinin genişletilmesi gerekmektedir. Ancak, apikal kemik kaidesinde darlık ve bununla birlikte oluşan kompensasyondan dolayı dişlerin kuronlarında bukkal yönlü tipping mevcutsa midpalatal suturun açılmasıyla apikal kaidenin genişletilmesi gerekmektedir (8,16-18).

Bu işlemle birlikte arka dişlerin bulunduğu iki kemik parçası birbirlerinden uzaklaşmakta ve suturda aktif kemik yapımı başlamaktadır. Üst çene genişlemekte ve dişlerin dizildikleri ark uzunluğu artmaktadır. Üst ve alt çene dişlerinin kapanış ilişkisi düzelmektedir (19).

Üst çene genişletmesinde kullanılan yöntemler suturun açılma hızına göre yavaş, yarı hızlı ve hızlı üst çene genişletmesi olarak bölümlere ayrılır (16).

Yavaş üst çene genişletmesi metodu 450 ile 900 gr. arasında kuvvet uygulayan mekaniklerle vidalı apareylerin haftada 2 kez çevirilmesi ile uygulanırken haftada 1/3 mm'lik genişletme amaçlanmaktadır. Yavaş üst çene genişletmesinde, sutural dokuların direnci kırılmadığı için ortodontik hareket miktarı fazla, ortopedik hareket miktarı azdır (16,20).

Yarı hızlı üst çene genişletme apareylerinde vidanın gün aşırı çevirilmesi (21,22), sutural açılma olana kadar günde iki kez, sutural açılma olduktan sonra haftada üç kez çevirilmesi (23) gibi görüşler bulunmaktadır.

Üst çene genişletme işlemi yarı hızlı metod ile genişletildiğinde çevre dokulara fizyolojik kuvvetin uygulanacağını, çevre dokulara tamir olayları için

zaman tanınmış olacağı belirtilmiştir. Bu metod ile tedavi edilen hastaların 3 yıllık takiplerinde nüks olayına rastlanmamıştır (23, 24).

Hızlı üst çene genişletmesinde amaç dişlere ve alveoler yapılarla ortodontik diş hareketi limitlerini aşan kuvvetler uygulayarak (15), kuvvet uygulanan alanda ortopedik etki sağlamak ve ortodontik diş hareket miktarını azaltmaktır (25).

Hızlı üst çene genişletmesi yöntemi ile 0,9- 4,5 kg kuvvet uygulayan ortodontik aygıtlar ile haftada 3 mm veya daha fazla genişletme yapılabilmektedir (16,26-28).

Hızlı üst çene genişletme tedavisinde çoğunlukla önerilen yöntem vidanın sabah akşam olmak üzere günde 2 çeyrek tur çevrilmesidir (15,29-37). Genel uygulanan prosedürün yanı sıra aparey vidasının sutur açılıncaya kadar günde 2 çeyrek tur, açıldıktan sonra günde 1 çeyrek tur çevirilmesi (28), sutur açılana kadar günde 3 çeyrek tur daha sonra yeterli genişliğe ulaşana kadar 2 çeyrek tur çevrilerek devam edilmesi (38), vidanın ilk gün 4 çeyrek tur, ilerleyen günlerde 1 çeyrek tur olarak devam edilmesi (39) ilk gün beşer dakika aralıklarla 15 dakika içinde 4 çeyrek tur, sonraki günlerde ise günde 2 çeyrek tur olacak şekilde çevirilmesi (29), birinci gün 5 veya 10 dakika aralıklarla 3 çeyrek tur, sonraki günlerde ise günde 2 çeyrek tur olacak şekilde çevirilmesi (40) gibi farklı görüşler de mevcuttur.

Farklı görüşler olduğu gibi farklı hızlı üst çene genişletme aygıtları da mevcuttur. 1961 yılında Haas'ın kendi adını verdiği apareyini (29) 1964 yılında Isaacson'un (41) Minne ekspansiyon apareyi takip etmiş ve süregelen yıllarda Biederman Hyrax apareyini (40) tanıtmış bunu da 1980 yılında Timms Cap Splint apareyi (15) takip etmiştir.

Haas apareyinin etki mekanizması diğer genişletme mekanizmalarından farklı çalışmaktadır. Doku destekli olan bu aparey, üzerindeki akrilik kısımlarla palatinal mukozadan destek alır. Vidanın çevrilmesi ile damak kubbesine iletilen ağır kuvvetin palatinal artere baskısı sonucu damarın etrafındaki bağ dokusu uyarılır.

Damak kubbesindeki osteoklast hücrelerini aktive eden bu durum, osteoklast hücrelerinin damarı korumak amacıyla bu alandaki kemik hücrelerinin yıkımı ile sonuçlanır. Damak kubbesinin daha da derinleşmesine neden olan bu durum ile daha derin dokularda da genişleme sağlanmaktadır (42).

Genişletme sırasında dişlerin devrilip, uzamasını engellemek, ısırma kuvvetlerini ortadan kaldırarak uygulanan kuvvetlerin dişler ve kökler yerine nazomaksiller komplekse iletilmesini sağlamak (43) ve okluzal stabiliteyi korumak amacıyla dişlerin okluzal yüzeylerini akrilik ile örten hızlı üst çene genişletme apareyi, Brudvik ve Nelson tarafından uygulanmıştır (44).

Orhan (45) yapmış olduğu çalışmada dezavantajları engellemek amacı ile, destek alınan doku yüzeyi ve diş sayısını arttıran akrilik cap splint içeren hızlı genişletme aygıtını kullanmıştır. Bu apareyde olduğu gibi okluzal ısırma yüzeyleri akrilik kaplı genişletme apareylerinde de vertikal yön kontrolü sağlanmıştır (46-48).

1999 yılında tamamen kemik dokudan destek alan transpalatal distraktör aygıtı uygulanmış ve kök rezorpsiyonu, fenestrasyon, genişletme sırasında ya da sonrasında görülen nüks, dişlerde meydana gelen uzama, devrilme gibi dezavantajlar ortadan kaldırılmıştır (49).

2.3. Hızlı üst çene genişletmesinin endikasyonları

- Tek veya çift taraflı çapraz kapanış tedavisinde (29),
- Dudak-damak yarığı olgularında daralmış olan maksiller kollapsın genişletilmesi amacıyla (16),
- Nazal direncin azaltılması ve normal solunum paterni kazandırılması amacıyla (42,50),
- Diş çekimi endikasyonunun olmadığı çapraşık üst dentisyona sahip vakalarda ark boyunu ve genişliğini arttırmak amacıyla (42),
- maksiller yetmezlikle karakterize Sınıf III hastalarda sutural aktivitenin artırılması amacıyla ve gülme esnasında görülen karanlık koridorların giderilmesi amacıyla (50),
- Sınıf II bölüm 1 maloklüzyona sahip hastalarda alt çenenin spontan düzeltimi gereken durumlarda (50),
- Sefalometrik röntgenlerden faydalanılarak üst çenenin konumunu belirlemeye yardımcı olan noktalardan A noktasının 1-2 mm öne taşındığını belirten çalışmalarda, hafif anterior çapraz kapanış vakalarının tedavisinde hızlı üst çene genişletilmesinin endike olduğu bildirilmiştir (29,30,51).

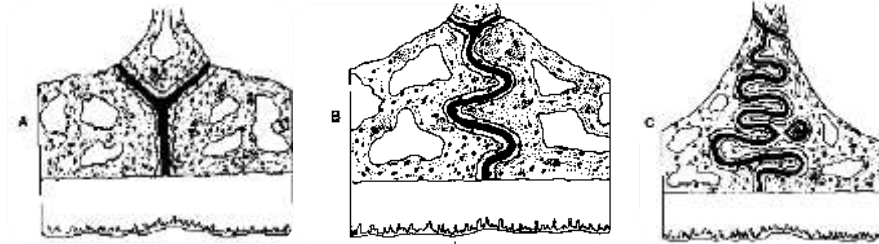
Hızlı üst çene genişletmesi ile midpalatal suturda açılma elde edebilmek için suturdaki kemikleşme zamanının iyi takip edilmesi gerekir. Literatürde sutural kemikleşme zamanıyla ilgili farklı görüşler vardır. Persson ve ark.'ın (52) çalışmasında, 15 yaşında bir kız çocuğunda midpalatal suturda tamamen kemikleşme gözlenirken; 27 yaşındaki bir kadında sutural kemikleşmenin tamamlanmadığını belirtmişlerdir. Aynı çalışmada midpalatal suturun %5'inin 25 yaş civarında kapandığı kabul edilmektedir. Bjork (53), radyolojik bulgular doğrultusunda 17 yaşında sutural gelişimin bittiğini bildirmiştir.

2.4. Midpalatal suturun yapısı

Melsen (54) yapmış olduğu kadavra çalışmasında sutur yapısını doğumdan geç erişkinlik dönemine kadar incelemiş, aldığı vertikal kesitlerde çocukluk döneminde suturun Y şeklinde olduğunu ve palatal çıkıntılardan vomere komşu olduğunu belirtmiştir. (Şekil 1A)

Ergenlik döneminde kemiklerin birleşim kısmı yükselip T şeklini alırken, interpalatal parçanın ise yılanı bir görüntü verdiği bildirilmiştir. (Şekil 1B)

Erişkin dönemde sutur alanında interdijitasyon olayı gerçekleşir ve kemikler mekanik olarak kilitlenirler. Bu sırada kemik etrafında kemik adacıkları oluşur (Şekil 1C) (54,55).



Şekil 1: Midpalatal Suturun Morfolojik Gelişimi

- (A), Bebeklik Çağındaki Midpalatal Sutur Görünümünün Çizimi.
(B), Çocukluk Çağındaki Midpalatal Sutur Görünümünün Çizimi.
(C), Erişkinlik Çağındaki Midpalatal Sutur Görünümünün Çizimi.

2.5. Hızlı üst çene genişletmesi ile midpalatal sutur alanında ve dentofasiyal yapılarda meydana gelen değişiklikler

Hayvan deneyleri ve insan biyopsileri bugüne kadar yapılmış üst çene genişletme sonrası sutur yapısının izlenmesini sağlayan çalışmaların temelini oluşturmaktadır (56-59).

Hızlı genişletme kuvveti uygulanarak midpalatal sutur alanını maymunlarda inceleyen Cleall ve Ark. (56), uygulanan kuvvet sonrasında sutur alanının açıldığını ve bu açılan boşluğun organize olmamış fibröz bağ dokusu ile dolduğunu, daha sonra kemikleşmenin başlayarak sutur alanının kemikleştiğini bildirmişlerdir.

Sutur alanında hiperemiyi takiben başlayan osteoblastik aktivite ve oluşan mikrofraktürler sonucu ayrılma başlar. Hızlı genişletme apareyleri ile sutur alanındaki açılma işlemi erişkinlerde 3-4 gün sürerken gençlerde 1-2 gün içerisinde gerçekleşmektedir. Yapılan çalışmalar genişletme sırasında pulpal kan akımında artış olduğunu ve bu artışın genişletmenin sonlarına doğru azalma gösterdiğini Laser Doppler Flowmeter cihazı ile tespit etmişlerdir (60-64).

Kemiğin periost tabakası osteoblastik ve kondrojenik dönüşüm mekanizmasını destekleyen prekürsör hücreleri ve birçok farklı hücre içerir (65-67). Vidanın aktivasyonunu takiben oluşan kısa zaman aralığında, uygulanan ağır kuvvetler osteoklast hücrelerinin kemiği rezorbe etmesi ve periosteal hücrelerin proliferasyon ve diferansiyonu sonucunda kemik oluşumunu artırması ile sonuçlanır. Ortopedik etki amaçlanarak uygulanan bu kuvvetler, kemik yüzeyinin *bioelastik* dayanım direncini aşması ile kemiklerde ayrılma gerçekleştirir. Ayrılmanın tamamlanması ile midpalatal sutur alanında remodelling ve suturun yeniden yapılanması başlar (41,54,68,69).

Hou ve ark. (66), sıçanlar üzerinde farklı günlerde yapmış oldukları ekspansiyon sonuçlarını ve sutur alanındaki değişimlerini bilgisayarlı tomografi (BT) ile ve histolojik olarak değerlendirmişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre sutur alanının ağız mukozasına bakan tarafının burun mukozasına bakan alana göre daha çok açıldığını 28. günden itibaren ağız mukozasına bakan tarafta nüks görülmeye başladığını belirtmişlerdir. Sutur morfolojisinin histolojik değişimlerine bakıldığında, operasyon yapılmayan grupta kondrosit kütlelerinin palatal kemik kenarlarını kapladığını ve yoğun olarak bulunan bu kondrosit kütlelerinin birbirinden ince bir fibröz dokuyla ayrıldığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada pasif

heliks uygulanan sham grubunda kontrol grubu ile aynı etkiler gözlenmiştir. Aktif heliks uygulanan deney grubunda ise midpalatal sutur alanı genişlemiş; kollajen lifler 1. günden itibaren organize olmuşlardır. Periosteal hücreler sutur alanına doğru göç ederek mekanik kuvvetin uygulanma yönüne doğru demetsi şekillerle toplanmışlardır. Kondrosit miktarı azalmış, 7. günde kemik oluşumu palatal kemiğin kenarlarına doğru görülmeye başlamıştır. Çene genişlemesi 14. güne kadar devam etmiş; bu sürede sutur alanı fibrotik hücrelerle dolmuştur. Ağız tarafında yeni oluşan kemik kondrositlerle çevrelenirken, burun tarafında nasal epitelin etrafında kırık daksız kemik hücreleri oluşmaya başlamıştır (66).

Deney gruplarında kemik iliği boşlukları palatal kemik üzerine doğru uzamışlardır. Aktive olan periost hücreleri oluşacak olan yeni kemik ve yeni kırıkdağın ana maddesini oluşturmaktadır. Kontrol gruplarından farklı şekilde deney grubunda genişlemenin 8. gününden itibaren sutur kırıkdağ miktarında anlamlı düşüş izlenirken, hücre yüzeyindeki osteoklast reseptörlerinde artış izlenmiştir. 14. günde ise proteoglikan miktarının düşüş miktarı en yüksek seviyededir (66).

Melsen (54) 1972 yılında yapmış olduğu çalışmada, 8-13 yaş arasındaki çocukların genişletme sırasında ve sonrasında midpalatal sutur alanından biyopsi örneklerini almış; sutur alanlarında çok sayıda bölgesel kırık kemik adacıklarının olduğunu, kırık adacıklarındaki iyileşmenin maksiller segmentler arasındaki kemiğin birbiri ile kaynaşması ile sonuçlandığını bildirmiştir.

Dişsel etkiler incelendiğinde, genişlemenin üçüncü gününde median diastema görülmeye başlar (16) ve genişletme boyunca devam eder. Dişler arasındaki diastema gergin transeptal lifler sayesinde kapanır. Hassas ve mobil olan dişlerin etrafındaki lifler genişletme sırasında koparsa suturun kendiliğinden kapanması gözlenmez. Posterior dişler bukkale devrilir ve uzarlar (28,70).

Hızlı genişletme ile dişlere ve destek dokulara iletilen ağır kuvvetler dişlerin etrafındaki periodontal liflerin organize yapılarını bozduğundan, dişlerin kök yüzeylerinde rezorpsiyon gerçekleşebilmektedir (71,72). Hafif kuvvetler uygulandığında da görülebilen rezorpsiyon ve hasarın yapılan çalışmalarda retansiyon döneminde tamir edildiği belirtilmiştir (71-74).

Toygar ve Memikoğlu (34,75) yapmış oldukları çalışmalarında, banded ve bonded hızlı üst çene genişletme aygıtlarının dentofasiyal sisteme etkilerini incelemişler, bonded grupta büyükazı dişlerinde banded gruptaki büyük azı dişlerine oranla daha paralel bir hareket saptamışlardır. Overbite'ın bonded grupta banded gruba göre istatistiksel olarak önemli düzeyde daha kolay kontrol edilebildiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu sonuçlara göre, dik yönü artmış ve overbite'ı azalmış maksiller darlık vakalarında, rijit akrilik bonded hızlı üst çene genişletme apareylerinin uygun olduğunu belirtmişlerdir.

Hızlı üst çene genişlemesinin kalıcı ortopedik etki oluşturduğu düşünülmektedir. Ancak bu etki kemiğin metabolizması ve oluşacak streslerin yönü gibi benzer birçok faktörden etkilenmektedir. Genişlemiş üst çene, retansiyon periyodu sonrasında eski halini alma eğilimi gösterir. Bu daralma %90 oranında olabilir (5). Bu nedenle genişletilmiş üst çenenin kısa sürede tekrar daralmasını yani palatal kemiklerin birbirine yaklaşmasını engellemek ve sutur alanındaki değişimleri sabit tutabilmek amacıyla uzun süre retansiyon sağlamak gerekmektedir (76,77).

2.6. Hızlı üst çene genişletme sonrası midpalatal sutur alanında meydana gelen stabilite, nüks ve pekiştirme

Hızlı üst çene genişletme sonrası elde edilen sonuçların stabil olabilmesi için yeterli pekiştirme süresi gerekmektedir (56,68). Yeterli süre konusunda farklı görüşler bulunmaktadır.

Hızlı genişletme sonrası suturda oluşan değişimlerin radyolojik olarak 3 ayda normal sutur görüntüsü verdiğini, histolojik olarak ise 6 ay sonunda sutur alanının organize olarak kalsifikasyonun tamamladığını, dolayısıyla en az 6 aylık bir pekiştirme sürecine ihtiyaç olduğunu bildiren çalışmalar (13,16,68,78) olduğu gibi anterior nazal spinadan posterior nazal spinaya kadar tüm sutur alanındaki kalsifikasyonun 8-9 ay sürdüğü de bildirilmiştir (79).

Hızlı üst çene genişletmesi sonrası geri dönüş sebepleri olarak maksiller ve kraniyofasiyal yapılarda biriken ani ve fazla yük miktarının etkili olduğu (71), bazı çalışmalarda ise iskeletsel yapıların etrafındaki yumuşak dokuların geriliminin nüks oluşumunda etkili olduğu bildirilmiştir (16,80,81).

Hızlı üst çene genişletmesini takiben oluşacak nüksün engellenmesinde bir diğer önemli faktör de pekiştirme apareyinin tipidir. Nüks miktarı, pekiştirme apareyi kullanmamış hastalarda %45 oranında görülürken; hawley, wraparound gibi hareketli pekiştirme aygıtı kullanan hastalarda %22-25 oranındadır. Hasta kooperasyonu gerektirmediğinden, sıklıkla tavsiye edilen yöntemlerden olan sabit pekiştirme aygıtları uygulanmış hastalarda ise nüks miktarı %10-23 arasında bulunmuştur (80).

Haas (29), hızlı üst çene genişletmesi metodunu kendi adıyla tasarladığı Haas aygıtı ile uygulamış ve nüks miktarını genişlemeden 1 ve 5 yıl sonra aldığı posteroanterior röntgenler ile incelemiştir. Röntgen sonuçlarına göre apikal ve nazal kaidelerde genişleyen miktarın stabil kaldığını bildirmiştir.

Herberger'in (82) yapmış olduğu çalışmada 55 hastaya hızlı üst çene genişletmesi uygulanmış, 6 yıl süren pekiştirme dönemi sonunda alınan posteroanterior röntgenlerde transpalatal mesafenin %85-94 oranında korunduğu görülmüştür.

Hızlı üst çene genişletme uygulamasının dokulardaki stabilitesinde pekiştirme döneminin süresi, uygulanan pekiştirme apareyinin tipi gibi özelliklerin yanı sıra; hasta yaşı, kemik yapısı ve kemik maturasyonu da etkilidir (83,84).

2.7. Kemiğin yapısı

2.7.1. Kemik yapının özellikleri

Kemik, çok yoğun ve özelleşmiş bir bağ dokusudur. Kemik, vücudun en sert yapılarından ve mevcut yapıları korumak, desteklik yapmak, içerisindeki kemik iliği hücreleri sayesinde kan hücresi yapmak, vücuttaki kalsiyum ve fosfor dengesini düzenleyerek metabolizmaya yardımcı olmak gibi faaliyetleri vardır. Kemik dokusu, hücreler arası maddenin kalsifiye olması ile oluşan kemik matriksi (temel madde), lifler ve kemik hücrelerinden oluşur (85-87) (Tablo 1).

Kemiğin kuru ağırlığının %33'ünü organik bileşenler, %60'ını inorganik bileşenler oluşturur. Bağ dokusu iplikleri denilen, yapının %90'ını oluşturan fibröz yapıdaki tip 1 kollajen lifler, %10'unu oluşturan amorf yapıdaki sülfatlı ve sülfatsız glikozaminoglikanlar (GAG) ve glikoproteinler organik maddelerdir (88,89) (Tablo 1).

Sülfat içeren GAG'lar proteoglikan olarak adlandırılır ve türevleri kondroitin 4, 6 sülfat ile keratan sülfattır. Sülfatsız GAG ise HA'dır. Kemiğin glikoprotein içeriği ise osteonektin, osteokalsin, osteopontin ve gama karboksiglutamik asitten oluşmaktadır (88,89) (Tablo 1).

Kemiğin inorganik yapısı %95,5 kalsiyum fosfat, %10 kalsiyum karbonat ve az miktarda da kalsiyum florid, hidroksit, sülfat bileşikleri, magnezyum ve alkali tuzlar tarafından oluşturulmaktadır. Kalsiyum ve fosfor birleşerek, sıkışmaya dirençli *hidroksiapatit kristallerini* oluştururlar. Kemiğin

kolay kırılmamasını sağlayan yapılar kollajen liflerken, kemik dokuya sertlik sağlayan *hidroksiapatit kristalleridir* (90-94) (Tablo 1).

Tablo 1: Kemik doku hücreleri ve kemik dokuyu meydana getiren maddeler

KEMİK DOKU			
A. HÜCRELER	B. KEMİK MATRİKSİ (TEMEL MADDE)		
	I. İNORGANİK KISIM (% 60)	II. ORGANİK KISIM (% 33)	III. SU (% 7)
1. OSTEOPROGENİTÖR	a- Kalsiyum Tuzları (%95,5)	a- Fibröz (%90)	
	- Kalsiyum Trifosfat (%85)	1. Kollajen Fibril (Tip I)	
	- Kalsiyum Karbonat (%10)	b- Amorf (%10)	
2. OSTEOLAST	- Kalsiyum Klorid (%0,3)	1. GAG	
	- Kalsiyum Klorid (%0,3)	a. Sülfatsız	
		- Hyaluronik Asit	
3. OSTEOSİT	b- Magnezyum Tuzları (%1,5)	b. Sülfatlı (Proteoglikanlar)	
		- Kondroitin 4 Sülfat	
		- Kondroitin 6 Sülfat	
		- Keratan Sülfat	
4. OSTEOKLAST	c- Alkali Tuzlar (%2)	2. Glikoproteinler	
		- Osteonektin	
		- Osteokalsin	
		- Osteopontin	
		- Gama Karboksiglutamik asit	

Kemik matriksinin içinden geçen kanal ve boşluk sistem içerisinde yoğun kemik ağırlığının %15'ini oluşturan canlı hücreler bulunur. Bu hücrelerin bir kısmı makrofajlar gibi görev yapan osteoklastlar sayesinde eski kemik matriksini yıkarken, fibroblastlara benzeyen osteoblast hücreleri sayesinde yeni kemik matriksi biriktirir ve bu döngü sayesinde kemik içindeki matriksin sürekli yenilenmesi sağlanır (95).

Olgun kemik *kortikal* (kompakt) ve *trabeküler* (süngerimsi) kemik olarak iki tipten oluşmaktadır. Vücuttaki *kortikal* kemik miktarı %75 iken süngerimsi kemik miktarı %25'tir.

Yoğun, çok sert, dış kuvvetlere dayanıklı ve düzenli yapıdaki kortikal kemik, *havers* sistemi olarak adlandırılan kanalların etrafındaki matriks lamellerinden oluşur. Bu lameller *laküna* adı verilen boşluklardan oluşurken *lakünaların* içi *osteosit* denilen kemik hücrelerini bulundurmaktadır (96).

Kompakt kemikler vücuttaki yassı kemiklerin iç ve dış yüzeylerini, uzun kemiklerin ise dış yüzeylerini oluştururken, *spongioz* kemik daha yumuşak ve *kompakt* kemiğe göre daha zayıftır. Strese dayanıklı olan bu kemik içinde kemik iliği mevcuttur (86,87).

Yumuşak, düzensiz ve daha elastik yapıdaki *trabeküler* kemik birbiriyle bağlantılı *trabeküllerden* oluşmaktadır. *Kortikal* kemiklerde beslenme lenf ve kan damarları, sinir ve bağ dokusu içeren *havers* sistemi ile gerçekleşirken *trabeküler* kemik ekstraselüler sıvıdan difüzyon ile gerçekleşmektedir (97).

Genellikle her kemik, *trabeküler* kemiği çevreleyen *kortikal* kemikten oluşmaktadır. Kortikal kemiğin etrafı *periost membranı* ile kaplıdır. Bu membran dışta fibröz, içte kemik yapıcı potansiyeldeki iki katmandan oluşur.

Korteksin iç yüzeyi ise *endosteum* denen yapıyla kaplıdır. Kemik rezorpsiyon mekanizması bu yüzeyden başlar. *Periost* ve *endosteum*, osteoblast ve osteoklast hücrelerinden oluşmakta olup bu hücreler kemik yapımı ve yıkımını sağlarken remodeling, büyüme ve tamir olayları uyum içinde gerçekleşir (96).

2.7.2. Kemikte meydana gelen gerilme ve sıkışma direnci

Kemikte meydana gelen gerilme ve sıkışma direncini etkileyen faktörlerden birisi *kortikal* ve *trabeküler* kemiğin anatomik dağılımıdır. Gerilmeye dirençli alanlarda yüksek oranda *trabeküler* kemik bulunmaktadır (96). Ayrıca kemik doku içerisindeki kollajen fibrillerin dağılımı ve kemiğin minerallerden oluşan kristal yapısı da gerilme ve sıkışma dirençlerinde etkilidir. Kemikte

meydana gelen gerilme ve sıkışma stresi ile kemik %2,5 oranında esneyebilir. Bu sırada oluşan direnç bölgeleri yeni kemik yapımı ve kemik yıkımını başlatır (98).

Kemik dokusu elastik özelliği sayesinde mm² başına 15 kg basınca ve 10 kg çekme kuvvetine karşı dirençlidir. Bu değerler aşıldığında kemik dokusunda kırık veya çatlak oluşur (86,87,89,99-101).

İçeride doğru büyüyen içeride doğru büyüyen yumuşak dokulardan farklı olarak kemik yapı, var olan kemik yüzeylerine ilave matriks ve hücre yayılması ile büyür. Önce bu kemik yapılarının kırık yapılar içerisinde ölçekli modelleri oluşturulur. Her bir model büyür ve yeni kırık yapılar oluştuğunda eski kırık yapılarla yer değiştirir (95).

2.7.3. Kemik yapının hücreleri

Kemik yapının oluşmasında, yıkımında ve bu yapının devamlılığının korunmasında, osteoprogenitör hücreler, osteoblast, osteosit ve osteoklast hücreleri görev alır (Tablo 1) (Şekil 2).

2.7.3.1. Osteoprogenitör hücreler

Osteoprogenitör hücreler mezenkimal kaynaklı olup, kemiğin ana hücreleridir. Bu hücreler endosteumda, periosteumun iç katında ve *havers* kanalları gibi bölgelerde bulunurlar. Bu hücreler kemik büyümesinde, zedelenmesi veya kırık tamirinde aktifleşerek, mitotik aktivite ile bölünürler ve osteoblast hücrelerine dönüşürler (87,102,103) (Tablo 1).

2.7.3.2. Osteoblast hücreleri

Osteoblastlar yaklaşık 20-30 µm büyüklüğünde olup, kemik iliğindeki mezenkimal kök hücrelerinden, *endosteum*, *periosteum* ve *perivasküler*

perisitlerden üretilir (104). Bu hücreler sitoplazmik uzantıları sayesinde *osteoid* ağı ile iletişim kurar ve komşu osteoblastlara ulaşır (91).

Matriksin yapımında görevli ana hücrelerden olan bu hücreler elektron mikroskopunda incelendiğinde iri çekirdekli, koyu bazofilik stoplazmaları olan, iyi gelişmiş *golgi* ve *endoplazmik retikuluma* sahip hücreler olarak izlenirler (87).

Osteoblast hücrelerinin yüzeylerinde bulunan otokrin ve parakrin reseptörleri, paratiroid ve tiroid hormonu (105) büyüme hormonu (106), insülin (107), progesteron (108) ve prolaktin (109) reseptörleri sayesinde osteoblastik aktivite gerçekleşmektedir.

Ömürleri 1 hafta ile 10 hafta arasında olan osteoblast hücreleri apoptoz ile yıkılarak, remodeling aktivasyonunda görev yapan ve kemiğin endosteal yüzeyini örten olgun yapıdaki osteosit hücrelerine dönüşür (91,110).

2.7.3.3. Osteosit hücreleri

Osteositler osteoblastlardan gelişen olgun kemik hücrelerdir. Bu hücreler iskelet yapının %90-95'lik kısmından fazlasını oluşturarak yıllar boyunca canlı kalabilirler (111) (Tablo 1).

Lakünalar içinde bulunan osteositler, osteoblastlardan daha küçük yapıdadırlar. Osteositlerin kanaliküller içinde uzanan çok sayıda ince sitoplazmik uzantısı, komşu hücrelerin uzantıları ile ucuca gelerek kemik doku içindeki madde transferi sağlanır (112).

Osteositlerin mekanik uyarılara karşı etkili ve kemik kütlesinin korunmasından sorumlu olduklarına yönelik fikirler bulunmaktadır (113-115). Bu hücrelerin kemik doku içerisindeki gerilime cevap vererek osteoklast hücrelerini uyardıkları ve remodellingini arttırdıkları düşünülmektedir (116).

2.7.3.4. Osteoklast hücreleri

Osteoklastlar kemik rezorpsiyonundan sorumlu, yaklaşık 20–50 çekirdek içeren dev hücrelerdir (91). 100 µm çap büyüklüğündeki bu hücreler iskelet sistemini oluşturan tüm kemik hücrelerinin %1'den daha az bir kısmını meydana getirmektedir. Kemiğin '*Howship lakünası*' adı verilen boşluklarında bulunan osteoklastlar, kökenini kandan alan monositlerin birleşmesiyle oluştukları için mononükleer fagositik sistemin içinde yer alırlar. Bu hücrelerin sayısı aktif kemik yapım alanlarında artmaktadır (117).

Osteoklast hücrelerinin zarları, rezorpsiyonun gerçekleştiği pürüzlü yüzey ve matrikse bağlanmayı sağlayan mikrofilamentten zengin integrinlerin bulunduğu berrak yüzey olmak üzere iki önemli özellik taşımaktadır. Osteoklastlar rezorpsiyon alanına doğru hareket ederek pürüzlü yüzey sayesinde mineralize doku yüzeyine tutunur ve bu alanın kenarlarını integrinler ile örter (91). Bu bağlanma yüzeylerinde osteoklastların varlığını gösteren çukurcuk yüzeyler oluşur (117).

Osteoklastlar kemik matriksini etkileyen asit kollejenaz ve proteolitik enzimleri salgırlar. Böylece kalsifiye olmuş temel maddeyi serbest hale getirirken, rezorpsiyon sırasında ortaya çıkan artıkların fagositozunda aktif rol oynarlar (94,118).

2.8. Kemik yapımı (Osteogenesis)

Ossifikasyon da denilen kemik yapım mekanizması *intramembranöz* (direk, zarsal kemikleşme) ve *endokondral* (indirek, kıkırdaksal kemikleşme) kemikleşme olarak iki şekilde gerçekleşir.

Direk kemikleşme bağ dokusu, indirek kemikleşme ise kıkırdak dokunun katılımı ile gerçekleşmektedir. Kemikleşme hangi türde olursa olsun ilk

oluşan kemik dokusu osteoblastlar tarafından yapılan primer yani olgunlaşmamış kemik dokusudur. Daha sonra bu kemik dokunun yerini olgun lamelli kemik doku almaktadır (86,87).

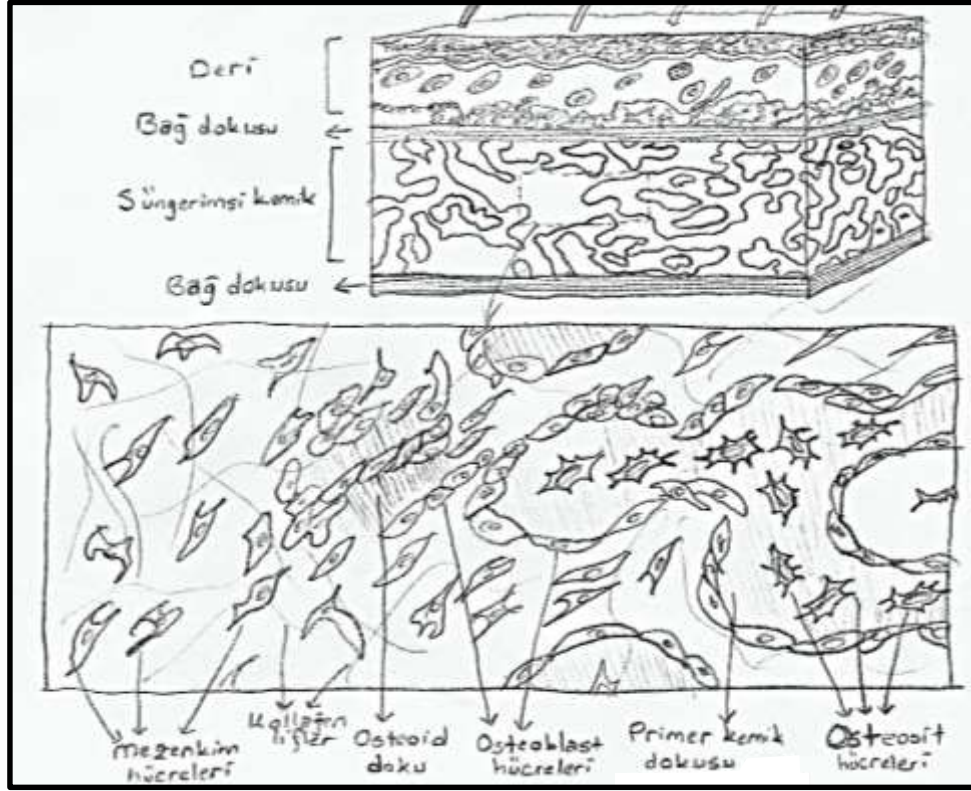
2.8.1. İntramembranöz kemikleşme

Kafatasındaki frontal ve pariyetal kemiklerin bütünü, oksipital ve temporal kemiklerin bazı parçaları, kısa ve uzun kemiklerin *kompakt* kısımları, üst ve alt çene kemiklerinin bir kısmı *intramembranöz* kemikleşme ile kemikleşir.

Osteoblast hücrelerinin salgıladıkları matriksin doğrudan mineralize olması sonucuyla gerçekleşen bu kemikleşme türünde, mezenkim hücreleri membranöz kemikleşme sahasına göç eder ve bu alana tutunurlar (Şekil 2). Mezenkim dokunun vazkularize olması ve mezenkimal hücrelerin osteoblast hücrelerine dönüşümü ile bu hücreler kemik matriksi salınımını başlatmak için kollajen ve proteoglikanların üretimine başlar. Kalsiyum ve fosfor iyonları kapiller damarlardan çıkıp osteoid dokuya girerek, osteoblast hücrelerinin salgıladığı alkalin fosfataz aracılığı ile kalsiyum fosfat moleküllerini oluştururlar (99).

Amorf maddeye kalsiyum iyonlarının çökerek osteositlere dönüştüğü bölge kemikleşme merkezi olarak adlandırılır. Aynı zaman dilimi içerisinde gerçekleşen birçok kemikleşme merkezinin birleşmesi *spongiöz* (trabeküler) yapıdaki kemik dokuyu meydana getirir. Arada kalan bağ dokusuna mezenkim hücreleri göç ederek kemik iliği hücrelerine farklılaşırlar.

Mezenkim hücreleri sürekli mitoz bölünme ile çoğalarak osteoblast oluşturmaya devam ederken, kemikleşme merkezleri artar. Bu merkezler birbirleriyle kaynaşarak kemik dokunun bütünü oluştururlar (85-87,119-122).



Şekil 2: Direk kemik oluşum mekanizmasının şematik gösterimi

2.8.2. Endokondral kemikleşme

Endokondral kemikleşme kısa ve uzun kemiklerin hyalin kıkırdaktan kemik dokuya dönüşmesidir. Gelişecek olan kemik yapının hyalin kıkırdaktan oluşan taslağının belirmesinden sonra, bu taslaktaki kondrosit hücreleri genişler, dejenerasyona uğrar ve kalsifiye olan kıkırdak matriksinin kan damarları ve osteoprogenitör hücrelerin bu taslak yapıyı destek olarak kullanması sonucu kemik matriksi sentezlemesiyle endokondral kemikleşme oluşur.

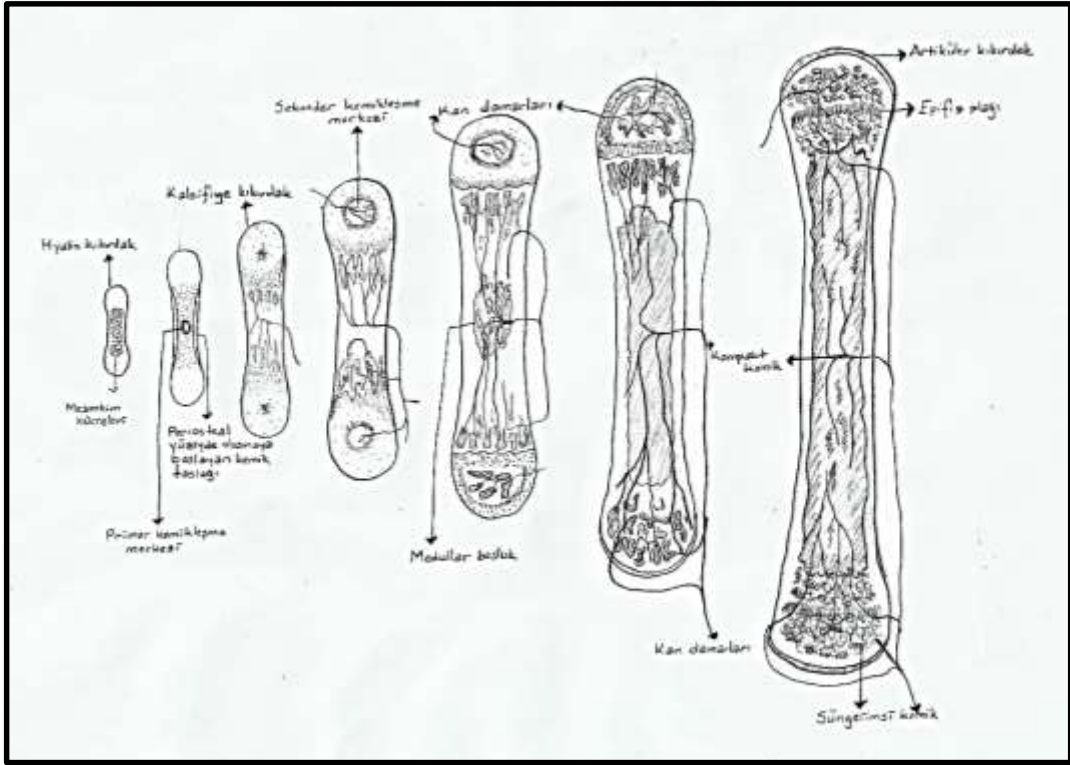
Kıkırdak dokudaki proteoglikanların ve kapiller endotelindeki sialik asidin negatif yükü nedeniyle bu yapıların birbirini itmesi damarlanma oluşumunu engeller. Mineralize olan matriks dokusu ile ortama salınan kalsiyum iyonları sayesinde etkileşim bozularak damarlanmanın oluşması gerçekleşir (123,124).

Kemikleşme, kıkırdak modelin diafiz bölgesindeki perikondrium tabakasının iç katmanındaki mezenkim hücrelerinin osteoprogenitör hücrelere, bu hücrelerin de kıkırdağımsı septumun üzerini kemik matriksi ile kaplayan osteoblast hücrelerine dönüşümü ile başlar.

Üst üste yerleşen osteoblast hücreleri kemik lamellerini oluşturur. Bu lameller arasına sıkışan osteoblast hücreleri de osteositlere dönüşürler. Bu şekilde kıkırdak modelin diafiz kısmındaki kıkırdak doku ile periost arasında silindirik yapıda bir kemik bant oluşur. Silindirik yapının oluşumu kıkırdağın difüzyon ile beslenmesini engellediğinden, ince kıkırdak matriksleri alanda kalırken kondrosit hücrelerinin yapısı bozulmaya başlar.

Osteoklast hücrelerinin devreye girmesi ile kemik bandı üzerinde periosteum hücrelerinin girerek dokuya yayılacağı "*foramen nutritium*" denilen delikler açılır. Bu foramenler içinden geçen damarlar sayesinde kondrositlerden kıkırdak matriksine geçen alkalen fosfataz, kalsiyum ve fosfor iyonlarını birleştirerek kıkırdak matriksine yerleşir ve diafizde bir kemikleşme merkezi meydana gelir (85,87).

Endokondral kemikleşmenin diafiz alanını geçip, epifizlere yaklaşmasıyla bu kez epifiz alanlarında sekonder kemikleşme merkezleri görülmeye başlar. Eski oluşmuş ve yeni oluşan kemik sahaları arasında epifiz plağı denilen bir kıkırdak disk kalır. Kemikleşme tamamlanana kadar epifiz plaklarının kondrosit hücreleri diafiz yönüne doğru bölünüp çoğalarak kıkırdak dokusu oluşturmaya devam ederken, bu kıkırdak doku da yerini kemik dokusuna bırakır. Kemik uzamasının tamamlanması ile epifiz plaklarının kemikleşmesi gerçekleşir ve kemik oluşumu tamamlanır (85-87) (Şekil 3).



Şekil 3: İndirek kemik oluşum mekanizmasının şematik gösterimi

2.9. Dentofasiyal suturlarda meydana gelen kemikleşme

Komşu kemikler birbirlerine bağ doku şeridinden oluşan suturlar ile bağlanırlar. Komşu kemiklerin üzerini örten periost tabakası suturda devam etmektedir. Bir bağ dokusu tabakası olan periost tabakasının en üst katmanı fibröz bir tabaka olup, fibroblast, kollajen lifler, damar ve sinir paketinden oluşmuştur.

Periostun kemiğe bakan yüzeyi ise esas kemik hücrelerini yapan kambiyum tabakasıdır. Kambiyum tabakası, osteoblast hücrelerinin çoğalarak, bu hücrelerin salgıladığı kollajen liflerin üzerine kalsiyum tuzlarının çökmesi ile sharpey liflerine dönüştüğü ve burada kemiğin yapıldığı tabakadır. Suturlarda birbirine komşu kemiklerin ayrı ayrı birer kambiyum tabakası ve fibröz dokulardan oluşan kapsüler tabakası vardır.

Her iki kapsüler tabaka aralarında kan damarlarının bulunduğu bir ara tabaka içermektedir. Kambiyum tabakası sayesinde suturu oluşturan her iki komşu kemik ayrı ayrı büyümeye devam ederler. Bu kemikler birbiri ile aynı oranlarda büyüyebildiği gibi, biri diğerinden daha az ya da fazla büyüyebilir (8).

2.10. Kemik yapının onarımı (Kırık kemik iyileşmesi)

Kemik iyileşmesi enflamasyon, onarım ve yeniden şekillenme olmak üzere üç aşamada gerçekleşir (89).

Kemikte bir hasar oluştuğunda, bu bölgeye göç eden fibroblast hücreleri ve oluşan fibrin ağı ile birlikte kapiller yapılar organize olmaya başlayarak kan pıhtısını oluştururlar. Bir bağ dokusu şeklindeki bu yapının oluşumu enflamasyon aşaması olarak adlandırılır. Bu yapı 7-10 gün içerisinde oluşur.

Kallus oluşumu olarak da adlandırılan onarım aşamasında, kemiğin periosteal ve endosteal tabakasında bulunan mezenkim kaynaklı osteoprogenitör hücreler aldıkları kemotaktik sinyaller ile iyileşme alanında oluşmaya başlarlar (119).

Kırık veya hasar bölgesinde ortaya çıkan küçük kırık parçacıklarının endokondral kemikleşmesi ile primer kemik oluşur. Bu aşamada kırık *woven* kemik ile yer değiştirir. Yedinci ve 12. günler arasında gerçekleşen bu yumuşak *kallus* dokusu, düzensiz kemik parçalarını biraraya getirmekle görevliken, *sekonder kallus* gelişimine de öncülük eder. 20 ila 60. günler arasında gerçekleşen *sekonder kallus* oluşumu ile *woven* kemik kompakt lameller kemiğe dönüşür. Kanlanmanın yeterli olduğu bölgelerde osteoblastlara dönüşen hücreler de kemik trabeküllerini oluşturur. Bu şekilde en dış tabakası kemik yapıcı (osteojenik) hücreler, orta tabakası kırık doku, en derin tabakası ise kemik trabeküllerinden oluşmuş bir yapı meydana gelir (125,126).

Kemik dokuda iyileşme ilerledikçe *kallus*, olgun kemik hücreleri ile yer değiştirmeye başlarken trabeküler yapı, fonksiyonel ihtiyaçları karşılayacak şekilde organize olmaya başlar. Kemik onarımı sırasında kemik üzerine etki eden kuvvetler de *kallusun* yeniden şekillenmesine yardım eder. Yeniden şekillenme adı verilen bu dönemde bir taraftan osteoblastlar yeni kemik lamelleri yaparken, diğer taraftan osteoklastik aktivite ile rezorpsiyon da gerçekleşir. *Kallusun* primer dokusunun zamanla rezorbe edilip ve yerini sekonder kemiğe bırakması ile kemiğin özgün yapısı yeniden oluşmuş olur (127,128).

Yapılan çalışmalarda büyüme hormonu, tip I kollajen, anabolizan, kalsiyum, C ve D vitaminlerinin dışarıdan uygulanması ile kemik doku tamirinde olumlu etkiye sahip oldukları bildirilmiştir (129,130).

2.11. Kemik yapım yıkım metabolizması

Sağlıklı bir dokuda, kemiğin yapım hızı yıkım hızından fazla olduğundan kemik şeklini koruyarak büyür. Yeniden şekillenme aşamasında kemiğin uzun ekseninde uygulanan stres kuvvetleri elektromanyetik bir alan yaratır ve bu sayede kemik korteksi ile kemik iliği hücrelerinin yapımı devamlılık kazanır. Uygulanan mekanik stres sonucunda kemiğin iç yüzü pozitif, dış yüzü ise negatif elektrik ile yüklenir. Negatif yüzeyde osteoklastik aktivite ile kemik yıkımı gerçekleşirken, pozitif yüzde osteoblastik aktivite ile kemik yapımı gerçekleşir (127,128).

Kemik oluşumunun biyomekanik kontrol mekanizması ise fonksiyonel yükleme sonucunda iskeletsel adaptasyonun verdiği fizyolojik cevap ile sağlanır. Bu durumda katabolik mekanizma ile kemik atrofiye uğrayarak rezorbe olurken, anabolik mekanizma hipertrofik cevap oluşturarak apozisyon gerçekleşir (131-133).

2.12. Hyaluronik asit

HA ilk olarak 1934 yılında Meyer ve John Palmer isimli araştırmacılar tarafından öküz gözündeki vitröz cisimciğinden elde edilmiş olup, parlak ve transparan görüntüsünden dolayı adını yunanca camsı (glassy) anlamına gelen üronik asitten almıştır (134).

1986 yılında Balazs (135) tarafından HA'ya alternatif olarak hyaluronan ismi önerilmiştir. Günümüzde geçerli hyaluronan preparatı sodyum tuzu şeklindedir. HA'yı Meyer tavuk ibiğinden, Kendall ve ark. bakterilerden izole etmişlerdir (136).

Ortopedi, dermatoloji, oftalmoloji alanlarında sıklıkla kullanılan HA, diş hekimliğı alanında da antienflamatuar, antibakteriyel ve nemlendirici etkilerinden dolayı son yıllarda sık kullanılan materyaller arasındadır (137-163).

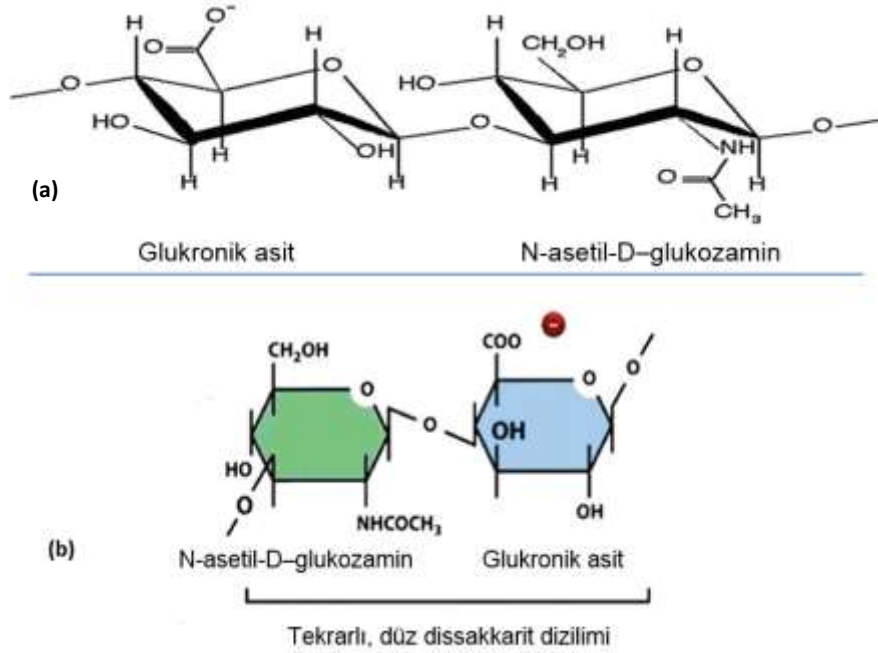
2.12.1. Hyaluronik asitin kimyasal yapısı

HA, hyaluronat veya hyaluronan da denilen yüksek molekül ağırlıklı (YMA) ve düşük molekül ağırlıklı (DMA) türevleri olan, sülfat içermeyen, düz yapılı dalsız bir GAG'dır. Bu polisakkarit madde β -1,4-D-glukronik asit ve β -1,3-N-asetil-D-glukozamin zincir halkasıyla birbirine bağlanmış bir makromoleküldür (138,164-166) (Şekil 4).

Kondroitin 4,6 sülfat, keratan sülfat gibi diğer GAG çeşitleri golgi cisimciğinde sentezlenirken, HA bunlardan farklı olarak plazma membranının stoplazmasında sentezlenir. Ayrıca sülfat içermemesi ve proteinlerle kovalent bağlanabilme yeteneğinden dolayı da diğer GAG'lardan farklıdır (164).

HA'nın yıkım metabolizmasının %20-30 kadarı deri ve eklemlerde gerçekleşirken, diğer kısmı lenfatik yolla yapılmaktadır. Kemik ve kıkırdak gibi

yoğun dokulardaki yıkımı lenfatik drenaj ile gerçekleştiremediğinden kollajen ve diğer proteoglikanlar ile birlikte yapılmaktadır. HA'nın yarılanma ömrü yarım gün ile 2-3 gün arasında değişirken, kan dolaşımına katılan kısmının %85-90'ı karaciğerdeki hepatik hücrelerde, %10 kadarı böbreklerde yıkılır ve geri kalanı da idrar ile atılır (167).



Şekil 4: HA'nın kimyasal yapısı

(a) HA'nın kimyasal yapısı

(b) HA sülfat içermeyen, düz yapıda dalsız bir GAG'dır.

Tüm dokuların hücre dışı matriksinde (HDM) bulunan HA'nın bilinen hiç bir yan etkisi bulunmamaktadır (166,168,169). HA'nın yaklaşık %50'sinin deri, dudak ve mukozalarda %25'inin iskelet sistemi ve eklemlerde geri kalan kısmının da kaslar ve iç organlarda bulunduğu, en yüksek konsantrasyon miktarının ise göbek bağı, sinoviyal sıvı, deri ve vitröz cisimciği gibi bağ dokularda bulunurken, en düşük konsantrasyonun kan serumunda olduğu bildirilmiştir (167,170).

İstirahat döneminde dokulardaki ve kandaki HA miktarının çoğunun kollajenlerle ve diğer YMA'lı maddelerle çapraz bağlı bulunması, serbest yoğunluktaki miktarının düşük olduğunu gösterirken, doku yaralanması ve enflamatuar durumlarda dokulardaki yoğunluğu önemli miktarda yükselmektedir (171,173).

Ortalama 70 kg ağırlığındaki bir insanın 15 gr civarını oluşturan HA'nın, her gün üçte birinin yıkıldığı ve yeniden sentezlendiği bildirilmiştir (174). İnsanların kan serumunda bulunan HA'nın seviyesi 10-100 µl/L arasında değişmektedir (169). Erişkin dokularda 0,05-3,0 mg/ml oranında iken, bazı embriyonik dokularda 12-20 mg/ml yoğunluğuna kadar çıkabilmektedir (175). HA, akciğer, böbrek, beyin ve kaslarda da belli bir miktarda bulunurken, karaciğerde az miktarda bulunmaktadır (167).

2.12.2. Yüksek ve düşük molekül ağırlıklı hyaluronik asit

Farklı MA'ya sahip olan HA'nın 1×10^5 ile 10^7 Da (Dalton, MA birimi) arasında değişen değerleri olduğu bildirilmektedir (139,165,176,177).

Kemik ve kıkırdak doku üzerinde YMA'lı ve DMA'lı HA'nın etkilerinin karşılaştırıldığı çalışmalar (140-149) ve sistematik derlemeler (150,151) bulunmaktadır.

YMA'nın kemik ve kıkırdak doku üzerindeki etkilerinin tek başına değerlendirildiği çalışmalar (139,152-160) ve DMA'lı HA'nın tek başına değerlendirildiği çalışmalar (161-163) bulunmaktadır.

Osteoartrit (OA) tedavilerinde yıllardır kullanılan HA preparatlarının farklı MA'lı formları ve bunların etkinlikleri meta-analiz çalışmalarıyla incelenmiştir. 2003 yılında Lo ve ark. (150), 2005 yılında Arrich ve ark. (151) sistematik derlemeleri değerlendirmişlerdir. Lo ve ark. (150) 7 farklı MA'lı HA

preparatı ile yapılmış çalışmaları incelemiş, YMA'lı HA preparatlarının DMA'lı HA preparatlarına göre daha etkili olduğu, fakat çalışmalar arasındaki heterojen dağılımdan dolayı sonuçları yorumlamanın zor olduğunu bildirmişlerdir. Arrich ve ark. (151) MA ve HA preparatlarının etkileri bakımından bir fark saptamamıştır.

HA'nın YMA'lı yapısı sayesinde, makromoleküller için bir filtre görevi görerek, hücre yüzey proteinlerine ve diğer matris proteinlerine bağlanabildiği belirtilmiştir (139).

In-vitro çalışmalar, YMA'lı HA'nın, tıkaç oluşturarak izole proteoglikan kümelenmesini arttırdığını, sülfatlı GAG sentezini, kültür ortamında yeni HA oluşumunu ve fibroblastları uyardığını, aktif makrofaj ve lökosit kemotaksisini, IgG (Immun Globulin G) ve agregre nötrofiller tarafından yapılan fagositozu ve enzim salınımını önlediğini, serbest radikal temizleyicisi olarak işlev gördüğünü göstermiştir (152,157-159).

HA'nın hastalıklı dokulardaki konsantrasyon, MA ve viskozitesinin düştüğünü belirten Iwata ve ark. (147), YMA'lı HA'nın moleküler yapısı yoğun bir şekilde polimerize iken biyolojik işlevinin en yüksek seviyede olduğunu, DMA'lı HA oligomerlerinin dokularda damarlanmayı arttırıcı etkisi dışında önemli olmadığını bildirmişlerdir.

Asari ve ark.'nın (146) köpekler üzerinde yaptıkları çalışmada, DMA'lı HA'nın (840.000 Da), YMA'lı HA'ya (2,7 MDa) göre *sinovyal* zara daha yüksek geçirgenlik gösterdiği, doku içerisinde bulunan HA sentezinin arttırılmasında tek faktörün MA olmadığı ve bu konuda insanda yapılmış bir çalışma olmadığı belirtilmiştir.

2.12.3. Hyaluronik asitin görevleri

Yapılan çalışmalar HA'nın vücudun tüm alanlarında bulunarak, farklı görevleri olduğunu bildirmişlerdir (176,178-183).

Araştırmaların ilk yıllarında HDM'nin pasif ve yapısal bir bileşeni olarak düşünülen HA'nın, yapılan çalışmalar sonucu hücre sinyali, yara iyileşmesi, morfogenez ve matriks organizasyonunda görev yapmakta olduğu, fibroblast ve myofibroblastik proliferasyon sağlayarak, TGF-B1'lerin (taşıyıcı büyüme faktörü) düzenlenmesinde rol oynadığı belirlenmiştir (164-166,179,180,184,185).

HDM polisakariti olan HA maddesinin en önemli özelliklerinden biri olan içinde bulunduğu ortamdaki su moleküllerini difüzyon veya çeperinde yoğunlaştırarak azaltabilme yeteneği (*higroskopik* yapısı) tüm iyileşme, hücre yenilenmesi, hücre sinyali, dokulara yapışma süreçlerinde etkilidir (153,170). HA polimerlere oranla 1000 kat daha fazla su tutabilme yeteneğine sahiptir (164).

HA aktif hücre büyüme bölgelerine yerleşerek bölünebilen hücre reseptörlerine bağlanır ve hücre büyümesinde rol oynar (171). Ayrıca yara iyileşmesinde kollajen fibril oluşumunu arttırarak re-epitelizasyon sürecini hızlandırdığı bilinmektedir (166,186,187).

Yara iyileşmesi sürecinde çok işlevsel roller üstlenen HA, doku tamiri sırasında etkili olan TGF-B1'in ve fibroblast hücrelerinin dağılımı ve miktarını düzenlemektedir (185). Fibroblast hücreleri, TGF-B1'in Smad 3 sinyalleri sayesinde aktif formları olan miyofibroblastlara dönüşmektedir (188).

Fibroblast hücreleri bağ doku elemanlarının en yoğun bulunan bileşenlerinden olup, HDM'de doku hasarı sırasında remodeling ve yara büzüşmesi sırasında ana rol oynamaktadır (189) (190) (191). Dokularda yara oluştuğunda hasarlı alan fibröz doku ile dolmaktadır. Organ hasarı gibi bazı

yaralanma çeşitlerinde fibröz yapıların dokudaki miktarı organ disfonksiyonu, akciğer fibrozu, siroz, kronik kalp ve böbrek hastalıkları gibi ters etkiler de oluşturabilmektedir (185,189,192).

YMA'lı HA ve mukopolisakkaritler, derinin *stratum korneum* tabakasına penetre olmaz, fakat deri yüzeyinde oluşturdukları yarı geçirgen tabaka sayesinde deri üzerinde suyun buharlaşmasına engel olarak görev yaparlar (168,193).

Hücrelerin birbiri ile olan iletişimde CD44 ve RHAMM (CD168) gibi hücre yüzey reseptörleri rol oynamaktadır. HA, hyaladherin gibi HA'ya bağlanan proteinlerin katkısıyla hücre yüzey agreganlarını üreterek hücreler arası sinyali sağlamaktadır (161,165,185,194,196).

HA'nın diğer proteoglikanlarla olan karşılıklı etkileşimi tüm dokuların HDM'lerine stabilite, esneklik ve yüzey doldurucu özellik kazandırır (153,171). Makromoleküller arasında sağlanan bu iletişim *intertisyel* alandaki maddelerin hareketliliğini ve dokudaki nem yoğunluğunu belirler (171).

Erişkin bireylere oranla fetusta daha yüksek oranda bulunan HA'nın fetal doku yaralanmalarında skar bırakmadan dokulardaki iyileşmeye katkısı vardır. Doku yaralanmasında yetişkin dokularda 7 gün içerisinde normale dönen HA seviyesinin fetal dokularda 3 haftaya kadar yüksek molekül seviyesini korumasından yola çıkarak saptanmıştır (164).

HA fetal dokularda kıkırdak içinde yüksek miktarda bulunduğundan, nemlendirici etkisi ile dudak damak yarıklı bebeklerin *nazoalveolar şekillendirme* işlemi ile burun onarımlarının yapıldığı erken dönemde dokuların şekillendirilmesine yardımcı olduğu bilinmektedir (197,198).

Granülasyon dokusunu artırıcı ve re-epitelizasyon sürecini hızlandırıcı etkilerinden dolayı radyodermatit ve dekubit tedavisinde ayrıca burun mukozası ülserlerinde sıklıkla kullanılmaktadır (199).

HA içeren ürünler, kozmetik ve dermatolojik alanlarda sıklıkla kullanılmaktadır. Bağ dokusu ara maddesinin temel taşı olan HA'nın su tutucu özelliğinden dolayı derinin turgor basıncını sağlamada önemli görevleri vardır. Fetal deride fazla bulunan bu madde yaşla beraber azalır (168,200).

Dolgu maddesi olarak en önemli kozmetik ajanlardan olan HA, daha önceleri hastaların kendi yağ dokularının enjeksiyonu ile yapılan daha sonra parafin enjeksiyonu ve saflaştırılmış silikon uygulanması gibi kozmetik işlemlerin önüne geçmiştir (201).

Yüz bölgesinde uygulanan *botulinium toksini* (*Botox*[®]) ile başlayan süreç, yerini kollajen ve HA enjeksiyonuna bırakmış olup, yaşla birlikte gerçekleşen dejeneratif değişimlerin gizlenmesi amacıyla kullanılmaktadır. HA, enjeksiyonu takiben *dermis* tabakasında hızlıca parçalanarak, lenfatikler ile dokudan uzaklaştırılır ve karaciğerde parçalanır. Deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmada enjeksiyondan 12 ay sonra dokuda %75 oranında HA bulunduğu belirtilmiştir (202).

Yumuşak dokuyu arttırmak amacıyla horoz ibiğinden üretilen; Hylaform gel[®], Hylan Rofilan Gel[®], Achyal[®] (Tedec Meiji, Spain) veya bakteriyel (streptokok) kaynaklı; Restylane[®], Restylane-fine[®], Perlane[®] (Valeant, Kanada), hücre kültüründe üretilen DermaLive[®], Derma Deep[®] (Derma-e, ABD), gibi türevleri mevcuttur (168).

Oküler ve eklem cerrahisi işlemlerinde, ortopedik uygulamalarda, yanık tedavisi ve deri altı dolgu maddesi olarak kullanılan estetik dermatolojik

uygulamalarda, *timpanik* zar perforasyonlarının kapatılmasında ve OA tedavisinde yıllardır kullanılmaktadır (171,203).

Gen tanımlanmasında düzenleyici damarlanmayı artırıcı ajan olarak görev yapan HA, bağ dokularının HDM'lerinde destek vazifesi görerek, pasif olarak görev yapmaktadır (167).

Siroz, romatoid artrit, skleroderma gibi enflamatuvar sistemik hastalıklarda ve çeşitli kanser türleri gibi patolojik durumlarda serum HA seviyesinde artış görülmektedir (176,178-183).

2.12.4. Hyaluronik asidin yara iyileşme metabolizmasındaki rolü

HA, mineralize ve mineralize olmayan tüm dokulardaki yara iyileşme süreçlerinde anahtar bir role sahiptir (204). Doku yaralanmalarında sırasıyla enflamasyon, granülasyon, re-epitelizasyon ve remodeling olayları gerçekleşir. HA tüm bu hücresel ve HDM faaliyetlerinde çok işlevsel roller üstlenmiştir (205).

Yapılmış olan araştırmalar, dokulardaki HA sentezinin hormonlar, enflamasyon, büyüme faktörleri gibi birçok değişkenden etkilendiğini göstermektedir (154,155,176). Yaralanmayı takiben, dokulardaki HA miktarının artış gösterdiği ve sonraki birkaç gün içerisinde yara bölgesindeki lokal HA konsantrasyonunun azaldığı bildirilmiştir (205).

Enflamasyon aşamasında, yara bölgesine hücre göçünü başlatan büyüme faktörleri, osteoblast hücreleri, sitokinler, keratinositler gibi etkenler, enflamasyon hücrelerinin, fibroblast ve endotelial hücrelerin bu alana taşınmasını sağlar (203,204).

Enflamasyonun başlaması ile HA miktarı bu alanda ciddi bir artış gösterir. Bu artış dokuda oluşan enflamasyonun tamir sürecinin başlatılması,

HDM hücrelerinin bu alana göç etmesi, HA'nın fibrin pıhtı ilişkisini oluşturarak geçici bir yapısal iskelet kurulması amacıyla gerçekleşmektedir. Dolayısıyla enflamasyonun iyileşme sürecindeki oluşumunun ilk safhası HA tarafından düzenlenmektedir (172,173,204).

Enflamasyonun ikinci aşamasında **granülasyon dokusunun ve matriksinin oluşumu** yer almaktadır. Bu aşamada matriks yıkım enzimleri ve reaktif oksijen metabolitlerinin neden olduğu yıkım nedeniyle enflamasyon oldukça yüksektir (203). Granülasyon dokusunun matriksi de HA yönünden zengindir. HA bu aşamada, granülasyon dokusunun hücrel organizasyonunu sağladığı gibi, hücrelerin bu alana göçünü de kolaylaştırır (173).

Hücrelerin alana göç etmesi ile başlayan granülasyon dokusunun oluşumu sırasında HA hücrelerle karşılıklı iletişime geçerek ve fiziksel ve kimyasal özellikleri sayesinde nemli bir matriks yapı oluşturur. Burada belirli hücre reseptörleri ile bağlantı kurarak hücrelerin hareket mekanizmalarını düzenlediği gibi, plazma membranında sentezlenerek, salındığı HDM ortamında oluşturduğu dinamik kuvvet sayesinde hücrelerin göçünü de kolaylaştırır (203,204).

Granülasyon dokusunun oluşumunu takiben gerçekleşen **hücre proliferasyonu** aşamasında artan HA seviyesi fibroblastların matriksten ayrılarak hücre bölünmesini başlatmasına olanak sağlamaktadır. Yapılan çalışmalar artan miktardaki HA'nın hücrelerin ayrılmasını kolaylaştırdığını gösterirken, hücre bölünmesinde doğrudan bir etkisi olduğunu göstermemiştir. Hücre proliferasyon aşamasında dolaylı olarak etki eden bu makromolekül, hücrelerin ayrılmalarındaki etkisi nedeniyle önemli bir rol üstlenmektedir (185,203,204).

Yara iyileşmesinde doku tamirinin gerçekleşebilmesi için ilk başta gerçekleşen iltihabi cevabın, ilerleyen aşamalarda hafifletilmesi gerekmektedir. HA doku matriksinde bulunan serbest radikallerin hücrelere zarar vermesini

engelleyerek ve granülasyon doku matriksinde gereken stabil yapının kurulmasını sağlayarak iltihabın hafifletilmesinde etkilidir (203,204).

HA'nın fonksiyonel özellikleri özetle aşağıdaki gibidir:

- Yara iyileşmesi alanında hücre bölünmesini ve hücre göçünü sağlar.
- Enflamatuar alanda gerçekleşecek olan fagositoz aktivitesini, lenfosit, makrofaj ve nötrofillerin enflamasyon bölgesine girişini dolaylı olarak engelleyerek önler.
- Doku tamiri sürecinde ve enflamatuar aktivasyonun başlamasında granülasyon dokusunun oluşumu, organizasyonu ve re-epitelizasyonu aşamalarında yer almaktadır.
- Su tutabilme özelliğinden dolayı yara alanının su kaybetmesini engeller.
- Yıkımı sırasında enflamatuar bir reaksiyon oluşumuna neden olmaz.
- Bakteriostatiktir.
- Birlikte uygulandıkları biyomateryallerin yapısal bileşenleri için taşıyıcı olarak fonksiyon görür.
- Sitotoksik hücrelerin ve virüslerin ataklarına karşı bariyer görevi yapar.
- Dokularda damarlanmayı artırıcı faaliyetler gösterir.

2.12.5. Hyaluronik asitin insan ve hayvan çalışmalarındaki yeri

İnsan ve hayvan üzerinde uygulanan HA'nın birçok çalışmada kemik yapımına etkisi incelenmiştir.

Engstrom ve ark. (153) periodontal kemik içi hasar bulunan dişlere cerrahi ve cerrahi olmayan müdahalelerden sonra YMA'lı HA türevi olan, *Rooster* bileşimi adı verilen formda şırınga ile bölgesel olarak HA uygulanmış, HA uygulanmamış gruba göre bu grupta daha fazla kemik oluşumu gözlemlediklerini belirtmişlerdir. 12 aylık takip sonrası klinik bulgularında HA uygulanan grubun, HA uygulanmayan gruba göre periodontal cep derinliklerinde anlamlı düşüş

izlediklerini, radyografik bulgularda ise gruplar arası kemik seviyesindeki farkın 1mm'den az olduğunu bildirmişlerdir.

Ballini ve ark. (161) periodontal kemik içi hasar bulunan hastalarda esterleştirilmiş formdaki DMA'lı HA (EHA) materyalinin (Hyaloss™ matrix, Fab, Fidia Advanced Biopolymers, Pd, Italy) etkisini incelemiş, 24 aylık takipler sonucu otolog kemik greftlerine kıyasla EHA grubunda daha fazla kemik oluşumu gerçekleştiğini gözlemiştir.

Sasaki ve Watanabe (155) çalışmalarında, sıçanların femur alanında oluşturdukları kemik boşluğuna bölgesel olarak YMA'lı HA (NRD® 101, Japan Roussel Co. Ltd., Tokyo) (1900 kDa MA) enjeksiyonu uygulamış ve kemikleşmeyi 14 gün incelemiştir. İncelemeyi ışık mikroskobu ve scanning-elektron mikroskobu ile yapmışlardır. Buna göre, HA grubunda 4. günden itibaren kavite tabanında ve duvarlarda yeni kemik oluşumu görülmeye başladığını, 1. haftanın sonunda kavitenin tamamen trabeküler kemik ile dolduğunu ve ilk dönemde oluşan granülasyon dokusunun yerini hızla yeni kemik iliği dokusuna bıraktığını bildirmişlerdir. Kontrol grubunda ise yeni oluşan kemik dokunun 7. günün sonunda görülmeye başladığını, 14. gün sonunda tamamen trabeküler kemik ile dolduğunu belirtmişlerdir.

Bingöl (140) yapmış olduğu tez çalışmasında, diz ekleminde OA'sı olan hastalarda DMA'lı HA (Hyalgan® 500-730 kDa MA, 20 mg/2ml) ve YMA'lı HA (Orthovisc® > 1MDa MA, 15 mg/2ml) ve Metil Prednisolon asetat preparatının etki ve yan etkilerini klinik olarak karşılaştırmış, her 3 grupta da iyileşme belirtileri gözlemlemiş, gruplar arası herhangi anlamlı bir fark saptamadığını belirtmiştir.

Stanciková ve ark. (141) overektomi yapılmış sıçanlara oral olarak farklı dozlarda ve farklı MA'larda (1,62 MDa 1mg/kg/gün ve 0,5mg/kg/gün, 0,75 MDa 1 mg/kg/gün) 8 gün boyunca verilen HA'nın etkilerini incelemiş, YMA'lı HA gruplarında (1,62 MDa MA) overektomi sonrası görülen kemik yıkımını önlediği, kemik mineral miktarını arttırarak, kemik yoğunluğunu koruduğunu bildirmiştir.

Zanchetta ve ark. (162) sıçanların parietal kemikleri üzerinde oluşturdukları kemik boşluklarına bakteri eksopolisakkaritlerinden üretilen YMA'lı HA (HE 800) uygulamış, kontrol grubunu kemik boşluklarını boş bırakmış, 21 gün sonunda her iki grupta boşlukların tamamen kemik ile dolduğunu bildirmiştir.

Zanchetta ve ark.'ın (163) diğer çalışmasında, sıçanların parietal kemiklerinde oluşturdukları kemik boşluğunu bakteri eksopolisakkaritinden üretilen ve HA türevi olan HE 800 (800 kDa) ile kontrol grubu olarak aynı sıçanın diğer parietal kemik boşluğunu kollajen ile doldurmuşlardır. 15 gün sonunda radyografik ve histolojik olarak değerlendirdikleri kesitlerde, deney gruplarının kemik yoğunluğunun $95,9 \pm 6,2$ iken, kontrol gruplarında $17,8 \pm 18,1$ oranında olduğunu bildirmişlerdir.

Aslan ve ark. (156) tavşan tibiasında oluşturdukları kemik boşluğuna bölgesel olarak YMA'lı HA'yı (4 MDa MA, 4 ml'lik jel formda) (Healon® Pharmacia & Upjohn, Sweden) kemik grefti ile karıştırarak uygulamışlardır. 5 µm olarak aldıkları kesitleri HE ile boyamış ve ışık mikroskobu altında histopatolojik olarak incelemiştir. Sonuçları YMA'lı HA'yı tek başına uyguladıkları kontrol grubu ile karşılaştırdığında, kemik grefti ile karıştırılmış YMA'lı HA grubunda kemik oluşum miktarının anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmiştir.

Sato ve ark. (206) sıçanların azı dişleri arasına yerleştirilen elastikler yardımı ile dişlerde ayrılma oluşturmuş ve periodontal ligamentlerdeki gerilme ve sıkışma bölgelerinde dokularda bulunan link protein, bir proteoglikan çeşidi olan versikan ve HA'nın dağılımındaki değişimleri incelemiştir, fakat ortodontik kuvvet sonrası HA'nın dağılımında herhangi bir değişime rastlanmadığını bildirmiştir.

Pirnazaar ve ark. (138) yaptıkları çalışmada, HA'nın bakteriyostatik etkisini araştırmak için düşük (141 kDa), orta (757 kDa), ve yüksek (1300 kDa) MA'lı HA türevleri kullanmış; YMA'lı HA'nın uygulandığı 6 bakteri grubunda bakteriyostatik etkisini diğerlerinden çok daha fazla bulmuştur. Orta MA'lı HA, 2 bakteri grubu içerisinde etkili bulunurken, 4 grupta kısmen etkili bulunmuştur. Bu

sonuçlardan yola çıkarak cerrahi işlemler sırasında uygulanacak olan YMA'lı HA'nın bakteri yayılımını engelleyebileceğini düşündüklerini bildirmişlerdir.

Periodontal lezyonlu alanlarda HA'nın etkinliğinin incelendiği bir çalışmada, HA çok fonksiyonlu rolleriyle periodontal dokulardaki yara iyileşmesinde etkili bulunmuştur (137).

Huang ve ark. (207) yaptıkları çalışmada, MA ve uygulanan doza bağlı olarak HA'nın kemik greftlerinin direk kemik yapıcı ve dolaylı olarak kemik yapımını tetikleyici özelliklerinin geliştirebileceğini belirtmiştir. Hücre kültüründe yapılan bu çalışmada farklı MA'larda HA (2300 kDa, 900 kDa ve 60 kDa) türevleri 0,5, 1,0 ve 2,0 mg/ml'lik dozlarda, yeni doğan sıçanların kalvaryal kemiklerinin mezenkim hücrelerine eklenmiştir. 7-20 gün sonra alizarin ile boyanan, hücre kültürü sonuçlarında DMA'lı HA'nın hücre büyümesini hızlandırdığını fakat kemik mineralizasyonu üzerine etkisinin bulunmadığını bildirmişlerdir. YMA'lı HA türevlerinde (özellikle 1,0mg/ml'lik dozda) hücre büyümesi, mineralizasyonu, artmış osteokalsin mRNA salınımının gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

In-vitro ortamda yapılan diğer histopatolojik çalışmalarda hücre kültüründe oluşturulan doku örnekleri, histolojik ve radyografik olarak incelenmiş ve mezenkimal progenitör hücrelerin, HA'nın oluşturduğu iskelet yapıya yapışarak hücre proliferasyonuna uğradığı belirtilmiştir (208,209).

Laurent (176), YMA'lı HA'nın greft materyaline karşı gelişen immun cevabı baskılayarak greft materyallerinin oluşturduğu sitotoksik etkiyi önlediğini ve deriye uygulanan allogreftlerin canlılığını uzun süre koruduğunu, HA'nın birçok hücreyi çevreleyerek sitotoksik hücrelerin ve virüslerin oluşturduğu ataklara karşı bariyer görevi üstlendiğini bildirmiştir.

Liguori ve ark.'ın (210) HA'nın yara iyileşmesi üzerine yaptığı çalışmada, HA'nın fibrin oluşumunu stimüle ederek nötrofil ve makrofaj

hücrelerinin fagositik faaliyetlerini aktive ettiği, kemotaktik faktör salınımını ve granülasyon aşamasında kollajen liflerin artmasını sağladığını bildirmiştir.

İntraartiküler eklem tedavilerinde kullanılan HA preparatları farklı MA, vizközite ve elastisite özelliklerine sahiptir. Yaşlanmakla ve OA ile HA'nın vizközitesi, elastisitesi ve MA'sı azalmaktadır. HA'nın DMA'lı ve YMA'lı çeşitlerinin ve elaskovizköz etkilerinin incelendiği bir çalışmada, OA'lı hastaların eklem bölgelerine lokal olarak HA uygulanmış, YMA'lı türevin (Hylan® G-F 20) DMA'lı HA'ya göre elaskovizközitesinin daha fazla olduğu, eklem ağrısını hafifletmesi yönünden de daha etkili olduğu bildirilmiştir (211). Benzer şekilde yapılmış hayvan çalışmalarında artritli eklemlere uygulanan HA solüsyonu ile elaskovizközitenin ağrı kesici etkisi açısından önemli olduğu (135,212,213), YMA'lı HA'nın prostaglandin E2 ve ağrı reseptörlerinden bradikinini baskılaması açısından, DMA'lı HA'dan daha etkili olduğu (142), HA'nın konsantrasyonunun MA'dan daha önemli olduğu (143) yönünde farklı görüşler bulunmaktadır.

2.13. Deney hayvanı olarak sıçanların kullanılması

Modern tıbbın gelişiminde hayvan deneyleri önemli yer tutmaktadır. Hayvanların insan modeli olarak kullanımı, tıp bilimiyle paralel olarak gelişmiştir (214).

Seçilecek olan deney hayvanının yapılacak çalışmaya uygun olması gerekmektedir. Suturlara uygulanan genişletme için yapılan hayvan çalışmalarında maymun (56,215), kedi (216), tavşan (156,217,218), domuz (219), fare (220), ve sıçan (18,19,66,221-237) kullanılmıştır.

Sıçan, köpek, maymun ve domuzların temel mekanizmaları insanlarla benzerlik gösterse de farklılıklar bulunmaktadır. Domuzların bakımı ve kooperasyonları zor olduğundan çalışmalarda daha az tercih edilmektedir. Köpeklerin son yıllarda çalışmalara dahil edilmesi kısıtlandırılmış olup, maymunlar da maliyet ve bakımlarının zorluğundan dolayı az tercih edilmektedir.

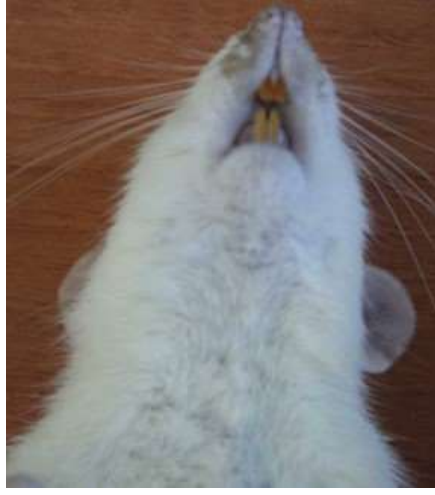
Sıçanlar kolay üretilebilirlikleri, kolay barındırılmaları ve beslenmelerinin kolaylığı, masraflarının az olması, histolojik hazırlık süreçlerinin diğer hayvanlara oranla daha kolay olmasından dolayı sıklıkla tercih edilmektedir (238).

2.13.1. Sıçanların dentofasiyal yapıları ve anatomisi

Yapılan çalışmalarda sıklıkla tercih edilmiş olan sıçanlar 2,5 ile 3,5 yıl arasında ömürleri olan ve ortalama erişkin ağırlıkları 300-350 gr olan hayvanlardır (239).

Andreollo ve ark. (240) sıçanların bir yaşam günününün 30 insan gününe denk geldiğini, diğer araştırmacılar da benzer şekilde, 180-200 gr ağırlığındaki erkek bir sıçanın, 14-16 yaş arasındaki büyüme gelişimini tamamlamamış erkek bir insan bireye denk geldiğini belirtmişlerdir (18,19,221,222). Büyüme gelişim dönemlerinden faydalanmayı amaçlayan çalışmalarda bu dönemdeki sıçanlar tercih edilmektedir.

İnsanlardan farklı olarak keser dişleri ömür boyu yenilenerek uzama hareketi gösterirler (241). Sıçanların üst ve alt çenelerinde ikişer tane olmak üzere toplam 4 keser dişi ve sağ ve sol çenelerinde üçer tane olmak üzere toplam 12 tane azı dişi bulunmaktadır (242,243) (Resim 1).



Resim 1: Sıçanların maksillofasiyal yapısının yandan (a), alttan (b) ve üstten (c) görünümü

2.13.2. Sıçanlarda kemik ve kemik iyileşme metabolizması

Sıçanların alveoler kemikleri insanlardan daha yoğun ve daha az kemik iliği boşluğu içermektedir. Bir ortodontik kuvvet uygulanmasını takiben ortaya çıkan tepki insanlarda 30-40 saat civarı iken sıçanlarda 6 saat içerisinde gerçekleşmekte olup gerçekleşen temel mekanizmalar insanlarla benzerlik göstermektedir (244). Ayrıca kemik yapısı farklılıklarından dolayı sementoblast hücreleri osteoblast hücrelerine oranla daha hızlı reaksiyon göstererek daha hızlı remodelling gerçekleştirebilmektedir (245).

Misawa ve ark. (246) sıçanların yaşının alveol kemiğinin yapım-yıkım hızına olan etkisini karşılaştırmış, bu hızın fizyolojik şartlar altında 6 haftalık sıçanlar ile 30-40 haftalık sıçanlar arasında hızla düştüğünü ve sıçanların yaşı arttıkça hızın daha da azaldığını belirtmişlerdir.

Burstone ve Shafer (247) genç sıçanların midpalatal sutur alanlarının yaklaşık 20-60 µm kalınlığında olduğunu bildirmiştir. Li ve ark. (248), 5 haftalık dönemde sıçanlarda kırık iyileşmesinin tamamlandığını ve en hızlı kemik yapımının 3 haftada olduğunu belirtmiştir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

Bu çalışma Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. (Tarih: 30.11.2012 Karar No: 296)

Çalışmamızın deney kısmı Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde (YÜDETAM), histolojik inceleme ve değerlendirme kısmı Medipol Üniversitesi Histoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda olmak üzere 2 aşamada gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda YÜDETAM'dan temin edilen ortalama ağırlıkları $215,42 \pm 36,37$ gr olan 24 adet 10-12 haftalık erkek Spraque Dawley sıçanı kullanılmıştır (Tablo 2).

Tablo 2: Kullanılan Deney Hayvanıyla İlgili Bilgiler

Türü	Soyu	Cinsiyeti	Yaşı	Sayısı
Sıçan	Spraque Dawley	Erkek	10-12 hafta	24

Çalışmamızda kullanılan denekler veteriner hekim tarafından kontrolden geçirilerek genel sağlık durumlarının normal olduklarına dair onay alınmıştır. Deney hayvanları her kafeste ikişer sıçan bulunacak şekilde önceden numaralandırılmış kafeslere yerleştirilmiştir (Resim 2,3).



Resim 3: Her kafese ikişer tane yerleştirilen sıçanların numaralandırılması

Tablo 3: Kontrol ve deney gruplarının sıçan sayıları

YMA'lı HA Grubu Healon GV® OVD	DMA'lı HA Grubu AMO®Vitrax® OVD	Kontrol Grubu Serum Fizyolojik
8 Sıçan	8 Sıçan	8 Sıçan

3.1.1. Çalışmada kullanılan malzemeler

- Ketazol® (Richter Pharma AG, Wels, Avusturya)
- Rompun® (Bayer Health Care LLC., Kansas, ABD)
- Steril 0,85 ml'lik insülin enjektörü (2 cc) (Hayat A.Ş., Türkiye)
- 0,014-inçlik paslanmaz çelik tel (American Orthodontics, A.B.D.)
- 0,02 mm hassasiyetindeki standart kumpas (Max-Extra®)
- Ayna, sond, presel
- Bonding-Transbond (3M® Unitek®, Transbond XT Light Cure Adhesive)
- Komet elmas frez (Ref: 8392314016, Lemgo, Almanya)
- Kuvvet ölçer (Sundoo® SN 100)
- Ortodontik el aletleri (Weingard, ligatür kesici, portegü, end cutter, 139, distal kıvrımcı)
- AMO Vitrax II® (Lifecore Biomedical LLC, Chaska, MN, USA)
- Healon GV® (Pharmacia & Upjohn AB, İsveç)
- İotonik Serum Fizyolojik Çözeltisi (Eczacıbaşı- Baxter A.Ş., Türkiye)
- Doku örneği kapları (Fırat Plastik, Türkiye)
- Dekalsifiye edici solüsyon (Biodec R-Bio-Optica®)
- Etüv (Müve® EN 055)
- Mikrotom bıçakları (Feather-R35)
- Mikrotom cihazı (Thermo-Microm HM 340E)
- Parafin cihazı (Bio-Optica® DP-8)
- Işık mikroskobu (Eclipse Ni-E; Nikon®, Tokyo, Japan)

Takip edilen sıçanların deney protokolünden çıkarılma kriterleri:

- Vücut ağırlığının %15'inden fazla kilo kaybı
- Davranış bozukluğu
- Düzgün gıda ve su alamama
- Uyarılara belirgin derecede azalmış yanıt verme
- Veteriner hekimin uygun görmesi (İnsani nedenler)
- Aparey uygulanan dişlerin kırılması

3.2. Yöntem

Sıçanların ağırlık ölçümleri yapılarak %10'luk 60 mg/kg/ki (kas içi, im, intramuscular) dozunda Ketazol® (Richter Pharma AG, Wels, Avusturya) (1ml'de 100 mg ketamin klorür içerir) ve %2'lik 5 mg/kg/ki dozunda Rompun® (Bayer Health Care LLC., Kansas, ABD) (1ml'de 23,32 mg ksilazin içerir) ile anestezi altına alınmıştır.

Denekler anestezi altına alındıktan sonra hazırlanan düzeneğe yerleştirilerek üst keser dişlerinde komet elmas frez yardımı ile birer delik açılmış, uygulanacak 0,014-inçlik paslanmaz çelik telden hazırlanmış 0,5 N kuvvet uygulayan, heliksli genişletme apareyi kesici dişlere yerleştirilmiştir (Resim 4, 5, 6).



Resim 4: Deneklerin düzeneğe yerleştirilmesi ve dişlerinin frez ile delinmesi



Resim 5: Genişletme apareyinin dişlere yerleştirilmesi



Resim 6: Apareyin dişlere sabitlenmesi

5 gün boyunca yapılan genişletme süresince aparey aktive edilmemiştir. Genişletmeden önce ve sonra n dişlerinin arasındaki mesafe llmştir (Resim 7).



Resim 7: Dişlerin genişleme miktarının ölçülmesi

Genişletme sonrasında apacey çıkartılıp dişler arasındaki mesafenin köşeli tel ile retansiyonu sağlanmıştır (Resim 8). Beşinci günde deney gruplarına YMA'lı ve DMA'lı HA, kontrol grubuna ise SF (serum fizyolojik) enjeksiyonu yapılmıştır. Uygulama 0,85 ml'lik enjektörler yardımı ile midpalatal sutur içersine 0,05 ml'lik (50 µl) çözeltiler enjekte edilerek yapılmıştır (Resim 9,10).



Resim 8: Genişletme sonrası dişlerin köşeli tel ile sabitlenmesi



Resim 9: Her 3 gruba uygulanan solüsyonların 0,85 ml'lik enjektörleri



Resim 10: Genişletme sonrası midpalatal sutur alanına enjeksiyon uygulanması

Deney grubuna uygulanan YMA'lı Healon GV® OVD (Göz ile ilgili, akışkan, cerrahi cihazı), horoz ibiğinden üretilmiş bir HA türevi olup 5,0 MDa (Milyon Dalton) %1,4 NaHA (Sodyum hyaluronat) içeren 3,000,000 mpas (milipaskal-saniye) akışkanlıkta, yapışkan yapıda, enflamatuar özelliği olmayan, yüksek saflıkta, ateşe neden olmayan bir solüsyondur (Tablo 4) (Resim 11).

Her Healon GV® 1 ml'de; 14 mg sodyum hyaluronat 7000, 8,5 mg sodyum klorür, 0,28 mg disodyum hidrojen fosfat dihidrat, 0,04 mg sodyum dihidrojen fosfat dihidrat ve eser miktarda enjeksiyonluk su içerir.

Diğer gruba uygulanan DMA'lı Vitrax® II OVD, bakteri fermentasyonu ile üretilmiş, 645,000 Da MA'lı %3,0 NaHA içeren, 40,000 mpas akışkanlığa sahip, dağılan yapıda, ateşe neden olmayan bir solüsyondur (Tablo 3) (Resim 12).

Her Vitrax® II 1 ml'de; 30 mg sodyum hyaluronat, 5 mg sodyum klorür, 0,56 mg potasyum klorür, 0,36 mg kalsiyum klorür, 0,22 mg magnezyum klorür, 2,92 mg sodyum asetat, 1,28 mg sodyum sitrat, 0,42 mg çift bazlı sodyum fosfat, 0.06 mg tek bazlı sodyum fosfat eser miktarda enjeksiyonluk su içerir.

Deney gruplarında kullanılan çözeltilerin ana maddesi olan sodyum hyaluronat, hayvan ve insanlarda bağ dokusunun hücre dışı matriksinde geniş çapta dağılan fizyolojik bir madde olup, kimyasal olarak hayvan ve insan dokularında aynı yapıya sahiptir.

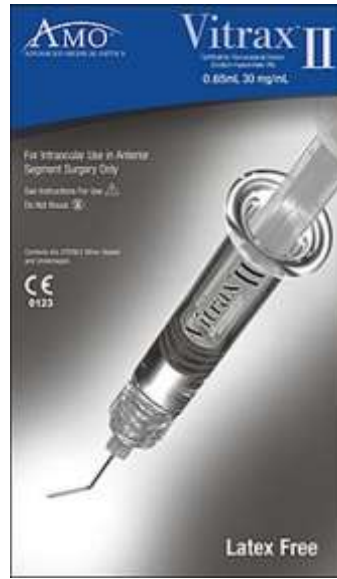
Kontrol grubuna izotonik sodyum klörür çözeltisi de denilen SF çözeltisi uygulanmıştır (Resim 13). Her SF 1 ml'de; %0,9'luk sodyum klorür içerir.

Tablo 4: Deney gruplarına uygulanan YMA'lı ve DMA'lı HA solüsyonları ve özellikleri

Ürün	Part No	Model No	Hacim*	Viskozite*	Moleküler Ağırlık	İçerik	Sınıflandırma
 Vitrax®II Yüksek koruma, Düşük ağırlıklı Dispersiv	VT265WA	N/A	0.65 mL	40,000 cps	645,000 daltons	3.0% NaHA	Dispersive
 Healon GV® Yayılgan Kohesiv	10294701 10294801	31955 31985	0.55 mL 0.85 mL	3,000,000 mPas	5.0 million daltons	1.4% NaHA Horoz İbizi Latex free	Cohesive



Resim 11: YMA'lı HA, Healon GV®



Resim 12: DMA'lı HA, AMO® Vitrax II



Resim 13: SF solüsyonu

Enjeksiyon sonrası on günlük retansiyon dönemi sonrasında sıçanlara yüksek doz anestezik solüsyon verildikten sonra sıçanlar sakrifiye edilmiştir. Deneklerin premaksillaları cerrahi makas kullanılarak çıkarılmış, apareyler dokulardan ayrılarak tüm yumuşak dokular diseke edilmiş olarak (Resim 14), +4°C'de %10'luk nötral formaldehit solüsyonu içeren kaplara yerleştirilmiştir.



Resim 14: Deneklerin diseksiyon sonrası maksiller görüntüsü

3.3. Örneklerin histolojik olarak incelenmesi

3.3.1. Kesitlerin hazırlanması

Gruplardan elde edilen premaksilla örnekleri parafin blok hazırlanmak üzere %10'luk nötral formaldehit içine alınarak örnekler bu çözültide 48 saat bekletilmiştir. Tespit edilen dokular dekalsifikasyon işlemi için dekalsifiye edici solüsyona (Biodec R-Bio-Optica®) alınmış, haftada bir kez olacak şekilde üç defa bu solüsyon değiştirilmiştir.

Yumuşayan dokular, keser dişlerin palatinal kısımlarından posteriora doğru 4 mm'lik alan hesaplanarak trimlenmiştir. Trimlenen dokular, midpalatal sutur alanında keser dişlerin kuronalinden apekslerine doğru (keser dişlerin uzun eksenine paralel olacak şekilde) 10 µm kalınlığında uzunlamasına seri kesitler alınmıştır (Resim 15).



Resim 15: Seri kesitlerin alındığı bölge ve kesitlerin yönü

3.3.1.1. Parafin blok hazırlama prosedürü

Trimlenmiş dokular ilk olarak 24 saat çeşme suyunda, daha sonra sırasıyla %70'lik alkolde bir saat, %90'lık alkolde iki saat, %96'lık alkolde bir saat, %100'lük alkolde bir saat, %100'lük alkolde yarım saat, ksilen'de bir saat, parafin I'de 60°C'de etüvde bir saat, parafin II de 60°C'de etüvde (Müve®-EN 055) iki saat bekletilmiştir (Resim 16).



Resim 16: Trimlenmiş dokuların bekletildiği etüv (Müve® EN-055)

Örnek dokular bloklama kaplarına gömülerek etiketlenmiş ve parafin cihazı (Bio-Optica® DP-8) (Resim 17 (a)) ile hazırlanan bloklar, sertleşmesi için buzdolabında bekletilmiştir.

Buzlukta yeterince sertleşen parafin bloklardan (Resim 17 (b)) mikrotom cihazı (Thermo-Microm HM® 340E) (Resim 18) ve mikrotom bıçakları (Feather®-R35) kullanılarak 10 µm kalınlığındaki seri kesitler alınmıştır (Resim 19). Bu kesitlere genel dokuyu değerlendirme için HE (hematoksilen-eozin) boyası uygulanmıştır (Resim 20).



Resim 17: Parafin cihazı (Bio-Optica® DP-8) (a) ve hazırlanan parafin blok örnekleri (b)



Resim 18: Seri kesitlerin alındığı mikrotom cihazı (Thermo-Microm HM® 340E)



Resim 19: Alınan kesit örnekleri

3.3.1.2. Hematoksilen-eozin ile boyama prosedürü

Hazırlanmış olan 10 µm kalınlığındaki parafin kesitler bir saat 60°C'de etüvde bekletildikten sonra sırasıyla ksilende 30 dk., %100'lük alkolde 10 sn., %96'lık alkolde 10 sn., %70'lik alkolde 10 sn. bekletilmiş ve sonrasında distile suda yıkanmıştır. Daha sonra hematoksilende 10 dk. bekletilen doku örnekleri akan suda yıkanmış ve tekrar akan suda 10 dk. bekletilerek mordanlama yapılmıştır (Resim 20 (a)).

Hematoksilen boyamasının tamamlanmasının ardından örnekler eozinde 5 dk. bekletilmiş ve distile suda yıkanmıştır. Örnekler sırasıyla %70'lik alkolde 10 sn., %96'lık alkolde 10 sn., %100'lük alkolde 10 sn., ksilende 10 dk. bekletilerek daha sonra entellan ile kapatılmıştır (Resim 20 (a,b)).



Resim 20: HE boyama kapları (a) ve boyanan kesitler (b)

3.3.2. Kesitlerin mikroskobik incelemesi

Her bir deneğe ait 50 kesit örneğinden ilk, orta ve sondaki kesitler seçilerek, 3 preparat değerlendirilmiştir. Her preparattan metrik oküler (10X10) kullanılarak 6 farklı alanda 40X büyütme ile sutur alanı sınırlarında osteoblast hücreleri, sutur alanı içinde kapiller hücreler sayılmıştır. Mikroskopik incelemeler foto mikroskobu (Eclipse Ni-E; Nikon®, Tokyo, Japan) ile yapılmıştır (Resim 21).

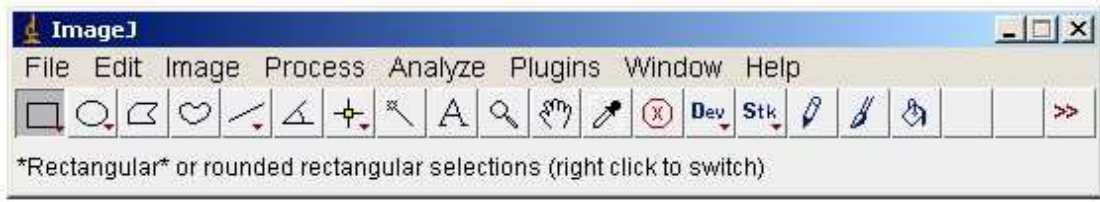


Resim 21: Mikroskopik incelemelerin yapıldığı foto mikroskobu (Eclipse Ni-E; Nikon®, Tokyo, Japan)

3.4. Örneklerin stereolojik olarak incelenmesi

Stereoloji, bir nesnenin 2 boyutlu mikroskobik görüntüleri üzerinde yapılan ölçümler ile nesnenin 3 boyutlu bilgilerine ulaşılması yöntemidir. Bu metod ile tekrarlanabilir, az miktarda değişkenlik gösteren ve gerçeğe yakın sonuçlar elde edilebilmektedir (249).

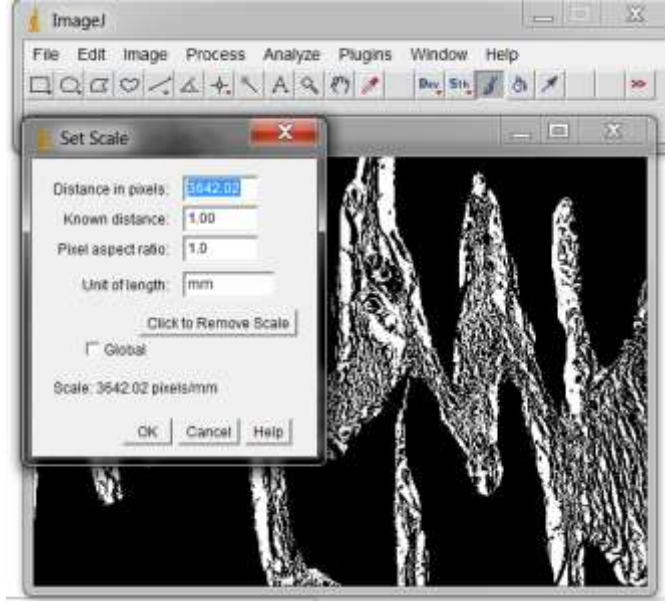
Elde edilen osteoblast ve kapiller hücre sayılarının, genişleyen midpalatal sutur alanlarındaki anlamlılığının değerlendirilmesi ve deneklerden alınan kesitlerin hacimlerinin alan cinsinden hesaplanması amacıyla, foto mikroskobu ile alınan tüm fotoğraflarda hücre sayımı yapılan ortak alanlar işaretlenmiş; her fotoğraf 6 eşit bölüme ayrılmış ve bu hacimlerin 2 boyutlu görüntülerde stereolojik olarak hesaplanması "Image J®" (US National Institutes of Health, Bethesda, MA, USA) (250) yazılım programı ile yapılmıştır (Resim 22).



Resim 22: "Image J®" görüntü inceleme programı genel görünümü

3.4.1. "Image J" yazılım programı ile örneklerin hacimlerinden alan hesaplaması

Foto mikroskobu (Eclipse Ni-E; Nikon®) ile alınmış tüm deney ve kontrol grubu fotoğrafları "Image J®" programına aktarılmıştır. Fotoğrafların pixel değerlerinin programa aktarılması için ölçüler mm olacak şekilde standardize edilmiştir (Resim 23).

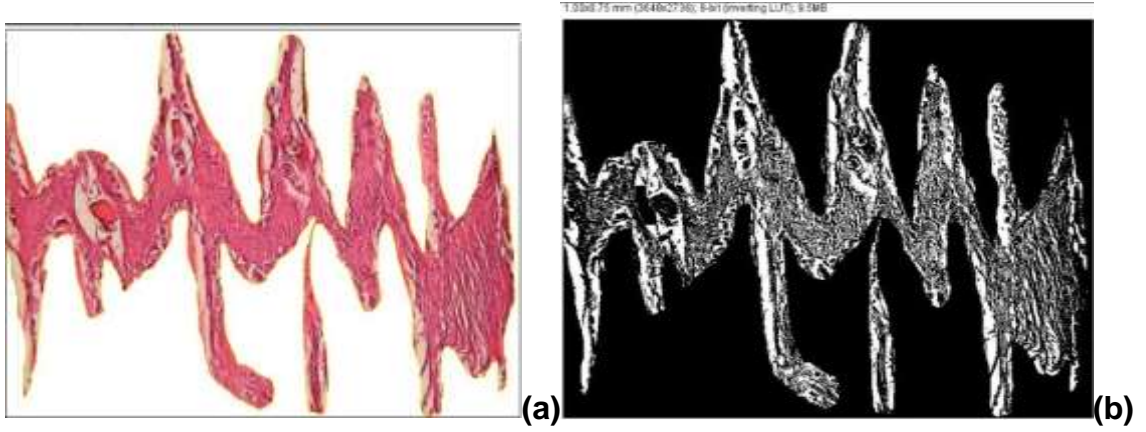


Resim 23: Tanımlanacak uzunluk için referans uzunluğunu ayarlama

Daha sonra tüm görüntülerdeki sutur alanları işaretlenerek, sutur alanı haricindeki görüntüler hesaplama alanından çıkarılmıştır (Resim 24, 25).

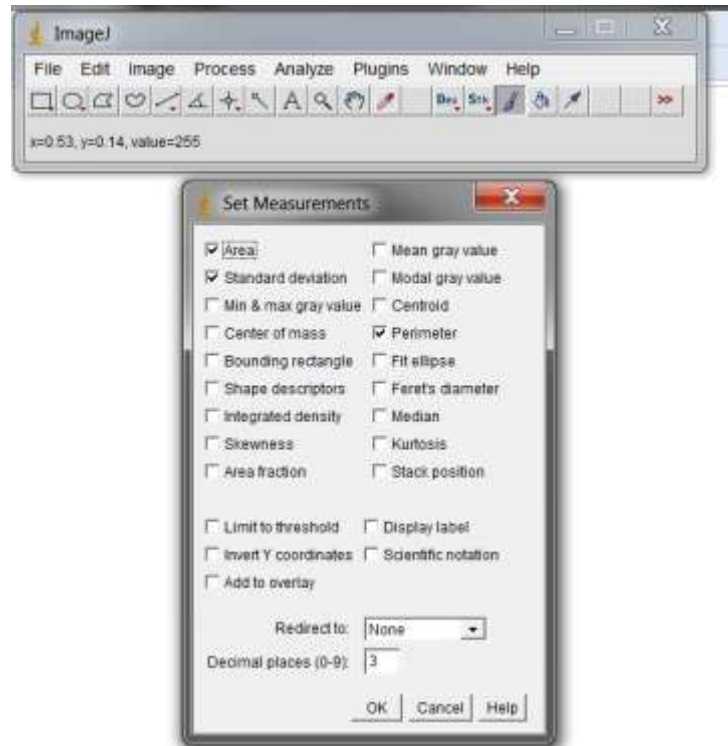


Resim 24: "Image J®" programında seçilmek istenen alanın belirlenmesi



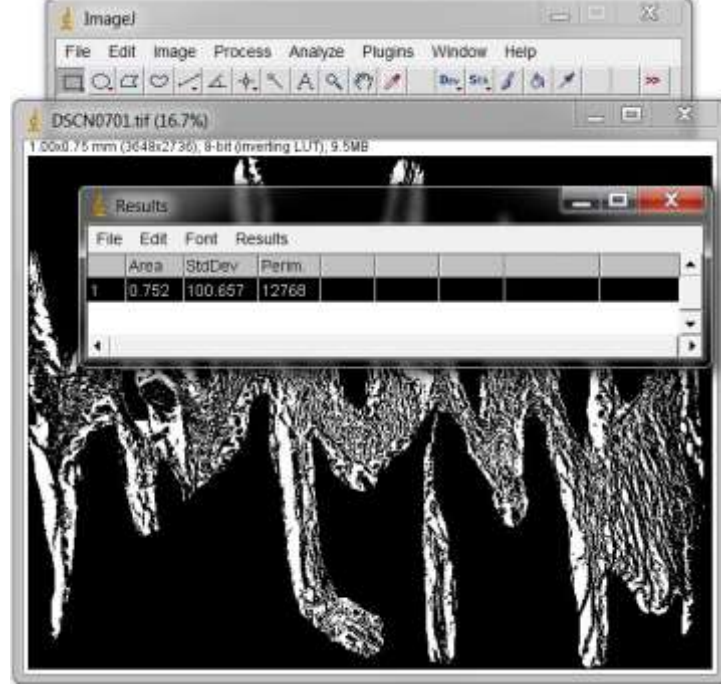
Resim 25: Ölçülmesi istenilen alanın görüntüsünün (a) diğer alanlardan ayrılması (b)

Gerekli ölçüm parametreleri Alan (Area) ve Çevre (Perimetre) olarak belirlenmiş, bu değerler programa kaydedilmiştir (Resim 26).



Resim 26: "Image J®" programında gerekli ölçüm parametrelerinin belirlenmesi

Ölçülen alanlarda belirlenen parametrelerin sonuçları program tarafından hesaplanmıştır (Resim 27).



Resim 27: “Image J®” programında belirlenen parametrelerin sonuçlarının alınması

“Image J®” programı ile ölçümleri yapılan alan ve çevre parametrelerinin sonuçları kaydedilmiştir.

Kesitlerdeki osteoblast ve kapiller hücre sayılarının ortalamaları hesaplanmıştır. Bu ortalamaların artışı ile midpalatal suturda meydana gelen alan ve çevre değerlerin artışının birbiri ile olan ilişkisinin değerlendirilmesi amacıyla istatistiksel analizler yapılmıştır.

3.5. İstatistiksel değerlendirme

Elde edilen değerlerin histolojik verilerinin istatistiksel analizleri SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) (Statistical Package For the Social Sciences) paket programının 21.0 sürümü kullanılarak yapılmıştır.

Zamana göre kilo değişimlerinin grup karşılaştırmaları "Kruskall Wallis" testi ile yapılmıştır.

Verilerin normal dağılıma uygunluğu "Kolmogorov-Smirnov" testi ile değerlendirilmiştir.

İkiden fazla grubun normal dağılıma uyan değişkenlerinin karşılaştırılmasında varyans analizi "ANOVA testi", ikili karşılaştırmaları için ise "Tukey testi" kullanılmıştır.

Değişkenlerin ortalamalarının zaman içerisindeki farkı tekrarlı lm "ANOVA" testi ile belirlenmiştir.

Açıklayıcı istatistikler sürekli değişkenler için ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Veriler $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Klinik bulgular

Yapılan klinik değerlendirme sonrasında sıçanların uygulanan midpalatal genişletme uygulamasını iyi tolere edebildikleri gözlenmiştir. Dişlerde delik açılması ve apareyin uygulanması sırasında sıçanların dişlerinin ince yapısından dolayı, dişlerin kırılma riskine rağmen, uygulanan heliksli genişletme apareyinin başarılı olduğu gözlemlendi.

Uygulamalardan sonra yapılan kontrollerde, doku iyileşmesinin hızlı ve sorunsuz olduğu gözlenmiştir. Düzenli olarak yapılan kilo kontrollerinde gruplar arası kilo değerlerinde anlamlı bir fark olmadığı ($p>0,05$), aparey uygulanmasını takiben kilo kaybı olduysa da, takip eden günlerde sıçanların kilo alımının düzenli seyrettiği ve beslenmelerinde herhangi bir sorunla karşılaşmadıkları belirlenmiştir ($p<0,05$) (Tablo 5) (Şekil 5).

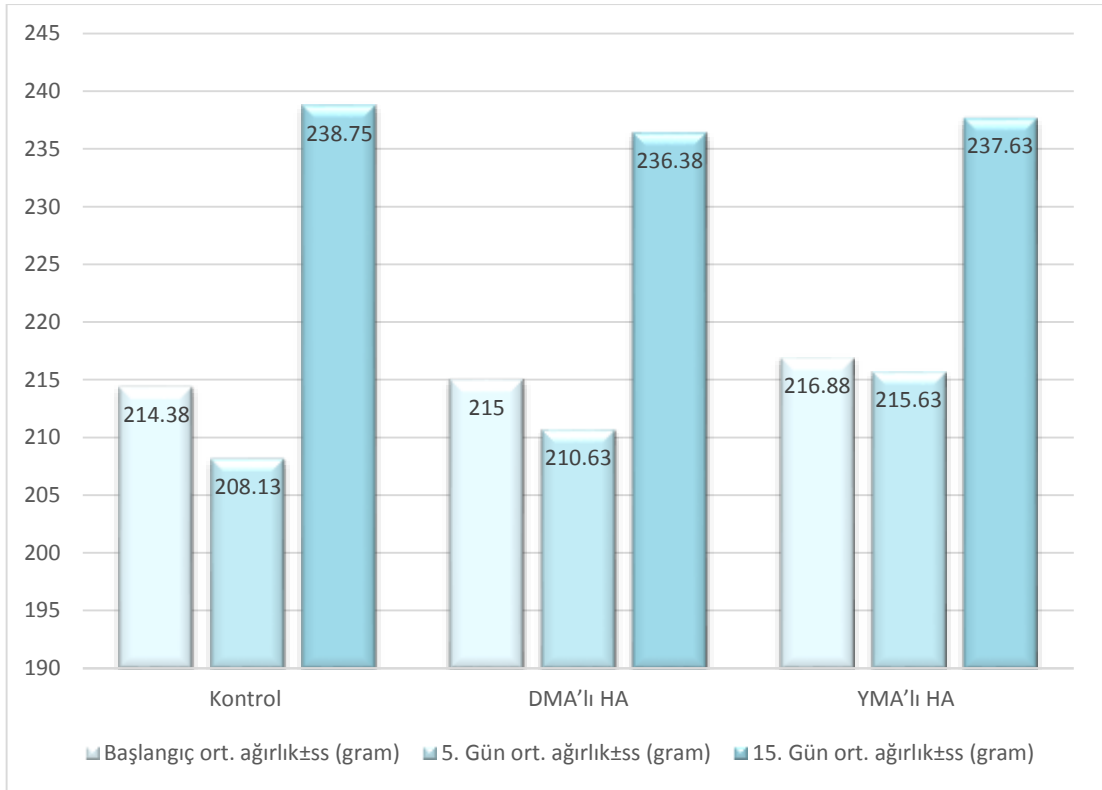
Uygulamalar esnasında 3 sıçanın dişi kırılmış, 1'i genel anestezi sırasında, 2'si midpalatal genişletme sonrası enjeksiyon uygulaması sırasında kaybedilmiştir. Herhangi bir enfeksiyon belirtisine rastlanmamıştır.

Dişleri kırılan ve kaybedilen sıçanlar çalışmaya dahil edilmemiştir. Her grupta 8'er olmak üzere 24 sıçanı tamamlamak için toplam 30 sıçan kullanılmıştır.

Tablo 5: Deney ve kontrol grubundaki sıçanların deney süresince ağırlık değişimleri

	Başlangıç ort. ağırlık±ss (gram)	5. Gün ort. ağırlık±ss (gram)	15. Gün ort. ağırlık±ss (gram)	p
Kontrol	214,38±43,21	208,13±41,91	238,75±29,36	0,001*
DMA'lı HA	215,00±27,38	210,63±30,05	236,38±27,99	0,007*
YMA'lı HA	216,88±38,53	215,63±34,48	237,63±33,79	0,003*
p	0,996	0,877	0,968	

p<0,05 (anlamlılık değeri), ort.±ss (ortalama±standart sapma)



Şekil 5: Sıçanların deney süresince ağırlık değişimlerinin şematik gösterimi

4.1.2. Ekspansiyon miktarı ve retansiyonun değerlendirilmesi

Aparey uygulanmasının 5. gününde dişler arasındaki genişleme mesafesi her grupta ölçülmüş, aparey çıkarılarak köşeli tel ile genişleme mesafesi sabitlenmiştir. Enjeksiyonun 10. gününde dişler ve aparey incelenmiş; genişleme miktarında herhangi bir nüks ve retansiyon apareyinde kayıp gözlenmemiştir.

4.2. Histomorfometrik bulgular

Midpalatal sutur alanındaki **osteoblast hücre sayılarının**; alan ve çevre değerleri içerisindeki oranlarının değerlendirildiği "ANOVA" testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görülmektedir ($p<0,05$) (Tablo 6).

Tablo 6: Alan ve çevre değerleri içinde bulunan osteoblast hücre sayıları arasındaki gruplar arası farkın değerlendirilmesi

		p
Alan	Kontrol, YMA ve DMA'lı HA grupları arası karşılaştırma	0,000*
Çevre	Kontrol, YMA ve DMA'lı HA grupları arası karşılaştırma	0,002*

$p<0,05$ (anlamlılık değeri)

YMA'lı HA grubunun alan değerleri içindeki osteoblast hücre sayıları kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksektir ($p= 0,001$) (Tablo 7, 8) (Şekil 6, 8).

YMA'lı HA grubunun alan değerleri içindeki osteoblast hücre sayıları DMA'lı HA grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksektir ($p= 0,002$) (Tablo 7, 8) (Şekil 6, 8).

DMA'lı HA grubunun alan değışkeni içerisindeki osteoblast hücre sayıları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p= 0,915$) (Tablo 7, 8) (Şekil 6, 8).

Tablo 7: Alan değerleri içindeki osteoblast hücre sayılarının gruplar arası farkının ikili karşılaştırması

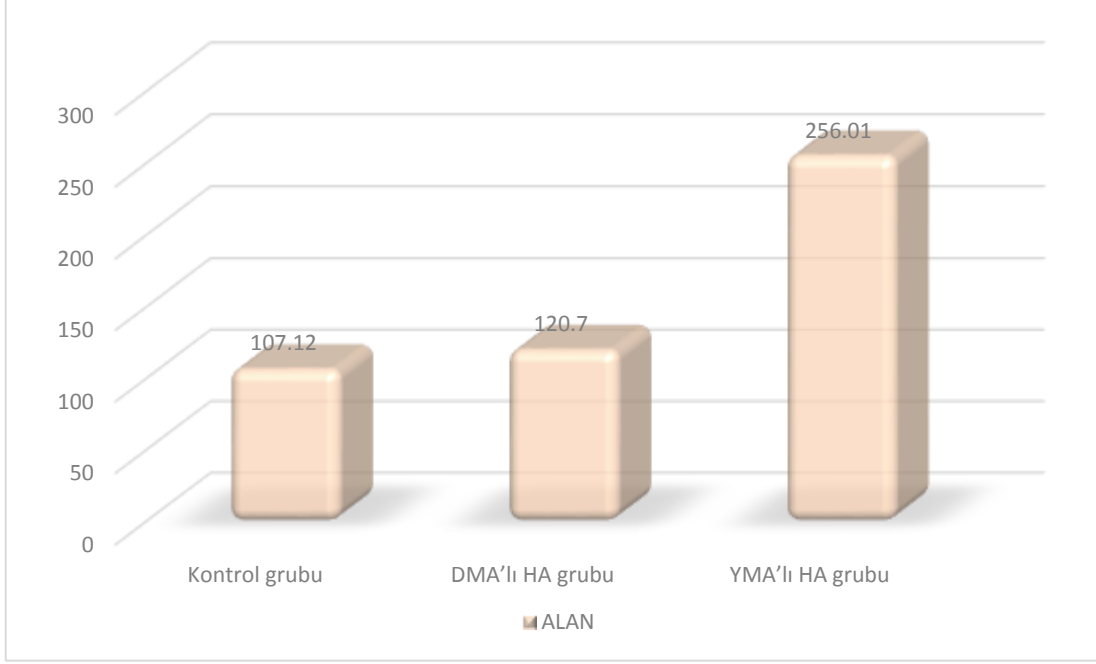
Grup Adı		ort.±ss	p
YMA'lı HA	Kontrol	148,89±33,67	0,001*
DMA'lı HA	Kontrol	13,58±33,67	0,915
YMA'lı HA	DMA'lı HA	135,30±33,67	0,002*

$p<0,05$ (anlamlılık değeri), ort.±ss (ortalama±standart sapma)

Tablo 8: Alan değerleri içindeki osteoblast hücre sayılarının ortalama ve standart sapmaları

Grup Adı	ort.±ss
Kontrol	107,12±33,39
DMA'lı HA	120,70±54,85
YMA'lı HA	256,01±97,38

ort.±ss (ortalama ±standart sapma)



Şekil 6: Alan değerleri içindeki **osteoblast** hücre sayılarının şematik gösterimi

YMA'lı HA grubunun çevre değişkeni içerisindeki osteoblast hücre sayıları kontrol grubunun osteoblast hücre sayılarından istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksektir ($p= 0,002$) (Tablo 9, 10) (Şekil 7, 8).

YMA'lı HA grubunun çevre değişkeni içerisindeki osteoblast hücre sayıları DMA'lı HA grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksektir ($p= 0,017$) (Tablo 9, 10) (Şekil 7, 8).

DMA'lı HA grubunun çevre değişkeni içerisindeki osteoblast hücre sayıları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p= 0,670$) (Tablo 9, 10) (Şekil 7, 8).

Tablo 9: Çevre değerleri içindeki osteoblast hücre sayılarının gruplar arası farkının ikili karşılaştırması

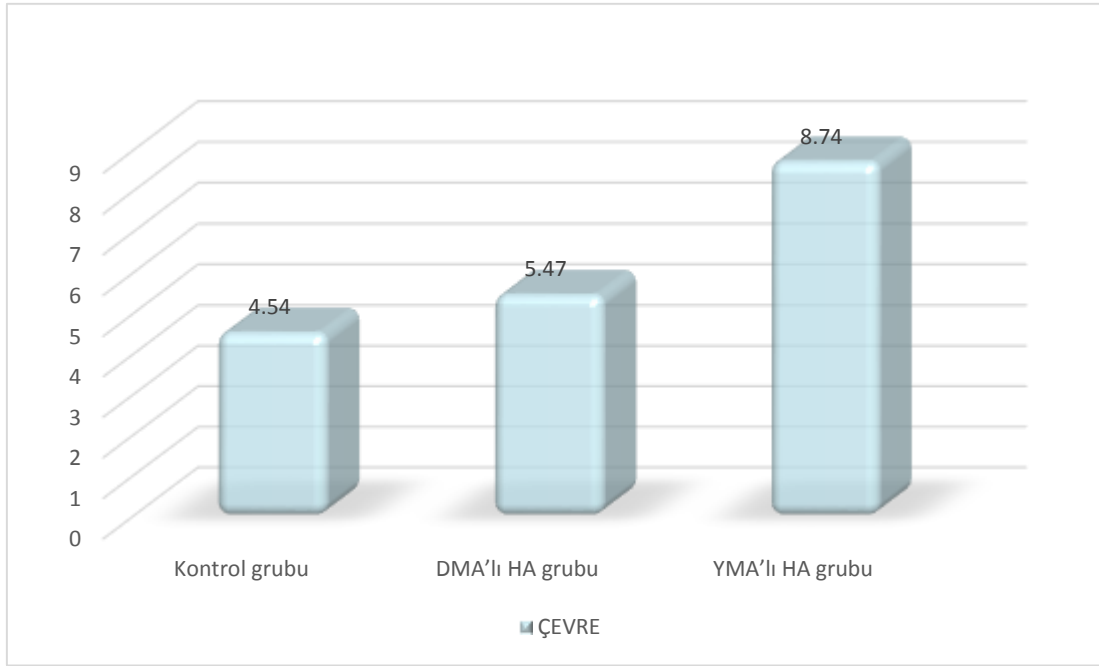
Grup Adı		ort.±ss	p
YMA'lı HA	Kontrol	4,20±1,08	0,002*
DMA'lı HA	Kontrol	0,93±1,08	0,670
YMA'lı HA	DMA'lı HA	3,26±1,08	0,017*

p<0,05 (anlamlılık değeri), ort.±ss (ortalama±standart sapma)

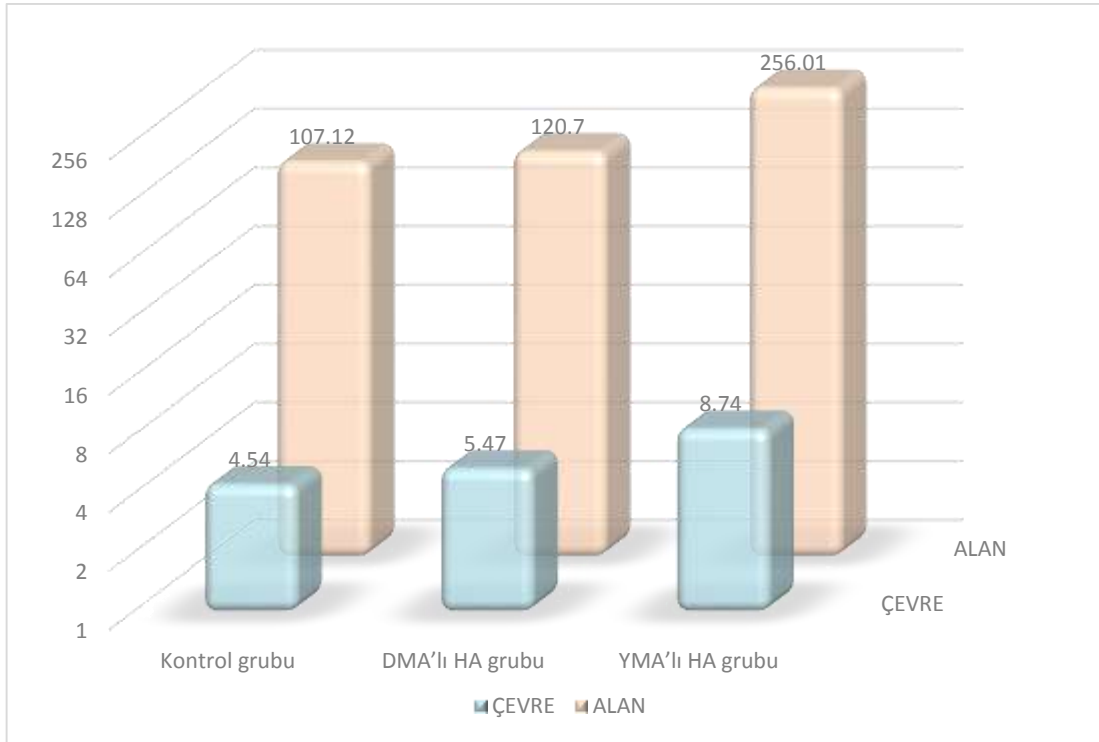
Tablo 10: Çevre değerleri içindeki osteoblast hücre sayılarının ortalama ve standart sapmaları

Grup Adı	ort.±ss
Kontrol	4,54±1,29
DMA'lı HA	5,47±1,84
YMA'lı HA	8,74±2,99

ort.±ss (ortalama ±standart sapma)



Şekil 7: Çevre değerleri içindeki osteoblast hücre sayılarının şematik gösterimi



Şekil 8: Alan ve çevre değerleri içindeki osteoblast hücre sayılarının şematik gösterimi

Midpalatal sutur alanındaki **kapiller hücre sayılarının**; alan ve çevre değerleri içerisindeki oranların değerlendirildiği “ANOVA” testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görülmektedir ($p<0,05$) (Tablo 11).

Tablo 11: Alan ve çevre değerleri içinde bulunan kapiller hücre sayıları arasındaki gruplar arası farkın değerlendirilmesi

		p
Alan	Kontrol, YMA ve DMA'lı HA grupları arası karşılaştırma	0,002*
Çevre	Kontrol, YMA ve DMA'lı HA grupları arası karşılaştırma	0,007*

$p<0,05$ (anlamlılık değeri)

Alan değerleri içerisindeki kapiller hücre sayıları değerlendirildiğinde, YMA'lı HA grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır. YMA'lı HA grubu kapiller hücre sayıları, kontrol grubuna göre daha yüksektir ($p=0,007$) (Tablo 12, 13) (Şekil 9, 11).

YMA'lı HA grubunun alan değerleri içerisindeki kapiller hücre sayıları DMA'lı HA grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksektir ($p=0,004$) (Tablo 12, 13) (Şekil 9, 11).

DMA'lı HA grubunun alan değişkeni içerisindeki kapiller hücre sayıları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p=0,958$) (Tablo 12, 13) (Şekil 9, 11).

Tablo 12: Alan değerleri içindeki kapiller hücre sayılarının gruplar arası farkının ikili karşılaştırması

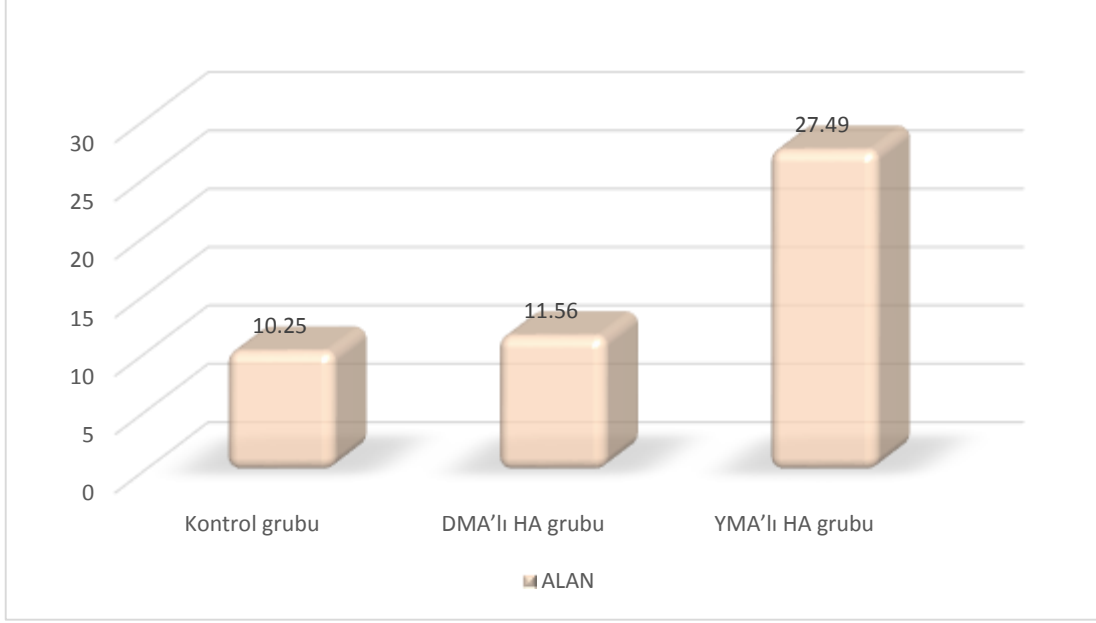
Grup Adı		ort.±ss	p
YMA'lı HA	Kontrol	15,92±4,68	0,007*
Kontrol	DMA'lı HA	1,31±4,68	0,958
YMA'lı HA	DMA'lı HA	17,24±4,68	0,004*

p<0,05 (anlamlılık değeri), ort.±ss (ortalama±standart sapma)

Tablo 13: Alan değerleri içindeki kapiller hücre sayılarının ortalama ve standart sapmaları

Grup Adı	ort.±ss
Kontrol	10,25±6,01
DMA'lı HA	11,56±5,39
YMA'lı HA	27,49±14,07

ort.±ss (ortalama±standart sapma)



Şekil 9: Alan değerleri içindeki **kapiller** hücre sayılarının şematik gösterimi

YMA'lı HA grubunun çevre değişkeni içerisindeki kapiller hücre sayıları kontrol grubunun kapiller hücre ayılarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksektir ($p= 0,019$) (Tablo 14, 15) (Şekil 10, 11).

YMA'lı HA grubunun çevre değişkeni içerisindeki kapiller hücre sayıları DMA'lı HA grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksektir ($p= 0,011$) (Tablo 14, 15) (Şekil 10, 11).

DMA'lı HA grubunun çevre değişkeni içerisindeki kapiller hücre sayıları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p= 0,965$) (Tablo 14, 15) (Şekil 10, 11).

Tablo 14: Çevre değerleri içindeki kapiller hücre sayılarının gruplar arası farkının ikili karşılaştırması

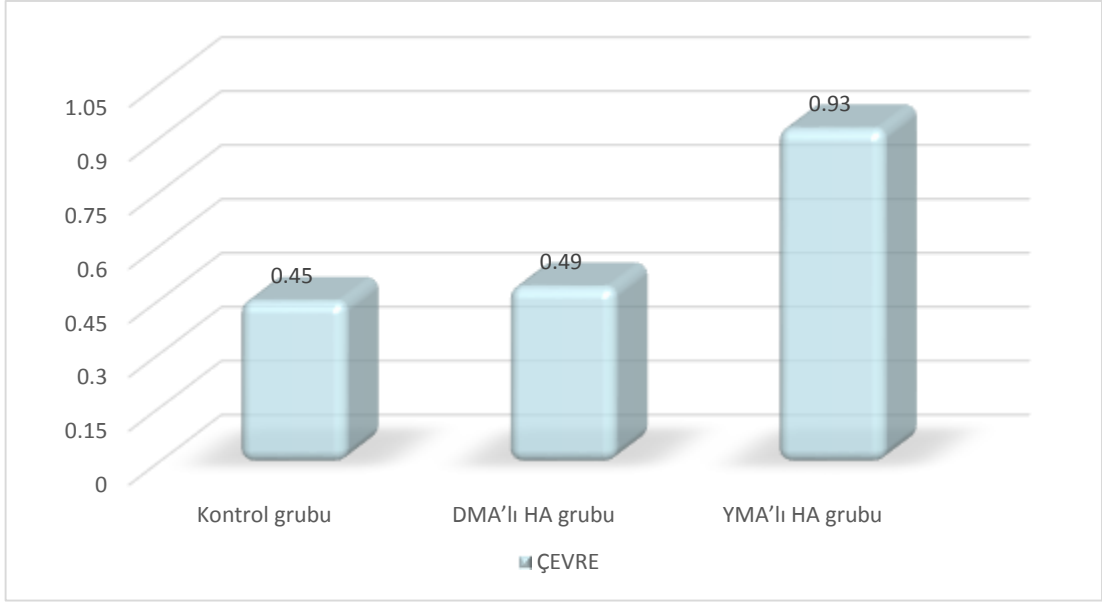
Grup Adı		ort.±ss	p
Kontrol	DMA'lı HA	0,03±0,14	0,965
YMA'lı HA	DMA'lı HA	0,47±0,14	0,011*
YMA'lı HA	Kontrol	0,44±0,14	0,019*

p<0,05 (anlamlılık değeri), ort.±ss (ortalama±standart sapma)

Tablo 15: Çevre değerleri içindeki kapiller hücre sayılarının ortalama ve standart sapmaları

Grup Adı	ort.±ss
Kontrol	0,45±0,20
DMA'lı HA	0,49±0,23
YMA'lı HA	0,93±0,40

ort.±ss (ortalama±standart sapma)



Şekil 10: Çevre değerleri içindeki **kapiller** hücre sayılarının şematik gösterimi



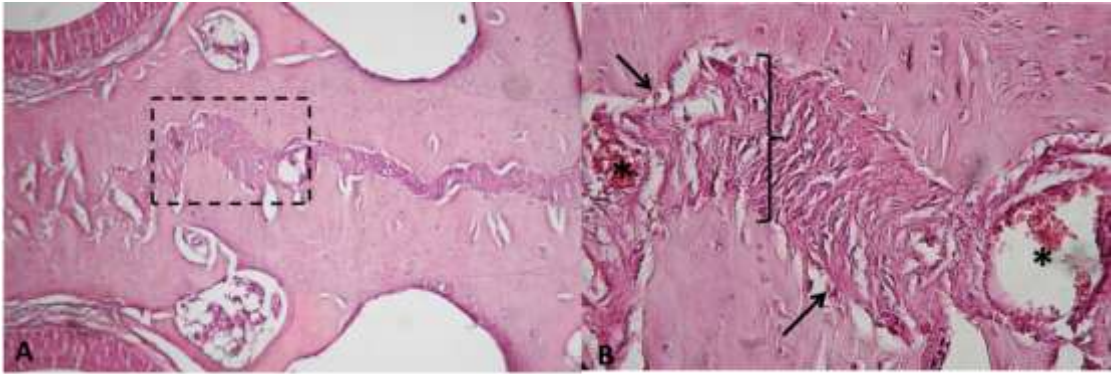
Şekil 11: Alan ve çevre değerleri içindeki **kapiller** hücre değerlerinin şematik gösterimi

4.3. Histopatolojik bulgular

HE boyaması ile değerlendirilen 10 µm kalınlığındaki kesitler, foto mikroskobu Nikon® Eclipse (Eclipse Ni-E; Nikon®, Tokyo, Japan) altında 10X, 20X, 40 X'lik büyütmelerde osteoblast hücreleri, kapiller hücre sayıları ve bağ doku oluşumu açısından tek kör olarak gerçekleştirilmiştir.

Kontrol grubuna ait kesitlerde (Şekil 12) sutur alanı olarak adlandırdığımız genişleme bölgelerinde düzenli olarak bağ dokusu oluşumu gözlemlendi.

Kontrol grubunda gerçekleşen osteoblastik aktivite, osteoblast sayımı ile değerlendirildi. İncelenen alanlarda kontrol grubunda bulunan osteoblast ve kapiller hücre sayıları kaydedildi. YMA'lı ve DMA'lı HA gruplarına oranla, daha az sayıda osteoblast hücresi izlendiği için osteoblastik aktivitenin en az bu grupta olduğu kabul edildi (Şekil 15, 16).

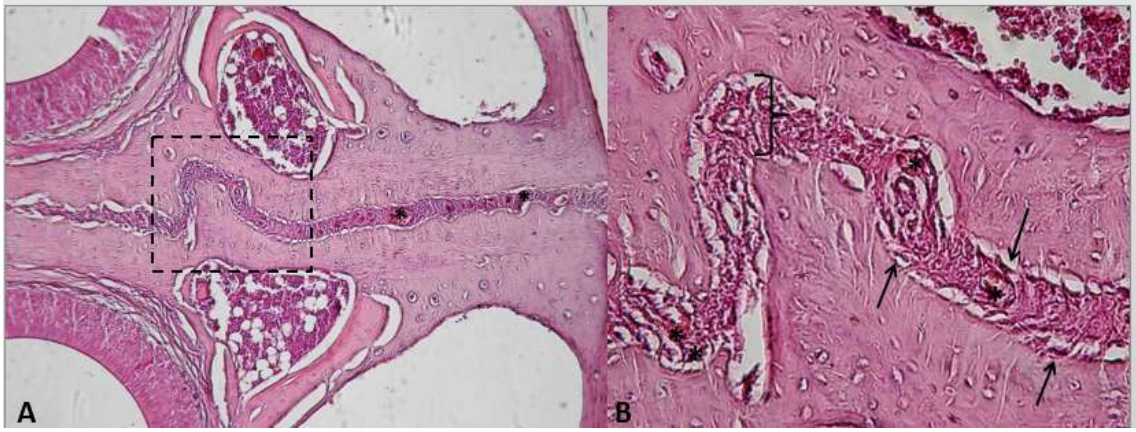


Şekil 12: Kontrol grubu, mikroskopik inceleme için histolojik kesitlerin HE boyaması. A, 10X büyütmedeki görüntüsü B, kutu içine alınmış alanın 40X büyütmedeki görüntüsü. } : sutur alanı, * : kapiller → : osteoblast

YMA'lı HA grubuna ait kesitlerde (Şekil 13) genişleme bölgelerinde kontrol grubuna benzer şekilde düzenli bağ dokusu oluşumu dikkat çekicidir. Kontrol grubu ve DMA'lı HA grubu ile kıyaslandığında daha yüksek sayıda ve sık

görülen osteoblast sayısı nedeniyle osteoblastik aktivitenin en fazla bu grupta olduğu kabul edilmiştir (Şekil 15).

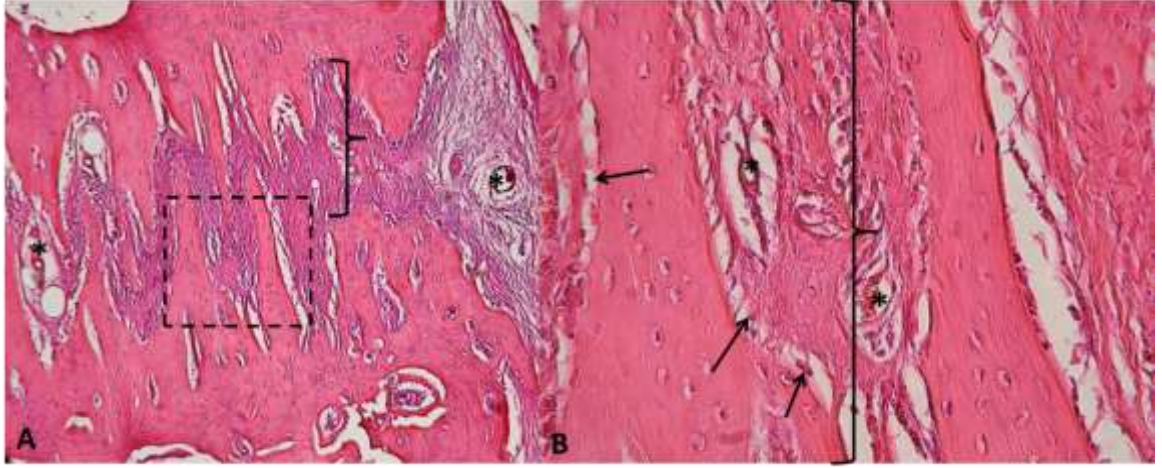
Kapiller sayısı açısından değerlendirildiğinde de en fazla kapiller hücre sayısı ve damarlanma yoğunluğu YMA'lı HA grubunda görülmüştür (Şekil 16).



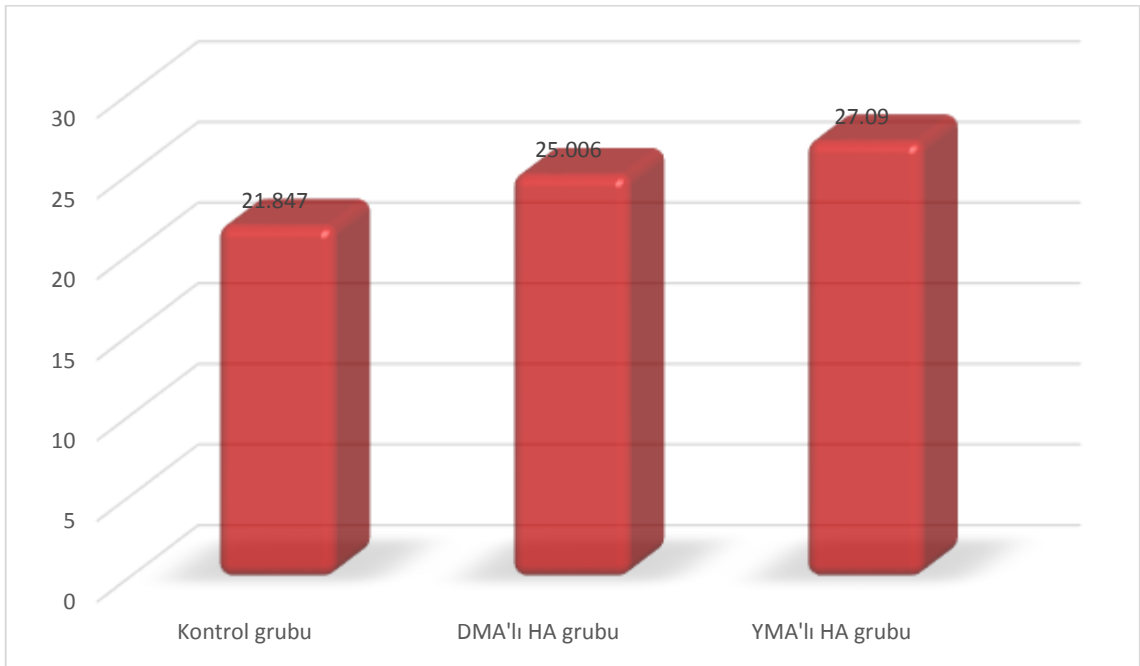
Şekil 13: YMA'lı HA grubu, mikroskopik inceleme için histolojik kesitlerin HE boyaması. A,10X büyütmedeki görüntüsü B, kutu içine alınmış alanın 40X büyütmedeki görüntüsü. } : sutur alanı, *: kapiller→: osteoblast.

DMA'lı HA grubuna ait kesitlerde ise (Şekil 14) sutur alanının oldukça düzensiz ve geniş olduğu ve fazla miktarda bağ dokusu oluşumu içerdiği gözlenmiştir. Osteoblast sayısı YMA'lı HA grubunda elde edilen değerlere yakın ve fakat daha az miktarda görülmüştür. Bu grupta da osteoblastik aktivitenin yüksek olduğu kabul edilmiştir (Şekil 15).

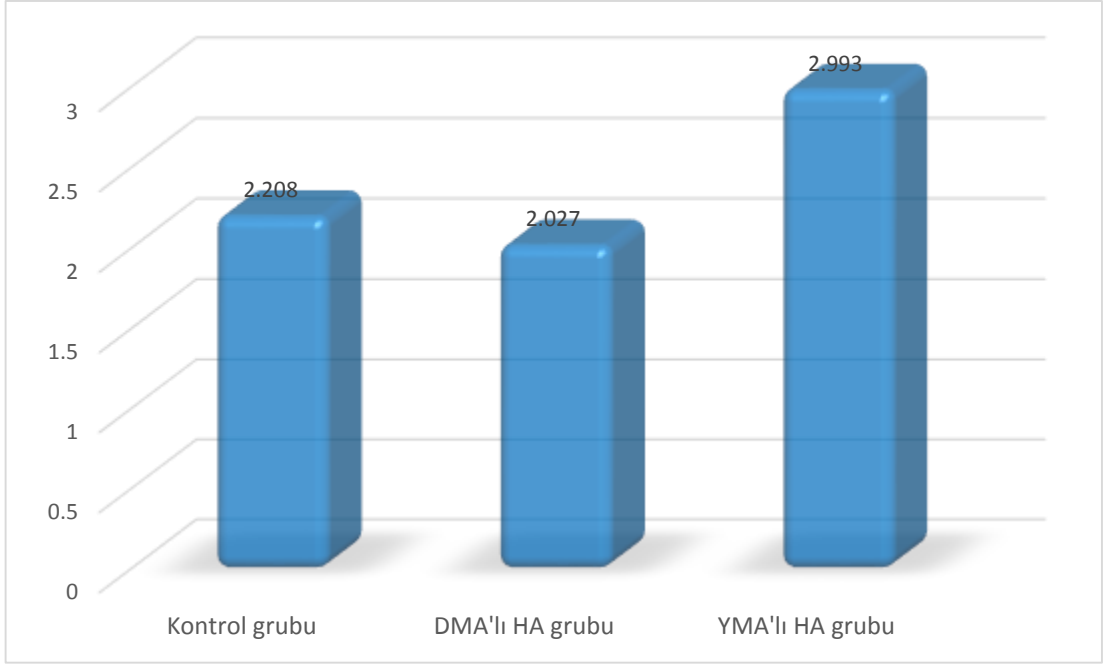
Kapiller sayısı değerlendirmesi sonucunda, en az sayı DMA'lı HA grubunda bulundu (Şekil 16).



Şekil 14: DMA'lı HA grubu, mikroskopik inceleme için histolojik kesitlerin HE boyaması. A, 10X büyütmedeki görüntüsü, B, kutu içine alınmış alanın 40X büyütmedeki görüntüsü. } : sutur alanı, *: kapiller → : osteoblast



Şekil 15: Kesitlerde sayılan osteoblast hücre sayılarının şematik gösterimi



Şekil 16: Kesitlerde sayılan kapiller hücre sayılarının şematik gösterimi

5. TARTIŞMA

5.1. Amacın, gereç ve yöntemin tartışılması

Çalışmamızda üst çene midpalatal sutur alanında genişletme sonrası kemik oluşum miktarının hızlandırılması amaçlanarak HDM'nin yapısal bileşenlerinden olan HA polisakkariti, yapışkan yapıdaki YMA'lı (Healon GV®) ve dağılgan yapıdaki DMA'lı (AMO® Vitrax II) HA bölgesel olarak uygulanmış, bunların etkileri histomorfometrik olarak incelenmiştir. Bu çalışma ile gelecekte, üst çenelerine genişletme uygulanan hastaların ortodontik tedavi sırasındaki pekiştirme sürelerini kısaltmak, tedavi sonrasındaki nüks riskini azaltmak ve hastalar tarafından kabul edilmesi kolay olmayan ve çeşitli dezavantajları olan pekiştirme apareylerine gerek duyulmayacağı bir süreç hedeflenmektedir.

Çalışmamızda sıçanların üst çenelerine hızlı üst çene genişletme yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntem insanlarda transversal yön anomalilerinin tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (8,15-18,29,42,50). Midpalatal sutur alanında hızlı genişletme uygulanmasını takiben, bu alanda çok sayıda bölgesel kırık ve kemik adacıklarının olduğu, kırık adacıklarındaki iyileşmenin üst çeneyi oluşturan segmentler arasındaki kemiğin birbiri ile kaynaşması ile sonuçlandığı bilinmektedir (19,54,66).

Çalışmamızda midpalatal sutur sahasındaki etkileri üzerine henüz çalışılmamış olan HA denenmiştir. İnsan ve hayvan çalışmalarında birçok farklı alanda kullanılmış olan HA, kemik yapımını hızlandırıcı etkisi ile bilinmektedir. HA, aktif hücre büyüme bölgelerine yerleşip, bölünebilen hücre reseptörlerine bağlanarak, hücre büyümesinde rol oynamaktadır (171). Ayrıca yara iyileşmesinde kollajen fibril oluşumunu arttırarak re-epitelizasyon sürecini hızlandırdığı da bilinmektedir (166,186,187). Kemik iyileşmesi sırasıyla enflamasyon, proliferasyon, migrasyon, süngerimsi kemiğin yapımı ve remodeling aşamalarından oluşmaktadır (155). Tüm bu aşamalarda gerçekleşen

hücre sinyali, yara oluşumu, morfogenez ve matriks organizasyonu sırasında HA, hücresel ve HDM faaliyetlerinde çok işlevsel roller üstlenmiştir (164-166,179,180,184,185,205). HA, enflamasyon aşamasında yara bölgesine hücre göçünü başlatan büyüme faktörleri, osteoblast hücreleri, sitokinler, keratinositler gibi etkenler, iltihabi hücreler, fibroblast ve endotelial hücrelerin bu alana taşınmasını sağlar (203,204). Enflamasyonun başlaması ile HA miktarı bu alanda ciddi bir artış gösterir. Bu artış dokularda tamir sürecinin başlatılması, HDM hücrelerinin bu alana göç etmesi, HA'nın fibrin pıhtı ilişkisini oluşturarak geçici bir yapısal iskelet kurulması amacıyla gerçekleşmektedir (172,173,204). Bu bilgilerin ışığında, midpalatal sutur alanında da HA'nın kemik oluşumunu hızlandırabileceği ve bu şekilde iskeletsel retansiyon süresinin azaltılabileceği hipotezi oluşturulmuştur.

Çalışmamızda YMA'lı ve DMA'lı HA'nın kemik oluşumu üzerine olan etkileri karşılaştırılmıştır. Farklı MA'ya sahip olan HA'nın 1×10^5 ile 10^7 Da arasında değişen değerleri olduğu bildirilmektedir (139,165,176,177). Kemik ve kıkırdak doku üzerinde YMA'lı ve DMA'lı HA'nın etkilerinin karşılaştırıldığı çalışmalar (140-149) ve sistematik derlemeler (150,151) bulunmaktadır. Çalışmamızdan farklı olarak YMA'nın kemik ve kıkırdak doku üzerindeki etkilerinin tek başına değerlendirildiği çalışmalar olduğu gibi (139,152-160), DMA'lı HA'nın tek başına değerlendirildiği çalışmalar da (161,163) bulunmaktadır. Bu tedavi alternatiflerinde YMA'lı ve DMA'lı HA'nın etkinlikleri incelenmiş olmasına rağmen, MA, vizközite, yoğunluk kavramları hala çok net değildir. YMA'lı ve DMA'lı HA genellikle eklem alanlarındaki etkileri açısından incelenmiş, fakat kemik iyileşmesi üzerine henüz yeterli sayıda çalışmada incelenmemiştir. Bu eksikliği giderebilmek amacıyla, midpalatal sutur alanındaki genişletmeyi takiben, iki farklı MA'lı HA maddesinin uygulanması ve bunların kemik doku üzerindeki etkilerinin incelenmesi planlanmıştır.

Çalışmamızı standardize etmek amacıyla, solüsyonların 0,85 ml'lik enjektörlerinde eşit aralıklar hesaplanmış ve tüm gruplara 0,05 ml'lik (50 µl) enjeksiyonlar uygulanmıştır. Tüm dokularının HDM'lerinin ana maddesi olan HA'nın bilinen hiç bir yan etkisi bulunmamaktadır (166,168,169). Çalışmalarda uygulanan HA preparatlarının fizikokimyasal yapı farklılıkları, HA uygulanan alanların değişkenlikleri, *in-vitro* ve *in-vivo* olarak denenmiş olmaları, uygulandıkları süre ve dozaj bakımından bir homojenlik bulunmamaktadır (150,151). İnsanların kan serumunda bulunan HA seviyesi 10-100 µl/L arasında değişmektedir. %1'lik konsantrasyondaki HA'nın katarakt cerrahisinde uygulanması tavsiye edilen aralık 1 ml ile 4 ml arasında değişirken, OA intraartiküler enjeksiyon tedavilerinde 20 mg civarında olmaktadır. *Timpanik* zar perforasyonlarının kapatılması işlemlerinde ise bu oran 0,1 - 0,3 ml arasında değişmektedir (169).

Çalışmamızda en küçük hayvan modellerinden biri olan sıçanlar tercih edilmiştir. Suturlara uygulanan genişletme için yapılan hayvan çalışmalarda maymun (56,215), kedi (216), tavşan (156,217,218), domuz (219), fare (220), ve sıçan (18,19,66,221-237) kullanılmıştır. Sıçanlar kolay üretilirlikleri, kolay barındırılmaları ve beslenmelerinin kolaylığı, masraflarının az olması, histolojik hazırlık süreçlerinin diğer hayvanlara oranla daha kolay olmasından dolayı sıklıkla tercih edilmektedir. Stres altındaki sutur ve kemik değişikliklerinin histolojisi, en iyi tavşan ve sıçanlarda görülmektedir (238).

Çalışmamızda anatomik olarak klinik pratiğimize en yakın alan olan, midpalatal sutur alanı tercih edilmiştir. Sıçanlarda yapılmış olan sutural genişletme çalışmalarında farklı alanlar tercih edilmiştir. Çalışmamızla benzer şekilde midpalatal sutur alanında (18,19,66,222,226-232) ve farklı olarak interparietal suturda (223-225) yapılmış çalışmalar mevcuttur.

Sutur alanındaki genişletme hızının sıçanların yaşlarına ve metabolizma hızlarına bağlı olarak farklılık göstermemesi için, çalışmamızda bütün sıçanlar 10-12 haftalık ve benzer ağırlıklarda tercih edilmiştir. Misawa ve

ark. (246), yaptıkları çalışmada sıçanlarının yaşının alveol kemiğinin yapım-yıkım hızına olan etkisini karşılaştırmış, bu hızın fizyolojik şartlar altında 6 haftalık sıçanlar ile 30-40 haftalık sıçanlar arasında hızla düştüğünü ve sıçanların yaşı arttıkça kemiğin yapım-yıkım hızının daha da azaldığını belirtmişlerdir. Andreollo ve ark. (240) yapmış oldukları çalışma ile bir sıçan yaşam gününün 30 insan gününe denk geldiğini, diğer araştırmacılar da benzer şekilde, 180-200 gram ağırlığındaki erkek bir sıçanın insanda erkek bireylerde 14 yaş civarında, büyüme gelişimini tamamlamamış döneme denk geldiğini bildirmişlerdir (18,19,221,222).

Çalışmamızda erkek sıçanların tercih edilme sebebi östrus döngüsü ile ilgili olacak değişikliklerin ortadan kaldırılmasıdır. Aynı şekilde genetik farklılıklardan kaynaklanabilecek değişikliklerin engellenmesi amacıyla tüm hayvanlar aynı cinsten tercih edilmiştir.

Çalışmamızda 50 gr kuvvet uygulayan 0,014 inch kalınlığında tek heliksli paslanmaz çelik tel kullanılarak 5 gün süreyle genişletme uygulanmıştır. Burstone ve Shafer (247), genç sıçanların midpalatal sutur alanlarının yaklaşık 20-60 µm kalınlığında olduğunu ve sıçanlarda 5 gün süren üst çene genişletmesinin, sutur alanında ortalama 377 ± 104 µm civarında olabileceğini belirtmiştir. Yapılan literatür araştırmaları sonucunda Uysal ve ark.'ın çalışmalarındaki (226-230) tekniklerden faydalanılmıştır. Bu çalışmalardan farklı olarak, sıçanların elleriyle müdahale etmelerini önlemek ve genişletme apareyinin sutur alanına daha yakın olması amacıyla, aparey üst keser dişlerin palatinal mukoza taraflarına yerleştirilmiştir. Bu şekilde yapılmış çalışmalarda (19,231,236) midpalatal sutur alanında genişletme uygulanmasını takiben farklı madde enjeksiyonlarının etkileri incelenmiştir. Çalışmamıza benzer şekilde Uysal ve ark. (226-230,231), 30-50 gr kuvvet uygulayan 0,014 inch kalınlığında tek heliksli paslanmaz çelik tel ile 5 gün boyunca genişletme uygulamışlardır. Uygulanan genişletme metodları arasında farklı teknikler mevcuttur (221,222,224,227,233). Farklı uygulama tekniklerinin ortak etki mekanizmaları ortopedik etki yaratarak basınç altında suturun ayrılması ilkesine dayanmaktadır.

Çalışmamızda uyguladığımız genişletme sürecinin başladığı ilk günden itibaren toplam 15 gün süren aktivasyon ve retansiyon fazı ile ilgili araştırmacıların yaptıkları incelemelerde, sıçanlarda 14 günlük kemik iyileşme dönemi hücrelerin farklılaşması ve proliferasyonu için yeterli görülmektedir (226-230,237). Sıçanların alveoler kemikleri insanlardan daha yoğun ve daha az kemik iliği boşluğu içermektedir. Bir ortodontik kuvvet uygulanmasını takiben ortaya çıkan tepki insanlarda 30-40 saat civarı iken sıçanlarda 6 saat içerisinde gerçekleşmekte olup gerçekleşen temel mekanizmalar insanlarla benzerlik göstermektedir (244). Ayrıca sıçanların kemik yapı farklılıklarından dolayı sementoblast hücreleri osteoblast hücrelerine oranla daha hızlı reaksiyon göstererek remodelling'i daha hızlı gerçekleştirebilmektedir (245). Li ve ark. (248), 5 haftalık dönemde sıçanlarda kırık iyileşmesinin tamamlandığı ve en hızlı kemik yapımının 3 haftada olduğu belirtmiştir.

Çalışmamızda elde edilen sutural genişletmeyi kaybetmemek için sıçanların dişlerine takılan aktif heliksli aygıt çıkarılmış ve yerine takılan pasif retansiyon teli 10 gün boyunca dişlerde bırakılmıştır. Ortodontik tedavi sonrası nüksün engellenebilmesi amacıyla retansiyon aygıtlarından yararlanılmaktadır. Midpalatal sutur alanında genişletmeyi takiben sert dokuların yeniden yapılanmasının başlamakta olduğu bildirilmiştir (43,56,66,68). Bu süreçte sutural bağ doku elemanları sutur rejenerasyonunu sağlamak amacıyla proliferere olsalar da, retansiyon uygulanmazsa genişlemiş yapıları tekrar daraltıcı kuvvetler tam olarak dağılmadan stabil bir yapı elde edilememektedir (16,71,80,81) ve geri dönüş Timms (5)'e göre %90, Hicks (80)'e göre %45 oranında olabilir. Hou ve ark. (66) sıçanlar üzerinde farklı günlerde yapmış oldukları hızlı üst çene genişletmesi sonuçlarını ve sutur alanındaki değişimleri mikro BT ile ve histolojik olarak değerlendirmişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre sutur alanının ağız mukozasına bakan tarafın burun mukozasına bakan tarafa göre daha çok açıldığını, 28. günden itibaren ağız mukozasına bakan tarafta nüks görülmeye başladığını belirtmişlerdir.

Çalışmamızda elde edilen kesitler histomorfometrik olarak "Image J®" (250) programı ile değerlendirilmiştir. Image analiz programı sayesinde çalışmamızın histolojik verilerinin alan ve çevre değerleri objektif olarak ölçülmüş ve sonuçlar değerlendirilmiştir. Hücresel düzeyde meydana gelen değişikliklerin kantitatif incelenmesinde histomorfometri sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (218,226-230).

5.2. Bulguların tartışılması

Çalışmamızda sıçanlara hızlı üst çene genişletmesini takiben uygulanan YMA'lı ve DMA'lı HA'nın midpalatal sutur alanındaki kemik oluşumuna etkilerinin sonuçlarına göre, YMA'lı HA uygulanan gruplarda yeni kemik oluşumunu artmış, genişlemiş midpalatal sutur alanı ve çevre değerleri içerisinde DMA'lı HA ve kontrol gruplarına oranla yüksek osteoblast ve kapiller hücre değerleri gözlenmiştir. DMA'lı HA grupları ile kontrol grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Midpalatal sutur alanında genişletme uygulanması ile oluşturulan yara bölgesinde dışardan uyguladığımız HA'nın etkileri ve gerekliliği ile ilgili çalışmamızla paralel şekilde, HA'nın hastalıklı dokulardaki yoğunluk, MA ve viskozitesinin düştüğünü belirten Iwata ve ark. (147), YMA'lı HA'nın moleküler yapısı yoğun bir şekilde polimerize iken biyolojik işlevinin en yüksek seviyede olduğunu, DMA'lı HA oligomerlerinin dokularda damarlanmayı artırıcı etkisi dışında önemli olmadığını ve DMA'lı HA'nın sentez sürecinde üretiminin veya sekresyon sonrasında yıkımının açık olmadığını belirtmişlerdir. Sinovyal analizlerden yola çıkarak, dokularda DMA'lı HA veya hyaluronidaz enziminin bulunmamasının HA'nın sentez sürecinde üretildiğini düşündürmekte olduğunu bildirmişlerdir. Aynı şekilde Gerdin ve ark. (205) yaralanmayı takiben dokulardaki HA miktarının artış gösterdiğini ve sonraki birkaç gün içerisinde yara bölgesindeki bölgesel HA yoğunluğunun azaldığını bildirmiştir.

Bulgularımızla benzer şekilde *in-vitro* çalışmalar (152,157-159), YMA'lı HA'nın yara oluşumunda tıkaç oluşturarak izole proteoglikanların kümeleşmesini sağladığını, sülfatlı GAG sentezini, kültür ortamında dışarıdan uygulanan HA'nın dokudaki HA oluşumunu arttırdığını ve fibroblastları uyardığını, aktif makrofaj ve lökositin dokulara taşınmasını, IgG ve nötrofiller tarafından yapılan fagositoz ile enzim salınımını önlediğini göstermiştir. *In-vitro* ortamda yapılmış başka çalışmalarda mezenkimal progenitör hücrelerin HA'nın oluşturduğu iskelet yapıya yapışarak hücre proliferasyonuna uğradığını belirtilmiştir (208,209).

Uyguladığımız HA'nın osteoblastik faaliyeti artırıcı etkisinin MA'ya bağlı olabileceğini desteklemekte olan Huang ve ark. (207), osteoblast hücrelerini tetikleyici etkiye sahip olan HA'nın MA ve uygulanan doza bağlı olarak kemik greftlerinin direk kemik yapıcı ve dolaylı olarak kemik yapımını tetikleyici özelliklerini geliştirebileceğini belirtmişlerdir. Liguori ve ark. (210) HA'nın yara iyileşmesi sürecinde fibrin oluşumunu artırarak nötrofil ve makrofaj hücrelerinin fagositik faaliyetlerini aktive ettiğini, kemotaktik faktör salınımını arttırdığını, granülasyon aşamasında kollajen liflerin artmasını sağladığı bildirilmiştir.

Bulgularımızla ve farklı MA türevlerinin incelenmesi yönüyle çalışmamızla benzer şekilde, diz OA'sında farklı MA'lı HA'ların etkinliğinin incelendiği Avrupa Romatizma ile Mücadele Birliği'nin (EULAR) önerilerini hazırlayan ESCISIT 2003 yılı raporuna göre, YMA'lı olanların tercih edilmesi gerektiği belirtilmiştir (144). Smith ve ark. (145), 75.000- 4,7 MDa arasında değişen MA'lı HA moleküllerini *in-vitro* olarak incelemiş ve hücre kültürüne dışarıdan uygulanan YMA'lı HA eklenmesinin, doku içerisindeki HA sentezini arttırdığını tespit etmişlerdir. Tammi ve ark. (139), HA'nın YMA'lı yapısı sayesinde makromoleküller için filtre görevi gördüğünü ve hücre yüzey proteinleri ile diğer matris proteinlerine bağlanabilmekte olduğunu belirtmiştir.

Çalışmamızın sonuçlarına ve farklı MA'lardaki HA'ların etkilerinin incelenmesine paralel olarak, Lo ve ark.'ın (150) derlemesinde, 7 farklı MA'lı HA

preparatının OA üzerindeki etkileri incelenmiştir. Buna göre YMA'lı HA preparatlarının DMA'lı HA preparatlarına göre daha etkili olduğu, fakat çalışmalar arasındaki heterojen dağılımdan dolayı sonuçları yorumlamanın zor olduğunu bildirmişlerdir. Wobig ve ark. (211) tarafından HA'nın YMA'lı ve DMA'lı türevlerinin etkinliklerinin ve elaskovizköz etkilerinin incelendiği bu çalışmada, OA hastalarının eklem bölgelerine bölgesel olarak uygulanmış YMA'lı türevin (Hylan® G-F 20) DMA'lı HA'ya göre elaskovizközitesinin daha fazla olduğu, eklem ağrısını hafifletmesi yönünden de daha etkili olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızla benzer şekilde kemik dokular üzerinde YMA'lı HA'nın etkisini inceleyen Mendes ve ark. (154), sıçanların azı dişlerini çekerek, çekim boşluklarından birisini 0,1 ml %1'lik YMA'lı HA jel ile aynı sıçanın diğer çekim boşluğunu ise kan pıhtısı ile doldurularak 2, 7 ve 21. günlerdeki değişimleri histomorfometrik olarak incelemişlerdir. 7. gün sonunda YMA'lı HA grubunda oluşan yeni kemik, kemik trabekülleri ve kan damarları yoğunluğu kontrol gruplarına göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Çalışmamızla paralel şekilde kemik dokuya enjekte edilen YMA'lı HA grubunda osteoblastik aktivite ve kapiller hücre sayısı yüksek miktarda görülmüştür.

Çalışmamızda kullandığımız YMA'lı HA'nın kemik dokudaki etkileri ile benzer, fakat takip süreleri ve tavşan kemiklerine uygulanması açısından farklı şekilde, Aslan ve ark. (156) tavşan tibiasında oluşturdukları kemik boşluklarına bölgesel olarak bir gruba YMA'lı HA (Healon®, Pharmacia & Upjohn, Sweden), diğer gruba kemik grefti ile karıştırılmış HA uygulamış, bunların etkilerini 20, 30 ve 40. günlerde incelemişlerdir. Çalışmalarının sonuçlarına göre HA ile birlikte kemik grefti uygulanan gruplarda 30. ve 40. günlerde, yalnız HA uygulanan gruba göre daha yüksek kemik değerleri elde etmişlerdir. Her 2 deney grubunda, kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek kemik değerleri elde etmişlerdir. HA ve kemik greftleri kemik yapımını hızlandırıcı etkileri ile bilinen maddelerdir. Takip süreleri ve tavşanlarda denenmesi açısından çalışmamızla farklılıklar olsa da YMA'lı HA kemik oluşumunu arttırmıştır. Çalışmamızda

midpalatal sutur alanına uyguladığımız YMA'lı HA tek başına uygulandığında da artmış osteoblastik aktivite izlenmiştir.

Çalışmamızda bölgesel olarak uyguladığımız YMA'lı HA grubunda osteoblastik aktivitenin fazla olduğu tespit edilmiştir. HA'nın sıçanlarda ve farklı MA'lardaki etkilerinin incelendiği, ayrıca bulgular yönüyle çalışmamıza benzer şekilde, Stancikova ve ark. (141) overektomi uyguladıkları sıçanlara DMA'lı (0,75 MDa) ve YMA'lı (1,62 MDa) HA'yı oral olarak 1mg/kg/day ve 0,5 mg/kg/gün uygulamış ve HA'nın etkilerini incelemişlerdir. YMA'lı HA'nın 1mg/kg/gün uygulandığı gruplarda overektomi sonrası görülen kemik yıkımının önlendiği, kemik mineral miktarını artarak, kemik yoğunluğunun korunduğunu bildirmiştir. Çalışmamızda Stancikova ve ark.'ın (141) çalışmasından farklı olarak HA bölgesel olarak midpalatal sutur alanına uygulanmış ve benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Çalışmamızda kontrol grubu ile YMA'lı HA grubu arasında kemik oluşumu açısından anlamlı farklılıklar görülmüştür. Benzer şekilde Baldini ve ark. (160) insanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında, deney gruplarının diş çekim boşluklarını YMA'lı HA'yı (>5MDa) otolog kemik grefti ile karıştırarak doldurmuşlar, aynı çenede bulunan diğer diş çekim boşluğu olan kontrol grubunu sadece otolog kemik grefti ile doldurmuşlardır. 4 aylık takip süresi sonunda bu alanlardan biyopsi alarak kesitleri histolojik olarak, bulguları klinik ve radyografik olarak değerlendirmişlerdir. Histolojik kesitlerde ve aldıkları radyografik değerlendirme sonucunda, deney grubunda zengin kemik trabekülleri ve olgun kemik hücreleri ile dolu bir çekim boşluğu gördüklerini, kontrol grubunda yoğun kemik görüntüsü alamadıklarını bildirmişlerdir. YMA'lı HA'nın bakteriostatik etkisinden dolayı hiçbir bakteri yayılımı ve enfeksiyon belirtisi ile karşılaşmadıklarını, Toole'un (186,195) HA'nın etkilerini incelediği çalışmalarında bildirdiği gibi, HA'nın fiziksel, kimyasal özellikleri ve biyolojik yapısı sayesinde makromoleküllerle iletişime geçerek doku morfogenezinde, hücre migrasyonu, hücre farklılaşması ve adhezyon aşamalarında çok işlevli roller üstlenerek kemik oluşumunu arttırdığını belirtmişlerdir. Baldini ve ark.'ın (160) çalışmasından

izlenen takip süresi, uygulanan alan ve insanlarda uygulanması açısından farklılıklar olsa da YMA'lı HA her iki çalışmada da kemik oluşumu üzerine olumlu sonuçlar göstermiştir.

Sıçan kemiklerinde uygulanmış olması ve bulgularımız açısından çalışmamızla benzer şekilde Zanchetta ve ark. (163) 2002 yılında yaptıkları çalışmada, sıçanların parietal kemiklerinde oluşturdukları 5mm'lik kemik boşluğunu bakteri eksopolisakkaritinden üretilen ve HA türevi olan HE 800 (800 kDa) ile 1mg olacak şekilde doldurmuşlardır. Kontrol grubu olarak aynı sıçanın diğer parietal kemik boşluğunu kollajen ile doldurmuşlardır. 15 gün sonunda radyografik ve histolojik olarak değerlendirdikleri kesitlerde, deney gruplarının kemik boşlukları %95,9±6,2 oranında yoğun kemik hücreleri ile dolmuş, kontrol gruplarında bu oranın %17,8±18,1 olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda kullandığımız YMA'lı *Rooster* bileşeni adı verilen HA ve kemik dokuda uygulanmış olması yönüyle paralel şekilde Engstrom ve ark.'ın (153) 15 hastada yaptıkları çalışmalarında, periodontal kemik hasarı bulunan dişlere cerrahi (>6mm) ve cerrahi olmayan (>5mm) müdahalelerden sonra, YMA'lı *Rooster* bileşenini bölgesel olarak uygulanmıştır. Cerrahi müdahale sonrası membran ile karıştırılan HA, periodontal kemik hasarı bulunan alana yerleştirilmiştir. Cerrahi olmayan müdahalede ise, haftada 1 kez olacak şekilde 3 hafta boyunca HA uygulanmıştır. 12 aylık takip sonrası klinik bulgularında HA uygulanan grubun, HA uygulanmayan gruba göre, periodontal cep derinliklerinde anlamlı düşüş izlediklerini, radyografik bulgularda ise kemik seviyesindeki yükselme miktarının 1mm'den az olduğunu bildirmişlerdir. Takip sürelerinin, uygulanan alanların anatomik yapılarının, uygulanan doz farklılıklarından kaynaklanmış olabilecek şekilde, bulgularımız YMA'lı HA grubunun, kontrol grubundan yüksek olduğu yönündedir.

Kemik dokuya uygulanmış olması, enjekte edilen solüsyonun benzer MA'larda olması ve elde edilen YMA'lı HA grubunun sonuçları açısından çalışmamıza benzer şekilde, Sasaki ve Watanabe (155), yapmış oldukları

çalışmada sıçanların femur alanında oluşturdukları kemik boşluklarına bölgesel olarak YMA'lı HA (1900 kDa) uygulamış ve kemikleşmeyi 14 gün boyunca incelemişlerdir. HA grubunda 4. günden itibaren kavite tabanında ve duvarlarda yeni kemik oluşumu görülmeye başlandığını, 1. haftanın sonunda kavitenin tamamen trabeküler kemik ile dolduğunu ve ilk dönemde oluşan granülasyon dokusunun yerini hızla yeni kemik iliği dokusuna bıraktığını bildirmişlerdir. Kontrol grubunda ise yeni oluşan kemik dokunun 7. günün sonunda görülmeye başladığını, 14. gün sonunda tamamen trabeküler kemik ile dolduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızın bulgularında bu sonuçlardan farklı olarak, 10 gün sonunda kontrol ve DMA'lı HA gruplarının kemikleşme miktarı YMA'lı HA grubundan düşük bulunmuştur.

Kemik dokuda uygulanmış olması ve bulgularımızla benzer şekilde Zanchetta ve ark.'ın (162) 2003 yılında yaptıkları diğer çalışmada sıçanların parietal kemiklerinde 5mm'lik boşluk alanlar oluşturmuş, bu alanların deney gruplarına bakteri eksopolisakkaritlerinden üretilen, YMA'lı HA türevi olan HE 800 (800 kDa), 0,5 mg enjekte etmiş, kontrol gruplarındaki alanları boş bırakmışlardır. Çalışmanın bulgularına göre, 21 gün sonunda her iki kavitenin de tamamen kemik ile dolduğunu, kontrol gruplarındaki bu etkinin HA'nın sistemik etkisinden kaynaklanmış olabileceğini bildirmişlerdir. Sasaki ve Watanabe'nin (155) çalışmasında da benzer şekilde HA'nın sistemik etkisinden dolayı kontrol gruplarında kemik gelişimi dolaylı olarak etkilenmiş olabileceği gibi, çalışmamızın takip süreleri arasındaki farklılığın bulguları etkilemiş olabileceği de düşünülebilir.

Çalışmamızın bulgularından farklı olarak DMA'lı HA (30 kDa) üzerinde yapılan *in-vitro* çalışmada Pilloni ve Bernard (148), DMA'lı HA'nın mezenkimal hücre migrasyonu ve farklılaşmasını sağlayarak kemik oluşumunu arttırdığını, buna karşılık YMA'lı HA'nın yüksek vizkozite değerlerinden dolayı *in-vitro* ortamda kemik oluşumunda düşük etkili olduğunu bildirmektedir. Aynı şekilde Deed ve ark. (149) *in-vitro* ortamda yaptıkları çalışmalarında, YMA'lı HA'nın dokularda damarlanma artışını azaltıcı yönde etkisinin olduğunu, HA'nın parçalanmış formlarının dokulardaki damarlanmayı ve endotelial hücre

proliferasyonunu arttırdığını belirtmişlerdir. Sasaki ve Vatanabe (155), yara iyileşmesi sürecinde YMA'lı HA'nın yeni kemik oluşumunda olumlu etkilere sahip olduğunu, fakat HA'nın kemik yapıcı hücreler üzerindeki etkisinin doğrudan veya dolaylı olarak etkili olduğunun bilinmemekte olduğunu bildirmiştir.

Pilloni ve Bernard (148) ve Deed ve ark.'ın (149) sonuçlarından farklı, Sasaki ve Vatanabe (155) ile paralel şekilde, çalışmamızda uyguladığımız YMA'lı HA'nın, *in-vivo* ortamda kendisini oluşturan polisakkarit ve monosakkarit formlarında parçalanarak dokulardaki tamir sürelerinde etkili olabileceği düşünülebilir. Ayrıca yapılmış çalışmaların (148,149) *in-vitro* olarak incelenmesinin, canlı dokulardaki değişimleri tam olarak yansıtamamış olabileceği ve böylece bulguların farklılığına neden olmuş olabileceği de düşünülebilir.

Çalışmamızın bulgularından farklı şekilde, kullandığımız DMA'lı HA solüsyonuna benzer bir HA preparatının kullanıldığı Ballini ve ark.'ın (161) çalışmalarında, periodontal kemik yıkımı (8,3mm) bulunan hastalarda esterleştirilmiş ve demetsi formdaki DMA'lı HA (EHA) materyalinden (Hyaloss®) 2 demet, otolog kemik grefti 0,5 cc olacak şekilde karıştırarak, bu maddelerin kemik oluşumu üzerine etkileri incelemişlerdir. 10 günlük ve sırasıyla 6, 9 ve 24 aylık radyografik takiplerle sonuçları değerlendirmişler, HA'nın bakteriostatik etkisi sayesinde 10 günlük kontrollerinde gingivitis oranının 0-1 arasında değerleri arasında olduğunu, hiç bir bakteri enfeksiyonu ile karşılaşmadıklarını fakat bu süreçte kemik remodelling'i görmediklerini belirtmişlerdir. 6 aylık radyografik kontrollerde orta derecede kemik remodeling'i ile kemik boşluklarının çok iyi dolduğunu, 9 aylık kontrollerde ise 2,6 mm olarak ölçülmüş periodontal cep derinliği tespit ettiklerini bildirmişlerdir. 24 ay sonunda tamamen dolmuş kemik kavimleri ile istedikleri sonuçları elde ettiklerini belirtmişlerdir.

Çalışmamızla, Ballini ve ark.'ın (161) çalışmasının bulgularını takip sürelerinin benzerliği açısından 10. gün sonuçlarını karşılaştıracak olursak, DMA'lı HA grubunda yoğun bir kemik remodeling'i ve bakteri yayılımı ile

karşılaşılması paralellik göstermiştir. Bu çalışmadan yola çıkarak, 24 ay sonunda istenilen kemik seviyesine ulaşılması ile DMA'lı HA'nın etkinliğinin yavaş olabileceği ve / veya DMA'lı EHA'nın kemik grefti ile karıştırılmasının bu molekülün kemik remodellingi üzerindeki etkisini arttırmış olabileceği düşünülebilir.

Bulgularımızdan farklı olarak Asari ve ark.'nın (146) köpekler üzerinde yaptıkları çalışmada, DMA'lı HA'nın (840.000 Da), YMA'lı HA'ya (2,7 MDa) göre *sinovyal* zara daha yüksek geçirgenlik gösterdiğini, doku içerisinde bulunan HA sentezinin arttırılmasında tek faktörün MA olmadığını ve bu konuda insanda yapılmış bir çalışma olmadığını belirtmişlerdir. Arrich ve ark.'ın (151) OA'lı eklemler üzerinde HA'nın etkilerinin araştırıldığı derlemesinde, MA ve HA preparatlarının etkileri bakımından bir fark saptanmamıştır. Bulgularımızın ve tedavilerdeki görüşler arasındaki farklılığın sebebinin incelenen alanların kırıkta ve kemik dokuların yapısal farklılıkları, çalışmaların *in-vitro*, *in-vivo* ve hayvan deneylerindeki heterojen dağılımlardan kaynaklanmış olabileceği düşünülebilir.

Çalışmamızla benzer şekilde iki farklı MA'lı HA'yı karşılaştıran ve farklı olarak kortikosteroid içeren Metil Prednisolon asetat preparatının etki ve yan etkilerini insanların diz eklemlerine intraartiküler enjeksiyon uygulayarak inceleyen Bingöl (140), bulgularını enjeksiyon sonrası, 2. ve 6. ay sonunda değerlendirmiştir. Uygulanan DMA'lı HA (Hyalgan® 500-730 kDa MA, 20 mg/2ml) ve YMA'lı HA (Orthovisc® > 1MDa MA, 15 mg/2ml) ile birer hafta arayla 3 kez intraartiküler enjeksiyon uygulaması yapmışlardır. Her 3 grupta da iyileşme belirtileri gözlemlediklerini, gruplar arası herhangi anlamlı bir fark saptamadıklarını ve geçici bölgesel yan etkiler haricinde sistemik bir yan etki ile karşılaşmadıklarını belirtmişlerdir. Çalışmamızla benzer şekilde, kontrol grubu ile DMA'lı HA grubu arasında anlamlı farklılıklar tespit edilememiştir. Çalışmamızın değerlendirme ölçütleri, takip süreleri, incelen alanların farklı olmasının yanı sıra, kullandığımız YMA'lı HA 5 Mda MA büyüklüğünde ve yapışkan yapılı bir maddedir. Kullanılan YMA'lı HA'nın fiziksel ve kimyasal yapı farklılıklarının bulgulardaki farklılığı etkilemiş olabileceği düşünülebilir.

Bulgularımızdan farklı şekilde Sato ve ark. (206) sıçanların azı dişleri arasına yerleştirdikleri elastikler yardımı ile dişlerde ayrılma oluşturmuş, periodontal ligamentlerdeki gerilme ve sıkışma bölgelerinde oluşan link protein, bir proteoglikan çeşidi olan versikan ve HA'nın dağılımını incelemiştir. Ortodontik kuvvet sonrası HA'nın dağılımında herhangi bir değişime rastlanılmadığı, bunun HA'nın YMA'lı yapısından dolayı dokular arası penetre olamamasından kaynaklanmış olabileceğini bildirmişlerdir. Sato ve ark.'ın (206) çalışması ile çalışmamızın bulguları arasındaki farklılığın, dışarıdan uyguladığımız YMA'lı HA'nın yapışkan yapısının, ortamda tıkaç etkisi oluşturarak midpalatal sutur alanındaki konsantrasyonunu koruduğu ve osteoblastik aktiviteyi artırarak, incelediğimiz alan ve çevre değerleri içerisinde yeni kemik oluşumunu arttırmış olabileceği yönünde olduğu düşünülebilir. DMA'lı HA çözümü ise, dağılgan yapısı nedeniyle ortamda dağılmış ve konsantrasyonunu koruyamayarak kemik oluşumunu etkileyememiş olabilir.

Tüm canlı dokuların HDM'lerinin ana maddelerinden olan HA insanlarda ortopedi, dermatoloji, oftalmoloji ve son yıllarda antiinflamatuvar, antibakteriyel etkilerinden dolayı diş hekimliği alanında da sık kullanılan maddelerdendir (137-163). Çalışmamızda uyguladığımız YMA'lı HA'nın sıçanların midpalatal alanlarındaki olumlu etkilerinden ve kemik oluşumuna yönelik yapılmış diğer çalışmalardan yola çıkarak, rutin hızlı üst çene genişletme işlemlerinden sonra, insanların midpalatal sutur alanında kemik oluşumunu hızlandırmak amacıyla, YMA'lı HA'nın bu alanda bölgesel olarak uygulanabileceği ve böylece nüks riskinin azaltılması veya ortadan kaldırılabileceği düşünülebilir.

DMA'lı HA'nın, midpalatal sutur alanında uygulandığında uzun süreli takipler ile incelenmesi ile bu konuda daha net bilgilere ulaşılabileceğini düşünmekteyiz. YMA'lı HA'nın insanlarda sistemik ve/veya bölgesel olarak uygulanacak doz açısından değerlendirilmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇ

1. Çalışmamızdaki şekliyle uygulanan genişletme zembereği sıçanların midpalatal sutur alanında yeterli genişletme sağlamıştır.
2. Yeni oluşan osteoblast hücresi ve kapiller hücre sayıları ile alan ve çevre içerisinde değerlendirilen kemik yoğunluğu miktarı en fazla YMA'lı HA uygulanan gruplarda gözlenmiştir. YMA'lı HA, hızlı üst çene genişletmesi yapılan sıçanların midpalatal sutur alanında yeni kemik yapımını arttırmaktadır.
3. DMA'lı HA'nın hızlı üst çene genişletmesi yapılan sıçanların midpalatal sutur alanında yeni kemik yapımına etkisi bulunmamaktadır.

7. KAYNAKÇA

1. Melrose C, Millett DT. Toward a perspective on orthodontic retention. Am J Orthod Dentofac Orthop, 113: 507-14, 1998.
2. Joondeph DR. Retention and relapse. Graber TM, Vanarsdall Jr RL (eds). Orthodontics: Current Principles and Techniques. (3rd ed.) pp. 985-1012, CV Mosby, St. Louis, Missouri, 2000.
3. Reitan K. Tissue rearrangement during retention of orthodontically rotated teeth. Angle Orthod, 29: 105-13, 1959.
4. Blake M, Bibby K. Retention and stability: A review of the literature. Am J Orthod Dentofac Orthop, 114: 299-306, 1998.
5. Timms DJ. Long term follow-up of cases treated by rapid maxillary expansion. Trans Eur Orthod Soc, 52: 211-5, 1976.
6. Davies SJ, Gray PJ, Sandler KDO. Orthodontics and occlusion. Br Dent J, 191 ve 10: 539-549, 1976.
7. Rakosi T, Jonas I, Graber TM. Color Atlas of Dental Medicine Orthodontic-Diagnosis. (1 st ed.) Thieme Medical Pub, New York, pp 50-56, 1993.
8. Ülgen M. Ortodonti anomaliler, sefalometri, etiyoloji, büyüme ve gelişim, tanı 1. basım. Yeditepe Üniversitesi Yayınlar, İstanbul, p. 315-347, 2000.
9. Moyers RE. Handbook of Orthodontics. (4th ed.) Yearbook medical publishers, Inc, p 147-148, 1988.
10. David S. Carlson Theories of Craniofacial Growth in the Postgenomic Era. Seminars in Orthodontics, 11(4): p 172-183, 2005.
11. Mossey PA. The heritability of malocclusion: Part 1. Genetics, principles and terminology. Br J Orthod. 26(2): 103-13, 1999.
12. Mossey PA. The heritability of malocclusion: part 2. The influence of genetics in malocclusion. Br J Orthod. 26(3): 195-203, 1999.
13. Chaconas SJ, Caputo AA. Observation of orthopedic force distribution produced by maxillary orthodontic appliances. Am J Orthod, 82: 492-501, 1982.

14. Wood A. Anterior and posterior crossbite. *J Dent Child*, 29: 280-285, 1962.
15. Timms DJ. A study of basal movement with rapid maxillary expansion. *Am J Orthod Dentofac Orthop*, 77: 500-507, 1980.
16. Bishara SE, Staley RN. Maxillary expansion: Clinical implications. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 91: 3-14, 1987.
17. Proffit WR. Dentofacial problems: Prevalance and treatment need. In Proffit WR: White RP, Sarver DM (eds). *Contemporary treatment of dentofacial deformity*. St. Louis, Mosby, 2-28, 2003.
18. Saito S, Shimizu N. Stimulatory effects of low-power laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in the rat. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 111(5): 525–532, 1997.
19. Sawada M, Shimizu N. Stimulation of bone formation in the expanding mid-palatal suture by transforming growth factor beta 1 in the rat. *Eur J Orthod*, 18: 169–179, 1996.
20. Lagravere MO, Major PW, Flores-Mir C. Skeletal and dental changes with fixed slow maxillary expansion treatment: a systematic review. *J Am Dent Assoc*, 136: 194-199, 2005.
21. Sandikcioglu M, Hazar S. Skeletal and dental changes after maxillary expansion in the mixed dentition. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 111: 321-327, 1997.
22. Mew J. Relapse following maxillary expansion. A study of twenty-five consecutive cases. *Am J Orthod*, 83: 56-61, 1983.
23. Iseri H, Ozsoy S. Semirapid maxillary expansion—a study of long-term transverse effects in older adolescents and adults. *Angle Orthod*, 74: 71-78, 2004.
24. Özsoy FS. Semirapid üst çene genişletmesinin dentofasiyal yapılar üzerine olan etkilerinin incelenmesi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ortodonti Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara, 2001.
25. Lamparski DG, Rinchuse DJ, Close JM, Sciote JJ. Comparison of skeletal and dental changes between 2-point and 4-point rapid palatal expanders. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 123: 321-328, 2003.
26. Mew J. In favor of semirapid expansion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 112: 20A-21A, 1997.

27. Isaacson RJ, Wood JL, Ingram AH. Forces produced by rapid maxillary expansion. I. Design of the force measuring system. *Angle Orthod*, 34: 256-260, 1964.
28. Zimring JF, Isaacson RJ. Forces Produced by Rapid Maxillary Expansion. 3. Forces Present during Retention. *Angle Orthod*, 35: 178-186, 1965.
29. Haas AJ. Rapid expansion of the maxillary dental arch and nasal cavity by opening the midpalatal suture. *Angle Orthod*, 31: 73-89, 1961.
30. Wertz RA. Skeletal and dental changes accompanying rapid midpalatal suture opening. *Am J Orthod*, 58: 41-66, 1970.
31. Ciambotti C, Ngan P, Durkee M, Kohli K, Kim H. A comparison of dental and dentoalveolar changes between rapid palatal expansion and nickel-titanium palatal expansion appliances. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 119: 11-20, 2001.
32. McNamara JA. Maxillary transverse deficiency. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 117: 567-570, 2000.
33. Basciftci FA, Mutlu N, Karaman AI, Malkoc S, Kucukkolbasi H. Does the timing and method of rapid maxillary expansion have an effect on the changes in nasal dimensions? *Angle Orthod*, 72: 118-123, 2002.
34. Memikoglu UT, Iseri H. Effects of a bonded rapid maxillary expansion appliance during orthodontic treatment. *Angle Orthod*, 69: 251-256, 1999.
35. Oliveira NL, Da Silveira AC, Kusnoto B, Viana G. Three-dimensional assessment of morphologic changes of the maxilla: a comparison of 2 kinds of palatal expanders. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 126: 354-362, 2004.
36. Bicakci AA, Agar U, Sokucu O, Babacan H, Doruk C. Nasal airway changes due to rapid maxillary expansion timing. *Angle Orthod*, 75: 1-6, 2005.
37. Lima AC, Lima AL, Filho RM, Oyten OJ. Spontaneous mandibular arch response after rapid palatal expansion: a long-term study on Class I malocclusion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 126: 576-582, 2004.
38. Ceylan I, Oktay H, Demirci M. The effect of rapid maxillary expansion on conductive hearing loss. *Angle Orthod*, 66: 301-307, 1996.
39. Tecco S, Festa F, Tete S, Longhi V, D'Attilio M. Changes in head posture after rapid maxillary expansion in mouth-breathing girls: a controlled study. *Angle Orthod*, 75: 171-176, 2005.

40. Biederman W, Chem B. Rapid correction of class III malocclusion by midpalatal expansion. *Am J Orthod*, 63: 47-55, 1973.
41. Isaacson RJ, Ingram AH. II. Forces present during treatment. *Angle Orthod*, 34: 261, 1964.
42. Haas AJ. Long-term posttreatment evaluation of rapid palatal expansion. *Angle Orthod*, 50(3): 189–217, 1980.
43. Storey A. Tissue response to the movement of bones. *Am J Orthod*, 64(3): 229-247, 1973.
44. Brudvik JS, Nelson DR. Adult palatal expansion prosthesis. *J. Prosth. Dent*, 43: 315, 1981. In: Alpern MC, Yurosko JJ. Rapid palatal expansion in adults with and without surgery. *Angle Orthod*, 57: 245-263, 1987.
45. Orhan M. High Angle özellikli bireylerde rapid maksiller ekspansiyonun etkileri. Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Konya, 1999.
46. Alpern MC, Yurosko JJ. Rapid palatal expansion in adults with and without surgery. *Angle Orthod*, 57: 245-263, 1987.
47. Aras A, Sürücü R. Oklüzal ısırma düzlemi taşıyan modifiye haas apareyi ile hızlı üst çene genişletmesi etkilerinin karşılaştırmalı incelenmesi. *Türk Ortodonti Dergisi*, 3: 14-20, 1990.
48. Başçıftçi FA, Karaman AI. Effects of a modified acrylic bonded rapid maxillary expansion appliance and vertical chin cap on dentofacial structures. *Angle Orthod*, 72: 61-71, 2002.
49. Mommaertz MY. Transpalatal distraction as a method of maxillary expansion (technical note). *Br J Oral Maxillofac Surg*, 37: 268-72, 1999.
50. McNamara JA, Brudon WL. *Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. Needham Press Inc. Michigan.2002.
51. Dellinger EL. A preliminary study of anterior maxillar displacement. *Am. J. Orthod*, 63: 509-516, 1973.
52. Persson M, Thilander B. Palatal suture closure in man from 15 to 35 years of age. *Am J Orthod*, 72: 42-52, 1977.
53. Bjork A. Sutural growth of the upper face studied by the implant method. *Acta Odontol Scand*, 24: 109-27, 1966.

54. Melsen B. Histological study of the influence of sutural morphology and skeletal maturation of rapid palatal expansion in children. *Trans Eur Orthod Soc*, pp. 499-507, 1972.
55. Proffit WR, Henry W. Fields, Jr. *Contemporary Orthodontics*. Third. Mosby, Inc. 2000.
56. Cleall JF, Bayne DI, Posen JM, and Subtelny JD. Expansion of the midpalatal suture in the monkey. *Angle Orthod*, 35: 23-35, 1965.
57. Starnbach H, Bayne D, Cleall J, and Subtelny D. Facioskeletal and dental changes resulting from rapid maxillary expansion. *Angle Orthod*, 36: 152-164, 1966.
58. Gardner GE, and Kronman JE. Cranioskeletal Displacements Caused by Rapid palatal Expansion in the Rhesus Monkey. *Am J Orthod*, 59: 146-155, 1971.
59. Murray J, and Cleall JF. Early Tissue Response to Rapid maxillary expansion in the midpalatal suture of the rhesus monkey. *J Dent Prac*, 19: 65-73, 1968.
60. Doruk C, Babacan H, Bıçakçı AA. Hızlı maxiller genişletme sırasında pulpal perfüzyon değişiminin Laser Doppler Flowmeter kullanılarak ölçülmesi, Süleyman Demirel üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi 3. Uluslararası Semp. Poster Bildirimi, Isparta, 2000.
61. Kayhan F, Küçükkeleş N, Demirel D. Histologic and histomorphometric evaluation of pulpal reactions following rapid palatal expansion. *Am J Orthod*, 117: 465-73, 2000.
62. Unterseeher RE, Nieberg LG, Weimer AD, Dyer JK. The response of human pulpal tissue after orthodontic force application. *Am J Orthod*, 92: 220-224, 1987.
63. Anstending H, Kronman J. A histologic study of pulpal reaction to orthodontic tooth movement in dogs. *Angle Orthod*, 42: 50-5, 1973.
64. Artun J, Urbye KS. The effect of orthodontic treatment obj. periodontal homa support in patients with advanced loss of marginal periodantium. *Am J Orthod*, 93: 143-148, 1988.
65. Hanada K, Solchaga LA, Caplan AI, Hering TM, Goldberg VM, Yoo Ju, et al. BMP-2 induction and TGF-beta 1 modulation of rat periosteal cell chondrogenesis. *J Cell Biochem*, 81: 284-294, 2001.
66. Hou B, Fukai N, Olsen BR. Mechanical force-induced midpalatal suture remodeling in mice. *Bone*, 40: 1483-1493, 2007.

67. Takushima A, Kitano Y, Harii K. Osteogenic potential of cultured periosteal cells in a distracted bone gap in rabbits. *J Surg Res*, 78: 68–77, 1998.
68. Ekström C, Henrikson CO, Jensen R. Mineralization in the midpalatal suture after orthodontic expansion. *Am J Orthod*, 71(4): 449-455, 1977.
69. Ten Cate AR, Freeman E, Dickinson JB. Sutural development structure and its response to rapid expansion. *Am J Orthod*, 71: 622-636, 1977.
70. Isaacson RJ, Murphy TD. Some effects of rapid maxillary expansion in cleft lip and palate patients. *Angle Orthod*, 34: 143-154, 1964.
71. Barber AF, Sims MR. Rapid maxillary expansion and external root resorption in man: A scanning electron microscope study. *Am J Orthod Dentofac Orthop*, 79: 630-652, 1981.
72. Dixon RB, Tricker ND, Garetto LP. Bone turnover in elderly canine mandible and tibia. (IADR abstract #2579), *J Dent Res*, 76: 336, 1997.
73. Langford SR, Sims MR. Root surface resorption, repair, and periodontal attachment following rapid maxillary expansion in man. *Am J Orthod Dentofac Orthop*, 81: 108-115, 1982.
74. Bell HW, Epker BN. Surgical-orthodontic expansion of the maxilla. *Am J Orthod*, 70: 517-528, 1976.
75. Memikoglu UT, İşeri H. Case report: Non extraction treatment with arigid acrylic bonded rapid maxillary expander. *J Clin Orthod*, 31: 113-118, 1997.
76. Nicholson PT, Plint DA. A long term study of rapid maxillary expansion and bone grafting in cleft lip and palate patients. *Eur J Orthod*, 11: 186-92, 1989.
77. Proffit WR. Maxillary deficiency. In: Proffit WR, Fields HW. (eds). *Contemporary Orthodontics*. (2nd ed.) St Louis, Mosby, 237-40, 1992.
78. Bell RA, LeCompte EJ. The effects of maxillary expansion using a quadhelix appliance during the deciduous and mixed dentitions. *Am J Orthod Dentofac Orthop*, 79: 152-161, 1981.
79. Da Silva Filho OG, Lara TS, Da Silva HC, Bertoz FA. Post expansion evaluation of the midpalatal suture in children submitted to rapid palatal expansion: a CT study. *J Clin Pediatr Dent*, 31: 142-8, 2006.

80. Hicks EP. Slow maxillary expansion. A clinical study of the skeletal versus dental response to low magnitude force. *Am J Orthod*, 73(2): 121-141, 1978.
81. Stern MD. In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering. *Nature*, 254: 56-58, 1975. In: Ogart LM. *Laser Doppler Flowmetry in Vitality Testing of Teeth*. Realites Cliniques, 5: 283-291, 1994.
82. Herberger TA. Rapid palatal expansion: long-term stability and periodontal implications. Philadelphia: Unpublished master's thesis, Department of Orthodontics, University of Pennsylvania, 1987. In: McNamara JA, Brudon WL. *Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. Ann Arbor: Needham press inc, 2002.
83. Stockfish H. Rapid Expansion of Maxilla - Success or Failure. *Trans EOS*, pp.469-481, 1969.
84. Wertz RA, and Dreskin M. Midpalatal Suture Opening: A normative study. *Am J Orthod*, 71: 367- 381, 1977.
85. Erdoğan D, Hatipoğlu M, Görgün M, Ilgaz C. Genel histoloji. Hatiboğlu Yayınevi, 2. Baskı, Ankara, ss 107-117, 1999.
86. Junqueira LC, Carnerio J. *Basic Histology*. Barış Kitabevi, İstanbul, ss 170-195, 2005.
87. Tekelioğlu M. Genel Tıp Histolojisi. Güneş Kitabevi, Ankara, ss 138-147, 1993.
88. Kierszenbaum AL. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*. Demir R (Ed). Palme yayıncılık, 2006.
89. Junqueira LC, Kelley RO . *Basic Histology*. pp: 132–146, 1998.
90. Sommerfeldt DW, Rubin CT. Biology of bone and how it orchestrates the form and function of the skeleton. *Eur Spine J*, 10(2): pp 86-95. 2001.
91. Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil I, Alobera Gracia MA, del Canto Pingarrón M, Blanco JL. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 11: 47-51, 2006.
92. Rodan GA. Introduction to Bone Biology. *Bone*, 13 (1): 3–6, 1992.
93. Ronald A, Adel A, Paul M, Heidger JR. *Histology*, Saunders, Philadelphia. pp: 64–72, 1996.

94. Kurt E. Johnson. Histology and Cell Biology. (2nd ed.) Harwall Pub. Pennsylvania, pp: 125–135, 1991.
95. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Hücrenin Moleküler Biyolojisi. Tüba, 2008.
96. Datta HK, Ng WF, Walker JA, Tuck SP, Varanasi SS. The cell biology of bone metabolism. J Clin Patol, 61: 577-587, 2008.
97. Ganong WF. Review of Medical Physiology. Tercüme: Türk Fizyolojik Bilimler Derneği Tıbbi Fizyoloji. Barış Kitabevi, İstanbul, ss 471-487, 1996.
98. Roberts WE, Hartsfield JK Jr. Bone development and function: genetic and environmental mechanisms. Seminars in Orthodontics 10: 100-12, 2004.
99. Akay T. Genel histoloji. Palme yayıncılık, Ankara, ss 126-149, 2001.
100. Cireli E. Genel Histoloji Hücre ve Dokular. Ege Üniversitesi Matbaası, İzmir, ss 238-256, 1976.
101. Ross MH, Rowell LJ. Histology a text and atlas. Williams and Wilkins, Maryland, pp 45-73, 1989.
102. Garg K Arun. Bone Biology Harversting Grafting for Dental Implants Quintessence, pp: 3–12, 2004.
103. Martin A, Taubman, Valverde P, Han X, Kawai T. Immun response: The key to bone resorption in periodontal disease. Journal Of Periodontology, 76(11): 2033–2041, 2005.
104. Canfield AE, Doherty MJ, Ashton BA. Osteogenic potential of vascular pericytes. In: Davies JE ed. Bone engineering. Toronto, p 143-51, 2000.
105. Rizzoli R, Poser J, Bürgi U. Nuclear thyrioid hormone receptors incultured bone celled. Metabolism, 35: 71-74, 1986.
106. Barnard R, Ng KW, Martin TJ, Waters MJ. Growth hormone (GH) receptorsin clonal osteoblast-like cells mediate a mitogenic response to GH. Endocrinology, 128: 1459-1464, 1991.
107. Levy JR, Murray E, Manolagas S, Olefsky JM. Demonstartion of insulin receptors and modulation of alkaline phosphatase activity by insulin in rat osteoblastic cells. Endocrinology, 119: 1786-1792, 1986.

108. Wei LL, Leach MW, Miner RS, Demers LM. Evidence for progesteron receptors in human osteoblast-like cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 195: 525-532, 1993.
109. Clement-Lacroix P, Ormandy C, Lepescheux L, Ammann P, Damotte D, Goffin V, Bouchard B, Amling M, et al. Osteoblasts are a new target for prolactin: analysis of bone formation in prolactin receptor knockout mice. *Endocrinology*, 140: 96-105, 1999.
110. Aubin JE, Liu F. The osteoblasts lineage. En: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA (eds). *Principles of bone biology*. Academic Press, San Diego, California, pp 51-67, 1996.
111. Bonewald LF. Osteocytes as Dynamic Multifunctional Cells. *Ann N Y Acad Sci*, 1116: 281-290, 2007.
112. Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. *Ann N Y Acad Sci*, 1092: 385-396, 2006.
113. Duncan RL, Turner CH. Mechanotransduction and the functional response of bone to mechanical strain. *Calcif Tissue Int*, 57: 344-58, 1995.
114. Pavalko FM, Norvell SM, Burr DB, Turner CH, Duncan RL, Bidwell JP. A model for mechanotransduction in bone cells: the load-bearing mechanosomes. *J Cell Biochem*, 88: 104-12, 2003.
115. Tarbell JM, Weinbaum S, Kamm RD. Cellular fluid mechanics and machanotransduction. *Ann Biomed Eng*, 33: 1719-23, 2005.
116. Lanyon LE. Osteocytes, strain detection, bone modeling and remodelling. *Calcif Tissue Int*, 53(1): 102-106, 1993.
117. Roodman GD. Advances in bone biology: the osteoclast. *Endocr Rev*, 17: 308-332, 1996.
118. Schell H, Lienau J, Epari DR, Seebeck P, Exner C, Muchow S, Bragulla H, Haas NP, Duda GN. Osteoclastic activity begins early and increases over the course of bone healing. *Bone*, 38(4): 547-554, 2005.
119. Bloom W, and Fawcett DW. *A Textbook of Histology*. (11 th Ed.) WB Saunders Comp., Philadelphia, pp 199-238, 1986.
120. Erben T ve ark. *Histoloji 1*. Beta Basın Yayın Dağıtım, İstanbul, 1987.

121. Erkoçak A. Genel Histoloji. Ankara Üniversitesi yayınları, Ankara, 1980.
122. Otlu A. Kemik Dokusu Histolojisi. İnönü Üniversitesi, Ders Notları, Malatya, 2013.
123. Gartner Leslie P, Hiatt James L. Cartilage and bone. Color Textbook of Histology. Saunders, Saint Louis, 114–130, 1997.
124. Cruess RL. Healing of bone, tendon and ligament. In: Fractures. Philadelphia, Lippincott Company, 1: 147–167, 1984.
125. Robert WE, Huja S and Roberts JA. Bone physiology of tooth movement, ankylosis, and osseointegration. Semin Orthod, 6: 173–182, 2000.
126. Bernard GW. Healing and repair of osseous defects. Dental Clinics of North America, 35: 469–477, 1991.
127. Frost HM. Skeletal structural adaptation to mechanical usage. SATMU 1 Anatomical record, 226(4): 403–413, 2005.
128. Graber TM, Robert LV. Orthodontics Current Principles and Techniques. (3rd Ed.) Mosby, pp: 811–813, 2000.
129. Güngörmüş M. Tavşanlarda Oluşturulan Kemik Defektlerinin İyileşmesi Üzerine Heterolog Tip 1 Kollojenin Etkisinin Histopatolojik ve Radyolojik Olarak İncelenmesi. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Erzurum, 1996.
130. Kaya Ö. Anabolizan, Kalsiyum, C ve D Vitaminlerinin Kırıklarda Kallus Teşekkülüne Etkisi Üzerine Eksperimental Bir Araştırma. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Erzurum, 1974.
131. Langer R, Vacanti J.P. Tissue engineering. Science, 260: 920–926, 1993.
132. Roberts WE, Huja S, Jeffery A. Bone modeling: Biomechanics, molecular mechanisms, and clinical perspective. Semin Orthod, 10: 123–161, 2004.
133. Laurie K, Mc Cauley, Nohutcu R. Mediators of periodontal osseous destruction and remodeling: Principles and implications for diagnosis and therapy. J Periodontol, 73: 1377–1391, 2002.
134. Vedamurthy M. Soft tissue augmentation: Use of hyaluronic acid as dermal filler. Indian J Dermatol Venereol Leprol, 70: 383-7, 2004.

135. EA Balazs. The physical properties of synovial fluid and the special role of hyaluronic acid. In: AJ Helfet (ed). Disorders of the Knee (2nd ed.), JB Lippincott, Philadelphia, 61–74, 1982.
136. Iwata H. Pharmacologic and clinic aspects of intraarticular injection of hyaluronate. Clin Orthop Relat Res, 289: 285-91, 1993. In: Bingöl Ü. Diz Osteoartritinde iki farklı molekül ağırlıklı Hyaluronik Asit Preparatı ve Metil Prednisolon asetat preparatının etki ve yan etkilerinin klinik olarak karşılaştırılması. Uludağ Üniversitesi, Uzmanlık tezi, Bursa, 2010.
137. Dahiya P, Kamal R. Hyaluronic Acid: A Boon in Periodontal Therapy. N Am J Med Sci, 5(5): 309–315, 2013.
138. Pirnazar P, Wolinsky L, Nachnani S, Haake S, Pilloni A, and Bernard GW. Bacteriostatic effects of hyaluronic acid. J Periodontal, 70 (4): 370-374, 1997.
139. Tammi R, Saamanen AM, Maibach HI, and Tammi M. Degradation of newly synthesized high molecular mass hyaluronan in the epidermal and dermal compartments of human skin in organ culture. J Invest Dermatol, 97 (126): 126-130, 1991.
140. Bingöl Ü. Diz Osteoartritinde iki farklı molekül ağırlıklı Hyaluronik Asit Preparatı ve Metil Prednisolon asetat preparatının etki ve yan etkilerinin klinik olarak karşılaştırılması. Uludağ Üniversitesi, Uzmanlık tezi, Bursa, 2010.
141. Stancíková M, Svík K, Istok R, Rovenský J, Velebný V. The effects of hyaluronan on bone resorption and bone mineral density in a rat model of estrogen deficiency-induced osteopenia. Int J Tissue React, 26 (1-2): 9-16, 2004.
142. Aihara S, Murakami N, Ishii R, Kariya K, Azuma Y, Hamada K, et al. Effects of sodium hyaluronate on the nociceptive response of rats with experimentally induced arthritis. Nippon Yakurigaku Zasshi, 100: 359-65, 1992.
143. Aviad AD, Houpt JB. The molecular weight of therapeutic hyaluronan (sodium hyaluronate): how significant is it? J Rheumatol, 21: 297-301, 1994.
144. Jordan KM, Arden NK, Doherty M, Bannwarth B, Bijlsma JW, Dieppe P, et al. EULAR Recommendations 2003: an evidence based approach to the management of knee osteoarthritis: Report of a Task Force of the Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutic Trials (ESCISIT). Ann Rheum Dis, 62: 1145-55, 2003.
145. Smith MM, Ghosh P. The synthesis of hyaluronic acid by human synovial fibroblasts is influenced by the nature of the hyaluronate in the extracellular environment. Rheumatol Int, 7: 113-22, 1987.

146. Asari A, Miyauchi S, Matsuzaka S, Ito T, Kominami E, Uchiyama Y. Molecular weight-dependent effects of hyaluronate on the arthritic synovium. *Arch Histol Cytol*, 61: 125-35, 1998.
147. Iwata H. Pharmacologic and clinic aspects of intraarticular injection of hyaluronate. *Clin Orthop Relat Res*, 289: 285-91, 1993.
148. Piloni A, Bernard GW. Low molecular weight hyaluronic acid increases osteogenesis in vitro. *J Dent Res*, 71: 574, 1992.
149. Deed R, Rooney P, Kumar P, Norton JD, Smith J, Freemont AJ, et al. Early-response gene signaling is induced by angiogenic oligosaccharides of hyaluronan in endothelial cells. Inhibition by non-angiogenic, high-molecular-weight hyaluronan. *Int J Cancer*, 71: 251-6, 1997.
150. Lo GH, LaValley M, McAlindon T, Felson DT. Intra-articular hyaluronic acid in treatment of knee osteoarthritis: a meta-analysis. *JAMA*, 290: 3115-21, 2003.
151. Arrich J, Piribaurer F, Mad P, Schmid D, Klaushofer K, Müllner M. Intra-articular hyaluronic acid for the treatment of osteoarthritis of the knee: systematic review and meta-analysis. *Canadian Medical Association Journal*, 172(8): 1039-1043, 2005.
152. Gomis A, Pawlak M, Balazs EA, Schmidt RF, Belmonte C. Effects of different molecular weight elastoviscous hyaluronan solutions on articular nociceptive afferents. *Arthritis Rheum*, 50: 314-26, 2004.
153. Engstrom PE, Shi XQ, Tronje G, Larsson A, Welander U, Frithiof L, and Engstrom GN. The effect of hyaluronan on bone and soft tissue and immune response in wound healing. *J Periodontol*, 72 (9): 1192-1200, 2001.
154. Mendes RM, Silva GA, Lima MF, Calliari MV, Alvair P, Almeida AP, Alves JB, et al. Sodium hyaluronate accelerates the healing process in tooth sockets of rats. *Arch Oral Bio*, 53: 1155-62, 2008.
155. Sasaki T, and Watanabe C. Stimulation of osteoinduction in bone wound healing by high-molecular hyaluronic acid. *Bone*, 16(1): 9-15, 1995.
156. Aslan M, Simsek G, and Dayi E. The Effect of Hyaluronic Acid-supplemented Bone Graft in Bone Healing: Experimental Study in Rabbits. *J Biomater Appl*, 20: 209, 2006.
157. Abatangelo G, O'Regan M. Hyaluronan: Biological role and function in articular joints. *Eur J Rheumatol Inflamm*, 15: 9-16, 1995.

158. Larsen NE, Lombard KM, Prent EG, Balazs EA. Effect of Hyalan on Cartilage and Chondrocyte Cultures. *J Orthop Res*, 10: 23-32, 1992.
159. Leardini G, Mattra L, Franceschini M, Perbelli A. Intra-articular treatment of knee osteoarthritis. A comparative study between hyaluronic acid and 6-methyl prednisolone acetate. *Clin Exp Rheumatol*, 9: 375-81,1991.
160. Baldini A, Zaffe D, Nicolini G. Bone-defects healing by high-molecular hyaluronic acid: preliminary results. *Annali di Stomatologia*, 1(1): 2-7, 2010.
161. Ballini A, Cantore S, Capodiferro S, and Grassi FR. Esterified Hyaluronic Acid and Autologous Bone in the Surgical Correction of the Infra-Bone Defects. *Int J Med*, 6(2): 65-71, 2009.
162. Zanchetta P, Lagarde N, Guezennec J. Systemic Effects on Bone Healing of a New Hyaluronic Acid-Like Bacterial Exopolysaccharide. *Calcif Tissue Int*, 73: 232–236, 2003.
163. Zanchetta P, Lagarde N, Guenzennec J. A new bone-healing material: A hyaluronic acid-like bacterial exopolysaccharide. *Calcif Tissue Int*, 72: 74-79, 2003.
164. Kennedy CI, Diegelmann RF, Haynes JH, and Yager DR. Proinflammatory cytokines differentially regulate hyaluronan synthase isoforms in fetal and adult fibroblasts. *J pediatr Surg*, 35 (6): 874-879, 2000.
165. Nandi A, Estess P, and Siegelman MH. Hyaluronan anchoring and regulation on the surface of vascular endothelial is mediated through the functionally activate form of CD44. *J Biol Chem*, 275 (20): 14939-14948, 2000.
166. Burdick JA, and Glenn DP. Hyaluronic Acid Hydrogels for Biomedical Applications. *Adv. Mater*, 23: 41-56, 2011.
167. Fraser JRE, Laurent TC, Laurent UBG. Hyaluronan: Its natur, distribution, functions and turnover. *J Intern Med*, 242: 27-33, 1997.
168. Öztaş P, Çalıkoğlu E. Hyaluronic Acid Preparations. *T Klin Kozmetoloji*, 4: 36-39, 2003.
169. Goa KL, Benfield P. Hyaluronic Acid. 47(3): 536-566, 1994.
170. Sclag G, Redl H. Wound healing. Berlin, Springer-Verlag, 136-143, 1994.

171. King SR, Hickerson WL, Proctor KG, Newsome AM. Beneficial actions of exogenous hyaluronic acid on wound healing. *Surgery*, 109 (1): 76-84, 1991.
172. Weigel PH, Frost SJ, McGary CT, Leboeuf RD. The role of hyaluronic acid in inflammation and wound healing. *Int Tiss Reac*, 10 (6): 355-365, 1998.
173. Weigel PH, Fuller GM and LeBoeuf RD. A model for the role of hyaluronic acid and fibrin in the early events during the inflammatory response and wound healing. *J Theor Biol*, 119: 219-234, 1986.
174. Stern R. Hyaluronan catabolism: a new metabolic pathway. *Eur J Cell Biol*, 83 (7): 317-25, 2004.
175. Forrester JV, and Jacie JM. Effect of hyaluronic acid on neutrophil adhesion. *J Cell Sci*, 50: 329-344, 1981.
176. Laurent TC. Biochemistry of hyaluronan. *Acta Otolaryngol (Stockh)*, 442: 7-24, 1987.
177. Yershalmi N, Arad A, and Margalit R. Molecular and cellular studies of hyaluronic acid-modified liposomes as bioadhesive carriers for topical drug delivery in wound healing. *Arch Biochem Biophys*, 313 (2): 267-273, 1994.
178. Laurent TC, and Fraser RE. Hyaluronan 1. *FASEB J*, 6: 2397-2404, 1992.
179. Watanabe H, Cheung SC, Itano N, Kimata K, and Yamada Y. Identification of hyaluronan-binding domains of aggrecan. *J Biol Chem*, 272 (44): 28057-28065, 1997.
180. Wight TN, Kinsella MG, and Qwarnström EE. The role of proteoglycans in cell adhesion, migration and proliferation. *Curr Opin Cell Biol*, 4: 793-801, 1992.
181. Simpsons MA, Reiland J, Burger SR, Furch LT, Spicer AP, Oegema TR Jr, McCarthy JB. Hyaluronan synthase elevation in metastatic prostate carcinoma cells correlates with hyaluronan surface retention, a prerequisite for rapid adhesion to bone marrow endothelial cells. *J Biol Chem*, 276: 17949-17957, 2001.
182. West DC, Hampton IN, Arnold F, Kumar S. Angiogenesis induced by degradation products of hyaluronic acid. *Science*, 14 ve 228 (4705): 1324-1326, 1985.
183. Decker M, Chiu ES, Dolbaum C, Moiin A, Hall J, Spendlove R, Longaker MT, Stern R. Hyaluronic acid-stimulating activity in sera from the bovine fetus and from breast cancer patients. *Cancer Res*, 49 (1): 3499-3505, 1989.

184. Burd DAR, Greco RM, Regauer S, Longaker MT, Siebert JW and Garg HG. Hyaluronan and wound healing: A new perspective. *Br J Plast Surg*, 44: 579-584, 1991.
185. Meran S, Thomas DW, Stephens P, Enoch S, Martin J, Steadman R, Phillips OA. Hyaluronan Facilitates Transforming Growth Factor-B1-mediated Fibroblast Proliferation. *J Biol Chem*, 283(10): 6530–6545, 2008.
186. Toole BP. Hyaluronan in morphogenesis. *Semin Cell Dev Biol*, 12: 79-87, 2001.
187. Toole BP. Hyaluronan: from extracellular glue to pericellular cue. *Nat Rev Cancer*, 4: 528-539, 2004.
188. Vaughan MB, Howard EW, and Tomasek JJ. Transforming growth factor- β 1 promotes the morphological and functional differentiation of the myofibroblast. *Exp Cell Res*, 257: 180–189, 2000.
189. Eckes B, Zigrino P, Kessler D, Holtkotter O, Shephard P, Mauch C, and Krieg T. Fibroblast-matrix interactions in wound healing and fibrosis. *Matrix Biol*, 19(4): 325-32, 2000.
190. Grinnell F. Fibroblasts, myofibroblasts, and wound contraction. *J Cell Biol*, 124: 401–404, 1994.
191. Krieg T, Heckmann M. Regulatory mechanisms of fibroblast activity. *Recent Prog Med*, 80: 594–598, 1989.
192. Gabbiani G. The myofibroblast in wound healing and fibrocontractive diseases. *J Pathol*, 200: 500–503, 2003.
193. Maes DH, Marenus KD. Cosmetology for normal skin. In: Baran R, Maibach HI, eds. *Cosmetic Dermatology*. (1st ed.) Martin Dunitz Ltd. London, 77: 110, 1994.
194. Anthony JD, and Glenn D. Prestwich Hyaluronan-binding Proteins: Tying up the Giant. *J Biol Chem*, 277: 4585-4588, 2002.
195. Toole BP. Hyaluronan and its binding proteins, the hyaladherins. *Current Opinion in Cell Biology*, 2: 839-844, 1990.
196. Prince CW. Roles of hyaluronan in bone resorption. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 5: 12, 2004.

197. Mossey PA, Little J, Munger RG, Dixon MJ, Shaw WC. Cleft lip and palate. *Lancet*, 374: 1773–1785, 2009.
198. Grayson BH, Santiago PE, Brecht LE, Cutting CB. Presurgical nasoalveolar molding in infants with cleft lip and palate. *Cleft palate-craniofacial journal*, 36: 486, 1999.
199. Soldati D, Rahm F, Pashe P. Mucosal wound healing after nasal surgery. A controlled clinical trial on the efficacy of hyaluronic acid containing cream. *Drugs Exp Clin Res*, 25: 253-61, 1999.
200. Friedman PM, Mafong EA, Kauvar AN, Geronemus RG. Safety data of injectable nonanimal stabilized hyaluronic acid gel for soft tissue augmentation. *Dermatol Surg*, 28: 491-42, 2002.
201. Klein AW. Skin filling. Collagen and other injectables of the skin. *Dermatol Clin*, 19: 491-508, 2001.
202. Wall SJ, Adamson PA. Augmentation, enhancement, and implantation procedures for the lips. *Otolaryngol Clin North Am*, 35: 87-102, 2002.
203. Chen WYJ, Abatangelo G. Functions of hyaluronan in wound repair. *Wound Repair Regen*, 7 (2): 79-89, 1999.
204. Moseley R, Waddington RJ, and Embery G. Hyaluronan and its potential role in periodontal healing. *Dent Update*, 29: 144-148, 2002.
205. Gerdin B, Hallgren R. Dynamic role of hyaluronan (HYA) in connective tissue activation and inflammation. *J Intern Med*, 242: 49-55, 1997.
206. Sato R, Yamamoto H, Kasai K, Yamauchi M. Distribution pattern of versican, link protein and HA in the rat periodontal ligament during experimental tooth movement. *J Periodont Res*, 37: 15-22, 2002.
207. Huang L, Cheng YY, Koo PL, Lee KM, Quin L, Cheng JCY, Kumta SM. The Effect of hyaluronan on osteoblast proliferation and differentiation in rat calvarial-derived cell cultures. *J Biomed Mater Res*, 66A(238185): 880-884, 2002.
208. Radice M, Brun P, Cortivo R, Scapinelli R, Battaliard C, Abatangelo G. Hyaluronan-based biopolymers as delivery vehicles for bone-marrow-derived mesenchymal progenitors. *J Biomed Mater Res*, 50: 101-109, 2000.
209. Oakes DA, Lee CC, and Lieberban JR. An evaluation of human demineralized bone matrices in a rat femoral defect model. *Clin Orthop*, 413: 281-290, 2003.

210. Liguori V, Guillemin C, Pesce GF, Mirimanoff RO, et al. Double-blind, randomized clinical study comparing hyaluronic acid cream to placebo in patients treated with radiotherapy. *Radiother Oncol*, 42: 155-61, 1997.
211. Wobig M, Bach G, Beks P, Dickhut A, Runzheimer J, Schwieger G, Vetter G, Balazs E. The role of elastoviscosity in the efficacy of viscosupplementation for osteoarthritis of the knee: A comparison of Hylan G-F 20 and a lower-molecular-weight hyaluronan. *Clinical Therapeutics*, 21(9): 1549-1562, 1999.
212. Gotoh S, Onaya JI, Abe M, Miyazaki K, Hamai A, Horie K, et al. Effects of the molecular weight of hyaluronic acid and its action mechanisms on experimental joint pain in rats. *Ann Rheum Dis*, 52: 817-22, 1993.
213. Ghosh P, Read R, Armstrong S, Wilson D, Marshall R, McNair P. The effects of intraarticular administration of hyaluronan in a model of early osteoarthritis in sheep. I. Gait analysis and radiological and morphological studies. *Semin Arthritis Rheum*, 22: 18-30, 1993.
214. Van Zutphen LFM. History of animal use. In: van Zutphen LFM, Baumans V, Beynen AC. (eds). *Principles of laboratory animal use*. Elsevier, Amsterdam, 2, 2001.
215. Cotton LA. Slow maxillary expansion, skeletal versus dental response to low magnitude force in *Macaca Mulatta*. *Am J Orthod*, 73: 1-23, 1978.
216. Vardimon AD, Brosh T, Spiegler A, Lieberman M, Pitaru S. Rapid palatal expansion ve Part 1. Mineralization pattern of the midpalatal suture in cats. *Am J Orthod Dentofac Orthop*, 113: 371-178, 1998.
217. Par JA, Garetto LP, Wohlford ME, Arbuckle GR, Roberts E. Sutural expansion using rigidly integrated endosseous implants: An experimental study in rabbits. *Angle Orthod*, 67: 283-290, 1997.
218. Uysal T, Ustdal A, Sonmez MF, Ozturk F. Stimulation of bone formation by dietary boron in an orthopedically expanded suture in rabbits. *Angle Orthod*, 79: 984-90, 2009.
219. Haas AJ. Gross reactions to the widening of the maxillary dental arch of the pig by splitting the mid palatal suture. *Am J Orthod*, 45: 868-869, 1959.
220. Yen EH, Yue CS, Suga DM. Effect of force level on synthesis of type III and type I collagen in mouse interparietal suture. *J Dent Res*, 68: 1746-1751, 1989.
221. Darı O. Sıçanlarda midpalatal ekspansiyon uygulamasında düşük doz lazer etkilerinin incelenmesi. Dicle Üniversitesi, Doktora Tezi, Diyarbakır, 2002.

222. Kanekawa M, Shimizu N. Age-related changes on bone regeneration in midpalatal suture during maxillary expansion in the rat. *Am J Orthod Dentofac Orthop*, 114: 646-653, 1998.
223. Lee K, Sugiyama H, Imoto S, Tanne K. Effects of bisphosphonate on the remodeling of rat sagittal suture after rapid expansion. *Angle Orthod*, 71: 265-273, 2001.
224. Miyawaki S, Forbes DP. The morphologic and biochemical effects of tensile force application to the interparietal suture of the Sprague-dawley rat. *Am J Orthod Dentofac Orthop*, 92: 123-133, 1987.
225. Steenvoorden GP, Van de Velde JP, PrahI-Andersen B. The effect of duration and magnitude of tensile mechanical forces on sutural tissue in vivo. *Eur J Orthod*, 12: 330-339, 1990.
226. Uysal T, Amasyali M, Olmez H, Enhos S, Karslioglu Y, Gunhan O. Effect of periosteal stimulation therapy on bone formation in orthopedically expanded suture in rats. *Orthod Craniofac Res*, 13: 89-95, 2010.
227. Uysal T, Amasyali M, Enhos S, Karslioglu Y, Yilmaz F, Gunhan O. Effect of vitamin C on bone formation in the expanded inter-premaxillary suture. Early bone changes. *J Orofac Orthop*, 72: 290-300, 2011.
228. Uysal T, Amasyali M, Enhos S, Sonmez MF, Sagdic D. Effect of ED-71, a new active vitamin D analog, on bone formation in an orthopedically expanded suture in rats. A histomorphometric study. *Eur J Dent*, 3: 165-172, 2009.
229. Uysal T, Amasyali M, Olmez H, Karslioglu Y, Gunhan O. Stimulation of bone formation in the expanding inter-premaxillary suture by vitamin E, in rat. *Korean J Orthod*, 39: 5, 2009.
230. Uysal T, Gorgulu S, Yagci A, Karslioglu Y, Gunhan O, Sagdic D. Effect of resveratrol on bone formation in the expanded inter-premaxillary suture: early bone changes. *Orthod Craniofac Res*, 14: 80-87, 2011.
231. Kara MI, Erciyas K, Altan AB, Ozkut M, Ay S, Inan S. Thymoquinone accelerates new bone formation in the rapid maxillary expansion procedure. *J Arch Oral Bio*, 57: 357-363, 2012.
232. Ekizer A, Uysal T, Guray E, Yuksel Y. Light-emitting diode photobiomodulation: Effect on bone formation in orthopedically expanded suture in rats-early bone changes. *Lasers Med Sci*, 28(5): 1263-70, 2013.

233. Ozturk F, Babacan H, Inan S, Gumus C. Effects of bisphosphonates on sutural bone formation and relapse: A histologic and immunohistochemical study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 140: 31-41, 2011.
234. Ozturk F, Babacan H, Gumus C. Effects of zoledronic acid on sutural bone formation: a computed tomography study. *Eur J Orthod*, 34: 141–146, 2012.
235. Shen Q, Zhu S, Hu J, Geng N, and Zou S. Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-4 (BMP-4)-Stimulated Cell Differentiation and Bone Formation Within the Expanding Calvarial Suture in Rats. *J Craniofac Surg*, 20: 1561-1565, 2009.
236. Aydın İB. Sıçanlarda hızlı üst çene genişletmesi sonrası vasküler epitelyal büyüme faktörünün nano taşıyıcılarla uygulanması ile üst çene sutural bölgesinde oluşan değişikliklerin incelenmesi, Yeditepe Üniversitesi, Doktora tezi, İstanbul, 2013.
237. Sarisozen B, Durak K, Dincer G, et all. The effects of vitamins E and C on fracture healing in rats. *J Int Med Res*, 30: 309-313, 2002.
238. Ren Y, Van Maltha JC, Kuijpers-Jagtman AM. The rat as a model for orthodontic tooth movement- a critical review and proposed solution. *Eur J Ort*, 26: 483-490, 2004.
239. Poole T. *The ufaw handbook on the care and management of laboratory animals*. (6th ed.) Harlow, Longman Group, UK, p 322, 1987.
240. Andreolla NA, Santos EF, Araujo MR, Lopez LR. Rat's age versus human's age: What is the relationship?. *Arq Bras Cir Dig*, 25(1): 49-51, 2012.
241. Steigman S, Michaeli Y, Weinreb Jr M. Structural changes in the dental and periodontal tissues of the rat incisors following application of orthodontic loads. *Am J Orthod Dentofac Orthop*, 91(1): 49-56, 1987.
242. Griffith JQ. *The rat in laboratory investigations*. JB Lippincott Comp, USA, 1942.
243. Yeditepe Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi, Laboratuar Hayvanları Kursu Ders Notları, 2010.
244. Kwam E. Tissue changes incident to movement of rat molars. *Universitetsforlaget, Thesis, Oslo*, 1967.
245. Reitan K, Kwam E. Comperative behaviour of human and animal tissue during experimental tooth movement. *Am J Orthod*, 41(1): 1-4, 1971.

246. Misawa Y, Kageyama T, Moriyama K, Kurihara S, Yagasaki H, Deguchi T, Ozawa H, Sahara N. Effect of age on alveolar turnover adjacent to maxillary molar roots in male rats: a histomorphometric study. *Arch Oral Biol*, 52: 44-50, 2007.

247. Burstone CJ, Shafer WG. Sutural expansion by controlled mechanical stress in the rat. *J Dent Res*, 38: 534-540, 1959.

248. Li J, Ahmad T, Bergstrom J, Samnega E, Harris HE, Ahmed M, Kreicbergs A. Differential bone turnover in an angulated fracture model in rat. *Calcif Tissue Int*, 75(1): 50-9, 2004.

249. Şengül Ö, Ünal D. Stereolojik Metodların Obstetrik ve Jinekolojideki Yeri: Yayınların İrdelenmesi. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 11(2): 16-20, 2013.

250. Rasband WS. Image J. US National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>, 1997-2008.

ÖZGEÇMİŞ

21 Haziran 1983 yılında Bursa'da doğan Tuğba Bekci Sadıkoğlu, ilköğrenimini Bursa/Setbaşı İlköğretim Okulu'nda, orta ve lise öğrenimini Samsun/Vezirköprü Anadolu Lisesi'nde tamamlamıştır. 2002-2003 döneminde başladığı Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nden 2008 yılında mezun olmuştur. 2008 yılında Boston/Harvard Üniversitesi Ortodonti Anabilim Dalı'nda sıçanlarda hızlı üst çene genişletilmesi konulu deneysel bir çalışma amacıyla bulunmuş ve 2009 yılında Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalı'nda doktora programına kabul edilmiştir.