

T.C.  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
AĞIZ-DİŞ-ÇENE HASTALIKLARI ve CERRAHİSİ  
ANABİLİM DALI

**KEMİK DEFEKTLERİNİN İYİLEŞMESİNDE NON-REZORBE  
BİYOMATERYALLER İLE TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA  
(PRP) VE YÖNLENDİRİLMİŞ DOKU REJENERASYONU (YDR)'NUN  
ETKİLERİNİN DENEYSEL OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**(DOKTORA TEZİ)**

**HAZIRLAYAN: Dt. Çiğdem ÇETİN**

**DOKTORA DANIŞMANI  
Prof.Dr. Belgin GÜLSÜN GÖRGÜN**

**DİYARBAKIR**



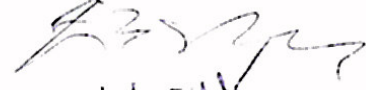


**2008**

T.C  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MÜDÜRLÜĞÜ

“Kemik Defektlerinin İyileşmesinde Non-Rezorbe Biyomateryaller ile, Trombositten Zengin Plazma (PRP) ve Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu (YDR)’nun Etkilerinin Deneysel Olarak Araştırılması” isimli Yüksek Lisans Tezi 21.11.2008 tarihinde tarafımızdan değerlendirilerek başarılı bulunmuştur.

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Belgin GÖRGÜN  
Tezi Teslim Eden : Dt. Çiğdem ÇETİN

Jüri Üyesinin

	Ünvanı	Adı Soyadı	
Başkan	: Prof. Dr. Reha Ş. KIŞNIŞÇI		
Üye	: Prof. Dr. Belgin GÖRGÜN		
Üye	: Prof. Dr. Behçet EROL		
Üye	: Doç. Dr. Rezzan GÜNER		
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Ahmet DAĞ		

Yukarıdaki imzalar tasdik olunur.

21 / 11 / 2008

Prof. Dr. Yusuf NERGİZ  
Dicle Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışması **Dicle Üniversitesi Araştırma Proje Koordinatörlüğü** tarafından desteklenmiştir ( Proje no: DÜBAP-06-DH-75).

## TEŞEKKÜR

Tezimin tüm aşamalarındaki bilimsel katkı ve yönlendirmelerinden dolayı yardımını ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen ve tezimin hazırlanmasında çok emekler sarf eden, klinik içinde olduğu kadar klinik dışında da her zaman yanımda olduğunu bildiğim gerektiğinde bir abla gibi benimle yakından ilgilenen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Belgin GÜLSÜN GÖRGÜN'e,

Doktora eğitimimde cerrahi branşını tercih etmemde büyük katkıları olan ve bu süreçte derin bilgilerinden istifade ettiğim ve tez protokolümün hazırlanmasında yardımcı olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Behçet EROL'a,

Çalışmamın histolojik aşamalarında yardımlarını esirgemeyen D.Ü. Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Nihal KILINÇ'a,

Tezimin laboratuvar aşamalarının gerçekleşmesinde yardımlarından dolayı Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya A.D Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Sabri BATUM'a

Çalışmamın istatistiksel değerlendirmelerini gerçekleştiren D.Ü. Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Yusuf ÇELİK'e,

Bölümümdeki diğer hocalarıma ve paylaşımda bulunduğum asistan arkadaşlarıma,  
Ve hayatımın her aşamasında yanımda olduklarını bildiğim Anneme, Babama ve Abime

*Teşekkür ederim.....*

**İÇİNDEKİLER**

<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>III</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>IV</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b>	<b>V</b>
<b>RESİMLER</b>	<b>VI-VII</b>
<b>KISALTMALAR</b>	<b>VIII</b>
<b>ÖZET</b>	<b>1</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>3</b>
<b>GİRİŞ VE AMAÇ</b>	<b>5</b>
<b>GENEL BİLGİLER</b>	<b>8</b>
<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>56</b>
<b>BULGULAR</b>	<b>71</b>
<b>TARTIŞMA</b>	<b>98</b>
<b>SONUÇLAR</b>	<b>117</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>119</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>134</b>

## **TABLO LİSTESİ**

- Tablo-1:** Yara iyileşmesine katılan büyüme faktörleri
- Tablo-2:** İstatistiksel analiz için kullanılan histopatolojik puanlandırma tablosu
- Tablo-3:** Histopatolojik değerlendirmelerde kullanılan kriterlerin tablosu
- Tablo-4:** Kontrol grubunun değerlendirme günlerindeki kemik iyileşme skorları
- Tablo-5:** Tip-I Kollajen membran uygulanan grubun değerlendirme günlerindeki kemik iyileşme skorları
- Tablo-6:** HA ve Kollajen membran uygulanan grubun değerlendirme günlerindeki kemik iyileşme skorları
- Tablo-7:** HA+Kollajen membran+PRP uygulanan grubun değerlendirme günlerindeki kemik iyileşme skorları
- Tablo-8:** Her 4 grubun 10. gündeki kemik iyileşme skorlarının karşılaştırılması
- Tablo-9:** Her 4 grubun 21. gündeki kemik iyileşme skorlarının karşılaştırılması
- Tablo-10:** Her 4 grubun 45. gündeki kemik iyileşme skorlarının karşılaştırılması
- Tablo-11:** Her 4 grubun 90. gündeki kemik iyileşme skorlarının karşılaştırılması
- Tablo-12:** İkişerli bağımsız grupların istatistiksel analizi

## RESİMLER

- Resim-1:** Rezorbe olabilen Tip-I Kollajen membranın ticari formu
- Resim-2:** Hidroksiapatit granülleri içeren greft materyali+ Rezorbe olabilen Tip-I Kollajen membranın ticari formu
- Resim-3:** Hidroksiapatit granülleri içeren greft materyali+ Rezorbe olabilen Tip-I Kollajen membranın ticari formu+ Hazırlanmış PRP süspansiyonu
- Resim-4:** Sodyum sitrat tüpündeki rat kanı
- Resim-5:** Santrifüj işlemi
- Resim-6:** Santrifüj cihazı
- Resim-7:** Deney hayvanlarının anestezisinde kullanılan anestezik maddeler.
- Resim-8:** Cerrahi prensiplere uygun olarak hazırlanmış operasyon bölgesi.
- Resim-9:** Künt diseksiyon ile femurun operasyon için hazır hale getirilmesi.
- Resim-10:** Femurda oluşturulan kemik defekti
- Resim-11:** I. Grup (Kontrol grubu)
- Resim-12:** II. Grup (Tip-I Kollajen Membran, Denticol<sup>R</sup> uygulanan grup)
- Resim-13a:** III. Grup (Tip-I Kollajen Membran, Denticol<sup>R</sup>+ Hidroksilapatit, Apatos<sup>R</sup> uygulanan grup)
- Resim-13b:** III. Grup (Tip-I Kollajen Membran, Denticol<sup>R</sup>+ Hidroksilapatit, Apatos<sup>R</sup> uygulanan grup)
- Resim-14:** IV. Grup (Tip I Kollajen Membran, Denticol<sup>R</sup>+ Hidroksilapatit, Apatos<sup>R</sup> + PRP uygulanan grup)
- Resim-15:** Bölgenin suture edilmiş postoperatif görüntüsü.
- Resim-16:** Sakrifiye edilen ratların çıkartılan femuru.
- Resim-17:** Grup I'in 10. gündeki histopatolojik görünümü.
- Resim-18:** Grup I'in 21. gündeki histopatolojik görünümü.
- Resim-19:** Grup I'in 45. gündeki histopatolojik görünümü.
- Resim-20:** Grup I'in 90. gündeki histopatolojik görünümü.
- Resim-21:** Grup II'nin 10. gündeki histopatolojik görünümü.
- Resim-22a:** Grup II'nin 21. gündeki histopatolojik görünümü.
- Resim-22b:** Grup II'nin 21. gündeki histopatolojik görünümü.
- Resim-23:** Grup II'nin 45. gündeki histopatolojik görünümü.

- Resim-24:** Grup II'nin 90. günde ki histopatolojik görünümü.
- Resim 25:** Grup III'in 10. günde ki histopatolojik görünümü
- Resim 26:** Grup III'in 21. günde ki histopatolojik görünümü
- Resim 27:** Grup III'un 45. günde ki histopatolojik görünümü
- Resim 28:** Grup III'un 90. günde ki histopatolojik görünümü
- Resim 29a:** Grup IV'ün 10. günde ki histopatolojik görünümü
- Resim 29b:** Grup IV'ün 10. günde ki histopatolojik görünümü
- Resim 30:** Grup IV'ün 21. günde ki histopatolojik görünümü
- Resim 31a:** Grup IV'ün 45. günde ki histopatolojik görünümü
- Resim 31b:** Grup IV'ün 45. günde ki histopatolojik görünümü
- Resim 32a:** Grup IV'ün 90. günde ki histopatolojik görünümü
- Resim 32b:** Grup IV'ün 90. günde ki histopatolojik görünümü



## KISALTMALAR

<b>HA</b>	Hidroksilapatit
<b>TCP</b>	Trikalsiyum fosfat
<b><math>\beta</math>- TCP</b>	Beta-trikalsiyum fosfat
<b><math>\beta</math>- TCP/HA</b>	Beta-trikalsiyum fosfat ve Hidroksilapatit karışımı
<b>DBM</b>	Demineralized Bone Matriks (Demineralize kemik matriksi)
<b>BMP</b>	Bone Morphogenetic Protein (Kemik morfogenetik proteini)
<b>EGF</b>	Epithelial Growth Factor
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>FGF</b>	Fibroblast Growth Factor
<b>bFGF</b>	basic-Fibroblast Growth Factor
<b><i>g</i></b>	Merkezkaç Kuvveti
<b>IGF</b>	Insulin-like Growth Factor
<b>IL-1</b>	İnterlökin 1
<b>PDGF</b>	Platelet Derived Growth Factor
<b>TZP</b>	Trombositten Zengin Plazma
<b>PRP</b>	Platelet Rich Plasma
<b>PPP</b>	Platelet Poor Plasma
<b>Rpm</b>	Round Per Minute
<b>TGF</b>	Transforming Growth Factor
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	$\beta$ -Transforming Growth Factor
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Tumor Necrosis Factor $\alpha$
<b>VEGF</b>	Vascular Endothelial Growth Factor
<b>YDR</b>	Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu
<b>YKR</b>	Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu
<b>BF</b>	Büyüme Faktörü
<b>GAG</b>	Glikozaminglikan
<b>PTFE</b>	Politetrafloroetilen
<b>KGF</b>	Keratinosit Growth Factor

## **ÖZET**

### **KEMİK DEFEKTLERİNİN İYİLEŞMESİNDE NON-REZORBE BİYOMATERYALLER İLE, TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA (PRP) VE YÖNLENDİRİLMİŞ DOKU REJENERASYONU (YDR)'NUN ETKİLERİNİN DENEYSEL OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**Dt. Çiğdem Çetin**

Günümüzde yeni teknolojilerin gelişmesiyle, kemik defektlerinin onarılmasında birçok yeni tedavi metodları ve biyomateryaller kullanılmaktadır. Malformasyon, enfeksiyon, travma veya rezeksiyon nedeniyle oluşan oral ve maksillofasiyal bölgedeki kemik defektlerinin yapısal ve fonksiyonel rekonstrüksiyon problemleri, henüz tatmin edici bir şekilde çözümlenememiş olup, modern rekonstrüktif cerrahinin en zor uğraşlarından biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Geniş kemik defektlerinin iyileşmesi amacıyla, çeşitli kemik greftlerinin veya kemik yerine geçen biyomateryallerin kullanımı bazen kaçınılmazdır.

Bu tez çalışmasındaki amacımız; oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan kemik greftlerinden hidroksilapatit, kollajen membran ve son yıllarda kullanılmaya başlanılan trombositten zengin plazmanın osteogenezis üzerine olan etkileriyle beraber, bu materyallerin yabancı doku reaksiyonu, enfeksiyon, fibröz enkapsülasyon, fiziksel ataçman, grefte rezorbsiyon ve biyokompatibilite yönleriyle karşılaştırılmasıdır.

Deneysel çalışmamız 4 aylık 65 adet dişi Wistar albino cinsi rat üzerinde yapılmıştır. 5 rat PRP'nin elde edilişi sırasında kullanılmış, kalan 60 rat ise 20'şerli grup olacak şekilde 3 gruba ayrılmış, ancak bir gruptaki ratların her iki femuru da kullanılarak çalışma ve kontrol grubu elde edilmiş, böylelikle toplamda 80 adet preparat elde edilmiştir. Deney hayvanlarının anestezisi, 0.1 ml Xylozin Hydrochlorid (Rompun<sup>R</sup>, Bayer, Türkiye) ve 0.2 ml Ketamin' in (Ketalar<sup>R</sup>, Eczacıbaşı, Türkiye) intramusküler enjeksiyonu ile sağlanmıştır. Ratların sağ arka bacağına iç yüzü traşlandıktan sonra, antiseptik solüsyon ile silindi. Femurları

insizyon yapılarak açığa çıkartıldı ve kemikte 10x3x2 mm ebadında defekt oluşturuldu.

İlk 20 ratın sol femurlarına yalnızca Tip-I kollajen membran (Dentico<sup>R</sup>) uygulanırken, kontrol grubu olarak da aynı gruptaki ratların sağ femurlarına kemik kavitesi açılarak boş bırakıldı. Burada Kontrol grubu “1. çalışma grubu”, sol femura uyguladığımız Tip-I kollajen membran (Dentico<sup>R</sup>) grubu ise “2. çalışma grubu” olarak adlandırıldı.

İkinci 20 adet rat grubu ise, “3. çalışma grubu” olarak adlandırıldı. Bu gruptaki ratların sağ femurlarına hidroksilapatit (HA, Apatos<sup>R</sup>) ve Tip-I kollajen membran (Dentico<sup>R</sup>) uygulandı. Üçüncü 20 adet rat grubu da “4. çalışma grubu” olarak adlandırıldı. Bu gruptaki ratların sağ femurlarına üç materyal birlikte (Hidroksilapatit+Trombositten Zengin Plazma+Tip-I kollajen membran) implante edildi . Postoperatif 10., 21., 45. ve 90. günlerde ratlar sakrifiye edilerek, femurları histopatolojik olarak değerlendirildi. Kesitler incelenerek elde edilen osteogenezis değerleri ile doku rejenerasyonu ve kullanılan materyallerin kemik defektindeki yabancı doku reaksiyonu, enfeksiyon, fibröz enkapsülasyon, fiziksel ataçman ve biyokompatibilite yönleriyle kıyaslamaları, Mann-Whitney-U testi ile istatistiksel olarak analiz edildi.

Sonuç olarak, kullanılan greft materyallerinin benzer düzeyde enflamasyona ve fibrotik yanıtı neden olduğu, doku ile uyumluluklarının (biyokompatibilite) mükemmel olduğu ve yabancı doku reaksiyonuna neden olmadıkları saptandı. Kemik üzerine olan etkileri incelendiğinde ise, tüm gruplarda 21. günden sonra osteogenezis görülürken, membran uygulamasının fibrotik iyileşmeye engel olarak daha ideal bir osteogenezisi gerçekleştirdiği, ancak kombinasyona TZP ilave edilmesinin ise oluşan yeni kemiğin kalitesi ve kantitesi açısından anlamlı derecede bir farklılık gösterdiği, içerdiği büyüme faktörleri nedeniyle iyileşmenin daha hızlı olduğu ve defekt tabanında osteoblastik aktivitenin daha erken süreçte başladığı izlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Hidroksilapatit (HA), Tip-I kollajen membran, Trombositten Zengin Plazma (TZP), kemik defekti, osteogenezis.

## **SUMMARY**

### **THE EXPERIMENTAL INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF NON-REZORBABLE BIOMATERIALS, PLATELET RICH PLAZMA (PRP) AND GUIDED TISSUE REGENERATION (GTR) IN BONE DEFECTS HEALING**

According to the new technological developments, many new treatment methods and biomaterials are used to restore the bone defects. In oral and maxillofacial region; due to malformation, infection, trauma or resection; structural and functional reconstruction problems of bone defects are not satisfactorily dissolved and this can be faced as the most difficult problem in contemporary reconstructive surgery. In some cases, it is inevitable to use bone grafts and biomaterials in order to heal extensive bone defects.

In this study, we investigated the osteogenetic effects of biomaterials (such as hydroxyapatite (HA), collagen membrane and platelet rich plasma) used in oral and maxillofacial surgery. We also aimed to compare these materials in terms of foreign body reaction, infection, fibrotic encapsulation, physical attachment, immune reaction, resorption of the bone grafts and biocompatibility.

Our experimental study were performed on 65 female wistar albino rats at the age of 4 months. Five rats are used to obtain PRP, 60 rats were divided into three equal groups. However, both left and right femurs were used in one group and study and control samples were provided from that group. Therefore, totally 80 samples were acquired. Anesthesia of the rats was induced by the intramuscular administration of 0.1 ml Xylozin Hydrochlorid (Rompun<sup>R</sup>, Bayer, Türkiye) and 0.2 ml Ketamin (Ketalar<sup>R</sup>, Eczacıbaşı, Türkiye). The right legs of the rats were shaved and cleaned with antiseptic solution. The right femurs were surgically exposed and bone defects were prepared in size of 10x3x2 mm.

In first group Type-I collagen membrane was applied to left legs and defects in right legs were left empty. In this group, control group was called “1<sup>st</sup> study group” and membrane applied group was called “2<sup>nd</sup> study group”. In the second group, which was called as “3<sup>rd</sup> study group”, HA (Apatos<sup>R</sup>) + Type-I collagen membrane (Denticol<sup>R</sup>) were applied to right legs. Finally, the third group

was called “4<sup>th</sup> study group” and PRP+ HA (Apatos<sup>R</sup>) + Type-I collagen membrane (Denticol<sup>R</sup>) were applied to right legs.

Rats were sacrificed in postoperative 10<sup>th</sup>, 21<sup>st</sup>, 45<sup>th</sup> and 90<sup>th</sup> days and femurs were evaluated histopathologically. Osteogenesis value, foreign body reaction, infection, fibrotic encapsulation, physical attachment, biocompatibility and resorption of the bone graft were investigated in sections. Results were analysed statistically with Mann-Whitney U test.

In conclusion, it was found that the graft materials we used in our study were having similar inflammatory levels, fibrotic tissue response and excellent biocompatibility with no foreign body reaction. In investigation of bone graft effectiveness on bone tissue, osteogenesis was observed in 21<sup>st</sup> day and Type-I collagen membrane promoted the osteogenesis by preventing fibrotic healing. Using the graft combined with PRP leads a significant difference in both quality and quantity of new bone formation. The growth factor in PRP maintains a faster healing process and as a result of this situation the osteoblastic activity begins in early phases in the basis of bone defect.

Keywords: Hydroxyapatite (HA), Type-I collagen membrane, Platelete Rich Plasma (PRP), bone defects, osteogenesis.

## GİRİŞ VE AMAÇ

Canlı organizmada herhangi bir etken sonucu meydana gelen eksikliğin giderilmesinde ve fonksiyona dönebilmesinde ya da bu eksikliğin organizma tarafından düzenli ve hızlı bir şekilde tamamlanmasına yardımcı olan tüm maddelere “biyomateryal” adı verilir.

İdeal biyomateryalleri elde etmek için uzun süren sayısız araştırmalar yapılmış ve kaybedilen dokuların tekrar elde edilmesi veya kemik defektlerinin tamamen dolmasını sağlayabilecek ideal özelliklere sahip bir materyal bulunamamıştır. Oral ve maksillofasiyal cerrahi ile rekonstrüktif cerrahi uygulamalarında, en çok kullanılan biyomateryal, kemik greftleridir. Kemik greftleri, biyolojik kemik tamirini arttırmak ve destek sağlamak için defektlerin rekonstrüksiyonunda kullanılmaktadır. Hastalık bulaşma, bakteriyel enfeksiyon, viral hastalıkların taşınması (hepatit,HIV), donörden donöre değişen kemik kalitesi, ucuz olmaması, yabancı cisim reaksiyonu oluşturma potansiyeli gibi komplikasyon riskini azaltmak amacıyla, son 30 yıldır sentetik kemik greft materyalleri geliştirilmiştir.

Sentetik materyal olarak; seramik hidroksilapatitler, trikalsiyum fosfatlar, çeşitli metaller ve bunların farklı formlarının kombinasyonları sayılabilir. Bu maddelere “Alloplastik materyaller” denir. Alloplastik materyaller büyük kemik defektleri olduğunda, yapısal desteğe ihtiyaç duyulduğunda önem kazanırlar. Allogreftler osteointegrasyon, osteokondüksiyon potansiyeli gösterirler, ancak osteojenik değildirler.

Defekt alanlarına, bağ dokusu ile epitel hücrelerin göçünü engellemek amacıyla, yönlendirilmiş doku rejenerasyonu (YDR) prensibinden yola çıkılarak, bariyer membranları geliştirilmiştir. Bu membranlar sıklıkla greft materyalleri ile birlikte kullanılmaktadır. Membranlar ile greft materyallerinin birlikte kullanılması, “Kombine Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu Tekniği” (Guided Tissue Regeneration) olarak tanımlanmıştır.

Bu teknikte, bariyer membranların iyileşme bölgesi üzerine yerleştirilmesi ile rejenerasyon potansiyeli olan hücrelerin defekt bölgesine doğru proliferasyonu sağlanarak doku iyileşmesi elde edilir. Membranların diğer önemli bir rolü ise, defekt

üzerinde bir çatı oluşturarak, alttaki pıhtının, hücrelerin ve kan damarlarının gelişimine yardımcı olmasıdır.

Trombositlerin, dolayısıyla içerdikleri büyüme faktörlerinin venöz kandan ayrıştırılması ve az bir miktar plazma içerisinde süspansiyon haline getirilmesi ile Trombositten Zengin Plazma (TZP, Platelet rich plasma, PRP) elde edilir. Yara yerine TZP uygulanmasındaki amaç, yara iyileşmesinin başlatıcıları olan büyüme faktörlerinin etkilerinin artırılmasıdır. Ayrıca TZP, doğada varolan rejenerasyon mekanizmalarından ve trombositlerde bulunan büyüme faktörlerinden yararlanarak, iyileşmeyi hızlandırmaktadır.

Trombositler pıhtı oluşumu sırasında ve sonrasında, yara iyileşmesinde önemli rol oynar, büyüme faktörleri salgılayarak yara iyileşmesini başlatır ve desteklerler. Son yıllarda geliştirilen trombositten zengin plazma (TZP) uygulamaları, doğal pıhtıdaki eritrosit/ trombosit oranını tersine çevirerek, büyüme faktörlerinin konsantre halde cerrahi alana uygulanmasını sağlamakta ve doku rejenerasyonunu hızlandırmaktadır. Trombositler; salındığı zaman hücre mitozu, kollajen yapımının artması, hasarlı bölgeye diğer hücrelerin göçü, damarsal iç büyümenin başlatılması ve hücre diferansiasyonunu sağlayan önemli büyüme faktörlerine (BF) sahiptirler. Kemik greftinde trombosit konsantrasyonunu artırmak ve buna bağlı olarak BF'lerinin yoğunluğunun da artırılması, daha hızlı ve kaliteli bir kemik elde etme konusunda mantıklı görünmektedir. Bu faktörler, sistemik yoldan etki edebileceği gibi, lokal olarak da fonksiyon göstermektedirler.

Bu çalışmamızdaki amacımız;

- Kemik dokusu içinde de yer alan hidroksilapatitin (HA) defekt bölgesinde iskeletsel bir yapı oluşturması için osteokondüktif özelliğini kullanmak,
- Trombositten zengin plazmanın (PRP) yeni kemik formasyonu oluşumunu hızlandırma ve doku rejenerasyonunu sağlamada, büyüme faktörü kaynağı özelliğinden yararlanmak,
- Bariyer membranların iyileşme bölgesine yerleştirilmesi ile fibrotik dokuların defekt alanına göçünü engellemek, rejenerasyon potansiyeli olan hücrelerin bu alana proliferasyonunu sağlamak ve osteogenezisi hızlandırmak,

- Doku rejenerasyonlarının yanısıra kemik defektinde yabancı doku reaksiyonu, enfeksiyon, fibröz enkapsülasyon, fiziksel ataçman ve biokompatibilite yönleriyle histopatolojik ve istatistiksel açıdan her 3 materyali deneysel olarak karşılaştırmaktır.



## GENEL BİLGİLER

### KEMİK ANATOMİSİ VE HİSTOLOJİSİ

Kemik, yetişkin iskeletinin en önemli yapısını oluşturur. Yumuşak dokulardan meydana gelmiş yapıları destekler. Aynı zamanda kan hücrelerinin yapıldığı kemik iliğinin de kaynağıdır. Ayrıca kalsiyum, fosfat ve diğer iyonların vücut sıvılarındaki konsantrasyonlarını sabit düzeyde tutabilmek için, bu önemli iyonların kontrollü olarak salıverilmelerini ya da depolanabilmelerini de sağlar (1,2).

Kemik dokusu yerine kullanılan biyomateryaller, kemik yapısına yakın görünümünde olmaktadır. Bu amaçla, doğal kemik yapısının ve kemik defektlerinin iyileşme mekanizmasının öncelikle iyi bilinmesi gereklidir.

Kemik dokusu makroskobik olarak:

\*Kompakt (kortikal, lameller) kemik ve

\*Spongioz (kansellöz, süngerimsi) kemik olmak üzere iki farklı yapıdan oluşmaktadır.

Kemik dokusu mikroskobik olarak incelendiğinde, iki temel yapı ile karşılaşılır. Bunlar; hücreler ve hücreler arasında yer alan kemik matriksidir (3).

#### I-Kemik Hücreleri

\***Osteositler:** Osteoblastların mineral matriks ile çevrelenmeleri sonucu meydana gelirler ve matriks lamelleri arasında bulunan lakünalar içine yerleşirler. Her lakünada sadece bir osteosit bulunur. Komşu osteositler sitoplazmik uzantıları ile birbirleriyle alışverişte bulunurlar. İnsan kemiklerinde milimetreküpteki osteosit sayısı 20.000-30.000 kadardır. Osteositler osteoblastlara nazaran, elips şeklindedir. Kemik matriksinin devamlılığı için aktif rol oynar, kan kalsiyum düzeyini dengede tutar ve besin maddelerinin hücre geçişini sağlar, ancak fonksiyonlarını kayb ettikleri zaman kemik rezorpsiyonu başlar (1-8).

\***Osteoblastlar:** Kemik matriksinin organik bileşenlerinin sentezi, rezorpsiyonu ve mineralizasyonunda rol oynarlar. Kemik yüzeylerinde epitelyum hücrelerini andıran bir şekilde yanyana dizilirler. Bazofilik sitoplazmalı ve kemik yüzeyinin distaline doğru eksentrik konumlu çekirdekleri tipiktir. Osteoblastlar

kemik yapıcı hücreler olup, osteoid dokuyu, kemik matriksini oluşturan tip I kollogeni, glikoproteinleri, proteoglikanları ve osteokalsin, osteonektin, osteopontin, osteoprotegerin gibi bazı proteinleri salgırlar. Kemik yapıcı görevleri sona erdiğinde, oluşturdıkları matriks içinde kalarak osteositlere dönüşürler. Ayrıca kemik rejenerasyonundaki görevleri nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekmeye devam eden, bone morphogenetic protein (BMP), TGF- $\beta$ , IGF-I, IGF-II, interleukin-1, PDGF gibi sinyal proteinleri de salgırlar. Osteoblastların yüzeyinde çeşitli hormonlar, vitaminler ve sitokinler bulunur. Osteoblastlar yeni sentez edilmiş matriks ile sarıldığında “osteosit” adını alır. Hücrelerin yüzeyi alkale fosfataz aktivitesi bakımından oldukça zengindir. Hücrelerin ve sitoplazmik uzantıların etrafında matriksin oluşması, laküna ve kanalları belirgin bir hale getirir. Osteoblastlar ile daha önce meydana gelmiş kemik matriksi arasında “osteoid” adını alan yeni, ancak henüz kalsifiye olamamış matriks oluşur. Bu olaya “kemik apozisyonu” denir (1-11).

**\*Osteoprogenitör hücreler:** Periosteum ve endosteumda bulunan, embriyonal mezenkim hücrelerin farklılaşması sonucu oluşan ve bir uyarı geldiğinde mitozla çoğalarak osteoblastlara dönüşen öncü hücrelerdir. Osteoprogenitör hücreler, iğ şeklinde ve oval çekirdekli dirler. Bu hücreler kemik büyümesi sırasında son derece aktif rol oynarlar (2,5).

**\*Kemik sınır hücreleri:** Kemiklerde inaktif bölgelerde bulunan yassı epitelyum hücrelerine benzer hücrelerdir.

**\*Osteoklastlar:** Osteoklastlar, 4 ile 40 arasında değişen sayıda çekirdekleri ve sitoplazmalarında da birkaç adet mitokondrileri bulunan kemik yıkıcı hücrelerdir. Çekirdekleri, hücrenin düzgün kontürlü üst yüzeyine yakın konumlanmıştır. Osteoklastlar düzensiz sınırları ve osteoid dokunun olmayışı ile karakterize, rezorbe kemik yüzeylerinde tek veya gruplar halinde görülebilen, büyük ve oldukça dallanmış hücrelerdir. Bu hücreler, kemik rezorbsiyonunun başladığı bölgelerde enzimatik olarak açılmış howship lakünasında lokalizedirler. Osteoklastlar kökenini kandan alan monositlerin birleşmesi sonucu oluşturdıkları “mononükleer fagositik

sistemin” içinde de yer alırlar. Ayrıca İnterlökin-1,-3,-6 ve -11 tumor necrosis factor- $\alpha$  ve transforming growth factor- $\alpha$ 'nın, osteoklast oluşumunu düzenleyen faktörler olduğu da düşünülmektedir. Osteoklastlar salgıladıkları asit fosfataz ile kemiğin mineral matriksini yıkar, lizozomal enzimler aracılığı ile de kollojen ve diğer organik matriks yapıları sindirerek, rezorbsiyonu gerçekleştirirler (1-4,6- 9,11).

## **II- Hücreler arası doku (kemik matriksi)**

Kemik matriksi, organik ve inorganik yapılardan meydana gelir ve % 10-29'unu su, % 60-70'ini inorganik yapı (kemik tuzları) ve % 30-40'ını da organik yapı oluşturur.

Organik yapının % 90-96'sı, bağ dokusunun ana bileşeni olan ve tüm vücut proteinlerinin 1/3'ünü oluşturan kollojendir. Kemik kollojeni diğer bölgelerde görülen kollojenden, mineralize olması ve birbirlerine paralel seyreden lamellae denilen bantlar şeklinde döşenmesi yönünden farklılık gösterir. Kemiğin organik yapısında kollojen dışında, non-kollajenöz proteinler olarak da adlandırılan proteoglikanlar ve glikoproteinler bulunur. Proteoglikanlara örnek olarak çeşitli glikozaminglikanlardan (GAGs) oluşan, versican decorin biglycan, fibromodulin, osteoglisin ve osteoaderin verilebilir. Glikoproteinler arasında ise osteonektin, trombospondins, fibronektin, vitronektin, fibrilin, osteopontin ve kemik sialoproteini sayılabilir. Non-kollojenöz proteinlerin büyüme faktörlerinin salınımında, hücrelerin inorganik matrikse tutunmalarında ve organik matriksin kalsifikasyonunda etkili oldukları ileri sürülmüştür (8,9,11-13).

İnorganik matriks olarak da adlandırılan kemiğin mineralize kısmı, kemiğin kuru ağırlığının % 60-70'ini oluşturmakla birlikte, kemik dokusunun direncinde ve sertliğinde de önemli bir rol oynar. Ayrıca vücuttaki kalsiyumun % 99'u, fosforun %85'i, sodyum ve magnezyumun yaklaşık % 40-60'ı iskelet sistemindedir. Bunların yanı sıra, bikarbonat, sitrat ve potasyum da bulunur. Kemiğin mineralize kısmının

büyük çoğunluğu kalsiyum, fosfat ve hidroksil iyonlarından oluşmuş kristal yapıdaki hidroksilapatittir [ $C_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ]. Röntgen ışını “difraksiyon yöntemi” ile yapılan çalışmalarda, kalsiyum ve fosforun hidroksilapatit kristallerini meydana getirdiği görülmüştür. Kemik hidroksilapatit kristalleri, kollojen liflerin yanında amorf bir madde ile çevrili halde lokalizedirler. Hidroksilapatitin yüzeyindeki iyonlar suya doyurulduğu için, kristalin etrafı su ve iyonlardan oluşmuş bir tabaka ile kaplanmıştır. Hidrasyon kabuğu adı verilen bu tabaka, vücut sıvıları ile kristal arasındaki iyon alışverişini kolaylaştırır. İnorganik matriks, hemostaz için gerekli mineralleri sağlayarak, fizyolojik bir rol üstlenir. İskelet sistemindeki kalsiyum, fosfat ve magnezyum gibi minerallerin dengesi, D3 vitamini, paratiroid hormon ve kalsitonin tarafından düzenlenir (1,3,6-8,11).

Hidroksilapatit ile kollojen lifleri arasındaki ilişki, kemiğin özelliği olan sertliğinden ve dayanıklılığından da sorumludur (1).

### **Periosteum ve Endosteum**

Kemiğin iç ve dış yüzeyleri, kemiği oluşturan hücrelerden ve bağ dokusundan meydana gelir. Bunlardan dış yüzeyine periosteum, iç yüzeyine ise endosteum denir.

Periosteumun dış tabakası, fibroblast içeren kalsifiye olmayan düzensiz sıkı bağ dokusu yapısındadır. Kollojen lifler bakımından da zengindir. Demetler halinde periosteal kollojen liflerden oluşan sharpey lifleri, matriks içine girerek periosteumun kemiğe bağlar. Hücreden daha zengin olan periosteumun iç tabakası, osteoblastları oluşturabilme potansiyeline sahip yassı hücreleri içerir. Bu hücreler, kemiğin büyümesi ve onarılmasında önemli rol oynarlar.

Endosteum ise, kemiğin içindeki bütün boşlukları örter ve tek kat osteoprogenitör hücreler ile çok az miktarda bağ dokusundan oluşur. Bu nedenle, endosteum periosteumdan incedir. Kompakt kemiklerin iç yüzleri ile spongios kemikleri oluşturan trabeküllerin dış yüzeyleri endosteum ile örtülüdür. Kemik dokusuna yakın kısımda tek sıra halinde osteoprogenitör hücreler bulunur. Endosteum içinde osteoblastlar ve daha az osteoklast hücreleri yer almaktadır.

Periosteum ve endosteumun başlıca görevleri; kemik dokusunun beslenmesi, büyümesi ve onarılması için gerekli olan yeni osteoblastları aralıksız olarak

sağlamaktır. Bu nedenle cerrahi işlemlerde periosteum ve endosteumun korunmasına çok dikkat edilmelidir (1,2).

## **KEMİK TİPLERİ**

Kemiğin mikroskopik olarak incelenmesi sonucu, iki farklı tip kemik bulunduğu ortaya konmuştur.

**I-Primer Kemik:** Olgunlaşmamış, nonlameller ya da kaba lifli kemik olarak da adlandırılırlar. Primer kemik; embriyolojik gelişim sürecinde, kırık ve diğer nedenlerle ilişkili onarım işlemlerinde ilk ortaya çıkan kemik türüdür. Geçicidir ve yetişkinlerde, kafadaki yassı kemik eklemleri, alveol kemiği ve tendonların kemiğe tutunduğu yerler gibi birkaç yer dışında, yerini sekonder kemiğe bırakır. Sekonder kemiğe oranla daha az mineral ve daha fazla osteosit içerir. Yeniden yapılanma ile de kortikal veya kansellöz kemiğe dönüşür (1).

**II-Sekonder Kemik:** Olgun ya da lameller kemik olarak da adlandırılırlar. Genellikle yetişkinlerde görülen kemik tipidir. Sekonder kemiğin lameller halinde organize olmuş kollojen lif dağılımının aksine, primer kemik ise rastgele ve değişik yönlere dağılmış ince kollojen lifleri ile özellik kazanmaktadır (1)

Erişkinlerde sadece sekonder kemik dokusu bulunur. Sekonder kemik dokusunun spongioz kemik (süngerimsi, kansellöz) ve kortikal kemik (kompakt, lameller) olmak üzere iki türü vardır.

### **a) Spongioz kemik (süngerimsi, kansellöz)**

Kısa ve uzun kemiklerin metafiz ve epifizlerinin iç kısımları ve yassı kemiklerin iç yüzeylerinde bulunur. Birbiriyle anastomozlaşan ince kemik trabeküllerinden oluşmuştur. Trabeküllerin arasında kemik iliği ile dolu, düzensiz şekilli boşluklar vardır. Bunlar kemik iliğinde bol bulunan kan damarları ve sitoplazma uzantıları aracılığıyla besin maddelerini alırlar (1).

### **b) Kortikal kemik (kompakt, lameller)**

Tüm kemiklerin dış yüzeylerinde bulunur. Nonlameller kemikten yeniden yapılanma sonucu meydana gelir. Yassı kemiklerin iç ve dış tabakalarını, uzun kemiklerin dış yüzünü oluşturur. Kortikal kemiğin ana yapısı, ‘‘Haversian Sistem’’ olarak adlandırılan osteondur. Osteon; uzunlamasına çizgili vasküler haversian kanalları saran silindirik şekilli vasküler kemikten oluşmuştur. Horizontal dizimli volkman kanalları komşu osteonları birleştirir. Kortikal kemiğin mekanik gücü, osteonların sıkı dizilimine bağlıdır (1).

## **KEMİK OLUŞUMU:**

Kemik iki yolla oluşur:

- 1) Osteoblastların salgıladıkları matriksin doğrudan doğruya mineralizasyonu ile (intramembranöz kemikleşme)
- 2) Daha önce varolan kıkırdak matriksinin üzerine kemik matriksinin çökmesi ile (endokondral kemikleşme)

### **1) İntramembranöz kemikleşme**

Kafatası, sternum, pelvis gibi yassı kemiklerde, yüz kemiklerinde, mandibulanın prosesus koronoideus ve simfizis dışındaki bölgelerinde meydana gelir. İntramembranöz kemikleşme, hücrelerin uzantıları ile temas halinde oldukları vasküler yönden zengin mezenkimal dokuda gerçekleşir. Kemiğin oluşacağı yerde, öncelikle fibröz bir membran oluşur ve burada mezenkimal hücreler farklılaşarak osteoblastlara dönüşürler. Bu dönüşümde, TGF- $\beta$  adı verilen büyüme faktörü ailesinin üyelerinden olan BMP’lerin etkili olduğu kabul edilmektedir. Osteoblastlar daha sonra kalsifiye olacak olan osteoid dokuyu oluştururlar. Küçük adacıklar şeklinde başlayan kalsifikasyon odakları zamanla birleşerek trabekülleri, yani olgunlaşmasını tamamlamış olan primer kemiği oluştururlar ve ağısı trabeküler yapı sağlanır. Bağ dokusunun kemikleşmeye katılmayan bölümleri ise, intramembranöz kemiğin periosteum ve endosteumunu meydana getirir (1,7,8,10,11).

## 2) Endokondral kemikleşme

Endokondral kemikleşme, iskeletin büyük kısmını oluşturan uzun ve kısa kemiklerde ve vertebralarda görülür. Uzun kemiklerin gövdesini oluşturan kısmına “diyafiz”, eklem uçlarına da “epifiz” adı verilir. Kemiğin oluşacağı yerde, mezenkimal hücreler farklılaşarak hyalin kıkırdaktan kemiğin kaba bir modelini oluştururlar.

Osteoprogenitör hücreler, kıkırdağımsı septumun üstünü kemik matriksi ile kaplayan osteoblastlara dönüşür. Böylece kalsifiye kıkırdak dokusu septumları, kemikleşmenin başlamasına destek olur. Yeni meydana gelen kemik yapısının içinde kalan kondrositler dejenere olur, bu nedenle kıkırdak matriksinin devamlılığını sağlama yetenekleri ortadan kalkar, kalsiyum çökmeye başlayınca kıkırdak matriksi de kalsifiye olur (1).

Her iki yolla da, ilk ortaya çıkan kemik dokusu, primer ya da olgunlaşmamış kemik dokusudur. Bu geçicidir ve kısa bir süre sonra yerini sekonder kemik dokusu alır. Kemiğin yapımı ve yıkımı sadece büyüyen kemiklerde olmayıp, yetişkinlerde de hızını oldukça azaltarak hayat boyu devam eder (1).

Endokondral kemikleşme sürecinde, mezenkimal hücrelerin osteositler değil de kondrositlere farklılaşmasında, Bone Morphogenetic Protein’lerin (BMP) ve lokal olarak sentez edilen anjiojenik veya anti-anjiojenik faktörlerin konsantrasyonlarının etkili olduğu ileri sürülmektedir. Daha açık bir anlatımla, kemik oluşumu sırasında mezenkimal hücrelerin kondrojenik veya osteojenik yolu izlemeleri, ortamda bulunan BMP’nin dozuna ve anjiojenik özelliği bulunan basic fibroblast growth factor (bFGF) varlığına bağlıdır (11).

Endokondral ve intramembranöz yolla oluşan kemiklerin biyokimyasal, morfolojik veya fonksiyonel yönden farklı olduğu yönünde hiçbir bulgu yoktur. Ancak erişkinlerde kemik iyileşmesi sırasında görülen olaylar ile embriyonel hayattaki kemikleşme aşamaları ile aynı olmayabilir (11).

### **Kemik İyileşmesinin Temelleri**

Kemik; bir çatı içerisinde entegre olmuş, metabolik olarak hücrelerden oluşmuş dinamik, biyolojik yönden aktif bir dokudur. Bu özelliği dikkate alındığında, kırık kemik hattında veya defekt sahasında iyileşme, çok sayıda biyokimyasal, biyomekanik, hücresel, hormonal ve patolojik süreçler tarafından etkilenir. Kemik yapıda depozisyon, rezorbsiyon ve remodelling (yeniden şekillenme) süreçleri devamlılık arz eder ve iyileşme sürecini kolaylaştırır (14).

### **Kemik Onarımı**

Kemik onarımı süreklilik gösteren ve 3 fazda gerçekleşen bir olaydır:

Birinci Faz: Hematom oluşumudur. Defekt bölgesinde oluşan kan pıhtısı bölgede fibrin ağı, fibroblastlar ve yeni kapiller yapıların gelişimine olanak sağlar. Bağ dokusu haline gelmiş olan yapı, on gün içerisinde ortaya çıkmış olur. Periostta bulunan inaktif hücreler travmanın etkisiyle uyarılarak, kemik kallusunu oluşturacak olan yeni kemik yapımına başlarlar.

İkinci Faz: Kallus formasyonudur. Bu fazda, primer ve sekonder kallus oluşur. Birinci haftanın sonunda yumuşak doku kallusunun içerisinde, yeni kemik ve kırıkta gelişimi gözlenir. Oluşan düzensiz kemik yığılımı, primer kallustur. Bu doku defekt ya da fraktür bölgesinde birleştirme işlemini yerine getirirken, sekonder kallus oluşumunu da sağlar. Sekonder kallus, havers sistemini içerir ve 20-60 günde oluşur.

Üçüncü Faz: Organizasyon fazıdır. Kallus olgun kemik ile yer değiştirmeye başlar. Mekanik kuvvetlerin önem kazanmaya başladığı bu dönemde, trabeküller fonksiyonel gereksinimleri karşılayacak şekilde düzenlenir (15).

### **Kemik İyileşmesi Süreci**

Kemik İyileşmesinin 3 evresi vardır. Bunlar:

- 1) Erken inflamatuvar dönem
- 2) Tamir dönemi ve
- 3) Yeniden yapılanma fazıdır.

#### 1) Erken İnflamatuvar Dönem



İnflamatuvar fazda, ilk birkaç saat ile birkaç gün içinde defekt bölgesinde hematom gelişir. Bu hematom, defekt iyileşmesi için önemli birçok faktörün rezervuar özelliğini taşır. Bu esnada, trombositlerden transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) ve platelet derived growth factor (PDGF) gibi, hücre proliferasyonu ve farklılaşmasında önemli rol oynayan faktörler salgılanır. İnflamatuvar hücreler (makrofajlar, monositler, lenfositler ve polimorfonükleer hücreler) ve fibroblastlar, prostoglandin etkileşimi ile kemiğe infiltre olurlar. Bu aşamada defekt bölgesinde granülasyon dokusu oluşumu, vasküler doku ve mezenkimal hücre göçü başlar (16).

### 2) Tamir Dönemi

Bu fazda ise fibroblastlar, vasküler göçe yardım etmek üzere stromaya yerleşirler. Vasküler göç arttıkça, kollojen matriks belirginleşir ve bu esnada osteoidler oluşur. Takiben mineralizasyon ve defekt alanında yumuşak kallus meydana gelir. İlk 4-6 haftalık süre içinde oluşan bu kallusun, basınca karşı direnci düşüktür (16).

### 3) Yeniden Yapılanma Fazı

Defekt alanında kallus oluşumu başladığı zaman, remodelling aşaması başlar. Oluşan büyük defekt kallusu, normal kemik iliği boyutuna ulaşıncaya kadar osteoblastlar tarafından yıkılır. Bunun sonucunda havers sistemi bulunan lameller kemik yapısı oluşur. Bu süreç yıllar boyu devam edebilir (16).

### **Kemik İyileşmesi Komplikasyonları**

Ağız kavitesi ve çeneler bölgesi vücudun giriş kapılarından biri olup, dış ortamla direkt temas halinde olan ve sosyal hayatı etkileyen önemli bir yapıdır. Operasyon sonrasında bu bölgede oluşan defektle, hastalarda fonksiyon, fonasyon, estetik ve sosyal açılardan problemler oluşabileceği için, postoperatif iyileşme çok önemlidir. Ağız bölgesini meydana getiren oral mukozanın destek dokusu olan kemik yapının, değişik oranda onarım kapasiteleri vardır. Bu iyileşme oranının farklı gelişmesi, yara iyileşmesini olumsuz etkileyebilmektedir. Kemik defektlerinin iyileşmesi sırasında karşılaşılan en önemli sorunlardan biri de, kemik iyileşmesinin istendiği biçimde gerçekleşmemesidir (17).

İyileşme bozukluğuna, özellikle bikortikal kemik defektlerinde sıkça rastlanabilir. Kemik defektlerinin iyileşme sürecini engelleyen faktörlerden biri de, mevcut kemik boşluğunun yumuşak bağ dokusu hücreleri tarafından doldurulmasıdır (18). Karşımıza çıkabilecek bu tür defektlerin iyileşmesi sırasında, olabilecek bağ dokusu migrasyonu kemik morfolojisini olumsuz yönde etkileyebilir. Oluşan bu komplikasyon, hastanın daha uzun süre sıkıntı çekmesine neden olur ve hasarlı bölgenin revizyon amacı ile tekrar opere edilmesi zorunluluğunu getirebilir.

Kemik iyileşmesi bağ dokusuna özgü bir olay olup, bu iyileşme osteoblastları içeren hücresel proliferasyonu gerektirir (15). Bir kemik defektindeki iyileşmenin ilk aşaması, pıhtı oluşumudur. Oluşan bu pıhtı birkaç haftada osteojenik özelliği olan granülasyon dokusuna, daha sonra da yeni kemik dokusuna dönüşür. İyileşmenin tamamlanması ise, endost veya kemik iliğinden diferansiye olan osteoblastlarla sağlanır. İyileşme sürecinin tam olmadığı defektlerde, boşluğun skatrisyel bağ dokusu ile dolduğu ve kemik iyileşmesinin yıllar sonra bile tam olarak sağlanmadığı özellikle; hem iç hem de dış korteksin ortadan kalktığı büyük kemik defektlerinde kavitenin fibrotik doku ile dolduğu deneysel olarak gösterilmiştir (18). Defekt, istenmeyen bir şekilde skatrisyel bağ dokusu ile dolabilmektedir. Defektin dolması, iyileşmenin bittiği anlamına gelmemektedir. Spontan olarak iyileşmeye bırakılan kemik defektlerinde, kavitenin fibröz konnektif doku ile dolması ve başlangıçta yeterli yeni kemik formasyonunun meydana gelememesi, son yıllarda greft materyallerine duyulan gereksinimi arttırmıştır. Büyük kemik defektleri söz konusu olduğunda, kemik konturlarının normal morfolojisinin korunması ve iyileşmenin bağ dokusu migrasyonu olmadan sağlanması, oldukça önemlidir (19).

### **Kemik Dokusunun İncelenmesi**

Kemik dokusu sert bir doku olduğundan diğer dokulardan farklı incelenir, bunun için iki yöntem vardır:

**a-Dekalsifikasyon Yöntemi:** Kemik dokusunu kimyasal maddelerle, özellikle asitlerle, kesilebilir düzeyde yumuşatan bir yöntemdir. Yumuşamadan sonra, bilinen yöntemlerle kesilerek inceleme yapılır.

b-Masserasyon Yöntemi: Kemığın kurutularak incelenmesi yöntemidir. Kemik kuruma evresinde organik maddeler çürütülür. Daha sonra kemikten kesilen küçük parçalar, bileme ya da zımpara ile iyice inceltir. İnceltirilen parça lam-lamel arasına konur ve incelenir, çürüyen organik maddeler (kanalcıklar ve lakunalar) boş olacağından bu bölgeler siyah renkte görülürler (2).

## **BİYOMATERYALLER**

Biyomateryaller 3 ana grup altında klasifiye edilmektedir. Bunlar;

A-Biyotolere maddeler

B-Biyoinert maddeler

C-Biyoaktif maddeler

### **A-Biyotolere Maddeler:**

Kemik dokusu içine implante edildiklerinde, iyileşme süresi içerisinde etraflarında fibröz bir bağ dokusu oluşur ve materyal, kemik dokusu ile doğrudan temas halinde değildir. Biyotolere materyal ile “**uzak osseointegrasyon**” sağlanır. Burada mesafe osteogenezisi sözkonusudur.

Fraktürlerin fiksasyonunda kullanılan Cr-Co esaslı miniplaklar ve vidalar bu gruba dahildir (20,21).

### **B-Biyoinert Maddeler:**

Bu maddeler kemik dokusu içerisine yerleştirildiklerinde iyileşme süresinde etraflarında fibröz bağ dokusu oluşmaz ve kemik dokusu ile arasında doğrudan temas meydana gelir, “**temas veya kontakt osteogenezisi**” sözkonusu olur. Yabancı iyon salınmadığı için, materyal ile kemik arasında reaksiyon olmaz. Titanyum ve alüminyum oksit seramikler, bu gruba örnek gösterilebilirler (20,21).

### **C-Bioaktif Maddeler:**

Kemik dokusu içerisine yerleştirildiklerinde, iyileşme süreci içerisinde doku ile kimyasal olarak bağlanırlar, yani “**birleşme osteogenezi**” sözkonusu olur. Bu maddelerin temel amacı, yerleştirildikleri defekt alanında kemik hücrelerinin mitotik aktivitesini artırarak, iyileşmeyi ve yeni kemik oluşumunu hızlandırmaktır. Hidroksilapatit (HA) ve trikalsiyum fosfat (TCP) bu gruba örnek gösterilebilir (20,21).

Bunlar içinde özellikle alloplastik materyallerin biyoteknolojilerinde oldukça hızlı ilerlemeler kaydedilmiş ve bu materyallerin kemiğe doğrudan ataçmanı, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon özellikleri üzerinde durulmuştur.

Geliştirilen alloplastik materyaller arasında seramikler, HA, trikalsiyum fosfat, kalsiyum sülfat ve sentetik polimerler sayılabilir. Alloplastik materyallerin kullanım amacı, kemiğin implant içine doğru gelişimine izin veren nonrezorbe bir matriks oluşumunu sağlamaktır (20,21).

“Greft” terimi canlı dokunun direkt transplantasyonu anlamında kullanılırken, “implant” terimi cansız dokuların transplantasyonunda kullanılmaktadır. Bu anlamda implant materyalleri grubunda; canlılığını yitirmiş allojenik greft, hayvanlardan elde edilen organik ve inorganik cansız materyaller bulunmaktadır. Hastalık bulaşma gibi komplikasyon riskini azaltma amacıyla son 30 yıldır sentetik kemik grefti materyalleri geliştirilmiştir (22,23).

Sentetik materyal olarak; seramik hidroksilapatitler, trikalsiyum fosfatlar, çeşitli metaller ve bunların farklı formlarının kombinasyonları sayılabilir. Bu maddelere “Alloplastik materyaller” denir ve büyük kemik defektleri olduğunda, yapısal desteğe ihtiyaç duyulduğunda önem kazanırlar (22,24-26).

Alloplastik materyaller, erken kemik rejenerasyonunu osteokondüksiyon yoluyla sağlamaktadırlar. İyileşme periyodunun başında defekti dolduran ve daha

sonra rezorbe olan bir alloplastik materyal, ideal bir kemik materyali olarak görülmektedir (22,24-26).

Doku uygunluğu açısından ideal olan ve iyileşme kapasitesi yüksek olan otojen doku greftlerinin bazı dezavantajları da dikkate alınmalıdır. İlk ve en başta gelen husus, otojen dokunun elverişli olmasıdır. Greftin alındığı donör alan için, ikinci bir cerrahi prosedür gerektirmektedir. Otojen greftlerin doku uygunluğu avantajı, mevcut biyolojik uyumlu alloplastların halen başaramadığı bir olaydır. Alloplastik materyaller biyolojik olarak hareketsizdir. Lokal doku reaksiyonu, alıcı dokunun ara yüzünde meydana gelebilir. Alloplastik materyallerin başarı veya başarısızlığı; kimyasal birleşimi, biyostabilitesi, fiziksel formu, mekanik özellikleri, implant yapılacak olan saha gibi bir çok etkene bağlıdır (23). Allograftlar; aynı tür içinde bir bireyden alınıp diğer bir bireye greftin implante edilmesi anlamını taşır ve osteointegrasyon ve osteokondüksiyon potansiyeli gösterirler, ancak osteojenik değildirler (20,25-28).

Otojen kemik greftleriyle karşılaştırıldığında alloplastik implantların birçok avantajı vardır. En göze çarpan avantajı, donör sahaya ihtiyaç duyulmamasıdır. Hastada sekel oluşturmama ve operasyon süresinin azalması da önemlidir. Operasyon süresinin azalması ve 2. bir operasyon alanının olmaması hasta için tercih edilen bir seçenektir. Ek bir operasyon alanı ve anestezi süresi de oluşmaz (22,24-26).

Vücutta genel olarak bulunan maddelerin, implantın kimyasal yapısında bulunması implantın başarı oranını artırır. İskelet sistemi primer olarak kalsiyum, yumuşak dokular da hidrokarbondan oluşur (23). Alloplastlar genel olarak, karbon ve kalsiyum içerirler. Periyodik tabloda, karbonun atom numarası 6'dır. Çevresinde kimyasal ve fiziksel özellikleri bakımından en uygun madde, silikondur (atom numarası 14 ve periyodik tabloda karbonun tam altındadır). Yumuşak doku augmentasyonunda implantın uygun manüplasyonuna izin verir. Kalsiyumun atom numarası 20'dir ve çevresindeki en uygun element, hemen altındaki atom numarası 22 olan titanyumdur. İskelet sistemi, titanyumun implant olarak kullanımına izin

verir. Bu iki elementin karbon ve kalsiyum ile benzerliği dolayısıyla, vücutta onlara karşı herhangi bir yabancı madde reaksiyonu gelişmez. Bu nedenle biyoyumlu implant olarak, silikon ve titanyum esaslı maddelerin kullanımı da giderek artmaktadır (23). Genel olarak, alloplast materyallerin elemental özellikleri kalsiyum ve karbona yaklaştıkça, uzun dönem başarısı artmaktadır.

İmplantın fiziksel özellikleri değerlendirildiğinde, iki özelliği çok önemlidir. Birincisi porozitedir. Eğer greft materyallerinin porları 1-50  $\mu\text{m}$  arasında ise ve bakterilerle kontamine olmuşsa, fagositik hücreler 50  $\mu\text{m}$ 'den daha küçük porlara doğru göç edemez ve bakterilerden de temizleyemezler ve bölgede enfeksiyon gelişir. 50  $\mu\text{m}$ 'den büyük porlu greft materyallerinde, enfeksiyon riski azalır. Ancak uygun lokal koşullar sağlanmadığında, herhangi bir greft maddesi por büyüklüğüne bağlı kalmaksızın kronik enfeksiyon kaynağı da olabilir (23).

İkincisi, implantın fiziksel formudur. Bu maddenin biyoyumunu etkiler. Partiküllerin taşıdığı riskin minimal olduğu biyomateryallerin seçimi, çok önemlidir. Doku makrofajları, partiküllerinin çapı 60  $\mu\text{m}$ 'dan daha büyük olan materyallerin fagositozunu yapamaz. Partikül büyüklüğü 20-60  $\mu\text{m}$  arasında olan partiküllerin fagosite edilmesi, makrofajların ölümüne ve intrasellüler enzim salınımına neden olur. Bu sitokin salınımına, lokal enflamatuar cevaba ve diğer makrofajların bölgeye kemotaksisine neden olur. Bu, ayrıca alloplast partiküllerinin de içinde olduğu debridleri fagosite eder. Bu döngü, kronik enflamatuar yanıt artana kadar devam eder (23).

#### **Kemik greftleri ağız cerrahisinde başlıca 4 fonksiyonda kullanılırlar:**

- 1-Osteogenezisi sağlamak amacıyla gecikmiş kemik iyileşmelerinde, kemik kavitelelerinde ve devamsız defektlerde
- 2-Kırık tedavilerinde osteotomiye takiben rekonstrüksiyon yapılırken fiksasyonu sağlamak için

- 3-Konturları düzeltmek için (bu amaçla alveoler kret yükseltmelerinde, kontur defektlerini doldurmada ve genioplastide kullanılırlar).
- 4-Patolojik fraktür olan veya başka nedenlerle kemiğe kuvvet ilave etmek gerektiğinde kullanılırlar (20).

Kraniomaksillofasial cerrahide, otojen kemik kullanımı en sıktır. Dezavantajları da düşünülerek, alternatif biyomateryaller geliştirilmiştir. Gerek implant gerekse yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu amacıyla kullanılan membranlar, birer biyomateryal olarak değerlendirilirler (21).

### **İdeal bir kemik greftinin özellikleri**

- 1-Antijenitesi olmamalı
- 2-Osteoindüktif, osteokondüktif, osteogenezis ve osteointegrasyon özelliği olmalı
- 3-Kolay elde edilebilir ve saklanabilir olmalı
- 4-Yüzeyi üzerinde osteojenik hücre proliferasyonu ve ataçmanı sağlayabilmeli
- 5-Kemik indüktif substanslarının yayılımı ve revaskülarizasyonunu sağlayabilmeli
- 6-Defektte stabilite ve destek oluşturabilmeli
- 7-Biyoyumlu olmalıdır (21,25).

Kemik grefti materyalleri üç farklı mekanizma ile kemik oluşumunu sağlar. Bunlar;

- a)Osteogenezis
- b)Osteoindüksiyon
- c)Osteokondüksiyondur (26).

#### **A-Osteogenezis**

Kemik grefti materyalleri, direkt olarak osteoblast hücrelerinden kemik oluşturabilme kapasitesine sahip organik materyalleri içerirler. Dokuda farklılaşmamış mezenkim hücrelerinin olmadığı ortamlarda bile, bu tür organik maddeler osteogenezis kabiliyetine sahiptir. Osteogenezisi yapan kemik grefti

materyalleri, canlı kemik hücrelerinin bir bileşimidir. Bu nedenle osteogenetik karaktere sahip tek greft materyali, otojen kemiktir. Rekonstrüktif cerrahi uygulamalarda otojen greftler; iliak kemikten, tüber maksilladan ve alt çene semfiz bölgesinden elde edilebilirler (26).

### **B-Osteoindüksiyon**

Kemik greft materyallerinin, farklılaşmamış mezenşimal hücrelerin kondroblast ve osteoblastlara dönüşmesini stimüle ederek, kemik oluşumunu indüklediği olaya “osteindüksiyon” denir (21).

Osteoindüktif materyaller ise, doku içerisindeki farklılaşmamış mezenkim hücrelerini osteoblast ve kondroblastlara dönüştürme kapasitesine sahiptirler. Oral cerrahide en yaygın kullanılan osteoindüktif materyaller, kemik allogreftleridir. Kemik allogrefti, aynı tür içinde bir bireyden alınıp diğer bir bireye greftin implante edilmesi anlamını taşır.

Osteoindüktif materyaller farklılaşmamış mezenkimal hücreleri stimüle ederek yeni kemik oluşumuna neden oldukları için, mezenkimal dokunun bulunduğu tüm dokularda kemik oluşumunu stimüle ederler (21).

### **C-Osteokondüksiyon**

Otojen ve allojen greftlerin çoğu rezorbe olarak, kemik yatağındaki hücreler ile yer değiştirir. Bu olaya “osteokondüksiyon” denir (21).

Osteokondüksiyon ile kemik dokusunun büyümesi, apozisyonel kemik oluşumu ile karakterizedir. Bu yüzden; osteokondüksiyon, kemik veya farklılaşmamış mezenkimal hücre varlığında meydana gelir (26).

Oral ve maksillofasiyal cerrahide kemikteki kist, tümör gibi patolojilerin neden olduğu defektlerin restorasyonunun sağlanması amacıyla, greft ve implant materyallerinin osteokondüksiyon özelliğinden yararlanır. Osteokondüktif materyaller yumuşak dokularda istenmeyen kalsifikasyonlara neden olmazlar, yapılan çalışmalarda küçük fragmanların dahi rezorbe olduğu rapor edilmiştir (21).



### **Kemik grefti uygularken dikkat edilmesi gereken prensipler;**

- 1- Hastanın fiziki durumu iyi olmalı
- 2- Yeterli antibiyotik desteği olmalı
- 3- Grefti alıcı bölgede enfeksiyon, skar, yabancı cisim gibi lokal doku direncini azaltacak hiçbir sebep olmamalı, ayrıca alıcı bölgede iyi bir vaskülarizasyon olmalı
- 4- Defekt primer sütürasyonla gergin olmadan kapatılmalı ve hematoma olmamalı
- 5- Greftin yeterli fiksasyonu ve hareketsizliği olmalı
- 6- Sadece kortikal değil yeterli süngerimsi kemik bulunmalı
- 7- Bölgede fonksiyon yeniden değerlendirilmeli, fazla basınç, gerilme ve bunun gibi istenmeyen kuvvetler olmamalıdır (20).

### **Biyomateryallerin Taşınması Gereken Özellikler**

- 1) Biyouyumlu olmalı
- 2) Biyo inert olmalı
- 3) Osteokondüktif veya osteojenik olmalı
- 4) Stabilizasyon özelliği olmalı ve stabilizasyonun artmasına olanak sağlayacak şekilde yüzey porözitesi olmalı
- 5) Toksik olmamalı
- 6) Kolayca sterilize edilebilmeli
- 7) Enfeksiyona dirençli olmalı
- 8) Çevre dokuları etkileyebilecek renk özellikleri olmamalı
- 9) Uygulaması kolay olmalı ve uygulama esnasında minimum travmaya neden olmalı
- 10) Kırılmaya, bükülmeye karşı dirençli olmalı, elastik olmalı, elastisitesi uygulandığı dokulara uygun olmalı
- 11) Bazı özel uygulamalarda kullanılabilmesi için materyalin blok formu olmalı ve bu formu uygulama sırasında kesilip şekillendirilebilmeli

- 12) Rezorbsiyona dirençli olmalı
- 13) Uygulama kesin sonuçlar verebilmeli
- 14) Uygulama hasta tarafından kabul edilebilir olmalı
- 15) Saklanması ve depolanması kolay olmalı
- 16) Ucuz ve elde edilebilmesi kolay olmalıdır (20,26).

## **KEMİK GREFT MATERYALLERİNİN SINIFLANDIRILMASI**

Kemik greft materyalleri temel olarak şu şekilde sınıflandırılır (27,28):

### **1- Ototreftler (Otojen kemik grefti)**

- a- Kortikal Kemik
- b- Kansellöz Kemik
- c- Kortiko-kansellöz Kemik

### **2- Allogreftler (Homojen kemik grefti)**

- a- Taze Dondurulmuş Kemik
- b-Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik
- c- Dondurulmuş Kurutulmuş Dekalsifiye Kemik
- d- Solventlerle dehidrate edilmiş kemik

**İzogreft:** Taze kansellöz kemik iliği

### **3- Ksenogreftler (Heterojen kemik grefti)**

- a- Demineralize edilmiş kemik
- b- Deproteinize edilmiş kemik

### **4- Kemik esası olmayan sentetik biyomateryaller(Alloplastlar)**

#### **I-Doku Kaynaklılar**

- a- Dentin
- b- Sement
- c- Kıkırdak
- d- Sklera
- e- Durameter vs.

**II-Metaller****III-Jelatin Film****IV-Polimerler**

- |                        |                                   |
|------------------------|-----------------------------------|
| a- Polimetilmetakrilat | f) Sert doku replasmanı           |
| b- Proplast            | g) Polietilenler                  |
| c- Polyalioksanone     | h) Polipropilen                   |
| d- Poliamide Metch     | ı) Silikonlar                     |
| e- Polygalctin 910     | j) Politetraflouroetilen (Teflon) |

**V- Seramikler**

- 1- **Kalsiyum Sülfat (Paris alçısı)**
- 2- **Kalsiyum Alimunat**
- 3- **Kalsiyum Karbonat**
- 4- **Bioaktif cam ve cam seramikler**
- 5- **Kalsiyum Fosfatlar**
  - a- Rezorbe Olanlar
    - \*Trikalsiyumfosfat
    - \*Hidroksilapatit
  - b- Rezorbe Olmayanlar
    - \*Yoğun Hidroksilapatit
    - \*Poröz Hidroksilapatit

**DOĞAL MATERYALLER**

- 1- **Kollajen**
- 2- **Demineralize Kemik Matriksi (DBM)**
- 3- **Kemik Morfojenik Proteinler (BMP)**
- 4- **Trombositten Zengin Plazma (TZP,PRP-platelet rich plasma)**

## HİDROKSİLAPATİTLER

Hidroksilapatitler, kemiğin mineral yapısına benzerliği nedeniyle vücut tarafından kolayca kabul edilen, yüksek biyouyumluluğa sahip kalsiyum fosfat grubu bir implant materyalidir. Kemik; kollajen ana faz içerisinde HA kristalleriyle desteklenmiş kompozit bir yapıdır. Kemiğe sertliğini veren mineral, yaşam süresince kimyasal olarak sürekli değişim içerisinde. Canlının türüne, yaşına ve cinsiyetine bağlı olmakla beraber, kemik dokusu yaklaşık % 20 oranında matriksten (bunun % 90'ı kollajen, % 10'u diğer organik maddelerden), % 70'i minerallerden ve % 10'u da sudan oluşmaktadır. Kemikteki mineral, temel olarak HA'nin kristal yapısına benzeyen bir çeşit kalsiyum ve fosfat apatittir. Kemiğin mineral fazında mikroyapısal farklılıklarını oluşturan; sitrat ( $C_6H_5O_7^{-4}$ ), karbonat ( $CO_3^{-2}$ ), florür (F) ve hidroksil ( $OH^-$ ) iyonları da bulunur (29,30).

Kemiğin mineralize kısmının büyük çoğunluğu kalsiyum, fosfat ve hidroksil iyonlarından oluşmuş, kristal yapıdaki hidroksilapatittir [ $C_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ]. Ayrıca karbonat ve amorf şekilli kalsiyum fosfatın da varlığı gözönüne alındığında, kemiğin yapısındaki kristallerden bahsederken “hidroksilapatit kristali” yerine “apatit kristali” olarak adlandırılması daha doğru olacaktır. Yaklaşık % 38'i kalsiyum olan hidroksilapatit, 20-40 nm uzunluğunda, 25 nm genişliğinde, 1.5-3 nm kalınlığında ve iğne şeklinde kristal yapılardan oluşur, bu nedenle oldukça geniş bir kristal yüzey alanına sahiptir. Böylece hem kemiğin rijiditesi ve dayanıklılığı artırılmış olur, hem de gerektiğinde kullanılacak bir kalsiyum deposu görevi görür. Hidroksilapatit kristalleri, kollojen liflerin çarpıştığı yerlerde ve aralarında bulunur. Röntgen ışını difraksiyon yöntemi ile yapılan çalışmalarda, kalsiyum ve fosforun hidroksilapatit kristalleri meydana getirdiği görülmüştür. Kemik hidroksilapatit kristalleri, kollojen liflerin yanında lokalize olurlar. Hidroksilapatitin yüzeyindeki iyonlar suya doyurulduğu için, kristalin etrafı su ve iyonlardan oluşmuş bir tabaka ile kaplanmıştır. Hidrasyon kabuğu adı verilen bu tabaka, vücut sıvıları ile kristal arasındaki iyon alışverişini kolaylaştırır (1,3,6-8,11).

HA; kemik ve diş gibi doğal kaynaklardan doğrudan ayrıştırılabildiği gibi, midye kabuğu, yumurta kabuğu veya kalsiyum içeren başka materyallerin fosfat bileşiklerinden anorganik olarak da elde edilebilmektedir. HA, doğal kemik ve dişten deprotenizasyon veya farklı bileşenlerden anorganik sentez yöntemi ile elde edilebilmektedir (30,31).

HA, kemiğin primer inorganik bir komponenti olup temel yapısında yer alan kalsiyum fosfat karışımının, tabi tutulduğu işlemlere bağlı olarak farklı özellikleri elde edilebilir. Örneğin rezorbe edilebilen HA, oluştuğu sıcaklığa bağlıdır. Sentetik yolla elde edilebildiği gibi, organik kökenli olarak da sentez edilebilir. Mercanın kalsiyum karbonat iskeletinden elde edilen tipinin, kemiğinkine benzer 3 boyutlu yapısı vardır. Organik içeriği kimyasallarla ekstrakte edilmiş olan anorganik sığır kemiği de, HA yapısında olup rezorbsiyonunda HA'den farklı olarak osteoklast benzeri hücreler rol oynar. Organik kökenli olan HA'ler 250-500µm çapında porlar içerirken sentetik yollarla elde edilenler ise por içermeyen solid bir yapıya sahiptir (32-35).

### **Yoğun, Nonporöz, Nonrezorbe HA**

Sinterizasyonla yüksek sıcaklıklarda hazırlandığında HA rezorbsiyona ve biodegradasyona (vücut tarafından eritilme) dayanıklıdır. Non-poröz, yoğun ve büyük kristalli yapıdadır. Yılda ortalama % 0-5 arasında biodegradasyon görülür. Yoğun HA greftler osteokondüktif olup, öncelikle inert ve biyouyumlu yer dolduruculardır (32-34).

### **Rezorbe olabilen HA**

Düşük sıcaklıkta işlem görmüştür. Sinterize edilmemiştir ve amorf yapıda olduğundan rezorbsiyonu devam ederken, osteokondüksiyon yoluyla kemik yapımını sağlar ve bir mineral deposu vazifesini görür (32-34).

Klasik olarak yavaş emilen kalsiyum fosfat seramiği, hidroksilapatit olarak isimlendirilir. Yüksek derecede kristalize HA, invivo stabil bir bileşiktir ve yılda % 5-15 hızıyla rezorbe edilir. Önce hayvan modelleri ve sonra insanda yapılan

deneylerde, poröz HA implantların öncelikle fibrovasküler bir doku ile kaplandığı ve zamanla bu dokunun olgun lameller kemiğe dönüştüğü gösterilmiştir (36,37). HA'in osteokondüktif özelliği bu implantların, kemiğe sıkı yapışmasına da ortam ve olanak sağlar. Urist ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, HA'in lokal büyüme faktörlerine, özellikle kemik morfogenetik proteinlerine karşı kuvvetli bir kimyasal bağlanma eğilimi olduğunu rapor etmişlerdir (36,38).

Rezorbe mercan türevi HA kalsiyum karbonat bileşiği (ProOsteon 500R<sup>TM</sup>, Interpore Cros International, Irvine, California) , trombositten zenginleştirilmiş plazma konsantresi ile beraber kullanılarak, koyunlarda omurganın füzyon operasyonunda denenmiştir. Araştırma sonuçlarında, büyüme faktörleri (**özellikle TGF-β**) içeren konsantrenin eklenmesiyle, rezorbe mercan HA sentetik greftlerinde artan osteoblastik aktivitenin greftin daha derinine indiği ve daha yoğun oluştuğu saptanmıştır (36,39).

Yapılan çalışmalarda, kemik iliğinin poröz seramikler içinde istenilen düzeyde geliştiği ve mezenkimal kök hücrelerinin en iyi sonuçları hidroksiapatit seramikler ile verdiği gösterilmiştir (36,39).

Son zamanlarda Avrupa'da bir başka HA ile şekil verilebilir kollojen sünger karışımı olan ürün, piyasaya sürülmüştür (DePuy Spine, Raynham, MA). Burada amaç HA'in osteokondüktif özelliği ve mekanik sağlamlığıyla, kollajenin elde şekil verilebilir ve absorbe olabilme özelliklerini bir arada elde edebilmektedir. Bir randomize klinik çalışmada, 50 lumbar omurga füzyonunda otojen greftlerde % 100 başarı sağlanırken, HA/kollojen greftinin kullanımıyla bu oran % 91 olarak bulunmuştur. Ayrıca bazı hayvan deneylerinde bu materyal ile kıyaslandığında, radyolojik ve biyomekanik testlerde benzer sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir (36,40).

Kemik dokusu, hidroksiapatite kimyasal mekanizmalarla bağlanmaktadır. Genellikle mekanizma, kollojen depolanmasına ve implant ile kemikten kalsiyum fosfat alışverişine bağlıdır (41,42).

Yapılan çalışmalarda hidroksilapatitin, kemik dokusunda yeni kemik oluşturmadığı yani osteoindüktif özelliği olmadığı, buna karşın yeni kemik depozisyonu için uygun bir fiziksel matris oluşturması nedeniyle “osteokondüktif” özellikte olduğu kabul edilmiştir. Ayrıca kemik oluşumunu yönlendirici özelliği nedeniyle “osteofilik”, kemik dokusunun hücrelerini stimüle edici olması nedeniyle “mitogenetik”, osteogenezis için hücrelerin yeterliliğini ve farklılaşmasını artırması yönüyle de “osteotropik” olarak tanımlanmıştır (41,43-46).

Hidroksilapatitin en yüksek oksidasyon halinde olması nedeniyle, rezorbe olmayacağı ve böylece yabancı cisim reaksiyonu oluşturmayacağı da bildirilmiştir (41,47).

Biyoaktif seramiklere artan ilgi, son on senedir yapılan klinik uygulamaların özellikle HA ile ilgili hız kazanması ile sonuçlanmıştır. HA; doğal kemiğe kimyasal benzerliği ve bunun getirdiği biyouyumluluk ve biyoaktiflik özellikleri ile bir kemik greft materyali olarak iyi bir alternatif oluşturmaktadır. Bu materyal, insan vücudundaki sert dokularında başlıca inorganik bileşendir ve bu nedenle yüksek derecede biyouyumludur (48-51).

HA'in kemik gelişimine olan etkisi, gözenek büyüklüğü, gözeneklerin birbirleri ile olan bağlantıları ve kimyasal yapı ( $\text{CaPO}_4$  oranı) gibi birçok faktöre bağlıdır (48,52,53). Gözeneklilik, kırılmal malzemelerin mekanik özelliklerini daha da kötüleştiren belli başlı nedenlerden biri olmasına karşın, bazı alanlarda gözenekli seramiklerin kullanımı önemli bir gereksinimdir. Bu ihtiyaç yüksek geçirgenlik, yüksek yüzey alanı, iyi izolasyon, korozyon direnci ve zor kullanım şartlarında uzun ömür isteyen yapıların kullanılmak istenmesine bağlı olarak ortaya çıkmıştır (48,54). Makro gözenekli malzemelerin yoğun malzemelere nazaran, daha fazla biyouyumluluk göstermeleri nedeniyle, dirence maruz kalmayan kemik defektlerini doldurmada gözenekli greftlerin kullanımına olan ilgi arttırmıştır (48,55).

İdeal bir greft, kemik defektine uygulandığı zaman doku içinde kırık iyileşmesine benzer bir cevap oluşturmalıdır. Defekt başlangıçta hematoma ile doludur ve bu aşamalı olarak mezenkimal hücreler, osteoblastlar ve fibroblastlar tarafından iki hafta içinde rezorbe edilir ve bunu da osteoid formasyonu izler. Bütünüyle kemik iyileşmesi ve süngerimsi yapının oluşumu yaklaşık 12 haftayı bulur (48,56).

Osteokondüksiyon amaçlı bir greft kullanımı ile, kemiğin interstisyel yapısı taklit edilir. Kubok ve arkadaşları, başlangıçta kemik oluşumu için gerekli olan gözeneklik çapını yaklaşık 150 µm olarak saptamışlardır. Daha sonraları yaptıkları çalışmalarda ise 106-212, 212-300, 300-400, 400-500 ve 500-600 µm'luk bloklar kullanmışlar ve en iyi sonucun 300-400 µm büyüklüğünde gözeneklerden alındığını tespit etmişlerdir. Bu araştırmacılar, havers kanallarında direkt kemik formasyonunu gözlemlemişler ve şekil, kimyasal özellikler ile gözeneklerin iç yüzey yapılarının yeni kemik oluşumunda çok önemli olduğunu vurgulamışlardır (48,56).

Birçok alloplastik materyaller içerisinde, özellikle kranial, fasiyal ve mandibular rekonstrüksiyonlar için hidroksilapatit ön plana çıkmıştır. Politetrafloretillen bileşiği olan proplast ise, popülerite kazanamamıştır. Sentetik HA-proplast bileşiği ise, hareketsiz defekt bölgelerine yerleştirildiğinde, 3 ila 6 ay arasında defektin olgun lameller kemikle dolduğu belirlenmiştir. Bu materyal ile yapılan pilot çalışmalarda, havers kanalları içeren dens lameller kemik proliferasyonunun geliştiği gözlenmiştir. HA'nın kullanım ve şekil vermedeki kolaylığı ve osteokondüktif özelliği nedeniyle, politetrafloretillen (PTFE)-HA bileşimini dirence maruz kalmayan bölgelerin rekonstrüksiyonunda rahatça kullanılacak bir implant adayı haline getirmiştir (57).

Hidroksilapatit (kalsiyum fosfat bileşiği), kemiğin mineral komponenti olarak bulunduktan sonra, dental, maksillofasiyal ve ortopedik cerrahi de kemik greft materyali olarak geliştirilmeye başlanmıştır. Seramik kemik implantı olarak klinik ve deneysel çalışmalara en çok konu olmuş materyal olan hidroksilapatitin; blok, granül, non-poröz, poröz, rezorbe olabilen ve rezorbe olmayan tipleri mevcuttur.



Alveolar kenar augmentasyonu için blok ve parçalı formdaki HA'ler tercih edilirken, çekim sonrası alveolar kenar rezorbsiyonunu önlemek için de kök formundaki HA'ler kullanılmaktadır. Gözenekli ya da dens HA seramikler invivo olarak biyorezorbsiyon göstermediklerinden “kalıcı kemik implantlar” olarak değerlendirilirler. Ayrıca ortognatik ile kraniyofasiyal uygulamalarda yer tutucu olarak kullanılabilirlerdir.

Kalsiyum fosfat implant materyallerinin en temel kısıtlılığı, biyomekanik özelliğindedir. Birçok seramikler gibi bu materyaller de kolay kırılabilen ve düşük sıkıştırılma resistansına sahip materyallerdir. Kalsiyum fosfat biyomateryalleri; lokal veya sistemik toksisitesi, inflamatuvar veya yabancı cisim reaksiyonu olmayan ve direkt olarak kemik üzerine fikse edildiğinde kemik ile implant arasında fibröz dokunun oluşmadığı materyallerdir. Bu materyallerin osteogenezisi stimüle edebileceği düşünülmüş olmasına karşın, bu konuda yapılan araştırmalar kalsiyum fosfatın kemik oluşumunu indüklediğini, ancak sert doku gelişimine uygun olduklarını göstermektedir (57).

Augmentasyon uygulamalarında blok formundaki HA'in kullanım ve stabilizasyon zorluğu nedeniyle HA'lerin kullanımı ön plana çıkmıştır. Ancak parçalı HA kullanıldığında ise, parçaların migrasyonu ve alveolar kenar üzerinde istenilen şekli koruyamamaları söz konusu olunca, HA'ler, kollojenler, jelatinler ve fibrin yapıştırıcılar gibi materyallerle birlikte kullanılması gündeme gelmiştir.

Salyer ve Hail yaptıkları bir çalışmada, poröz hidroksiapatitin rezorbe olmamasından dolayı klinik çalışmalarda tercih edilebileceğini, ancak kemiğin hidroksiapatit ile tamamen yer değiştirmesinin gerçekçi bir beklenti olmayacağını rapor etmişlerdir (57,58).

1994 yılında Öberg ve arkadaşları, HA granül ve bloklarının, antijeni çıkarılmış otolize allojenik kemik ve fibrin yapıştırıcılarla kombine implantasyonları sonrası meydana gelen kemik iyileşmesini kıyaslamışlar ve çalışmalarında HA ile otolize allojenik kemiğin, kemik yapımındaki en başarılı implant kombinasyonu

olduğunu rapor etmişlerdir. Bu kombinasyonun, hem osteoindüktif hem de osteokondüktif olması ve HA'in blok formunun kemik iyileşmesi sırasında destek yapmayı oluşturması nedeniyle bu sonucun elde edildiğini bildirmişlerdir (57,59).

Gürmeriç isimli araştırmacı ise, kalsiyum karbonat, hidroksilapatit ve doğal mercanın kemik rejenerasyonu üzerine olan etkilerini incelediğinde, mercan yerleştirilen kavitelere diğer greft materyallerine oranla daha hızlı ve fizyolojik paterne uygun bir kemikleşme saptadığını bildirmiştir. Ancak greft konmadan iyileşmesi beklenen kavitelere ise, kemik rejenerasyonunun 2. ayın sonuna doğru hızlandığını ve diğer grupların önüne geçtiğini gözlemlemiş ve implant materyallerinin enfekte olma, yabancı cisim reaksiyonu oluşturma olasılıkları göz önüne alarak sadece uygun olgularda kullanılmaları gerektiğini ileri sürmüştür (57,60).

Otojen kansellöz kemik grefti, günümüzde “altın standart” olarak kabul edilmiştir. Bunun en büyük nedeni, kemik iyileşmesine yardım eden asıl komponentleri içermesidir.

Bunlar:

- 1- Kemik iliğinde bulunan osteoprogenitör hücreler
- 2- Osteokondüktif hidroksilapatit kollojen matriks
- 3- BMP'lerin en önemli elemanı olduğu birçok osteoindüktif büyüme faktörleri olarak sayılabilir (36,61).

Bu özelliklerine karşın, otojen kansellöz kemik greftinin bazı dezavantajları da vardır. Bunlar arasında; ikinci bir cerrahi alan gerekliliği, donör bölgede iyileşme komplikasyonları ve ağrı ile parestezi, enfeksiyon riski, ekbir anestezi süresi ve cerrahi operasyon süresinin artışı sayılabilir (36,61).

Osteokondüktif matriksler ise greftleme alanında kemiğin iyileşmesini başlatacak olan hücrelerin yapışmasını, migrasyonunu ve dağılımı için gerekli uygun ortamı sağlarlar (36,61). Genellikle taşıyıcı matriksler osteoprogenitör hücreleri

kendine çekme, migrasyonlarını kolaylaştırma ve neovaskülarizasyonu başlatma özelliğindedirler. Son aşamada yeni kemik oluşumu başladıktan sonra, taşıyıcının işlevi tamamlanır ve zararlı artıklar bırakmadan absorbe olması beklenir (36,38).

Allogreft kemik dokusu, en iyi taşıyıcı desteklerden birisidir. Ancak potansiyel enfeksiyon olasılığı, immün reaksiyon riski ve yetersiz miktarlarda elde edilebilmesi nedeniyle, bunun yerine mineralize kollojen, kalsiyum fosfat seramikleri, hiyalüranik asit veya kollojen yapıda matriksler ve sentetik polimerler gibi greftler geliştirilmiştir (36,37,62).

Yapılan tüm hayvan deneylerinde, koral HA'in otojen kemik greftiyle karşılaştırma sonuçları başarısız olmasına karşın, Bucholz ve arkadaşları ise çalışmalarında, tibial plato kırıklarında mercan ile otojen kemik grefti arasında fonksiyonel açıdan bir fark olmadığını tespit ettiklerini bildirmişlerdir (36,63).

Misiek ve arkadaşları ise, yaptıkları deneysel ve histolojik çalışmalarda, keskin kenarlı HA partiküllerinin yumuşak doku üzerindeki etkilerinin, enflamatuar cevabı uzattığını ve yuvarlak şekilli partiküllere oranla iyileşmenin geciktiğini bildirmişlerdir. Bu konuda yapılan bir başka araştırmalar da, yuvarlak kenarlı partiküllerde enflamasyon 3 ayda çözülürken, keskin kenarlı partiküllerde 6 ay sonunda halen düşük dereceli bir enflamasyonun devam ettiği bildirilmiştir. Ayrıca HA'lerin poröz granüler formunda kemik büyümesinin porlar içerisine doğru olduğu ve bu şekilde direkt bir bağlanma sağlandığı da rapor edilmiştir (64-66).

Yapılan başka bir çalışmada, HA granüllerinin implante edildikleri bölgede stabil kalmayıp migrasyona uğradıkları ve operasyon bölgesinde şekil bozukluğu oluşturdukları bildirilmiştir (67).

## KORAL

Mercan, okyanuslarda çok değişik şekillerde ve renklerde, 2500'den fazla türe sahip yaşayan bir canlı türüdür. Koloniler halinde yaşayan doğal mercanın iskeleti, birçok cerrahi alanda 20 yıla yakın bir zamandan beri başarılı bir şekilde kullanılmaktadır.

Biyouyumlu ve osseokondüktif olması, kolay hazırlanması ve şekillenmesi yanında ucuz oluşu avantajlarındanndır. % 98-99 oranında kalsiyum karbonat ve % 1-2 oranında ise aminoasit ve oligoelementlerden oluşur. Mercan, kemiğe yapısal olarak yakınlığı ve biyolojik olarak inert bir madde olması nedeni ile ideal bir greft materyalidir. Doğal mercan osteoklastlar tarafından yavaş yavaş rezorbe edilirken, serbest kalsiyum iyonları osteoblastlar tarafından kullanılarak yeni kemik oluşturulur. Mercan onleylerinde hacimsel azalmanın olmaması bir avantajdır, ancak bu materyalin uzun süreli sonuçları henüz tam olarak bilinmemektedir (57,68).

Bezins ve arkadaşları, 38 hastada subperiosteal onlay greft olarak kullandıkları blok şeklindeki doğal mercan ile tatmin edici fonksiyonel ve estetik sonuçlar elde etmişlerdir. 4 yıl boyunca radyolojik takibi yapılan hastalarında, greftin çok iyi bir fiziksel rezistans göstererek rezorbe olduğunu ve yerini yeni oluşan kemiğe bıraktığını gözlemlemişlerdir (57,69).

Guillemin ve arkadaşlarına göre, mercan, direkt osteoblastik apozisyon için iskelet görevi görür. Doğal mercan uygulandığında, osteoblastik ve osteoklastik süreç 8 ile 24 hafta arasında sürmektedir. Mercan rezorbsiyonu ve kemik apozisyonu, materyalin gözenekli oluşuna bağlıdır. Ancak bu rezorbsiyon derecesi, kullanılan greft materyalinin büyüklüğü ile de ilgilidir. Greft materyali aşırı büyük olduğunda, rezorbsiyon gecikmekte ya da parsiyel olabilmektedir (57,68).

Doğal mercan, "Biocoral" jenerik ismi ile farklı boyut ve şekillerde piyasaya sunulmuştur. Blok formları plastik ve rekonstrüktif cerrahi ile maksillofasial cerrahide onlay greft olarak kullanılırken, granül formları periodontal kemik

defektlerinde, çekim kavitelerinde ve kist operasyonlarından sonra uygulanmaktadır. Bu greft materyalinin kullanımı, hem fonksiyonel hem de estetik kayıplarda endikedir (57).

### **YÖNLENDİRİLMİŞ DOKU REJENERASYONU**

Oral ve maksillofasiyal cerrahide özellikle geniş rekonstrüktif cerrahi içeren olgularda fibröz iyileşme, istenmeyen bir durum olarak karşımıza çıkmakta, osteogenezisi lokal olarak stimüle etmek amacıyla geliştirilen yöntemlerle her zaman istenilen sonuçlar elde edilememektedir. Son yıllarda bu klinik başarısızlıkları önlemek için Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu (YDR) prensibi geliştirilmiştir (70). YDR özellikle periodontal defektlerin tedavisinde kullanılan bir yöntemdir. Bariyer materyalin defekt üzerine yerleştirilmesi ile dişeti bağ dokusu hücrelerini engelleyerek periodontal ligamentten organize olan hücrelerin gelişmesine yardımcı olur (71,72).

Defekt alanlarına, bağ dokusu ile epitel hücrelerinin göçünü engellemek amacıyla yönlendirilmiş doku rejenerasyonu prensibinden yola çıkılarak, bariyer membranları kullanılmaktadır. Bu membranlar, bazı olgularda greft materyalleri ile birlikte de uygulanmaktadır. Membranlar ile allogreft veya alloplastik greft materyallerinin birlikte kullanılmasına “Kombine Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu Tekniği” adı verilmiştir (26).

1959 yılında kemik defektlerinin üzerine membran bariyer yerleştirilerek yeni kemik rejenerasyonu oluşturma çalışmaları yapılmış, bu tekniğe Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu (YKR) tanımı yapılmıştır. Bir membran bariyeri ile fibroblastları defektten uzak tutarak osteoblastların defekt içindeki kemik iyileşmesini organize etmesine olanak tanıyan YKR tekniği, uygulamalarda geniş bir kullanım alanı bulmuş olup, çoğu merkezde başarıyla kullanılmaktadır (70).

Bu konuda yapılan çalışmalar incelendiğinde, bu teknikte kullanılan membranların rezorbe olanlar ve olmayanlar olarak gruplandırıldığı görülmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalar daha biyouyumlu olmasının yanısıra, iyileşme sürecinde defekt boşluğunu koruyacak kapasitesinin olması, bariyer ile defekte komşu kemik yüzeyi arasına yumuşak doku büyümesini engelleyecek periferik sızdırmazlık sağlaması ve klinik olarak kolay kullanılabilir olması özelliklerini bünyesinde barındıran rezorbe olabilen materyaller ve özellikle kollajen membranlar üzerinde yoğunlaşmıştır (70).

Bu teknikte amaç, bariyer membranların iyileşme bölgesine yerleştirilmesi ile rejenerasyon potansiyeli olan hücrelerin defekt bölgesine proliferasyon olması sağlanarak, doku iyileşmesini elde etmektir.

Membranların diğer önemli bir rolü de, defekt üzerinde bir çatı oluşturarak, alttaki pıhtının, defektin tabanındaki hücrelerin ve kan damarlarının gelişimi için bir iskelet oluşturmasına olanak sağlamasıdır (26).

Son yıllarda bu teknik klinik olarak; augmentasyonlarda ve implantın çevresinde kemik rejenerasyonu için kullanılmaktadır. Ayrıca bu yöntem; tümör ve kistlerin oluşturduğu kemik defektlerinde; kranial ve maksillofasiyal konturların düzeltilmesinde, dehisens ve fenestrasyon oluşmuş implantlarda kemiğin yeniden elde edilmesinde, atrofik alveolün yeniden yapılanması ile sabit ve hareketli protezlerin sert doku desteğini arttırmada ve doku estetiğini sağlamada da kullanılmaktadır (73,74).

Periodontal cerrahide ise bu teknik, kök yüzeyinde epitel ve dişeti hücrelerinin gelişimi yerine periodontal bağ dokusu büyümesinin sağlanması amacıyla kullanılmaktadır. Bu teknik aynı zamanda kemik içi alloplastik implant etrafında daha iyi bir ossöz doku oluşturmakta, implant etrafında fibröz kapsül gelişimini önlemekte ve klinik tedaviyi zorlaştıran primer rezorbsiyonun olduğu yerde ilave kemik dokusu meydana getirmektedir (75).

Maksillofasiyal cerrahide özellikle geniş rekonstrüktif cerrahiye de içine alan operasyonlarda, fibröz dokunun neden olduğu kaynamama (non-union) istenmeyen bir sonuçtur. Kaynaşmanın olmaması fibroblastik hücrelerin pıhtıda ossöz hücrelerden daha önce organize olması ile meydana gelmektedir. Bu durum fibroblastların osteoblastlara göre migrasyon hızının daha fazla olması şeklinde açıklanmıştır. YDR ise fibroblastların pıhtıda organize olmasını engelleyip, migrasyon hızı daha yavaş olan osteoblastların organizasyonuna imkan sağlayarak ossöz bir iyileşmeyi oluşturur (76).

YDR bariyeri olarak kullanılan nonrezorbe membranlar da bu amaçla kullanılırlar, ancak rezorbsiyon oluşmadığı için iyileşme tamamlandıktan sonra cerrahi olarak çıkarılmaları gerekmektedir. Rezorbe olabilen membran kullanmak; doku sıvısı geçişine izin verip arzu edilmeyen hücrelerin pıhtıya geçişini engellemesi ve cerrahi olarak çıkarılmasının gerekmemesi açısından nonrezorbe membranlara göre daha avantajlıdır (75). Rezorbe olabilen membranların, kemik oluşumu süresince fiziksel bariyer özelliğini koruması ve osteoblastlara sağladığı boşluğu muhafaza etmesi istenilen özelliklerdendir (72).

Yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda, uzun yıllar rezorbe olmayan politetrafloroetilen (PTFE) yapısında sentetik membranlar kullanılmıştır. Bu membranlar günümüzde de yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda en sık kullanılan materyallerdir. Yapılan birçok çalışmada bu tip membranların, yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda başarılı sonuçlar verdiği rapor edilmiştir. Rezorbe olmayan bu membranların; yumuşak dokularda açılmaların meydana gelmesi, membranların kollabe olması, enfeksiyon riski ve bunlara bağlı olarak kemik rezorbsiyonları gibi çeşitli dezavantajlarının olduğu literatürde vurgulanmaktadır. Bu tip membranların ayrıca ikinci bir cerrahi işlem ile çıkartılmaları gerekmekte ve bu işlem de kemik kaybı ile sonuçlanabilmektedir (76).

Membran tekniğinde kullanılan non-rezorbe materyallerin dezavantajları göz önünde bulundurularak, rezorbe olabilen, biyouyumlu membran arayışları başlamıştır. Bu amaçla yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda; kollajen yapılı

membranlar, oksidize sellüloz, dondurulmuş kurutulmuş dura mater ve glikolid ile laktinin sentetik kopolimerleri ve poliglaktine gibi non-kollajenöz yapıdaki membranlar kullanılmaktadır (76).

### **Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonunun Amacı**

- Kemik iyileşmesini arttırmak,
- Kemiğin yeniden şekillenmesini sağlamak,
- Kemik grefti uygulamalarının başarılı sonuçlarını arttırmak,
- Yeni kemik oluşumunu meydana getirmek ve
- Yumuşak dokunun kemik dejenerasyonu olacak bölgeye doğru büyümesini engellemektir (26).

### **Membranın Görevleri**

- Defekt alanı yumuşak dokudan tamamen korunur.
- Osteojenik güce sahip hücrelerin defekt içlerine dolması sağlanır.
- Yeni oluşan kemik sınırları belirlenir ve iskeletsel kontürün elde edilmesini sağlar.
- İmplant ve kemik defekti yüzeyinden dişeti dokularını ayırmak için kullanılan bir fiziksel bariyer görevi yaparak, boşluğun korunmasını sağlar ve bu boşluğun kemik hücreleri ile doldurulmasını temin eder.
- İkinci bir flep gibi rol oynayarak, boşluktaki pıhtının korunmasını ve yaranın stabil kalarak iyileşmesini sağlar.
- Flep üzerine gelecek olan mekanik streslerden pıhtıyı koruyarak stabil kalmasını sağlar.



## **Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonunda Kullanılacak Membranda Aranılan Özellikler**

- \* Uygulaması kolay olmalı,
- \* Epitel ve bağ dokusu hücreleri için engelleyici olmalı,
- \* İyileşme sırasında stabilitesini koruyabilmeli,
- \* Biyouyumlu olmalı,
- \* Steril olmalı,
- \* Defekt alanının içine doğru çökmemeli ve doku içerisinde kalması isteniyorsa ekspoze olmamalı,
- \* Üzerinde bakteri retansiyonu için uygun bir yapısı olmamalıdır (26).

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu tekniğinde kullanılan farklı tipteki bariyer membranlarını 3 ana grupta klasifiye edilmektedir (26).

### **I- Nonrezorbe Bariyer Membranları**

- 1) Filtreler
  - Milipore
  - Nükleopore
  - Biopore
- 2) Silikon Esaslı Olanlar
  - Sartorius
  - Emflon
  - Zitex
- 3) Genişletilmiş Politetraflouroetilen (ePTFE)
  - Gore-Tex (ePTFE)
  - Titanium ile desteklenmiş Gore-Tex
- 4) Yüksek Yoğunluklu Politetraflouroetilen (ePTFE)
  - Tefgen-FD,Cytoplast

## II- Rezorbe Olabilen Bariyer Membranları

- 1) Polilaktik asit olanlar
  - Polyglactin 910 (Vikril)
  - Vicryl-kollajen karışımı
- 2) Polilaktik Asit-Sitrik Asit Esteri esaslılar
  - Guidor
- 3) Laktik-Glukalit ko-polimer esaslılar
  - Resolut
- 4) Poliüretan esaslılar
- 5) Polilaktik esaslılar
  - Poliglikolit 50:50 (DL:PLGA)
- 6) Polikaprolakton esaslılar
- 7) Okside Edilmiş Sellüloz esaslılar
  - Oksidize sellüloz meş
- 8) Sternum ve Sternuma bağlı kostokondral greft
- 9) Sığır bağırsağı
  - Cargile
- 10) Dondurulmuş-Kurutulmuş Dura Mater

### 11) Kollajenler

- a) Sığır Derisi Tip I Kollajeni
  - Atelokollajen
  - Aviten
  - Zyderm
  - Collistat
  - Periogen
  - Perio-barrier
- b) Sığır aşil tendonu Tip-I Kollajeni
  - Biomend
- c) Fare Kuyruğu Tip-I Kollajeni
- d) İnsan Tip-I Kollajeni

### III-Otojen Dokular

- Periostal Membran
- Bağ Dokusu

### **Kemik Morfogenetik Proteinleri (BMP=Bone Morphogenetic Protein) ve Büyüme Faktörleri**

Cerrahi tedaviler sırasında kan damarlarının zedelenmesi, kanın damar dışına çıkmasına neden olur. Kanın pıhtılaşması ve trombositlerin çökmesi sonucunda meydana gelen fibrinden zengin tıkaç, damarlardan dışarıya doğru daha fazla kanın akmasını engeller (77). Pıhtı, aynı zamanda sitokinler ve büyüme faktörleri için bir depo görevi görür. Aktive olan trombositler granül içeriklerini boşalttıkça, bu sitokin ve büyüme faktörleri ortama salınır. Erken dönemde bu büyüme faktörleri, yara iyileşme sürecini başlatır. Bu sayede iltihabi hücreler yara bölgesine toplanır ve dokuya özgü yara iyileşme cevabı geliştirir (78). Defekt alanının tamirinde tedavi amaçlı büyüme faktörlerinin uygulanması, dokunun rejenerasyonunu sağlamak amacıyla yapılmaktadır (79).

Büyüme faktörleri, hücrelerin büyüme ve fonksiyonlarını kontrol etmek amacıyla sistemik ya da lokal etki gösterebilirler. Kendilerini üreten hücrelerin de etkilenmesini sağlayan otokrin yolla etkilerini gösterebilecekleri gibi, daha sıklıkla üretildikleri hücre tipinden farklı bir hücre tipini etkileyen parakrin yolla etki gösterirler. Büyüme faktörleri, aynı zamanda hücrelerin fenotipik durumlarını da kontrol eder. Böylelikle, mezenkimal hücreler gibi öncül hücreler, osteoblast gibi tam olgunlaşmış fonksiyonel hücelere dönüşürler (80).

Yara iyileşmesine katılan büyüme faktörlerinin, salgılandıkları kaynak hücreleri ve potansiyel etkileri Tablo:1’ de görülmektedir (77).

**Tablo 1: Yara iyileşmesine katılan büyüme faktörleri (77).**

<b>Büyüme Faktörü</b>	<b>Kaynak</b>	<b>Etkisi</b>
FGF 1,2 ve 4	Makrofaj, Endotelyal hücreler	Fibroblast proliferasyonu ve Damarlanma
TGF- $\alpha$	Makrofaj, Keratinosit	Reepitelizasyon
TGF- $\beta$ 2	Trombosit, Makrofaj	Fibroblast ve makrofaj kemotaksisi; ekstrasellüler matriks sentezi; proteaz inhibitörlerinin salgılanması
EGF	Trombosit	Reepitelizasyon
PDGF (AA, AB, BB)	Trombosit, Makrofaj Keratinosit	Fibroblast ve makrofaj kemotaksisi; fibroblast proliferasyonu ve matriks sentezi
KGF	Deri fibroblastları	Keratinosit proliferasyonu
IGF	Plazma, Trombosit	Endotel ve fibroblast proliferasyonu
VEGF	Keratinosit, Makrofaj	Damarlanma
IL-1 $\alpha$ ve $\beta$	Nötrofil	Makrofaj, keratinosit ve fibroblastlardan büyüme faktörü salgılanmasını aktive etme
TNF $\alpha$	Nötrofil	Makrofaj, keratinosit ve fibroblastlardan büyüme faktörü salgılanmasını aktive etme

Gelişmenin, büyüme ve farklılaşma evrelerinde çok sayıda faktör etkili olmaktadır. Hücre büyümesi ve çoğalması olaylarının başlamasında ise Büyüme Faktörleri (BF, growth factors) temel rolü oynamaktadır. Büyüme Faktörlerinin etki mekanizmaları, spesifik reseptörler aracılığı ile üretildikleri hücrede (otokrin, intrakrin tarz) veya diğer hücreler üzerinde (parakrin, jukstakrin veya endokrin tarz) etki gösterirler (81-83).

### Önemli BF'lerin bazılarını sıralarsak:

- a. Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri (Platelet derived growth factors–PDGF)
- b.  $\beta$ -Gelişim büyüme faktörleri (Transforming growth factors- $\beta$  –TGF $\beta$ )
- c. Vasküler Endotelial büyüme faktörü (Vascular endothelial growth factor-VEGF)
- d. Epitelyal büyüme faktörü (Epithelial (epidermal) growth factor-EGF )
- e. Fibroblast büyüme faktörleri (Fibroblast growth factor-FGF)
- f. İnsülin büyüme faktörü-1 (Insulin growth factor-1 – IGF 1)
- g. Trombosit Faktör-4 (Platelet factor 4 – PF-4)

### İnsülin Büyüme Faktörü-1 (Insulin Growth Factor – IGF 1)

İnsülin büyüme faktörü (IGF-I ve IGF-II) ailesi, proinsülin ile % 49 benzerlik gösteren tek zincirli serum proteinleridir. IGF-I ve II birbirleri ile % 62 homoloji gösterir ve karaciğer, plasenta, kemik ve düz kas gibi dokularda sentezlenirler. IGF üreten ve bu faktörlere duyarlı olan kemik hücreleri, inaktif formdaki IGF'ler için bir depodur.

IGF'ler, insüline benzer biyokimyasal ve fonksiyonel özellikler gösteren mitojenik büyüme faktörleridir. Fibroblast kökenli dokuların rejenerasyonunda, ilerletici faktör olarak rol alırlar. Kemik hücrelerinde IGF'ler, pre-osteoblastların hem proliferasyonunu hem de Tip-I Kollajen sentezi ile birlikte osteoblastlara farklılaşmasını stimüle ederler. Böylece sentezlenen kemikteki hücre sayısını ve her bir hücrede depolanan ekstrasellüler matriks miktarını artırırlar (84,85).

Lynch ve ark.'nın yaptıkları deneysel bir çalışmada, titanyum implant etrafına uygulanan PDGF-IGF kombinasyonunun erken dönemde iyileşmeyi stimüle ettiği ve klinik olarak bu kombinasyonu kullanmanın, hızlanmış ve artmış osseointegrasyona yol açtığı rapor edilmiştir (86).

Normal koşullar altında bu faktörlerin tümü karmaşık bir sıra ile salgılanıp, beraber çalışarak kemik oluşumunu başlatır (87). Genellikle osteoindüktif büyüme faktörü ve osteokondüktif bir matriksten oluşan sentetik kompozit greftler, yeni kemik oluşumu için oldukça ideal gözükmektedir. Ayrıca, ortama kemik iliğinden alınan osteoprogenitör hücrelerinde eklenmesi, kemik oluşumunu ve kaynaşmayı kuvvetlendirecek ve iyileşme için gerekli zamanı da kısaltacaktır. Bu sonuçlar göstermektedir ki, osteoindüktif, osteokondüktif ve osteojenik elementleri içeren bir sentetik kompozit greft, problemlili kemik kayıplarının tedavisinde pratik bir çözüm olabilir. Greft alanında osteoindüktif faktörlere yanıt verecek olan progenitör hücrelerin bu faktörlere yakınlığının klinik önemi, Lane ve diğer araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (88-93).

### **Trombositler**

Trombositler, kemik iliğinin sitoplazmik fragmantasyonlarından olan megakaryositlerden oluşur. Kırmızı kan hücreleri gibi, trombositlerde çekirdeksiz hücrelerdendir ve dolaşıma katılırlar, dolayısıyla sınırlı bir ömürleri vardır. Kırmızı kan hücreleri 120 gün yaşarken, trombositler 7-10 gün kadar yaşarlar. Bu hücrelerin hiçbirisinin çekirdeği olmamasına karşın aktif metabolizmaları vardır ve çapları en fazla 2  $\mu\text{m}$ 'dur. Trombositlerin hücre membranlarına invaginasyonu için pseudopoidal sayısız uzantıları, internal aygıtları ve deniz süngerini andıran morfolojileri vardır (94).

Trombositler pıhtı oluşumu sırasında ve sonrasında, yara iyileşmesinde önemli rol oynar, büyüme faktörleri salgılayarak yara iyileşmesini başlatır ve desteklerler. Son yıllarda geliştirilen trombositten zengin plazma (TZP) uygulamaları, doğal pıhtıdaki eritrosit/ trombosit oranını tersine çevirerek, büyüme faktörlerinin konsantre halde cerrahi bölgesine uygulanmasını sağlamakta, yara iyileşmesini ve rejenerasyonu hızlandırmaktadır (84,95,96). Trombositler; salındığı zaman hücre mitozu, kollajen yapımının artması, hasarlı bölgeye diğer hücrelerin göçü, damarsal iç büyümenin başlatılması ve hücre diferansiyasyonunu sağlayan önemli BF'lerine sahiptirler. Trombosit konsantrasyonunun artırılması ile yara

yerinin hızlı ve daha iyi iyileşmesi sağlanır. Kemik greftinde trombosit konsantrasyonunun artırılması ve buna bağlı olarak BF'lerinin konsantrasyonunun da artması ile daha hızlı ve yoğun bir kemik elde edilebilir (97). Bu faktörler, sistemik yoldan etki edebileceği gibi, lokal olarak da fonksiyon göstermektedirler (98).

Trombositlerin, dolayısıyla içerdikleri büyüme faktörlerinin venöz kandan ayrıştırılması ve az bir miktar plazma içerisinde süspansiyon haline getirilmesi ile Trombositten Zengin Plazma (TZP) elde edilir. Yara yerine TZP uygulanmasındaki amaç, yara iyileşmesinin başlatıcıları olan büyüme faktörlerinin etkilerinin artırılması ve rejenerasyonun hızlandırılmasıdır (99).

Platelet Rich Plasma (PRP, TZP) konsantrasyonu 1milyon platelet/ $\mu$ L bulundurulması veya bazal platelet sayısının ( $150.000-450.000\text{mm}^3$ ) 4-7 katı kadar bir yoğunlukta olması gerekir. Çekim soketinde veya implant drilleri ile oluşturulabilen olan bir defekte meydana gelen normal bir kan pıhtısında % 94 oranında kırmızı kan hücresi, % 6 trombosit ve % 1 den az miktarda da beyaz kan hücreleri bulunur. Tersine PRP'li bir kan süspansiyonu ise % 94 oranında trombosit, % 5 oranında kırmızı kan hücresi ve % 1 beyaz kan hücresi içermektedir (94).

Günümüzde, trombositlerde dahil olmak üzere kan hücrelerini steril şartlar altında izole ve konsantre ederek, en kısa sürede klinik kullanıma hazır hale getiren cihazlar geliştirilmiştir. TZP'ye trombin ve kalsiyum ilave edildiğinde pıhtılaşarak jel kıvamını alırken, trombositler de aktive olarak büyüme hormonları ortama salınır. (100-102). PRP'nin konsantrasyonunun artması ile yara iyileşmesi de desteklenmiş olur. Büyüme faktörü pıhtılaşma sürecinde salgılanır. Bu sürecin aktivasyonu, trombosit membran sisteminin yapısal değişikliği ve alfa granüllerinden büyüme faktörünün sekresyonu sonucu oluşur (94).

### Trombositlerin İÇerdiği Büyüme Faktörleri

- a. Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri (Platelet derived growth factors–PDGF)
  - I- PDGF<sub>aa</sub>
  - II- PDGF<sub>bb</sub>
  - III- PDGF<sub>ab</sub>
- b.  $\beta$ -Gelişim Büyüme Faktörleri (Transforming growth factors  $\beta$  –TGF $\beta$ )
  - I- TGF $\beta$ <sub>1</sub>
  - II- TGF $\beta$ <sub>2</sub>
- c. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (Vascular endothelial growth factor-VEGF)
- d. Epitelyal Büyüme Faktörü (Epithelial (epidermal) growth factor-EGF )
- e. Fibroblast Büyüme Faktörleri (Fibroblast growth factor-FGF)

Yara iyileşmesi kompleks bir olaydır. Çeşitli hücreler, büyüme faktörleri ve proteinler, bir diğeri ile etkileşime girerek yaranın kısa zamanda ve yeterli bir şekilde tamirini sağlar. Yaralanma ya da cerrahi sonucu damar bütünlüğü bozulduğunda trombositler açığa çıkan kollajen proteinlerine yapışarak adenozin difosfat, serotonin ve tromboksan içeren granülleri açığa çıkarır, bu moleküller hemostatik mekanizmaya katılarak pıhtı oluşumunu başlatır. Diğeri trombositlerde bu bölgeye gelerek trombosit tıkaçını oluşturur ve pıhtılaşma süreci tamamlanır (84,103).

Yara iyileşmesi süreci, doku tamirini arttırmak için uyum içinde hareket eden çok sayıda büyüme faktörünü içerir. Deneysel çalışmalarda trombosit kaynaklı büyüme faktörlerinden PDGF, EGF, TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , FGF'nin yumuşak doku tamirini arttırdığı gösterilmiştir (84,100).



### **a. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörleri (Platelet derived growth factors–PDGF)**

Trombositten kaynaklı 3 farklı izomer yapıda büyüme faktörü bulunur. Bunlar;

- a) PDGF<sub>aa</sub>
- b) PDGF<sub>bb</sub>
- c) PDGF<sub>ab</sub>

Büyüme faktörü yüksek derecede bazik özellikli, dimerik bir glikoproteindir. Hem homodimer (PDGF-AA, PDGF-BB) hem de heterodimer (PDGF-AB) formları bulunmaktadır. Bu büyüme faktörünün asıl kaynağı, trombositlerdeki  $\alpha$ -granülleridir. Ancak monositler, makrofajlar, fibroblastlar, endotelial hücreler ve kemik matriksi gibi farklı hücre ve dokulardan da izole edilmiştir. PDGF, mezenşimal orijinli fibroblast, glial, düz kas ve kemik hücrelerini stimüle eder. Mitojenik ve kemotaktik aktiviteleri ile protein sentezini uyararak yara iyileşmesinde önemli bir rol oynar. Ayrıca PDGF periodontal ligamentteki fibroblastlar için kemotaktiktir, bu fibroblastlar kollojenin ve total proteinin sentezini artırır. Yapılan invitro çalışmalarda bu faktörün tüm izoformlarının, periodontal ligamentteki fibroblastların proliferatif aktivitesi üzerinde güçlü bir etkisi olduğu saptanmıştır (84,98,104).

PDGF, yara iyileşmesinde en fazla bilinen büyüme faktörüdür. Özellikle mitojenler, hücre içinde kendilerine özgü membran reseptörü replikasyonunu indüklerler. Ayrıca bu faktör, mezenkimal stem hücrelerinin replikasyonunu ve osteoid yapının oluşmasını, endotelial hücre replikasyonunu ve yeni kan damarları için bazal lamina sekresyonunu, fibroblast replikasyonunu ve kollojen yapımını da stimüle eder.

### **b. $\beta$ -Gelişim Büyüme Faktörleri (Transforming growth factors $\beta$ –TGF $\beta$ )**

Transforme edici büyüme faktörü  $\alpha$  ve  $\beta$  (TGF- $\alpha$  ve TGF- $\beta$ ), sağlıklı ve neoplastik dokulardan izole edilen bir büyüme faktörüdür. TGF- $\alpha$  tek zincirli bir polipeptid iken, TGF- $\beta$  disülfid bağlı iki amino asit zincirine sahip, dimerik bir polipeptiddir.

TGF- $\beta$ 'nin ana kaynağı trombositler ve kemik olmasına karşın, pek çok doku tarafından da sentezlenebilmektedir. Hücre replikasyonu ve farklılaşması için majör düzenleyici olan TGF- $\beta$ , çift fonksiyonlu ve pleotropiktir. Bu nedenle hücre büyümesini stimüle ya da inhibe edebilir. Genel olarak TGF- $\beta$  tüm hücre tiplerinin matriks sentezini artırır, kemik hücreleri için de kemotaktiktir (98). Ayrıca tip I kollojen ve fibronektin biyosentezini artırır, kemik matriks depozisyonunu indükler (96). TGF- $\beta$ 'nin kemik hücre proliferasyonunda; hücrelerin farklılaşma durumuna, kültür koşullarına ve konsantrasyonuna bağlı olarak artış veya azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. İnvitro olarak kemiğin yakınına enjekte edildiğinde yeni kırıkta veya kemik oluşumunu arttırdığı, ancak kemik alanının uzağına implante edildiğinde ise yeni kemik oluşumunu indüklemediği gösterilmiştir (98).

Trombositlerde bulunduğu ispatlanmış olan TGF- $\beta_1$  ve TGF- $\beta_2$ , bağ dokusu iyileşmesi ve kemik rejenerasyonunda görev alan ve TGF- $\beta$  ailesinin en sık karşılaşılan üyeleridir. TGF- $\beta$  yalnızca kemik rejenerasyonunu başlatmakla kalmayıp, aynı zamanda uzun dönem kemik remodelasyonunda ve kemik greftinin olgunlaşmasında etkili olur (99).

### **c. VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)**

Büyüme faktörlerinden biri de, VEGF proteindir. Endothelial hücreleri sınırlı miktarda etkiler, bazal lamina sentezinin stimülasyonunu sağlar ve yeni kan damarı oluşumuna etki eder (94).

### **d. EGF (Epithelial Growth Factor)**

Bir büyüme faktörü olan EGF proteini, cilt altı bazal hücrelerde ve müköz membranlarda sınırlı düzeyde etkilidir. Biyolojik yüzeylerde replikasyonu, migrasyonu ve bazal membran spesifik komponent hücrelerinin stimülasyonunu indükler. Epidermal büyüme faktörü (EGF); tek zincirli, 53 aminoasit içeren bir proteindir ve yapısal olarak TGF- $\alpha$  ile benzerdir. Bu faktörün asıl kaynağı, üriner sistem ve tükürük bezleridir, ayrıca trombositler ile serebrospinal ve amniotik

sıvılardan da izole edilebilmektedir. EGF; epitelyum, endotel ve mezodermal kaynaklı hücrelerin DNA sentezini ve hücre büyümesini de stimüle eder (84).

#### **e. Fibroblast Büyüme Faktörleri (Fibroblast Growth Factor-FGF)**

TGF- $\beta$  ailesinin diğer başka bir üyesi de, bazik fibroblast büyüme faktörüdür (bFGF). Anjiojenik ve mitojenik özelliği pek çok invitro ve invivo araştırmalarda kanıtlanmış olan bFGF, hyalüronan jel taşıyıcısıyla kullanılarak, deneysel kırıkların iyileşmesinde başarılı sonuçlar vermiştir. Radomsky ve arkadaşları, bu kompoziti babun fibulalarındaki 1 mm'lik osteotomilerin tedavisinde tek bir perkütan enjeksiyonla denemişlerdir (105). Bu araştırmacılar, fibuladaki kallusların kontrol grubundakilerle kıyaslandığında; kallusun biyomekanik olarak % 30-50 daha dayanıklı olduğunu rapor etmişlerdir (62).

#### **PRP MEKANİZMASI**

Büyüme Faktörü dimer adı verilen **a) PDGF $\alpha\alpha$**

**b) PDGF $\beta\beta$**

**c) PDGF $\alpha\beta$** 'den salgılanır.

Büyüme faktörü, bunlara uyumlu reseptörleri bulunan hücrelere yapışır. Bu reseptörler, hedef hücre yüzeyinde bulunur ve faktör hiçbir zaman hedef hücre içine girmez. Bunun yerine membran reseptörünü aktive eder (transmembran reseptör). İki komşu transmembran reseptörü, birbirine kritik bir yakınlıkta intrasitoplazmik sinyal proteinlerini aktive edebilmek için harekete geçer. Transducer protein, transmembran proteinden ayrılır ve sitoplazmadan nukleusa geçer. Nukleus içerisinde transducer proteinler hücresel proteinleri düzenlemek için (örn. mitoz kollojen sentezi veya osteid yapı oluşturma gibi), spesifik gen kilidini açar.

Bu süreç bize dışarıdan yüksek konsantrasyonda büyüme faktörü uygulandığında neden aşırı reaksiyon gelişmediğini (örn. hiperplazi, benign veya malign tümör oluşmadığını) açıklar. Büyüme faktörü mutajenik değildir. Bunlar,

genlerin regülasyonunda rol oynayan doğal proteinlerdir ve normal yara iyileşmesinde feed-back kontrol mekanizmasına sahiplerdir (94).

## **Kemik Grefti ve TZP uygulamasından Sonra Rejenerasyon ve Trombositlerin Rolü**

Kemik rejenerasyonu, yaralanmanın ardından fibrin ağı oluştuktan sonra degranüle olan trombositlerden PDGF ve TGF- $\beta$  salınımı ile başlar. PDGF, kemik iliği kök hücrelerinde mitogenezi ve endosteal osteoblastların greft alanına göçünü stimüle eder. Endotelial hücre mitozunu indükleyerek, greft alanında öncü kapiller hücrelerin anjiogenezini başlatır. TGF- $\beta$  ise; fibroblast ve preosteoblastları mitoz için aktive ederek sayıca artışlarını sağlar ve farklılaşarak matür osteoblastlara dönüşmelerini indükler. TGF- $\beta$  salınımının devam etmesi, osteoblastları etkileyerek kemik matriksinin ve fibroblastları etkileyerek kollojen matriksin oluşumunu artırır. Bu aktiviteler yaranın kapatılmasının hemen ardından gerçekleşir. 3. günde kapillerler greft içine penetre olmaya başlar ve 14.-17. günde greftte tamamen kapillerler meydana gelmiş olur. Büyüme faktörleri de gerekli hücrelerin sayıca hızla artmasını ve aktivite kazanmalarını sağlar (84,100).

İyileşme ve kemik rejenerasyon aktivitesi iki mekanizma ile devam eder. İlki kemik iliği kök hücrelerinin aktivasyonu ile osteoblastlardan TGF- $\beta$  salınımıdır. İkincisi ve daha sık görülen mekanizma ise; makrofajların kemotaksis ile alana gelip trombositlerle yer değiştirmesi ve 3. günden sonra büyüme faktörlerinin ana kaynağı olmasıdır (84). Makrofajlar PDGF'ü etkisi ile grefte tutunurlar ve greft ile sağlıklı komşu doku arasında oksijen değişimi olur. PDGF'ü etkisi azalarak, yerini makrofaj kaynaklı büyüme faktörleri ve anjiogenik faktörlere bırakır. Bu büyüme faktörleri PDGF ile aynı etkilere sahiptir, aradaki tek fark trombositlerden değil makrofajlardan salınmalarıdır. Kemik iliği kök hücreleri, otokrin bir etki ile kendi kendilerini stimüle ederek, TGF- $\beta$  salgılamaya devam ederler. 4. haftada revaskülarize olan greft,

makrofaj aktivitesi için gerekli olan oksijen değişimine son verir. Makrofajlar alandan ayrılırken, olgunlaşmamış osteoid doku meydana gelmiştir. Kemik greftinin havers sistemini içeren olgun lameller kemiğe dönüşmesinde ise, kemik morfojenik proteinleri (BMP) olarak adlandırılan ve osteoid dokudan salınan proteinlerde rol oynamaktadır. Yeni oluşan kemik matriksinden salınan BMP'ler, komşu kemik kök hücrelerinin sayıca artarak osteoblastlara farklılaşmasını ve aktif olarak kemik matriks sentezini ve mineralizasyonunu sağlamaktadırlar (84,100).

Okuda ve arkadaşları, 20 sağlıklı bireyden aldıkları kanla TZP elde ederek, hücre kültüründe TZP'nın biyolojik aktivitesini araştırmışlardır. TZP'nın özellikle yüksek konsantrasyonda PDGF-AB ve TGF- $\beta_1$  içerdiğini ve osteoblastik DNA sentezini, hücre bölünmesini, gingival fibroblast ve periodontal ligament hücrelerinin DNA replikasyonunu arttırdığını tespit etmişlerdir (84,106).

### **TROMBOSİT ve PRP'NİN KEMİK REJENERASYONUNDAKİ MEKANİZMASI**

Trombosit içerisindeki alfa granüllerinin aktivasyonu, pıhtı oluşumunun ilk 10 dakikasında başlar ve büyüme faktörü, transmembran reseptörlerdeki osteoprogenitör hücrelere, endotelial hücrelere ve mezenkimal stem hücrelerine bağlanır. Fibrin ve fibronektin, pıhtının hücreli parçalarında bulunur. Vikronektin ise, başlangıç matriksindeki trombosit alfa granüllerinden meydana gelir (94).

PDGF'nün 3 izomeri osteoblastlar, endotelial hücreler ve mezenşimal stem hücreleri için mitojen rol oynar. TGF- $\beta$ 'nın iki izomeri ise benzer şekilde mitogenezis ve anjiogenesis üzerine etkilidirler ve mezenşimal stem hücrelerin osteoblastik diferansiasyonunu artırır. VEGF ise, spesifik kapiller büyümeyi artırır.

Trombosit konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak, kemik greftindeki hücrel cevap normal bir pıhtıdakine oranla daha hızlı ve fazla olur. Greftin yerleştirilmesinden 3 gün sonra, bölgede osteoprogenitör hücre mitozu ve vaskülarizasyon gözlenmeye başlar. 17-21 gün arası greftin kapiller penetrasyonu tamamlanır ve osteoprogenitör hücre sayısı giderek artar. Kemik grefti iyileşmesinin birinci fazı ilk 3 hafta içinde başlamış olur. Burada kapiller büyümeler ve hücrel metabolizma artışı gözlenir. Bu fazda, greft maddesinin enfeksiyon riski yüksektir ve greft henüz stabil değildir.

Bölgedeki hücre adezyonları, vasküler büyüme için yüzey matriksi oluşturur. Bu matriks aynı zamanda osteoid yapıların oluşmasında iskelet görevi görür. 3-6 hafta arası osteoprogenitör hücreler, osteoidleri oluşturmak için prolifer ve diferansiye olmaya başlarlar. Buna bağlı olarak, osteoid yapı ve greft kaynaşır, greft kemik yapıya entegre olur. Bu çoğunlukla kemik rejenerasyonunun 2. fazı olarak tanımlanır (94).

6. haftanın başında osteoidler, rezorbsiyon ve remodelasyon döngüsüne girerler. Zayıf ve elastik yapıdaki osteoidler, osteoklastlar tarafından rezorbe edilirken BMPs, ILG<sub>1</sub> ve ILG<sub>2</sub> salınımında gerçekleşir. Bu sırada osteoblast ve mezenşimal stem hücreleri diferansiye olarak, osteoid yapıda bulunmayan lameller yapı ve havers sistemi içeren daha olgun kemik ile yer değiştirir (94). Kemik rejenerasyonunun 3. Fazı olarak tanımlanan bu faz, greftin rezorbsiyon ve remodelasyon sürecinin sonuna kadar devam eder. Bu aşama, klinik ve radyolojik olarak mineralize olmuş kemik ile izlenebilir (94).

Marx ve arkadaşları, PRP kullanarak tedavi ettikleri 5 cm veya daha büyük mandibular defekte sahip 88 hastadan elde ettikleri sonuçlarda, PRP'nin greft içine yerleştirilmesiyle en az 3 büyüme faktörü salgıladıklarını rapor etmişlerdir. Bunlar PDGF, TGF- $\beta_1$  ve TGF- $\beta_2$ 'dir. Aynı çalışmayla, ilik hücrelerinde bu faktörlerin reseptörleri olduğu, PRP'nin kemik oluşumunu artırıcı etkisi olduğu ve PRP'nin etki mekanizmasının anlaşılması sağlanmıştır. Büyüme faktörlerinin kullanılmasındaki amaç, farklı hücrelere dönüşme yeteneği

olan ve az sayıda bulunan kök hücrelerini hızlı bir şekilde çoğaltmak ve bu hücrelerin yara iyileşmesi süresince aktif olmalarını sağlamaktır. Bu çalışma sonrasında, PRP'nın oral ve maksillofasiyal cerrahilerde kullanımı ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve yayınlanmıştır (94).

PRP hazırlanmasında, venöz kanda bulunan trombositler diğer kan hücrelerinden ayrıştırılır ve plazma içerisinde yoğunlaştırılır. Bunu yapmak için başlangıçta hücre ayırıcılarından yararlanılırken, daha sonraları basit santrifüj makinelerinin kullanımı gündeme gelmiştir. Günümüzde, farklı kliniklerde farklı uygulamalar devam etmekte ve her iki yöntem de kullanım alanı bulmaktadır.

Literatürde birbirinden farklı tekniklerden bahsedilmesine karşın, tam kandan yoğun trombosit elde etmek için, izlenmesi gereken yol aynıdır. Bunun için öncelikle venöz kan elde edilir. Damar dışına çıkan kan, pıhtılaşma eğiliminde olduğu için antikoagülan bir madde ile karıştırılmalıdır. Elde edilen karışım belli bir merkezkaç kuvvetine maruz bırakılır. Buradaki amaç, kanda bulunan şekilli elemanların ağırlıklarına göre çökmesini sağlayarak istenen kan fraksiyonunu (trombosit) belirli bir bölgede toplamaktır. Antikoagülan ile karıştırılmış ve tüpe yerleştirilmiş kan, ilk santrifüj sonrasında iki kısma ayrılmış gibi görünmektedir. Ağırlıklarından dolayı eritrositler tüpün alt kısmında birikirken, üst kısımda sarı renkli plazma bulunur. Plazma kısmının eritrositlere yakın olan alt bölümünde ise, trombositler yoğunlaşır. Yapılan incelemelerde yeni sentezlenen trombositlerin, eritrositlerin oluşturduğu fraksiyonun üst kısmında da yoğun olarak bulunduğu anlaşıldığından, tüm plazma içeriğinin yanısıra eritrositlerin bulunduğu kısmın üzerinden de bir miktar alınması önerilmektedir. Daha sonra plazma ile az miktarda eritrositten oluşan karışım bir kez daha santrifüj edilerek, trombosit fraksiyonunun tüpün alt kısmında toplanması sağlanır. Bu aşamadan sonra, trombosit sayısı artmış olan plazma elde edilmiş olur (82).

PRP tanımlandıktan sonra birçok çalışmada kullanılmış ve elde edilen olumlu sonuçlar rapor edilmiştir. Anitua, diş çekimi ve daha sonra implant uygulaması endikasyonu olan 20 hastasında yaptığı ve sonuçları biyopsi ile değerlendirdiği çalışmasında, epitelizasyon, yumuşak doku iyileşmesi ve kemik rejenerasyonunun PRP uygulanan grupta daha iyi olduğunu belirtmiştir (107).

Kassolis ve arkadaşları ise, PRP ile dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftini alveol kreti ve sinüs lifting operasyonlarında kullanmış ve bu hastaların implant bölgelerinden biyopsiler alarak sonuçları değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar, PRP/kemik grefti kombinasyonunun yeni kemik oluşumunu desteklediği, PRP'nin jel kıvamı nedeniyle greftin uygulamasını kolaylaştırdığını ve adeziv özelliğinin pıhtıyı stabilizelediğini rapor etmişlerdir (108).

PRP rezorbe olmuş implant bölgelerinin tedavisi amacıyla da kullanılmıştır. Petrunaro isimli araştırmacı yaptığı çalışmada, implant etrafında meydana gelen defektlerin tedavisinde, greft ile PRP'nin kombine kullanılmasının, greftin iyileşme ve olgunlaşma sürecini hızlandığını belirtmiştir (109).

### **Yumuşak Doku İyileşmesinde PRP'nin Etkileri**

PRP'nin, fleplerin revaskülarizasyonu ve reepitelizasyonu ile hücre proliferasyonunu hızlandığı için, yumuşak doku iyileşmesini de hızlandığı düşünülmektedir. Bu nedenle, flep sınırlarına ve altta kalan dokulara uygulanması daha iyi sonuç verebilir (94).

Marx ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, PRP'nin yumuşak doku iyileşmesine üzerine olan etkileri araştırılmış ve elde edilen sonuçlarda, split-thickness deri greftlerinde PRP'nin etkilerine bakıldığında, yara izinin azaldığı ve ilk hafta boyunca ağrının minimuma indiği (% 40), yara kontraksiyonu ve düzelmiş pigment rejenerasyonu ile daha erken normal deri rengine döndüğü rapor edilmiştir (94).



## GEREÇ VE YÖNTEM

Tez çalışmamız; Dicle Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kuruluna (DEHEK:2006/43) proje olarak sunulmuş olup, etik kurul onayı alınmıştır. Deney hayvanı olarak, 200-240 gr ağırlığında 4 aylık dişi ratlar kullanılmıştır. Operasyonlar, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma Uygulama Merkezi Denek Hayvanları Ameliyathanesinde, histopatolojik incelemeler ise Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

Deneyisel çalışmamız 65 adet Wistar Albino tipi dişi rat üzerinde gerçekleştirilmiştir. 5 rat PRP'nin elde edilişi sırasında kullanılmış olup, kalan 60 rat ise 3 gruba ayrılmıştır. Ancak 1. gruptaki ratların her iki femuru da kullanılmış ve böylelikle toplamda 80 adet preparat elde edilmiştir.

İlk gruptaki 20 ratın sol femuruna kemik kavitesi açılarak yalnızca tip-I kollajen membran (Denticol) yerleştirilirken, kontrol grubu olarak da aynı gruptaki ratların sağ femurlarına kemik kavitesi açılmış ve kavite boş bırakılmıştır. Burada kontrol grubu "1. çalışma grubu", sol femurlarına tip-I kollajen membran (Denticol) uygulanan grup ise "2. çalışma grubu" olarak adlandırılmıştır (**Resim-1,11,12**).

İkinci 20 adet rat grubu ise, "3. çalışma grubu" olarak klasifiye edildi. Bu gruptaki ratların sağ femurlarına kemik kavitesi açılarak hidroksilapatit (HA, Apatos<sup>R</sup>, granüler form 1cc) ve tip-I kollajen membran (Denticol<sup>R</sup>) birlikte uygulandı (**Resim-2,13a,13b**).



**Resim1: Rezorbe olabilen Tip-I Kollajen membranın ticari formu**



**Resim-2: Hidroksiapatit granülleri içeren greft materyali+rezorbe olabilen Tip-I Kollajen membranın ticari formu**

Son kalan 20 adet rat grubu ise, “4. çalışma grubu” olarak isimlendirildi. Bu gruptaki ratların sağ femurlarına kemik kavitesi açılarak, greft maddesine TZP eklendi (Hidroksilapatit, Apatos<sup>R</sup> + Trombositten Zengin Plazma (TZP, PRP). Uygulanan kombinasyonun üstüne kollajen membran yerleştirildi (Tip-I kollajen membran, Denticol<sup>R</sup>) ve membran vikril ile femura sabitlendi (**Resim-3,14**).



**Resim-3: Hidroksiapatit granülleri içeren greft materyali+rezorbe olabilen Tip-I Kollajen membranın ticari formu+ hazırlanmış PRP süspansiyonu**

**PRP'nin hazırlanması:** 5 adet ratın anestezisi 0.1 ml xylozine hydrochloride ve 0.2 ml ketamine HCL'ün intramusküler enjeksiyonu ile sağlandı. Anestezi sağlandıktan sonra, ratın tüm kanı intrakardiyak olarak enjektörle çekildi ve bu kan sodyum sitrat tüplerine (4.5 mL) boşaltıldı (**Resim-4**). Tüpteki bu kanlar daha sonra D.Ü Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında 1200 rpm'de 10 dakika santrifüje edildi (CS-15 Centrifuge, Seri no: 96 E 6773,4800 rpm, Beckman, S4180) (**Resim-5,6**). Ratların vücuttaki tüm kanı intrakardiyak olarak alındığı için, bu esnada sakrifiye işlemi de tamamlandı. Bu yöntemle PRP (platelet rich plasma) ve PPP'nin (platelet poor plasma), kırmızı kan hücre fraksiyonlarından ayrılarak en üstte toplanması sağlandı. PPP ve PRP başka bir tübe alındı ve bunları birbirinden ayırmak

için tekrar 7385 rpm'de 5 dakika santrifüje edilip, konsantrasyonu artırılmış PRP elde edildi. Elde edilen PRP'nin hücre sayımı yapıldığında  $1.600.000 \text{ mm}^3$  bulundu.



**Resim 4: Sodyum sitrat tüpündeki rat kanı**



**Resim-5: Santrifüj işlemi**



**Resim 6: Santrifüj cihazı**

Deney hayvanlarının anestezisi, 0.1 ml Xylozin Hydrochlorid (Rompun<sup>R</sup>, Bayer, Türkiye) ve 0.2 ml Ketamin' in (Ketalar<sup>R</sup>, Eczacıbaşı, Türkiye) intramusküler enjeksiyonu ile sağlandı (**Resim-7**).

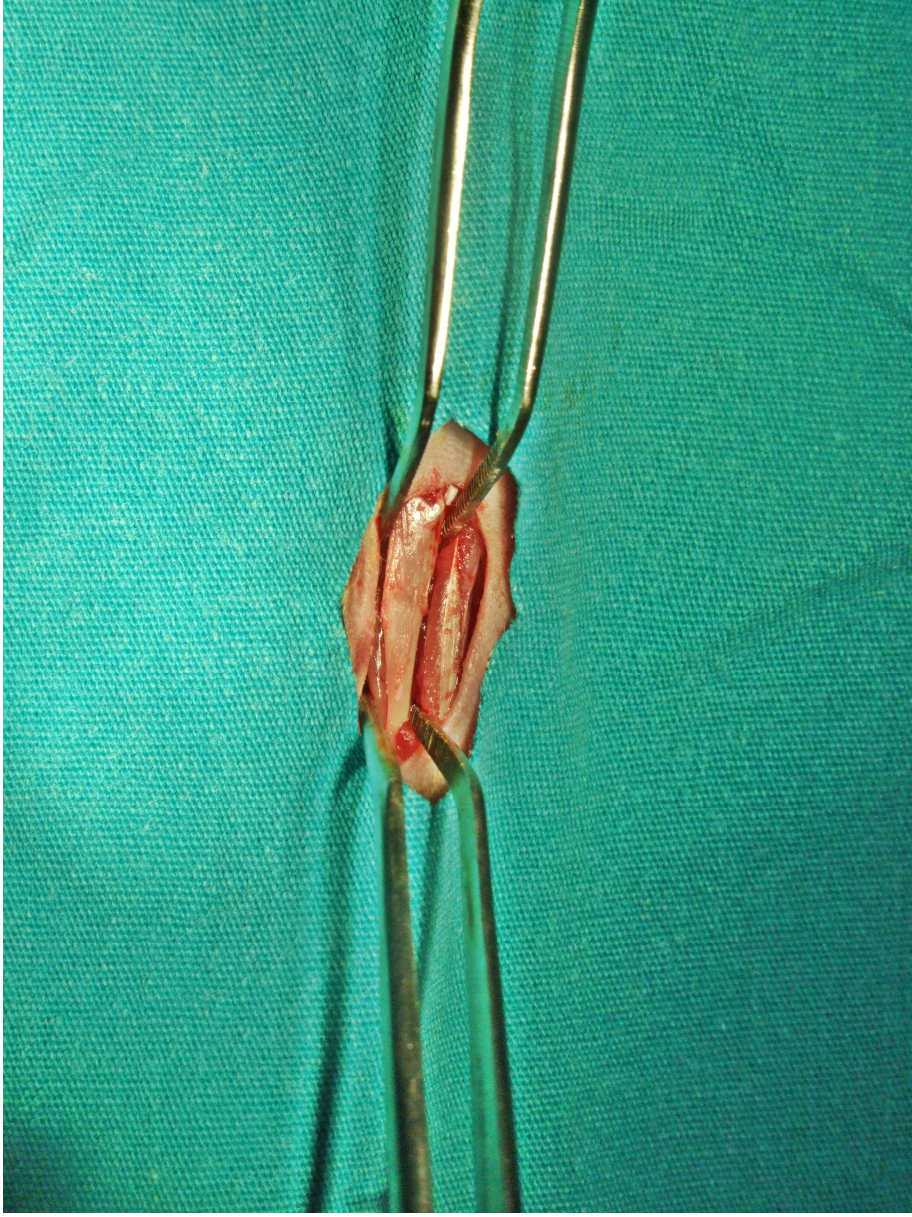


**Resim-7: Deney hayvanlarının anestezisinde kullanılan anestetik maddeler**

Ratların sağ arka bacağıının iç yüzü traşlandıktan sonra antiseptik solüsyon (Betadine, Kansuk, Türkiye) ile silindi. Femurun her iki ucu palpe edilerek 15 numaralı bistüri ile femura paralel 1 cm uzunluğunda cilt insizyonu yapıldı. Künt diseksiyon ile femur açığa çıkartıldı (**Resim-8,9**).



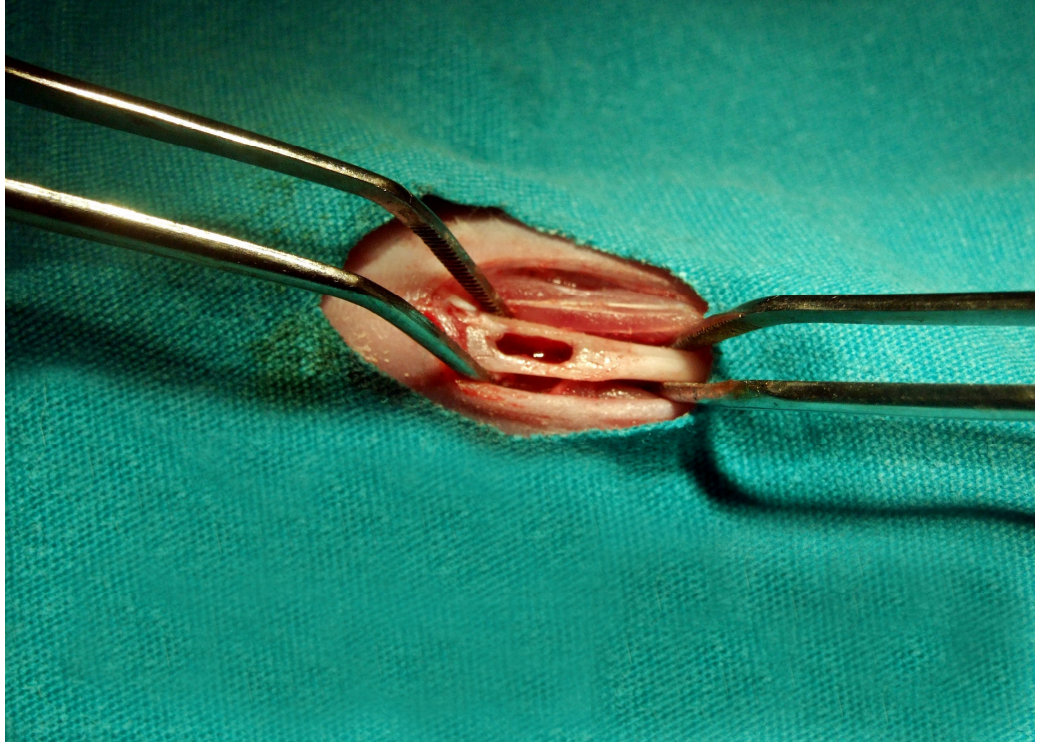
**Resim-8: Cerrahi prensiplere uygun olarak hazırlanmış operasyon bölgesi.**



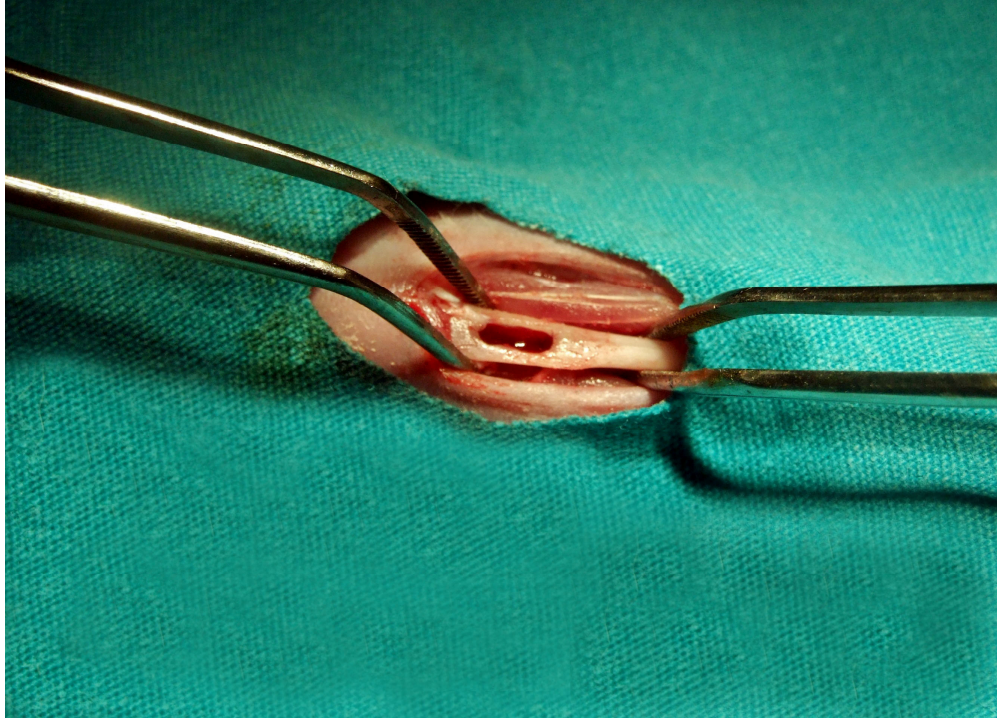
**Resim-9: Kunt diseksiyon ile femurun operasyon için hazır hale getirilmesi.**



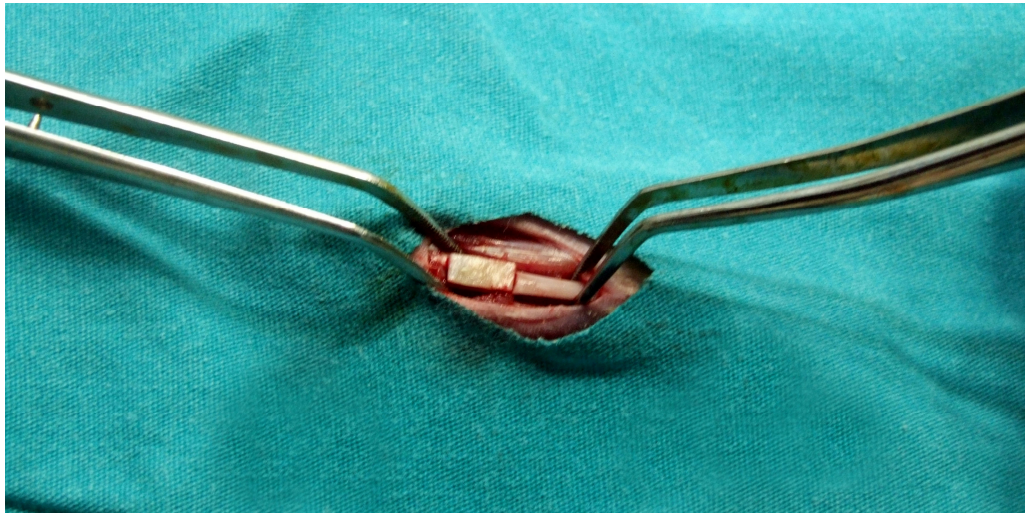
Femur üzerinde; serum fizyolojik irrigasyonu altında 0.14 numara rond frezle (Komet, Germany), 10 mm uzunluğunda, 3 mm derinliğinde ve 2 mm genişliğinde kemik kavitesi açıldı (**Resim-10**).



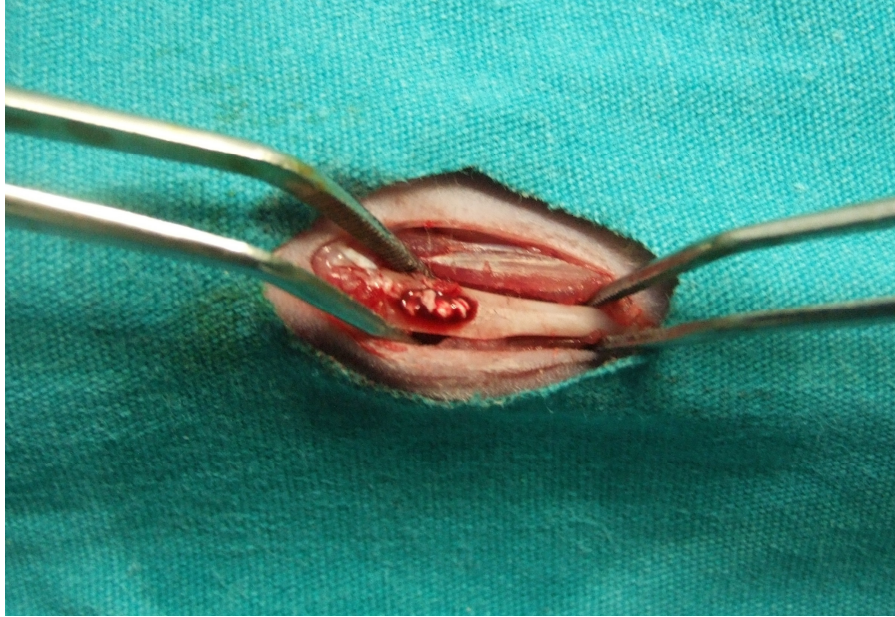
**Resim-10: Femurda oluşturulan kemik defekti**



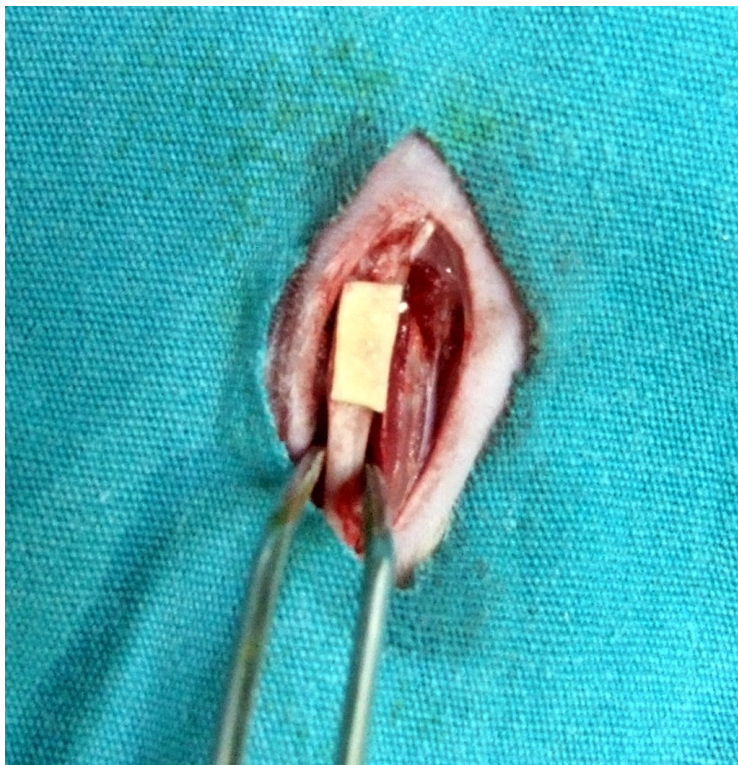
**Resim11: I. Grup (Kontrol grubu)**



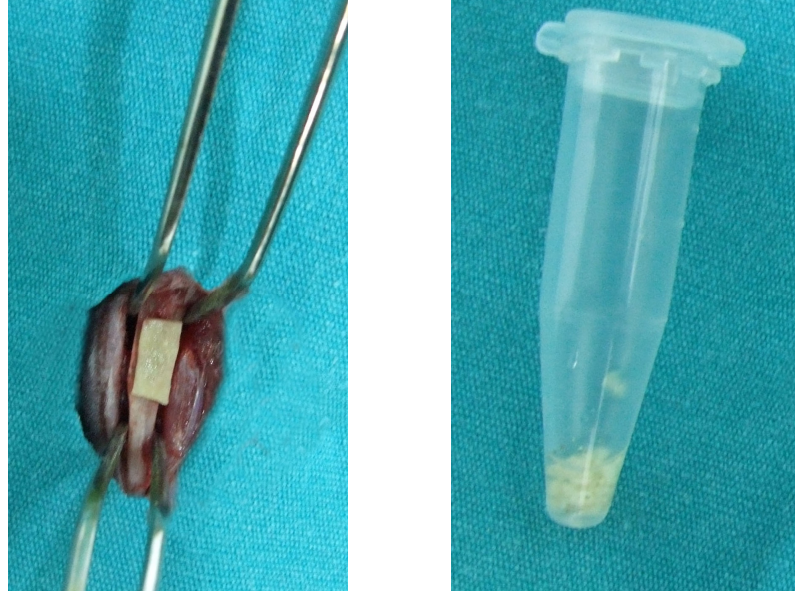
**Resim12: II. Grup (Tip-I Kollajen Membran, Denticol<sup>R</sup> uygulanan grup)**



**Resim-13a: III.Grup (Tip-I Kollajen Membran,Denticol<sup>R</sup>+ Hidroksilapatit, Apatos<sup>R</sup> uygulanan grup)**



**Resim-13b: III.Grup (Tip-I Kollajen Membran, Denticol<sup>R</sup>+Hidroksilapatit, Apatos<sup>R</sup> uygulanan grup)**



**Resim-14: IV. Grup (Tip I Kollajen Membran, Denticol<sup>R</sup>+ Hidroksilapatit, Apatos<sup>R</sup> + PRP uygulanan grup)**

2., 3. ve 4. gruplarda uygulanan kollajen membran femurun etrafından 3.0 poliglalin suture geçirilerek sabitlendi. Sonra periost ve cilt altı dokuları 3.0 poliglalin suture (Vicryl, Ethicon Limited, Belgium) ile, cilt ise 3.0 ipek suture (Boz, Türkiye) ile primer olarak kapatıldı (**Resim-15**).



**Resim15: Bölgenin suture edilmiş postoperatif görüntüsü.**

Olası enfeksiyondan korunmak için her ratın gluteal kasının içerisine operasyondan hemen sonra tek doz antibiyotik (Gentamisin, 0.05 ml/kg) enjeksiyonu yapıldı. Deney hayvanlarının birbirine zarar vermelerini önlemek için de ayrı ayrı kafeslerde barındırıldı.



**Resim16: Sakrifiye edilen ratların çıkartılan femuru.**

Her deney grubundan 5'er adet alınarak 10.gün, 21. gün, 30. gün ve 60.gün takipleri yapıldı, bu sürenin sonunda lethal doz thiopentone'un intraperitoneal enjeksiyonu (28.410 µg/kg) ile deney hayvanları sakrifiye edilerek, femurları çıkartıldı (**Resim16**).

Çıkarılan femurlar % 10' luk nötral formalin ile fiske edildikten sonra D.Ü. Tıp Fakültesi Patoloji Laboratuarında histopatolojik incelemeye alındı. Kemik segmentleri % 5'lik formik asitte dekalsifiye edildikten sonra, kademeli alkollerden geçirilerek parafin bloklara gömüldüler. Bloklardan 5-6 µm kalınlığında kesitler alındı ve bu kesitler hemotoksilen-eosin solüsyonu ile boyanarak, preparatlar elde edildi.

Elde edilen kesitlerin 10. günde yeni oluşacak kartilaj dokusunun saptanması, 3. haftada yeni oluşmaya başlayan kemik dokusuna greft materyallerinin etkilerinin incelenmesi, 6. haftada hidroksilapatit ve membranın rezorbsiyonunun değerlendirilmesi, 12. haftada ise bu rezorbsiyonların incelenmesine ek olarak, greft materyallerinin yeni oluşacak kemik dokusuna etkisinin ve kemik kalitesinin değerlendirilmesi histopatolojik olarak yapıldı.

Preparatlar çalışma hakkında bilgi sahibi olmayan bir patolog tarafından ışık mikroskobu altında incelendikten sonra skorlandırıldı. Bu histopatolojik incelemede; osteoblastik aktivite, yabancı doku reaksiyonu, enfeksiyon, osteogenezis, fibrotik doku büyümesi, fiziksel ataçman, biyouyumluluk ve greftte rezorbsiyon kriterleri gözden geçirildi. Elde edilen değerler Mann-Whitney U testi ile istatistiksel olarak analiz edildi (**Tablo2,3**).

Osteogenezis Yok	1
Osteogenezis Zayıf	2
Osteogenezis Orta	3
Osteogenezis İyi	4
Osteogenezis Mükemmel	5

**Tablo 2: İstatistiksel analiz için kullanılan histopatolojik puanlandırma tablosu**

	<b>10.gün</b>	<b>21.gün</b>	<b>30.gün</b>	<b>60.gün</b>
Osteoblastik aktivite				
Yabancı doku reaksiyonu				
Enfeksiyon				
Osteogenezis				
Fibröz doku büyümesi				
Fiziksel ataçman				
Biokompatibilite				
Greftte rezorbsiyon				

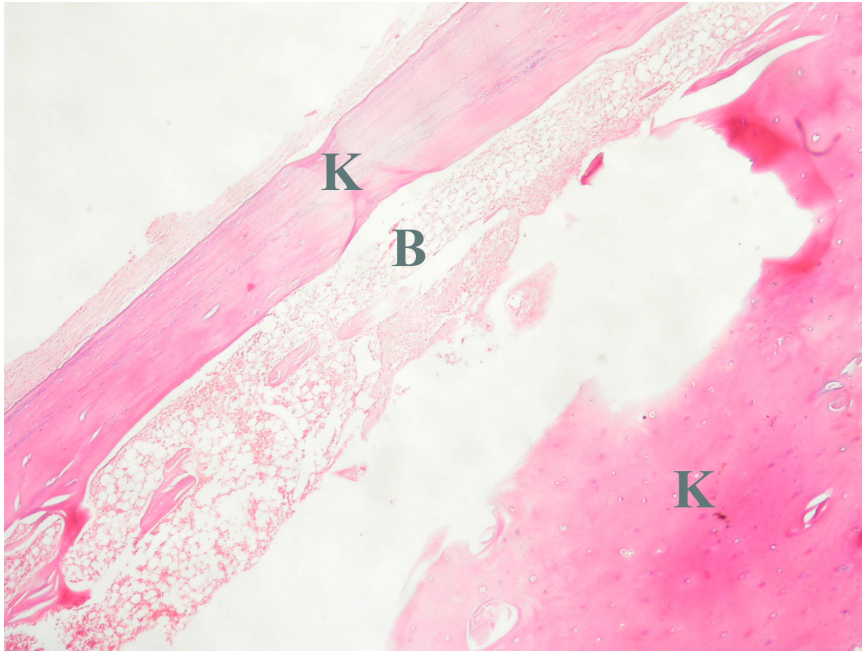
**Tablo 3 : Histopatolojik değerlendirilmede kullanılan kriterlerin tablosu**

## BULGULAR

Klinik olarak dört ayrı denek grubundaki bulguların normal olduğu, iyileşmenin olumlu yönde geliştiği gözlemlendi.

### A. Kontrol Grubundaki Histopatolojik Bulgular (Grup I):

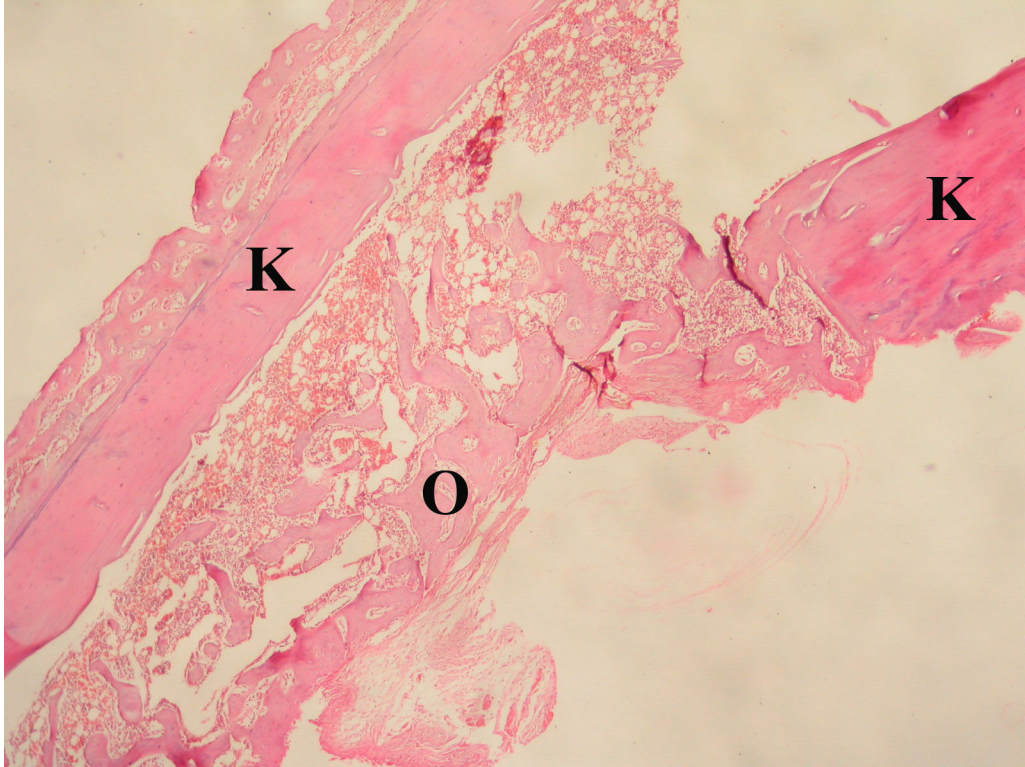
**10.gün bulguları:** Defekt alanında yeni kemik oluşumu henüz başlamamış olup, kavite içerisinde fibröz bağ dokusu büyümesi gözlemlendi. Bölgede herhangi bir enfeksiyon bulgusuna rastlanılmazken, bağ dokusu içerisinde sınırlı sayıda enflamasyon hücreleri izlendi (**Resim 17**).



**Resim 17:** Grup I'in 10. günündeki histopatolojik görünümü (HEX40).  
[Bağ dokusu (B), Korteks (K)].

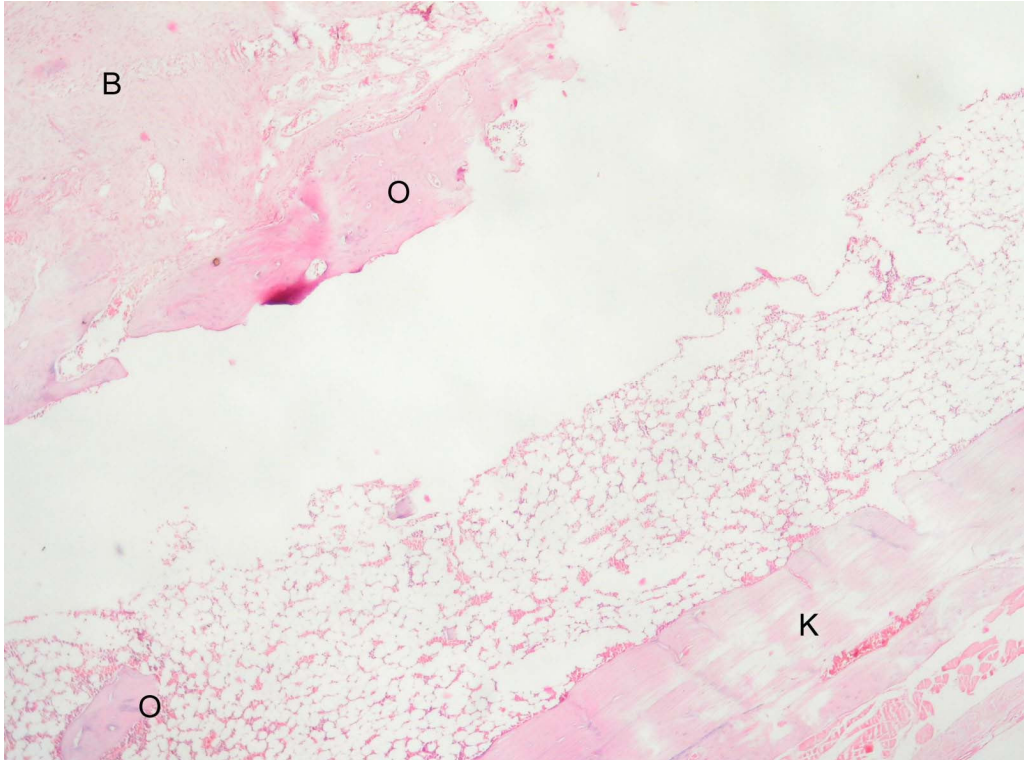


**21.gün bulguları:** Defekt alanı içerisinde osteoblastik aktiviteye bağlı olarak yeni kemik trabeküllerinin oluşmaya başladığı gözlenmiştir. Ayrıca bağ dokusu varlığı saptanmış olup, herhangi bir enfeksiyon bulgusuna rastlanılmamıştır Bağ dokusu içerisinde sınırlı sayıda inflamasyon hücreleri de izlenmiştir (**Resim 18**).



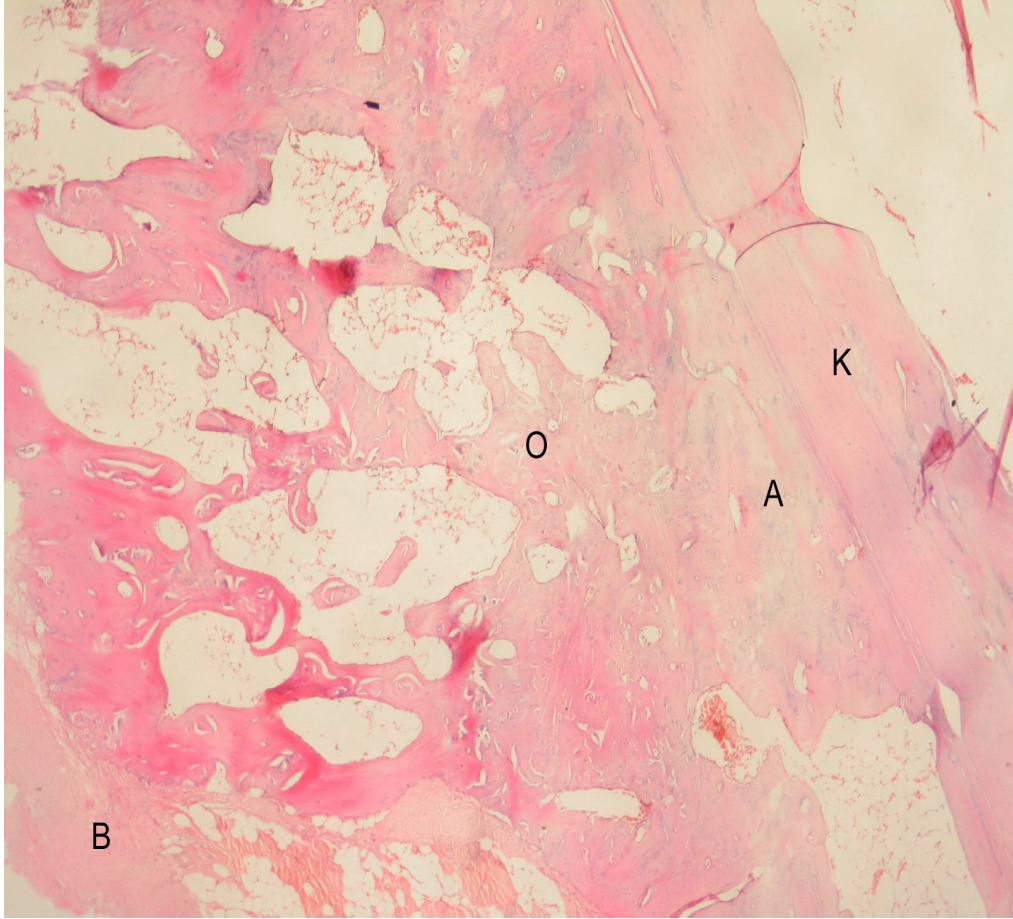
**Resim 18:** Grup I'in 21. gündeki histopatolojik görünümü (HEX40).  
[Osteogenesis (O), Korteks (K)].

**45.gün bulguları:** Bu gruptaki kesitlerde aktif kemik oluşumuna bağlı olarak, defekt alanında yeni kemik oluşumu izlenmektedir. Oluşan kemikler spongiöz yapıda olup herhangi bir enfeksiyon bulgusuna da rastlanılmamıştır (**Resim 19**).



**Resim 19:** Grup I'ın 45. gündeki histopatolojik görünümü (HEX40).  
[Osteogenezis (O), Bağ dokusu (B), Korteks (K)].

**90.gün bulguları:** Bölgede osteoblastik aktivitenin devam ettiği ve iyi derecede yeni bir kemik oluşumunun meydana geldiği gözlemlendi. İyileşme alanında herhangi bir fibröz doku büyümesi veya enfeksiyon bulgusuna da rastlanılmamıştır (**Resim 20**).



**Resim 20:** Grup I'in 90. gün histopatolojik görünümü (HEX40).

[Osteogenezis (O), Bağ dokusu (B), Korteks (K), Ataçman (A)] .

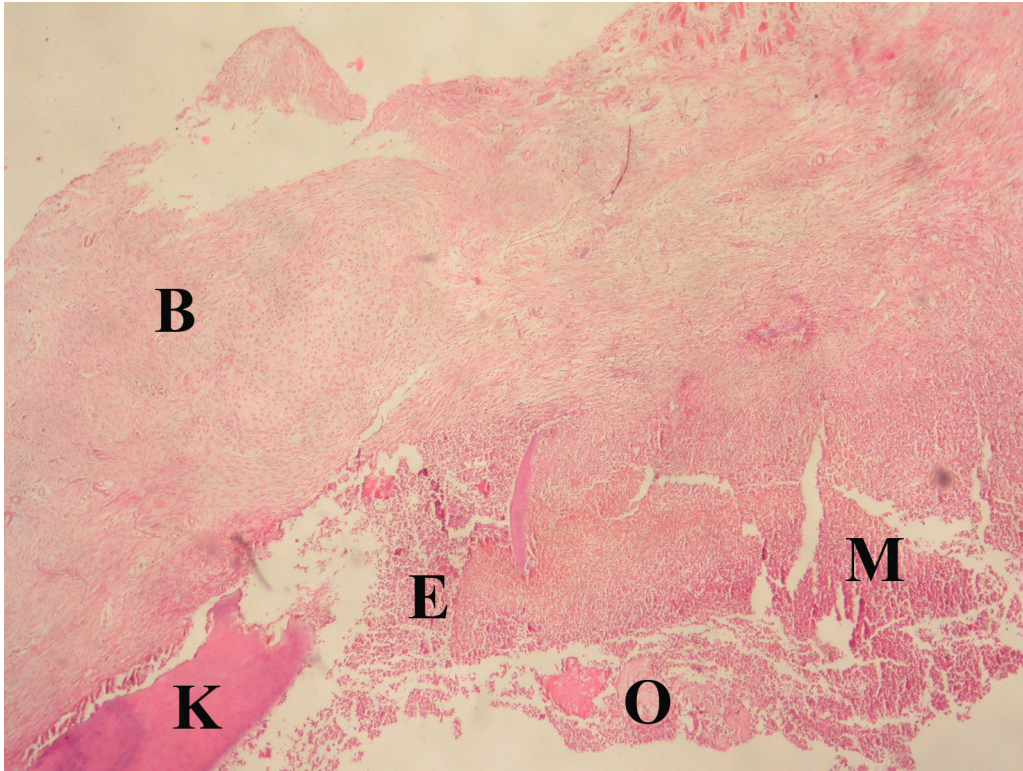
Gruplara ait histopatolojik değerlendirmeler yapıldıktan sonra, kemik iyileşmesi kalitesi ve kantitesine göre patoloğ tarafından skorlandırılması yapıldı. Kontrol grubuna ait skollama sonuçları Tablo 4'dedir.

**Tablo-4: Kontrol Grubunun Değerlendirme Günülerindeki Kemik İyileşme Skorları**

	10. Gün	21. Gün	45. Gün	90. Gün	Toplam Rat Sayısı
<b>Kontrol Grubunun Kemik İyileşme Skorları</b>	1	2	3	3	
	1	1	3	3	
	2	2	2	3	
	2	2	2	3	
	1	2	2	4	
<b>Rat Sayısı</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>20</b>

## B. Tip I Kollagen Membran Uygulanan Gruptaki Histopatolojik Bulgular (Grup II):

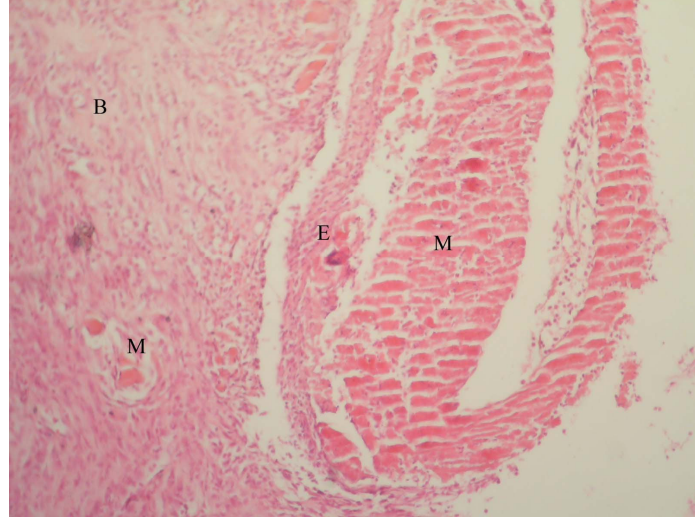
**10.gün bulguları:** Defekt oluşturulan bölgenin tabanında ve defekt kenarlarında bağ dokusu oluşumu ve osteogenezise bağlı olarak ince bir tabaka halinde spongiöz kemik oluşumunun başladığı gözlemlendi. Bölgede herhangi bir yabancı cisim reaksiyonu ve kollajen membranda rezorbsiyon saptanmadı. Bölgede yoğun enflamasyon görülürken, spongiöz kemikte ise herhangi bir aktif kemik iliği ve korteks oluşumu gözlenmedi (**Resim 21**).



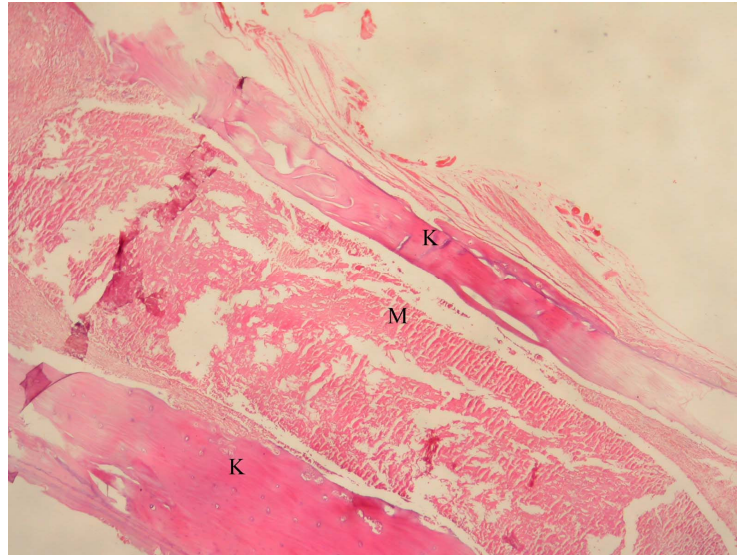
**Resim 21:** Grup II'in 10. günündeki histopatolojik görünümü (HEX40).

[Bağ dokusu (B), Korteks (K), Enflamasyon (E), Membran (M), Osteogenezis(O)].

**21.gün bulguları:** Defekt alanı içerisinde özellikle defekt tabanı ve kenarında osteogenezisin başladığı izlenmiştir. Bu alanda bağ dokusunun belirgin derecede arttığı, fiziksel atışmanın ise yeni yeni olduğu görülmüştür. Greftin biyouyumluluğunun iyi olduğu izlenmiş, herhangi bir yabancı cisim reaksiyonu ile karşılaşmamıştır. Kollajen membranda rezorbsiyon gözlenmezken, bölgede hafif bir enflamasyon ve dev hücrelerin varlığı tespit edilmiştir (**Resim 22a,22b**).

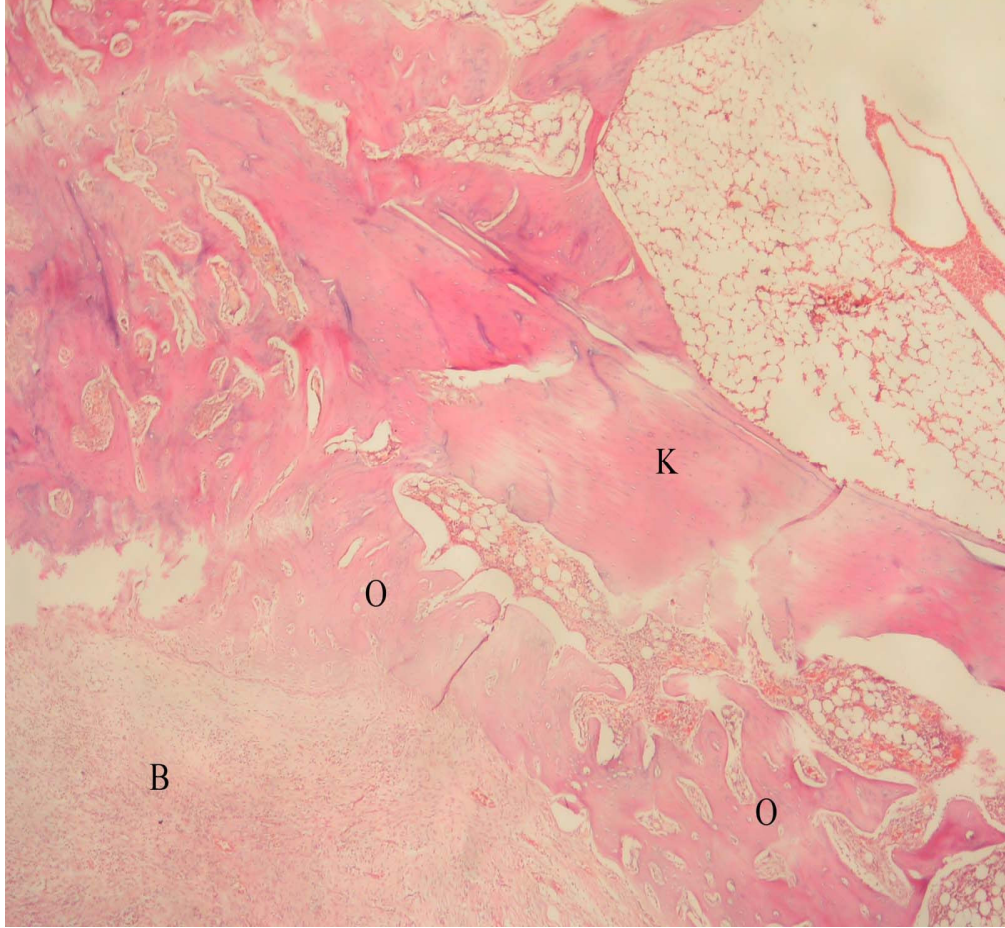


**Resim 22a:** Grup II'in 21. gündeki histopatolojik görünümü (HEX80).  
[Bağ dokusu (B), Enflamasyon (E), Membran (M)].



**Resim 22b:** Grup II'in 21. gündeki histopatolojik görünümü (HEX40).  
[Korteks (K), Membran (M)].

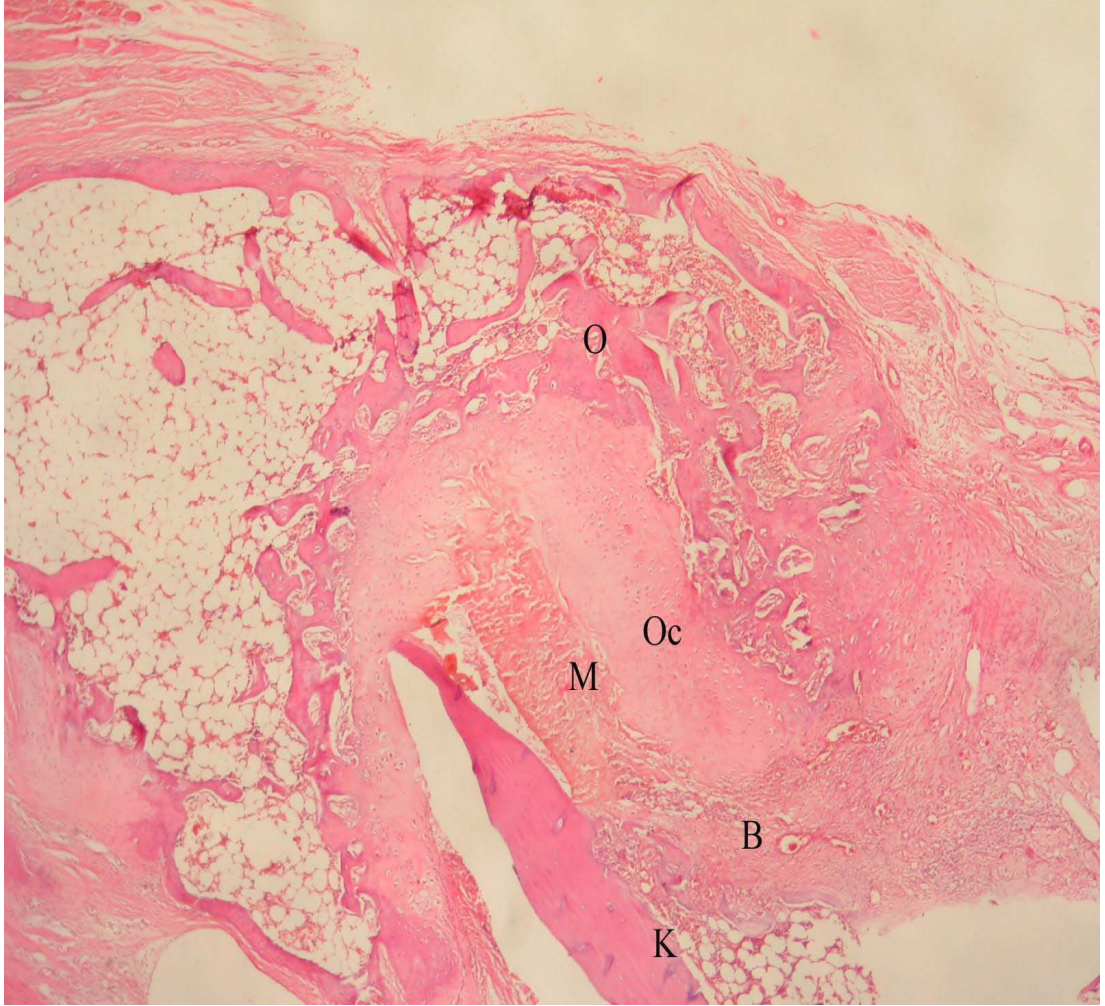
**45.gün bulguları:** Kesitlerin tümünde osteoblastik aktiviteye bağılı olarak, aktif yeni kemik oluşumu izlenmiştir. Bölgede vasküler yapılardan zengin bağ dokusu ve kemik iliğı oluşumu tespit edildi. Herhangi bir yabancı cisim reaksiyonuna rastlanmazken, membranın ise rezorbe olmaya başladığı gözlemlendi (**Resim 23**).



**Resim 23:** Grup II'in 45. gün histopatolojik görünümü (HEX40).

[Korteks (K), Osteogenesis (O), Bağ dokusu (B)].

**90.gün bulguları:** Bölgede osteoblastik aktivitenin devam ettiği ve kemik iyileşmesinin arttığı gözlemlendi. Defekt alanında daha az bağ dokusuna rastlanırken herhangi bir yabancı cisim reaksiyonu ve enfeksiyon bulgusu ile karşılaşılmadı. Uygulanan membranın ise rezorbsiyonunun arttığı izlendi (**Resim 24**).



**Resim 24:** Grup II'in 90. gün histopatolojik görünümü (HEX40).  
[Korteks (K), Osteogenezis (O), Osteokondral kemikleşme (Oc),  
Membran (M), Bağ dokusu (B)].



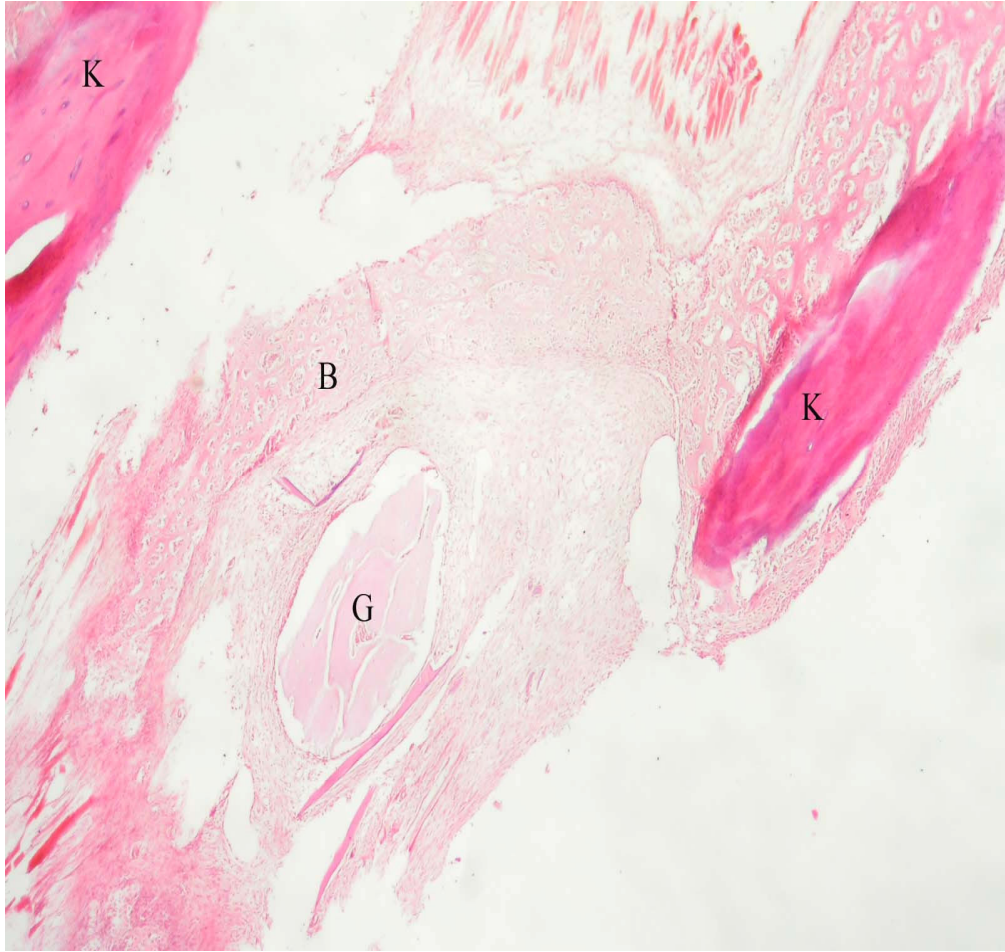
Gruplara ait histopatolojik değerlendirmeler yapıldıktan sonra, kemik iyileşmesi kalitesi ve kantitesine göre patoloğ tarafından skorlandırılması yapıldı. Sadece Kollajen Membran uygulanan gruba ait skollama sonuçları Tablo5'tedir.

**Tablo 5: Sadece Kollajen Membran Uygulanan Grubun Değerlendirme Günlerindeki Kemik İyileşme Skorları**

<b>Kollajen Membran Uygulanan Grubun Kemik İyileşme Skorları</b>	<b>10. Gün</b>	<b>21. Gün</b>	<b>45. Gün</b>	<b>90. Gün</b>	<b>Toplam Rat Sayısı</b>
	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	
	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	
	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	
	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	
	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	
<b>Rat Sayısı</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>20</b>

### C. Hidroksilapatit ve Tip-I Kollajen Membran Uygulanan Gruptaki Histopatolojik Bulgular (Grup III):

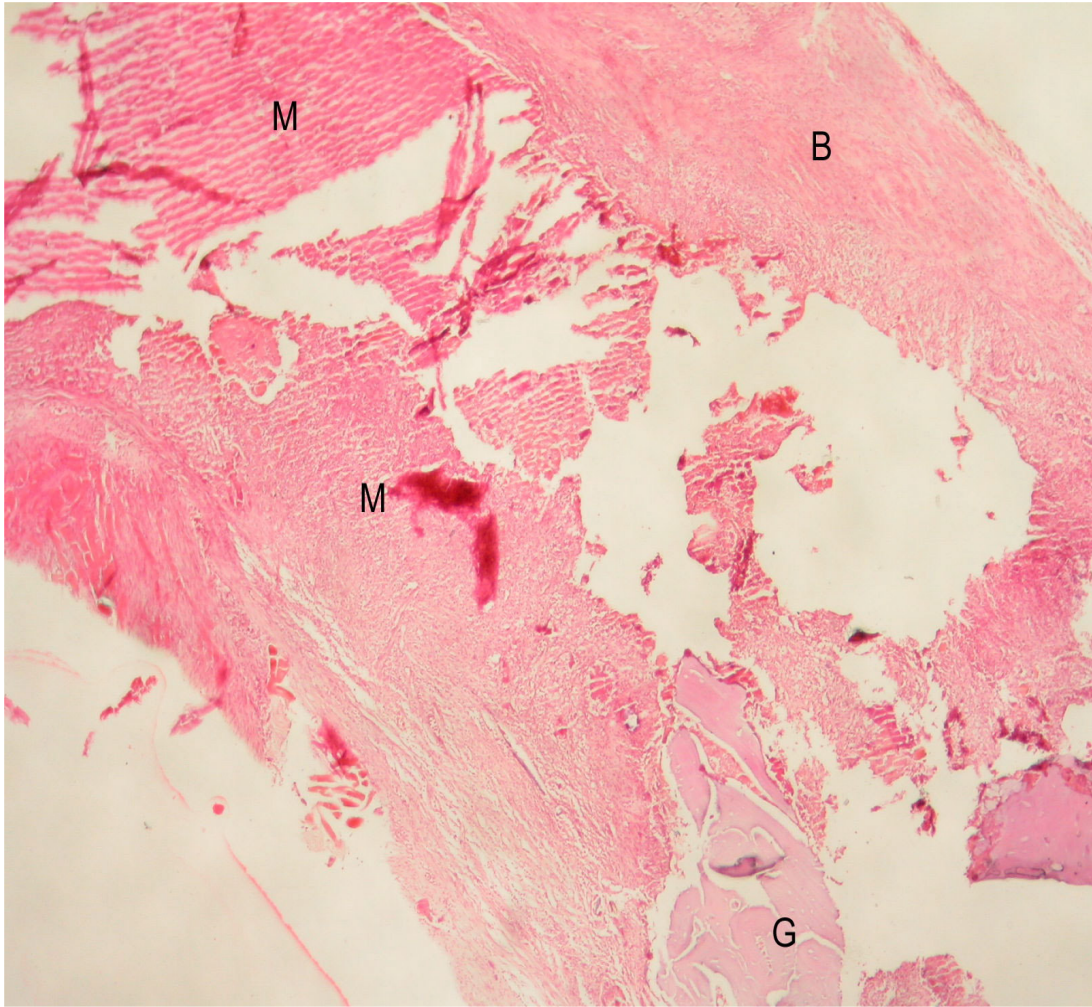
**10.gün bulguları:** Bölgede yoğun olarak bağ dokusu ve osteoblastik aktiviteye bağlı olarak, defekt tabanında ve yan duvarlarda ince bir tabaka halinde yeni kemik oluşumu varlığı saptandı. Bölgede hafif bir enflamasyon gözlemlendi. Herhangi bir yabancı doku reaksiyonu ve greft maddesinde rezorbsiyon ile karşılaşılma (Resim-25).



**Resim 25:** Grup III'ün 10. gündeki histopatolojik görünümü (HEX40).

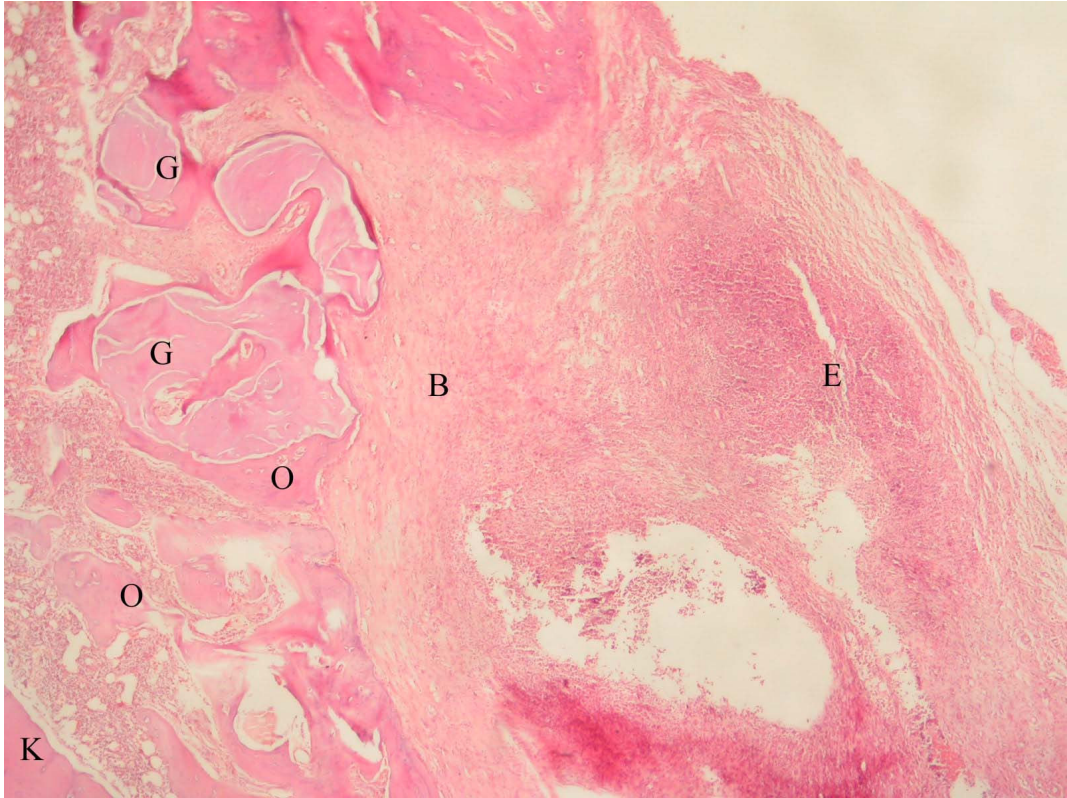
[Korteks (K), Greft (G), Bağ dokusu (B)]

**21.gün bulguları:** 3. haftada membranın etrafında ve defektin tabanında osteoblastik aktiviteye bağlı olarak meydana gelen yeni kemik oluşununun arttığı gözlemlendi. Bölgede bağ dokusu artışı ve az miktarda enflamasyon izlendi. Greftin biyouyumlu olduğu ve herhangi bir yabancı cisim reaksiyonu gelişmediği, ancak ataçmanın belirgin bir şekilde izlenmediği de tespit edildi. Greft maddesinde de herhangi bir rezorbsiyon saptanmadı (**Resim-26**).



**Resim 26:** Grup III'in 21. gündeki histopatolojik görünümü (HEX40).  
[Greft (G), Membran (M), Bağ dokusu (B)].

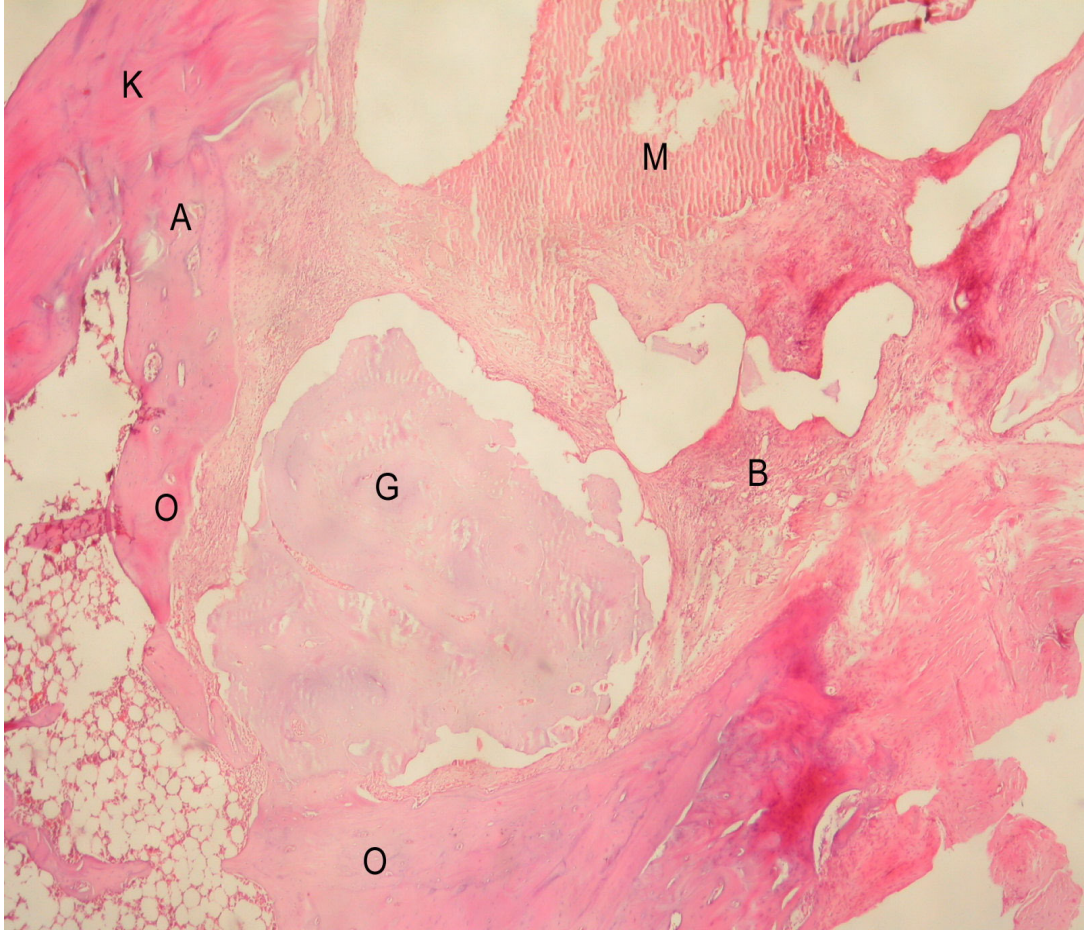
**45.gün bulguları:** Greft materyali yerleştirilen bu grupta, 21. gün bulgularına göre yeni kemik oluşumunun daha da arttığı gözlemlendi. Bölgede osteoblastik aktivitenin devam ettiği ve greft materyalinin etrafını bağ dokusunun çevrelediği izlendi. Bu alanda herhangi bir yabancı cisim reaksiyonu gözlenmedi. Tüm bu bulgulara göre greftin biyouyumluluğunun iyi olduğu düşünüldü (**Resim-27**).



**Resim 27:** Grup III'un 45. gündeki histopatolojik görünümü (HEX40).

[Greft (G), Osteogenezis (O), Korteks (K), Bağ dokusu (B),  
Enflamasyon (E)] .

**90.gün bulguları:** 12. haftada defekt bölgesinde, osteoblastik aktivitenin ve yeni kemik oluşumunun devam ettiği saptandı. Greft materyallerinin birbirleriyle ve kemik korteksi ile aralarında fiziksel ataçmanın sağlandığı izlendi. Uygulanan kollajen membranın rezorbe olduğu ve parçalanmış membran artıklarının bölgeye dağıldığı ve bağ dokusunun giderek azaldığı gözlemlendi. Defekt alanında herhangi bir yabancı cisim reaksiyonu ile karşılaşılmazken, tüm bulgulara göre greftin biyouyumluluğunun iyi olduğu düşünüldü. Greft uygulanan bu gruptaki kesitlerde, I. ve II. gruplara kıyasla elde edilen kemikleşmenin tama yakın olduğu ve ideal bir iyileşmenin gerçekleştiği görüldü (**Resim-28**).



**Resim 28:** Grup III'un 90. gün histopatolojik görünümü (HEX40).

[Greft (G), Osteogenezis (O), Korteks (K), Bağ dokusu (B), Ataçman (A), Membran (M)]

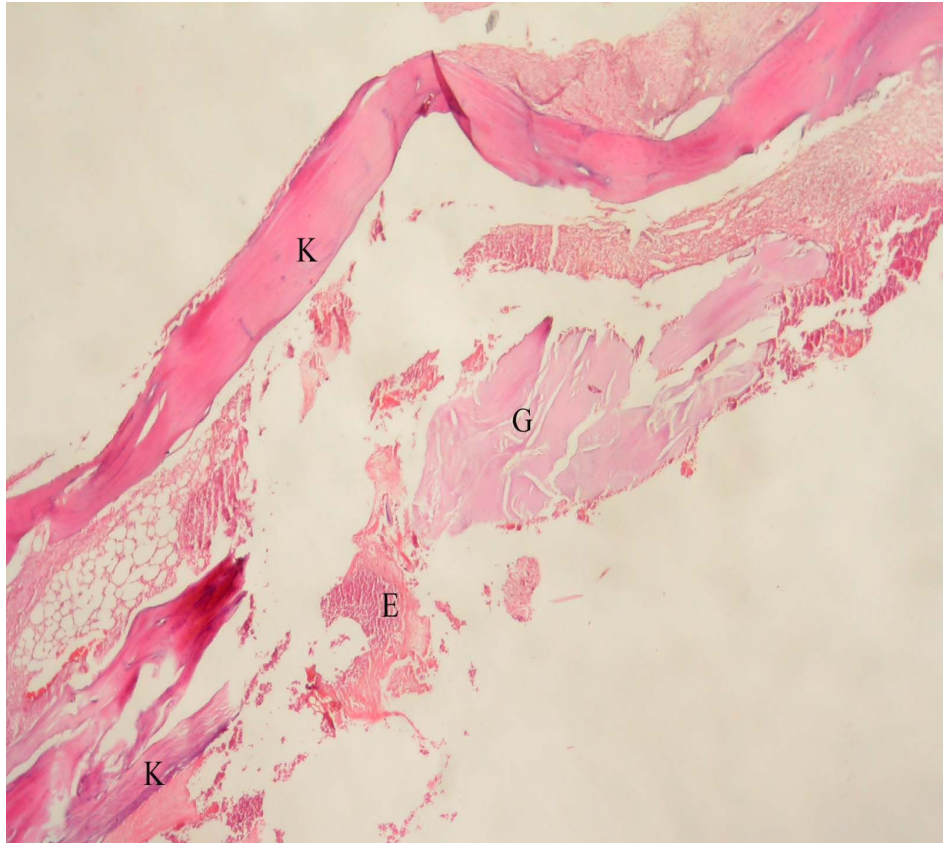
Gruplara ait histopatolojik değerlendirilmeler yapıldıktan sonra, kemik iyileşmesi kalitesi ve kantitesine göre patoloğ tarafından skorlandırılması yapıldı. HA ve Kollajen Membran uygulanan gruba ait skortlama sonuçları **Tablo-6'**dadır.

**Tablo 6: HA ve Kollajen Membran Uygulanan Grubun Değerlendirme Günlerindeki Kemik İyileşme Skorları**

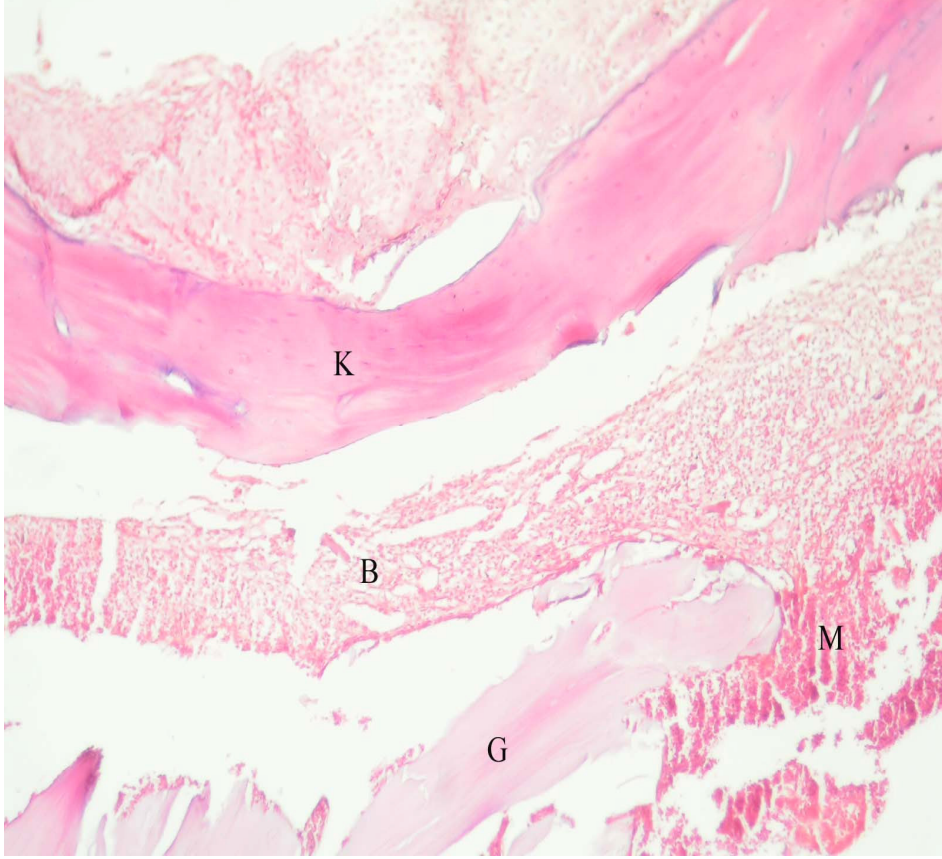
HA+Kollajen Membran Uygulanan Grubun Kemik İyileşme Skorları	10. Gün	21. Gün	45. Gün	90. Gün	Toplam Rat Sayısı
	1	1	3	4	
	2	1	3	4	
	2	2	4	4	
	2	2	4	4	
	2	2	3	4	
<b>Rat Sayısı</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>20</b>

#### **D. PRP+HA+Tip-I Kollajen Membran Uygulanan Gruptaki Histopatolojik Bulgular (Grup IV):**

**10.gün bulguları:** Kesitlerde partiküller etrafında enflamatuar hücreler izlenmiştir. Bu erken dönemde bölgede herhangi bir yabancı cisim reaksiyonu ve greft rezorbsiyonunun olmadığı, greft materyalinin biyouyumluluğunun iyi olduğu gözlemlendi. Alınan örneklerde greft çevresinde aktif kemik iliği oluşumu, osteogenezis ve korteks oluşumu mevcut olmamasına karşın, defekt tabanında ve defekt duvar çeperinde osteoblastik aktiviteye bağlı olarak yeni kemik oluşumu gözlenmiştir. Fiziksel atışman ise net olarak gözlenmemiştir (**Resim 29a,29b**).



**Resim 29a:** Grup IV'ün 10. gündeki histopatolojik görünümü (HEX40).  
[Graft (G), Korteks (K), Enflamasyon (E) ].

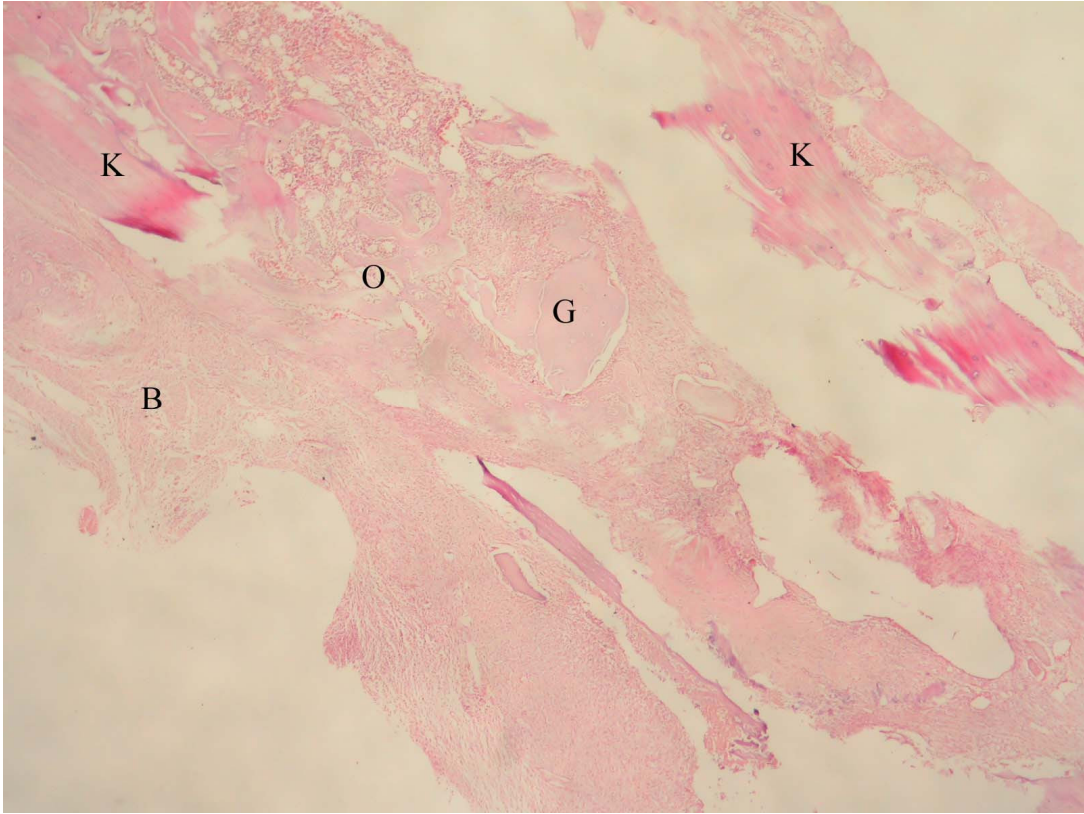


**Resim 29b:** Grup IV'ün 10. gündeki histopatolojik görünümü (HEX40).

[Graft (G), Korteks (K), Bağ Dokusu (B), Membran (M)] .



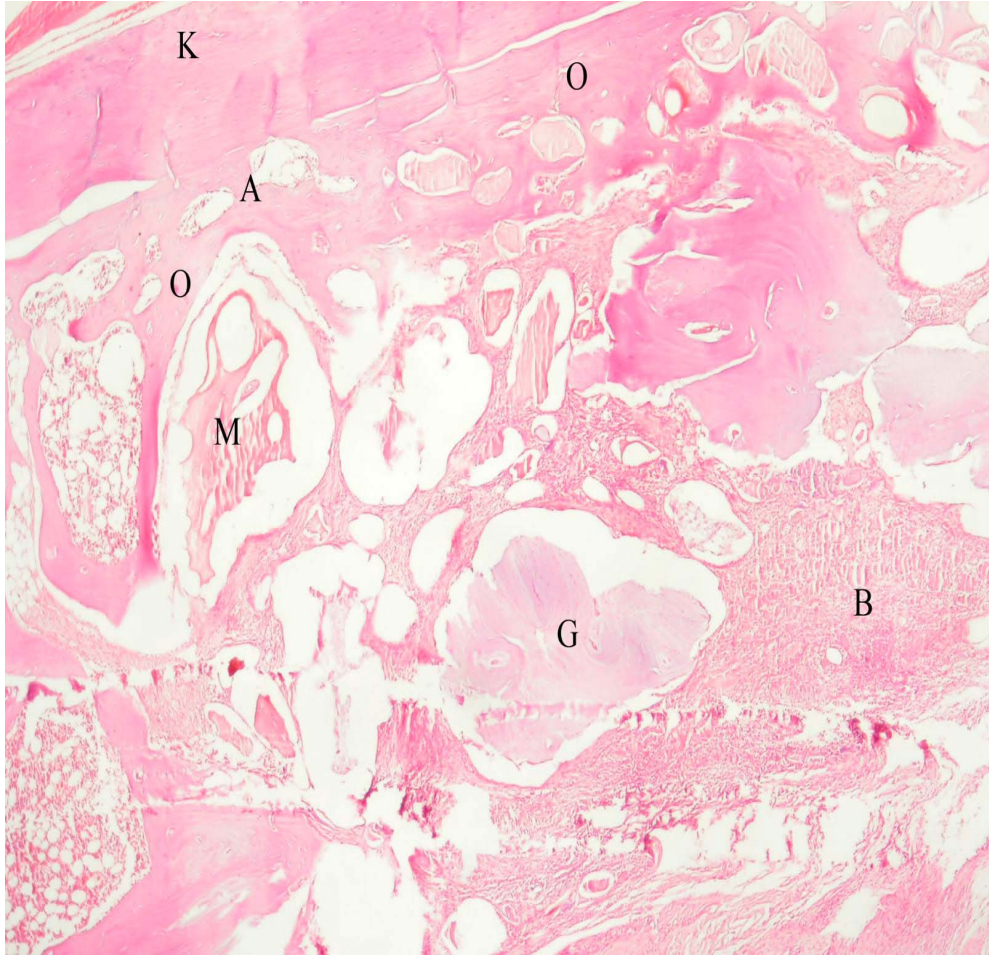
**21.gün bulguları:** 3. haftada defekt bölgesinde, belirgin bir bağ dokusu artışı ve greft çevresini yeni kemik oluşumunun sardığı net bir şekilde gözlenmiştir. Bölgede hafif miktarda enflamasyon varlığı saptanmış, ancak herhangi bir yabancı cisim reaksiyonuna rastlanmamıştır. Atışmanın çok net olmadığı ve greftte herhangi bir rezorpsiyonun başlamadığı da izlenmiştir. PRP uygulanan bu grupta yeni kemik oluşumunun, III. Gruba kıyasla daha fazla meydana geldiği saptanmıştır (**Resim30**).



**Resim 30:** Grup IV'ün 21. gündeki histopatolojik görünümü (HEX40).

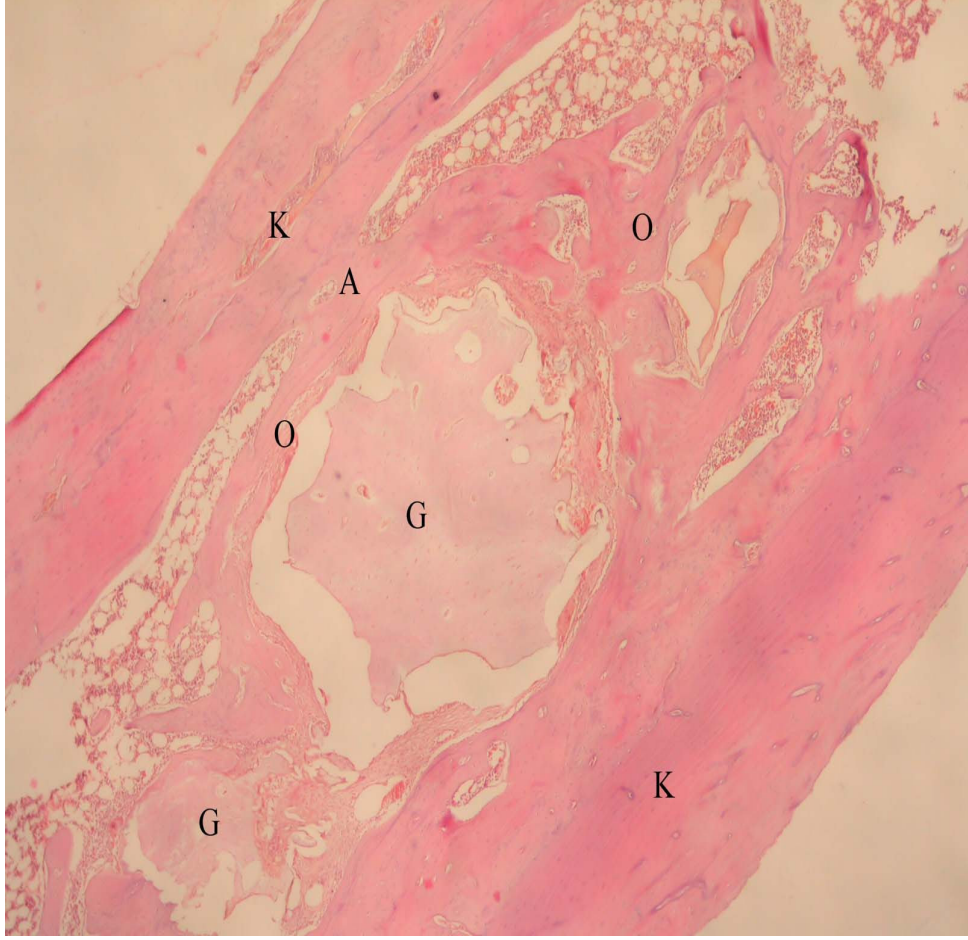
[Graft (G), Korteks (K), Bağ Dokusu (B), Osteogenezis (O)] .

**45.Gün Bulguları:** 6. haftada greftin granülleri arasında osteogenezisin orta ve iyiye yakın derecede olduğu, yeni oluşan kemiğin ise poröz yapılarla temas kurduğu gözlemlendi. Graft maddelerinin birbirleriyle ve kompakt kemikle olan ataçman bağlantısı izlenmiş ve bölgede herhangi bir yabancı cisim reaksiyonuna rastlanmamıştır (**Resim-31a,31b**).



**Resim 31a:** Grup IV'ün 45. gündeki histopatolojik görünümü (HEX100).

[Graft (G), Korteks (K), Bağ Dokusu (B), Osteogenezis (O), Membran (M), Ataçman (A)].

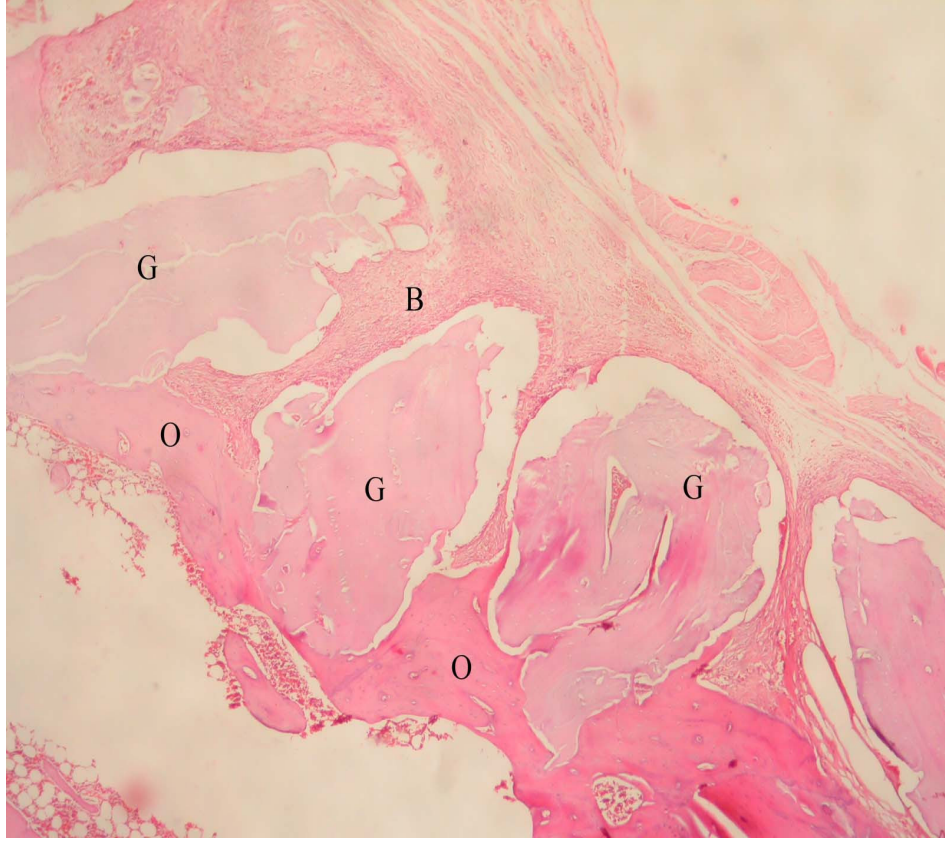


**Resim 31b:** Grup IV'ün 45. günde histopatolojik görünümü (HEX40).  
[Graft (G), Korteks (K), Osteogenezis (O), Ataçman (A)].

**90.gün bulguları:** Bölgede osteoblastik aktivitenin devam ettiği ve osteoid yapının hızla artmakta olduğu gözlemlendi. Greft maddelerinin birbirleriyle ve korteksle iyi-mükemmel derecede ataçman sağladığı ve bağ dokusunun giderek azaldığı saptandı. Bölgede herhangi bir yabancı cisim reaksiyonu ile karşılaşılmazken, greftin biyouyumluluğunun iyi olduğu izlendi. Kollajen membranın rezorbe olarak, parçacıklarının bölgeye dağıldığı gözlemlendi. Greft ve PRP uygulanan bu gruptaki kesitlerde, diğer gruplara kıyasla elde edilen kemikleşmenin tama yakın olduğu ve daha ideal bir kemikleşmenin gerçekleştiği görüldü (**Resim-32a,32b**).



**Resim 32a:** Grup IV'ün 90. günündeki histopatolojik görünümü (HEX40).  
[Greft (G), Korteks (K), Bağ Dokusu (B), Osteogenezis (O),  
Membran (M), Ataçman (A)].



**Resim 32b:** Grup IV'ün 90. gündeki histopatolojik görünümü (HEX40).  
[Graft (G), Bağ Dokusu (B), Osteogenezis (O)].

Gruplara ait histopatolojik değerlendirmeler yapıldıktan sonra, kemik iyileşmesi kalitesi ve kantitesine göre patoloğ tarafından skorlandırılması yapıldı. HA+Kollajen Membran+PRP uygulanan gruba ait skora sonuçları **Tablo-7'**dedir.

**Tablo-7: HA+Kollajen Membran+PRP Uygulanan Grubun Değerlendirme Günlerindeki Kemik İyileşme Skorları**

PRP+HA+Kollajen Membran Uygulanan Grubun Kemik İyileşme Skorları	10. Gün	21. Gün	45. Gün	90. Gün	Toplam Rat Sayısı
	2	2	4	5	
	2	2	4	5	
	2	2	4	5	
	2	2	5	4	
	2	2	5	5	
Rat Sayısı	5	5	5	5	20

Her grup için elde edilen kemik iyileşme skorları günlere göre kıyaslandı. 10. gündeki skorların kıyaslanması **Tablo-8**'te, 21.gündeki karşılaştırmalar **Tablo-9**'da, 45. gün kıyaslamaları **Tablo-10**'de ve 90. gün karşılaştırmaları ise **Tablo-11**'de izlenmektedir.

**Tablo 8: Her 4 grubun 10. gündeki kemik iyileşme skorlarının karşılaştırılması**

	Kontrol grubu	Kollajen Membran Grubu	HA+ Kollojen Membran Grubu	PRP+HA+ Membran
10. gündeki kemik iyileşme skoru karşılaştırılması	1	3	2	2
	1	3	2	2
	2	2	2	2
	2	3	2	2
	1	3	2	2
<b>Median</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>2</b>

**Tablo 9: Her 4 grubun 21. gündeki kemik iyileşme skorlarının karşılaştırılması**

	Kontrol grubu	Kollajen Membran Grubu	HA+ Membran Grubu	PRP+HA+ Membran
21. gündeki kemik iyileşme skoru karşılaştırılması	2	1	1	2
	1	1	1	2
	2	2	2	2
	2	2	2	2
	2	2	2	3
<b>Median</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>

**Tablo 10: Her 4 grubun 45. gündeki kemik iyileşme skorlarının karşılaştırılması**

	<b>Kontrol grubu</b>	<b>Kollajen Membran Grubu</b>	<b>HA+ Membran Grubu</b>	<b>PRP+HA+Membran</b>
<b>45. gündeki kemik iyileşme skoru karşılaştırılması</b>	3	3	3	4
	3	3	3	4
	2	3	4	4
	2	3	4	5
	2	3	3	5
<b>Median</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>4</b>

**Tablo 11: Her 4 grubun 90. gündeki kemik iyileşme skorlarının karşılaştırılması**

	<b>Kontrol grubu</b>	<b>Kollajen Membran Grubu</b>	<b>HA+ Membran Grubu</b>	<b>PRP+HA+Membran</b>
<b>90. gündeki kemik iyileşme skoru karşılaştırılması</b>	3	4	4	5
	3	4	4	5
	3	4	4	5
	3	3	4	4
	4	3	4	5
<b>Median</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>5</b>

İkişerli bağımsız gruplar 10., 21.,45. ve 90. değerlendirme günlerindeki skorlarına göre kıyaslandı. Elde edilen sonuçlar Mann-Whitney U testi ile istatistiksel olarak analiz edildi (**Tablo-12**).

**Tablo 12:** İkişerli bağımsız grupların istatistiksel analizi

<b>Gruplar</b>	<b>10.gün (p)</b>	<b>21.gün (p)</b>	<b>45. gün (p)</b>	<b>90.gün (p)</b>
<b>I-II</b>	<b>0.011*</b>	0.513	<b>0.050*</b>	0.221
<b>I-III</b>	<b>0.050*</b>	0.513	<b>0.031*</b>	<b>0.014*</b>
<b>I-IV</b>	<b>0.050*</b>	0.180	<b>0.007*</b>	<b>0.007*</b>
<b>II-III</b>	<b>0.015*</b>	1.000	0.134	0.134
<b>II-IV</b>	<b>0.014*</b>	0.093	<b>0.005*</b>	<b>0.014*</b>
<b>III-IV</b>	1.000	0.317	<b>0.031*</b>	<b>0.014*</b>

\*  $p < \%5$  (0.05) sonucu anlamlı bulunan değerler için geçerlidir.

$p > \%5$  (0.05) sonucu anlamlı bulunmayan değerler için geçerlidir.

(I: Kontrol grubu, II: Membran uygulanan grup, III: Hidroksilapatit+ Membran uygulanan grup, IV: PRP+Hidroksilapatit+Membran uygulanan grup)



Elde edilen istatistiksel değerlendirmelere göre sonuçlar analiz edildi. Buna göre:

#### **a- 10. gün değerlendirmeleri**

##### **I-II, I-III, I-IV**

Çalışmadaki dört ayrı grubun 10. gündeki kemik iyileşme skorları göz önünde bulundurularak yapılan istatistiksel analize göre; membran uygulanan grupla (II) kontrol grubu (I) arasında anlamlı bir farklılık görülmüş (p:0.011) , membran uygulanan gruptaki (II) iyileşmenin, kontrol grubuna (I) göre iyi olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Kontrol grubu (I) ile HA+Membran uygulanan grup (III) ve kontrol grubu (I) ile PRP+ HA+Membran uygulanan grup (IV) arasında da anlamlı bir farklılık bulunmuş (her ikisi de p: 0.050) ve PRP uygulanan gruptaki kemik iyileşmesinin daha iyi olduğu sonucu elde edilmiştir.

##### **II-III, II-IV**

10. günde membran uygulanan grupla (II) , HA+Membran uygulanan grup (III) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüş (p: 0.015) , elde edilen sonuca HA+Membran (III) uygulanan gruptaki yeni kemik oluşumunun sadece Membran uygulanan gruba (II) göre daha iyi olduğu saptanmıştır. Membran uygulanan grupla (II), PRP+HA+Membran uygulanan grup (IV) karşılaştırıldığında ise, yine aralarında anlamlı bir farklılık bulunmuş (p: 0.014) ve HA+Membran+PRP uygulanan grubun (IV) sadece membran uygulanan gruba (II) göre daha iyi bir osteogenezisi gerçekleştiği gözlenmiştir.

##### **III-IV**

10. günde HA+Membran uygulanan grup (III) ile PRP+HA+Membran (IV) uygulanan grup arasında yeni kemik oluşumu açısından anlamlı bir farklılık görülmemiştir (p:1.000).

### **b-21. gün değerlendirmeleri**

21. günde 4 grupta birbirleri ile karşılaştırılmış ve tüm gruplar arasında aktif yeni kemik oluşumu açısından anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

### **c-45. gün değerlendirmeleri**

45. günde, kontrol grubunun (I) hem membran uygulanan grupla (II), hem HA+Membran uygulanan grupla (III), hem de PRP+HA+Membran (IV.Grup) uygulanan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir (sırasıyla p: 0.050, p:0.031, p:0.007). Bu sonuçlar bize kullanılan greft materyallerinin yeni kemik oluşumunda etkili olduğunu göstermektedir.

II. grup ile III. grup arasında anlamlı bir farklılık gözlenmezken (p:0.180) , II-IV gruplar ve III-IV grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüş (sırasıyla p:0.005 ve p:0.031) ve her üç gruba kıyasla IV. grubun yeni kemik oluşumunun daha iyi olduğu gözlenmiştir.

### **d- 90. gün değerlendirmeleri**

I.-III. gruplar ile I.-IV. gruplar arasında farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmış (sırası ile p: 0.014, p:0.007) ve yeni kemik oluşumunda HA+membran ile HA+membran+PRP uygulamasının daha ideal olduğu gözlenmiştir.

II.-IV. (p:0.014) ile III.-IV. (p:0.014) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüş, IV. gruptaki yeni kemik oluşumunun II. ve III. gruplara nazaran daha iyi olduğu sonucu ortaya çıkmıştır.

## TARTIŞMA

Akkiz veya konjenital nedenlerle oluşmuş kemik defektlerinde ve dentofasiyal deformitelerden dolayı gerçekleştirilen operasyon alanlarında sıklıkla kemik grefti endikasyonu oluşmaktadır. Bu tip defekt alanları spontan iyileşmeye bırakılırsa, fibrotik yapının migrasyonunu takiben bölgede matür fibröz doku oluşumu başlar. Bu tip gerçekleşen bir fibrotik iyileşmeyle birlikte klinik olarak kaynamama (non-union) ve enkapsülasyon gibi komplikasyonlar da oluşabilmektedir. İşte bu komplikasyonlardan kaçınmak için, kemik hücrelerinin bölgede rejenerasyonunu sağlamak amacıyla defektlerin greft materyalleri ile rekonstrüksiyonuna ihtiyaç vardır (73,75).

Oluşan kemik defektlerin rekonstrüksiyonunda, osteoindüktif ve osteokondüktif potansiyele ve osteojenik hücrelere sahip olan otojen kemik greftleri öncelikli olarak tercih edilip, günümüzde bu greftler "altın standart" olarak kabul edilmektedir. Otojen kemik; osteokondüksiyon ve osteoindüksiyon için gerekli olan kemik mineralleri, kollajen, büyüme faktörleri ve osteoprogenitör hücreleri içerir. Kemik kalitesi ve miktarı yönüyle en sık tercih edilen otojen greft, iliak kemik greftidir. Bununla birlikte; ikinci bir operasyon bölgesi gerektirmesi, operasyon süresinin uzaması, sınırlı miktarda elde edilmesi, donör alan morbiditesi ve komplikasyonları, ilave kan kaybı gibi dezavantajlarından dolayı otojen grefte alternatifler aranmıştır. Otojen kemik greftlerinin bu dezavantajlarından dolayı allogreftler, ksenogreftler ve sentetik materyallerin kullanımı gündeme gelmiştir (6,36,61,110,111).

Alternatif bulma amacıyla yapılan son yıllardaki araştırmalarda, sentetik materyaller ile ilgili çalışmalar arttıkça, otogreftlere ve allogreftlere olan bazı üstünlükleri ortaya çıkmış ve kullanımları yaygınlaşmıştır (112,113).

Yapılan çalışmalarda, greft ile rekonstrükte edilmeyen defektlerde bölgeye bağ dokusu hücrelerinin göç edip fibrotik iyileşme prosedürünü aktif hale getirdiği rapor edilmiştir. Kemik iyileşme prosedürünün bağ dokusuna göre yavaş olması ve osteoblastlar oluşuncaya kadar defektin bağ dokusu ile dolması osteogenezisi

olumsuz yönde etkilemektedir. Böyle bir durum sonucu oluşan fibrotik dokunun ise kemik dokusu gibi fonksiyon göstermeyip, kuvvetlere karşı dirençli olmaması en büyük dezavantajdır. Kemik dokusu gibi yapısal olarak sağlam olmayan fibrotik dokunun, defekt alanının fonksiyonunu yerine koyamaması; psödoartroz, enkapsülasyon, kaynamama (non-union) gibi olası problemleri de gündeme getirmektedir (75).

Walsh ve arkadaşları (1995), kemik defektlerinin iyileşmesini sağlamak için kullanılan kemik greftlerinin önemini vurgulama amaçlı yaptıkları deneysel çalışmada, koyunların femurunda oluşturdukları defekt alanlarının birine otogreft implante ederken, diğer defekti spontan iyileşmeye bırakmışlar; spontan iyileşmeye bırakılan defekt alanının 12 hafta sonunda yapılan tomografik incelemesinde, kemikleşmenin gerçekleşmediği ve defektin fibrotik olarak iyileştiği gözlemlenmiştir. Otojen greft uygulanan bölgenin tomografik incelemesinde ise, defekt etrafında sağlıklı kansellöz kemiğe benzer yeni kemik dokusunun oluştuğunu rapor etmişlerdir. (114).

Kliniğimizde de, defektlerin greftlerle rekonstrüksiyonun önemini vurgulamak amacıyla deneysel araştırmalar yapılmıştır. Bu araştırmalardan olan, Gülsün ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada (1997), sentetik kemik grefti ile ksenojenik kemik greftinin osteogenezis üzerine etkileri deneysel olarak kıyaslanmış ve araştırmalarında greft uygulanan kaviterlerde kontrol grubuna göre daha başarılı bir osteogenezisin gerçekleştiğini saptamışlardır. Ayrıca sentetik kemik alloplastlarının daha biokompatibl özellikte olduğunu bildirerek, bu materyallerin kraniomaksillofasiyal cerrahinin çoğu alanında kullanımları açısından çalışmaların devam etmesi gerektiğini vurgulamışlardır (115).

Tanrıkulu ve arkadaşları ise (2001) yaptıkları deneysel çalışmalarında, kemik içi defektlerde allojenik kemik grefti ve membran kombinasyonunu kontrol grubu ile karşılaştırmışlardır. Rekonstrükte edilen defektlerde tama yakın bir kemik iyileşmesi görülürken, boş bırakılan defektlerin büyük kısmında ise fibrotik bir iyileşme görüldüğünü rapor etmişlerdir (116).

Kliniğimizde yapılan deneysel bir tez çalışmasında da demineralize kemik matriks partikülleri içeren kalsiyum sülfat esaslı putty ile  $\beta$ -trikalsiyum fosfat granüllerinin kemik içi kavitelelerinde iyileşme üzerine etkileri histopatolojik olarak karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada araştırmacılar iki greft materyali arasında istatistiksel olarak fark olmadığını bildirirken, defektlerin greftle rekonstrüksiyonunun önemini rapor etmişlerdir (117).

Kavak ve arkadaşları ise (2005), iki sentetik greft materyalini karşılaştırdıkları çalışmalarında, geniş kemik içi defektlerinde tam bir osteogenezis oluşumu için defektin greft materyalleri ile rekonstrükte edilmesinin gerektiğini bildirmişlerdir (118).

Akal ve arkadaşlarının yaptığı klinik çalışmada ise (2002), kemik defektinin oluşmasını takiben defekt bölgesinin spontan iyileşmeye bırakılmasıyla bölgenin hızla bağ dokusu ile dolması sonucu, kemik iyileşmesinin olumsuz yönde etkileneceği bildirilmiştir (119,120).

Kliniğimizde yapılan diğer bir deneysel tez çalışmasında da, kalsiyum sülfat partikülleri ile  $\beta$ -Trikalsiyum fosfat/hidroksiapatit granüllerinin kemik içi kavitelelerinde osteogenezis üzerine etkileri histopatolojik olarak karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada araştırmacılar iki greft materyali arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığını bildirirken, defektlerin greftle rekonstrüksiyonunun önemi rapor edilmiştir (6).

Dalkiz ve arkadaşları (2000), değişik biyomateryallerin osteogenezis üzerine etkilerini araştırdıkları deneysel çalışmalarında, ratlarda oluşturdukları kemik defektlerine değişik greft materyalleri uygularken bazılarını da kontrol grubu olarak boş bırakmışlar ve araştırmalarında kemik grefti yerleştirilen gruplarda belli oranda osteogenezis izlenirken, kontrol grubunda ise kemik iyileşmesinin oldukça zayıf olduğunu ve kısmen fibrotik olarak iyileştiğini rapor etmişlerdir (121).

**Bizim çalışmamızda ise; erken dönem incelemelerde membran uygulanan gruplarda elde ettiğimiz sonuçların kontrol grubuna kıyasla anlamlı olduğu saptandı. Bu sonuç, membran ve greft uygulamalarının defekt alanındaki kemik iyileşmelerinde daha etkili olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Ayrıca membranlı gruplarda, membranın bir bariyer görevi yaparak fibrotik iyileşmeye engel olmasına da bağlamaktayız.**

Kalsiyum fosfat bazlı sentetik seramikler içinde yer alan hidroksilapatit [ $\text{HA}$ ,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ] , kemik dokusuyla kuvvetli bağ oluşturan osteokondüktif materyaller olduklarından dolayı, segmenter kemik kayıplarının iyileşmesinde kullanılabilme potansiyeline sahiptir (122-124).

Kemik dolgu maddesi olarak kullanılan kalsiyum fosfat bazlı seramik greftlerin ideal dayanıklılık ve osteokondüktif yapıları üzerinde araştırmalar halen devam etmektedir. Sentetik seramik greftlerin dayanıklılıkları, kristal yapının düzenlenmesi ve kullanılan maddelerin katı hallerindeki partikül boyutlarının ayarlanması yoluyla geliştirilmektedir (122,125). Osteokondüktif özellikleri ise elde edilen protezlerin gözenek yapısına sahip kılınması ile arttırılır (122).

Kemik dolgusu olarak kullanılması tasarlanan materyallerin doku uyumluluklarını araştırmak amacıyla, üzerinde klinik öncesi yoğun testler uygulanmaktadır. Sentetik materyallerin inflamasyon aktiviteleri kompozisyon boyutları, yapısal ebadları ve yüzey özellikleri ile ilişkilidir (53,126). Hidroksilapatit biomateryal olarak osteokondüktif ve biyouyumlu olduklarından, in vivo uygulamalardan hemen sonra enflamatuvar yanıt oluşturmazlar. Literatürde operasyon sonrası enflamasyon gelişen olgularda nedenin HA ile doğrudan ilgili olmadığı bildirilmiştir (53).

Defekt bölgesini örten yumuşak dokular histolojik olarak değerlendirildiğinde bölgede herhangi bir yabancı cisim reaksiyonu gelişmemesi, hidroksilapatitin dokularla uyumlu olduğunu göstermektedir. Bu sonuç birçok araştırmacının yaptığı çalışmalar ile uyumludur (41,127). Bu araştırmaların çoğunda, HA'in kemik oluşumuna destek görevi yaptığı gösterilmiştir (41,47,128).

**Çalışmamızda HA'in enflamasyon ve yabancı doku reaksiyonu oluşturmayan bir biyomateryal olduğu gözlenmiş ve bu konuda yapılan çalışmalarla benzerlik görülmüştür.**

**Greft materyali çevresinde 21. günde yeni kemik oluşumunun görülmesi HA granüllerinin osteokondüktif özellikleri ile kemik oluşumuna yardımcı olduklarını göstermektedir. Bu bulgumuz birçok çalışmanın HA'in osteokondüktif özelliğini gösteren sonuçları ile aynı doğrultudadır. Kemik iyileşmesinin geç dönem ve genel değerlendirmesinde, HA+Membran uygulanan grupta sonuçların I. ve II. gruba kıyasla anlamlılık gösterdiğini (p:050) ve PRP+HA+Membran uygulanan gruba yakın bir osteogenezi gerçekleştirdiği izlenmiştir. Bu sonuç bizde, greft rekonstrüksiyonunun defekt alanlarında tama yakın bir kemikleşme oluşturduğunu ve bunun rekonstrüksiyonlarda önemli olduğunu düşündürmüştür.**

Hidroksilapatitle günümüze kadar yapılan çalışmalar ile çalışmamızın sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, HA'in poröz formlarının, porlar içerisine kemik gelişimine olanak sağlaması ve nonporöz HA'lerin ise dayanıklılıkları göz önüne alınarak, implant materyalinin dış kısmının poröz, iç kısmının non-poröz nitelikte hazırlanmasının ideal bağlanmanın olacağını düşündürmektedir (41).

Kemiğin seramik içine doğru ilerlemesi sırasında gözenekli yapının yarık yüzeylerinde strese bağlı olarak mikro kırıklar yarattığı bilinmektedir (122,129). Yeni oluşan kırıklar seramiğin osteokondüktif yüzey miktarını arttırmakta, kemik oluşumunun daha fazla HA içine ilerlemesini sağlamak ve bu bölgelerde HA-kemik arasındaki bağlanmayı arttırarak iyileşmeyi hızlandırmaktadır. Mikrokırıkların seramik içerisinde oluşması mekanik olarak kaygı yaratmasının aksine, HA ile olan bağ yapısını kuvvetlendirdiğinden kemik gelişimi için istenen bir özelliktir (122).

Balçık ve arkadaşları yaptıkları çalışmada (2003), HA ve TCP içeren seramiklerin osteokondüktif ve biyoyumluluk derecelerinin uygun olduğuna ve

ideal materyal olarak kullanıldıklarında, segmenter kemik kayıplarının iyileşmesi için gelecekte güvenle kullanılabilir potansiyele sahip oldukları görüşüne varmışlardır (122).

Block ve Kent yaptıkları deneysel çalışmada (1986), kemik kavitelerine HA uygulamışlar ve spontan iyileşmeye göre daha etkili bir süreç oluşturduğunu görmüşlerdir. Çalışmalarının 2. haftasında osteoid dokuda yeni diferansiye olmuş osteoblastları ve matüre kemik segmentlerinin oluştuğunu rapor etmişlerdir. 1 ay sonra osteoid dokunun derin segmentlerinde lamelli kemik dokusunun oluştuğunu ve bu süre içinde osteoid dokuyu çevreleyen bağ dokusunda da hücresel aktivitenin devam ettiğini bildirmişlerdir (130).

Lehtinen ve arkadaşları (1990) ile Chao ve arkadaşları ise (1987), HA'in kemik formasyonunu arttırdığını ve enfeksiyon oluşturmadığını, bunun yanısıra bağ dokusunun greft içerisine vasküler yapılar yolu ile penetre olabildiğini ileri sürmüşlerdir (131,132).

Özcan ve arkadaşları (2000) ise, tavşan tibialarında yaptıkları deneysel bir çalışmada, iyileşmenin 7., 15., 30., ve 45. günlerinde HA'in pozitif bir etki gösterdiğini ancak kemik dokusunun greft içine penetre olmadığını, dolayısıyla kemik dokusu ve greft arasında bir integrasyonun oluşmadığını belirtmişlerdir (133).

Salyer ve Hall isimli araştırmacılar ise, yaptıkları deneysel çalışmalarda HA blokların beklenen kemik rejenerasyonunu gerçekleştiremediğini rapor etmişlerdir (134).

May ve arkadaşları (1993) , sinüs augmentasyonu yaptıkları olgularda kemik greft materyallerini karşılaştırmışlar ve otogreft, HA, otogreft ile karıştırılmış HA ile demineralize kemik allogreftleri kullandıkları 4 ayrı grubun ortalama 7 ay sonraki kemikleşme oranlarını sırasıyla; % 59.4, % 20.3, % 44.4 ve % 4.6 olarak rapor etmişlerdir (135).



YKR yöntemini ve kemik greftlerini birlikte kullanan Persson ve arkadaşları, çalışmalarında YKR yöntemini kemik içi defektlerin tedavisinde başarılı bulmuşlardır. Özellikle geniş kemik defektlerinin, YKR tedavisi için uygun olduğunu rapor etmişlerdir. Kemik grefti uygulanan kavitelere yeni kemik oluşumunun, kontrol grubuna göre daha fazla olmasına karşın klinik olarak iki grup arasında bariz bir farklılık görülmemiştir (136).

Nasr ve arkadaşlarına göre (1999), sağlıklı kemik incelendiğinde, kemik trabekülasyon boyutu 20  $\mu$  ile 100  $\mu$  arasında değişmektedir. Trabekül boyutu yaklaşık 100  $\mu$ 'a ulaştığında, Haversian kanalını taşıyan bir osteon gibi kendi kan damarını taşır. Kompakt kemiğin 50-250  $\mu$  arasında değişen Haversian sistemi ya da osteonları vardır. Bu nedenle, trabeküler kemiğin greft içine büyümesini desteklemek için, greftler arasındaki por genişliğinin en az 40-100  $\mu$  olması gerekirken, osteonal kemik büyümesini desteklemek için pore genişliğinin en az 100  $\mu$  olması gerekmektedir. Bu minimal boyutların elde edilmesi için 380  $\mu$  çapındaki partikül boyutları yeterli iken, günümüzde bu iddiayı destekleyecek histolojik bulgular mevcut değildir (137).

Malformasyon, enfeksiyon, travma veya onkolojik bir rezeksiyon nedeniyle oluşan oral ve maksillofasiyal bölgedeki kemik defektlerinin yapısal ve fonksiyonel rekonstrüksiyon problemi, henüz tatmin edici bir şekilde çözümlenememiş olup, modern cerrahinin en zor uğraşlarından biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Küçük defektlerde, ikinci bir cerrahi girişim gerektirmesi ve operasyon süresinin uzamasına karşın, otojen kemik grefti en iyi çözüm olmaya devam etmektedir. Ancak büyük boyutlardaki defektlerde immunojenik ve enfeksiyon riskleri taşımayan, donör bölge morbiditesi olmayan ve zamanla yerini yeni oluşacak kemiğe bırakacak olan semisentetik veya tamamen sentetik materyallerin kullanımı gerekli olabilmektedir (71,138).

YKR tekniği, YDR prensibi doğrultusunda geliştirilmiş olup, kemik defekti ile çevresindeki yumuşak dokular arasında bariyer membran yerleştirilerek, defekti çevreleyen kemikten elde edilen hücreler dışındaki hücrelerin defekte girişlerinin

önlenmesine ve böylelikle elde edilen boş alanda osteogenezisin engellenmeksizin gelişebilmesine dayanmaktadır (71,138).

Minör defektlerin tedavisinde başarıyla kullanılan bu membranlar, geniş defektlerde fibröz dokunun defekt bölgesine girmesini engellemesine karşın, osteoblastların çoğalma kapasitesi bölgeyi doldurmak için yetersiz kalabilmektedir. Bu durumlarda osteogenezise katkı sağlayabilecek materyallerin, bu uygulamaya eklenmesi gerekliliği de doğmaktadır (71,139,74).

Bireyin yaşam süresi boyunca kendiliğinden iyileşmeyen en küçük kemik içi yara olarak tanımlanan “kritik boyut defektinin” iyileşmesi büyük bir problem olup, deneysel koşullarda hayvan türleri, yaş, anatomik lokasyon, defektin unikortikal veya bikortikal olması, periostun mevcudiyeti ve defektin stabilitesi gibi faktörler kemik onarımının kalitesini ve kantitesini etkilemektedir (139).

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunun klinik uygulamalarına ait çalışmalar incelendiğinde; bu tekniğin olumlu etkisini savunan araştırmaların yanı sıra, osteogenezise faydası olmadığını ileri süren çalışmalara da rastlanmaktadır (71, 74,75,140).

Mellonig isimli araştırmacı (1996), fiziksel bariyer desteği sağlanan küçük defektlerde membranın defekt içine çökmesinin engellenmesi için kemik greftlerinin kullanılmasına gerek duymazken, daha geniş defektlerde bunun gerekli ve faydalı olduğunu bildirmiştir (141).

Deneysel olarak gerçekleştirilen YKR çalışmaları, oluşturulan maksiller ve mandibuler kemik defektlerinde, yeterli kemik oluştuğu yönündeki bulguları desteklemektedir (71,138).

Kollajen esaslı membranlarla yapılan çalışmalarda, bu membranların zamanla çevre bağ dokusunun içine girdiği ve bağ doku elemanları tarafından 6-8 hafta içinde rezorbe edildiği bildirilmiştir (71).

Karaca ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise (1999), kollojen membranın uygulandığı mandibular kemik defektlerinde yeni kemik oluşumunun sağlandığı bildirilmiştir (70).

**Bizim çalışmamızda ise kontrol grubu ile membran uygulanan gruplar (II, III ve IV) arasında geç dönemde (45-90 gün) yeni kemik oluşumu açısından anlamlı bir farklılık saptanmıştır. Bu farklılığın anlamlı olması; membran ve greft uygulanan defektlerde osteoblastik aktivite ile yeni kemik oluşumunun ve ataçmanın gelişmiş olması, tama yakın bir osteogenezisin gerçekleşmiş olması ve PRP'nin içindeki BF'ne bağlı olarak iyileşmenin daha hızlı ve erken süreçte başlamış olduğu şeklinde yorumlanmıştır.**

YKR tekniği ile membran kullanımının kemik greft materyalleri ile birlikte gerçekleştirildiği çalışmalar incelendiğinde; klinik uygulama sonuçlarına ait farklı başarı oranlarının bildirildiği görülmektedir (71,140,75).

Mellado ve arkadaşları ise (1995), bariyer membran tarafından oluşturulan boşluğu önleyerek bölgenin kemikten gelen periodontal ligament hücreleri ile dolmasının engellenebileceğini ileri sürmüşlerdir (143).

Kombine membran ve kemik grefti uygulaması ile yapılan deneysel çalışmalarda genellikle başarılı sonuçlar alınmaktadır. Bu çalışmalarda özellikle kritik boyut defektlerinde, kombine membran ve kemik grefti uygulanan grupların tek başına membran uygulananlara göre daha iyi bir kemik onarımını sağladığı görülmüştür (71,139).

Mundell ve arkadaşları (1993), kemik devamlılığının tamamen bozulduğu durumlarda, kollajen membranın etkinliğini değerlendirmek amacıyla; tavşanlarda zigomatik arka değişik genişlikte osteotomi uygulayarak, arkı kollajen membran ile sarmışlardır. Dördüncü haftanın sonunda, histopatolojik ve radyolojik olarak özellikle membran uygulanmamış geniş osteotomi bölgelerinde kemik devamlılığının sağlanamadığı, defektin fibröz doku ile dolduğu gösterilmiştir. Membran uygulanan

osteotomi alanlarında ise, tam bir kemiksel iyileşmenin görüldüğü bildirilmiş ve bu çalışma sonuçlarına göre membran tekniğinin oral cerrahinin yanısıra maksillofasiyal cerrahide de kullanılabileceği rapor edilmiştir. Bu çalışmada; kemik iyileşmesinde, özellikle rekonstrüktif cerrahide arzu edilmeyen bir iyileşme türü olan fibröz iyileşmenin, membran tekniği kullanılarak önüne geçilebileceği de vurgulanmıştır. Aynı çalışmada, membran uygulanan geniş osteotomi alanlarının histopatolojik incelemesinde; yeni kemik oluşumunun intramembranöz tarzda olduğu saptanmıştır (75).

Yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda, rezorbe olan membranlarla ilgili olarak; özellikle hızlı rezorbsiyon ile ortaya çıkan fagositik aktiviteye bağlı oluşan lokal inflamatuvar cevabın iyileşmeyi olumsuz etkileyebileceği bildirilerek, iyileşmenin sağlıklı olarak gerçekleşebilmesi için, membran rezorbsiyonunun uygun zamanda, yani selektif hücre migrasyonunun tamamlandığı dönemde olması gerektiği literatürde vurgulanmaktadır. Bu kritik sürecinde 3-4 haftada olması gerektiği belirtilmiştir. Buna karşın, rezorbe olabilen membranlar ile yapılan deneysel çalışmalarda ise, membran rezorbsiyonunun, enflamatuvar cevap ile yara iyileşmesini geciktirmediği de gösterilmiştir (76,142,143).

**Bizim çalışmamızda da 10. günde membran uygulanan gruplardaki iyileşmenin kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yarattığı ve fibrotik iyileşmenin membran uygulanan gruplarda daha az olduğu görülmüştür. 45. günde ise, kollojen membranda rezorbsiyon görülmüş olup, bölgede herhangi bir enflamatuvar reaksiyon ile karşılaşılma ve bu dönemde (45. gün) defekt alanındaki yeni kemik oluşumu kontrol grubundakilerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir.**

Osteotomi bölgelerinde ve kemik defektlerinde iyileşme boyunca, matür fibröz doku oluşumu sonucu, klinik olarak non-union ve enkapsülasyon gibi istenmeyen durumlar oluşabilmektedir. YDR (Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu) tekniği, fiziksel bariyer oluşturmak suretiyle fibröz doku elementlerinin yara

bölgesine girişini engellemekte ve bu iyileşme problemlerini ortadan kaldırmaktadır (74).

Sandberg ve arkadaşları (1993), ratların mandibularlarında yaptıkları deneysel çalışmada, rezorbe olmayan membran uygulanan defektlerde küçük kartilaj adalarına rastladıklarını bildirmişlerdir. Kartilaj dokunun görülmesi, oksijenlenmenin azaldığını göstermektedir. Rezorbe olmayan membranlarda periosteumdan gelen kanlanma engellenmektedir. Bu da oksijenlenmenin azalmasına neden olmaktadır. Rezorbe olabilen membranlarda ise geçiş olmakta ve kartilaj doku görülmemektedir (73).

Majaoub ve arkadaşları (1999), hem klinik hem de deneysel çalışmalarında YKR yöntemini kullanarak rezorbe olmuş alveoler kretlerin augmentasyonunda başarılı sonuçlar aldıklarını rapor etmişlerdir. Tavşan kalvaryumunda yaptıkları çalışmalarında, 21. günde % 29 oranında yeni oluşmuş kemik tespit etmişlerdir. Aynı periyotta kontrol grubunda ise bu oranı % 9 olarak bulmuşlardır. Ayrıca tüm kesitlerdeki yeni oluşan kemiğin dansitesi, YKR yönteminde kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (144).

Polson ve arkadaşlarının çalışmasında (1995), enfeksiyon görülen olgularda yara içine epitelyum invaginasyonunun daha hızlı olduğu ve kemik iyileşmesinin azaldığı bildirilmiştir. Çalışmalarında ayrıca, enfeksiyon sebebiyle kemik rejenerasyonun hızla durduğu da rapor edilmiştir. Sistemik antibiyotik uygulaması, primer enfeksiyon riskini önlemektedir. 3 hafta sonra oluşabildiği rapor edilen sekonder enfeksiyon problemi ise, rejeneratif bölgenin iyileşme matürasyonunu olumsuz yönde etkilemektedir (71).

Machtei ve arkadaşları çalışmalarında (1999), membran başarısızlığının diğer bir nedeni olarak; membran sertliğinin kaybolması, katlanması ve boşluk oluşmasını göstermişler ve kemik desteğinin olmadığı büyük defektlerde titanyumla desteklenmiş membran kullanımını tavsiye etmişlerdir (145).

Büyüme faktörlerinin de yara iyileşmesi ve rejenerasyonu arttırıcı etkileri nedeniyle, TZP günümüzde baş-boyun cerrahisi, otolaringoloji, kardiyovasküler cerrahi, oral ve maksillofasiyal cerrahi ile periodontoloji de sıklıkla kullanılmaktadır (84,96,101,146).

TZP ile ilgili ilk klinik dişhekimliği çalışmaları, Marx ve arkadaşları tarafından 1998'de yapılmıştır. Tümör operasyonu sonrasında oluşan mandibuler defekte süngerimsi kemik iliği greftleri ile birlikte TZP uygulamışlar ve sonuç olarak TZP'nın kemik greftini uyararak, kemik miktarını ve oluşum hızını arttırdığını belirtmişlerdir (101).

Marx ve arkadaşlarına göre, tam kana oranla % 300 oranında artmış trombosit sayısına sahip plazma "Platelet Rich Plasma" olarak kabul edilmektedir (101).

Anitua isimli araştırmacı ise (1999), 20 sağlıklı bireyin çekim endikasyonu konmuş 20 diş soketinde TZP'nın etkinliğini değerlendirmiştir. Daha sonra dental implant uygulanacak olan bu çekim soketlerinden 10 tanesine otojen kemik grefti konurken, diğer 10 tanesine de otojen kemik grefti ile birlikte TZP uygulanmıştır. Çalışmada, TZP uygulanan çekim bölgelerinde diğer çekim soketlerine göre, daha iyi bir epitelizasyonla birlikte organize olmuş trabeküller içeren matür kemik oluştuğu rapor edilmiştir (107).

Kassolis ve arkadaşları ise (2000), implantasyon işleminden önce sinüs elevasyonu ve kret genişletilmesi için dondurulmuş, kurutulmuş kemik allogreftleri ile birlikte TZP uygulamışlardır (108). Araştırmacılar histolojik olarak TZP ile birlikte dondurulmuş, kurutulmuş kemik grefti uygulamasının tek başına implante edilen kemik greftine göre enflamatuar hücre infiltrasyonu olmaksızın daha iyi bir kemik oluşumu sağladığını bildirmişlerdir (109).

De Obarrio ve arkadaşları ise (2000), insanlarda kemik içi periodontal defektlerin tedavisinde TZP, kemik allogrefti ve yönlendirilmiş doku rejenerasyonu

tekniklerini karşılaştırmışlardır. İki yıllık takip sonunda TZP ile daha fazla ataşman kazancı sağlandığını ve daha iyi bir defekt dolumu gerçekleştiğini rapor etmişlerdir (147).

Camargo ve arkadaşları (2002), simetrik kemik içi defektlerde, bir bölgeye sadece YDR, diğer bölgeye ise YDR ile birlikte poröz sıgır kemik grefti ve TZP kombinasyonu uygulamışlardır. Çalışmalarda TZP+kemik grefti+ YDR uygulaması ile elde edilen periodontal ataşman kazancının arttığı bildirilmiştir (148).

Yine aynı araştırmacılar (2003), poröz sıgır kemik grefti+ YDR+ TZP kombinasyonunun flep operasyonlarındaki etkinliğini, mandibuler sınıfII furkasyon defektlerinde karşılaştırmışlardır. Çalışmalarda kombine rejeneratif tedavinin uygulandığı bölgelerde, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı oranda ataşman kazancı olduğu rapor edilmiştir (149).

Camargo ve arkadaşları (2005), 28 simetrik kemik içi defektin tedavisinde, bir tarafa YDR+ poröz sıgır kemik grefti+ TZP kombinasyonunu uygulamışlar ve diğer tarafa sadece flep operasyonu yapmışlardır. Deney ve kontrol bölgelerini tekrar cerrahi olarak açarak, defekt dolumunu ve klinik ataşman kazancını değerlendirmişlerdir. Araştırmanın sonucunda ileri periodontitisin tedavisinde yönlendirilmiş doku rejenerasyonu, kemik grefti ve TZP kombinasyonunun, sadece flep operasyonuna göre daha başarılı olduğunu bildirmişlerdir (150).

TZP; alıcı alanda operasyon sırasında ve sonrasındaki kanamayı azaltmakta, yumuşak doku iyileşmesini hızlandırmakta, konulan greft materyalinin alıcı alana yerleştirilmesini kolaylaştırarak, stabilizasyonunu sağlamakta ve içerdiği büyüme faktörleri ile yara iyileşmesini ve dokunun rejenerasyonunu artırmaktadır. Daha da önemlisi otojen bir materyal olduğu için, immunolojik reaksiyon ve enfeksiyon bulaşması riskini ortadan kaldırmaktadır ve diğer greft malzemelerine göre daha ekonomiktir. Bu nedenle periodontal rejenerasyonun başarılmasında, TZP giderek büyük bir önem kazanmaktadır (84).

Kim ve arkadaşları (2002), deneysel çalışmalarında, dondurulmuş kurutulmuş kemik greftinin TZP ile kombine edildiğinde, tek başına uygulanan kemik greftlerine göre dental implantların açıkta bırakılan kısımlarında yeni kemik oluşumunun arttığını göstermişlerdir (151).

Kassolis ve arkadaşları (2000), dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftleri ile karıştırılan TZP'nin alveol kreti ve sinüs augmentasyonlarında kemik rejenerasyonunu hızlandırdığını bildirmişlerdir (108). Çeşitli türde kemik greftleri ile birlikte kullanılabilir olan TZP'nin içerdiği büyüme faktörleri, alıcı alanda hızlı bir iyileşme sağlanmasına yardımcı olmaktadır (100,152).

**Yukardaki veriler ve araştırmalar ışığında; IGF-I ve II, PDGF ve TGF- $\beta$  içeren Trombositten Zengin Plazma, Hidroksilapatit'e ilave edildiğinde oluşan kombinasyonun muhtemel osteoindüktif potansiyelini, ratlara ait kemik defekti modelinde histopatolojik olarak değerlendirmeyi amaçladık. Çalışmamızda TZP uygulanan grup diğer gruplarla karşılaştırıldığında yeni kemik oluşumu yönünden anlamlı derecede bir farklılık oluşturduğu kemikleşmenin tama yakın olduğu ve osteogenezisin istenilen düzeyde gerçekleştiği gözlemlenmiştir (p:0.015).**

**Açılan kemik defektine yerleştirilmeden önce, HA ve TZP steril bir cam kap içinde karıştırıldı. Greft materyalinin poröz yapısının, kapiller etkiyle TZP'nin nüfuzunu kolaylaştırdığı gözlenmiştir. Kaybedilen kemiğin tamamen rejenere olması; dokuların kanlanmasına, defekt içine yumuşak dokuların kollabe olmasının engellenmesine, defektin büyüklüğüne ve kullanılan greft materyalinin özelliklerine bağlıdır. Bu nedenle çalışmamızda, kanlanmanın daha iyi olduğu genç erişkin denekler kullanılmıştır.**

İyileşme ve rejenerasyonu değerlendirmede kullanılacak olan kemik defekti modeli, spontan iyileşmeyi imkansız kılacak kadar büyük olmalıdır. Bu tür defektlere "kritik büyüklükteki kemik defekti" denir ki, bunlar iyileşmeye bırakıldıklarında kemikten ziyade fibröz bağ dokusu meydana geldiği görülür (13).



Kemik defektlerinde rejenerasyonun ve yeni greft materyallerinin etkilerini değerlendirirken, kemik rejenerasyonunu detaylı olarak inceleyen yöntemler önem kazanır. İki boyutta sınırlı konvansiyonel histolojik ve radyolojik teknikler ile birlikte gözle yapılan muayene, deneysel bir çalışmanın sonuçlarını yorumlamamıza yardım eder. Özellikle dekalsifiye edilmemiş histolojik kesitlerden, değerli veriler elde edilebilir (13).

Beck ve arkadaşları (1991) ile Zellin ve arkadaşlarının (1995) yaptıkları çalışmalarda, kritik büyüklükteki kalvaryum defektlerine rekombinant TGF- $\beta$ 1 içeren taşıyıcı matriksler implante edildiğinde, defektin rejenere olan yeni kemikle tamamen kapandığı rapor edilmiştir (72,153). Beck ve arkadaşlarının yaptıkları aynı çalışmada, kemik defektlerinde iyileşmenin TGF- $\beta$ 1 dozuna bağlı olarak gerçekleştiği, yeterli doz uygulanmadan kritik büyüklükteki kalvaryum defektinin tamamen kapanmadığı da rapor edilmiştir (153).

Vikjaer ve arkadaşları ise (1997), rekombinant PDGF'nin kritik büyüklükteki kalvaryum defektlerinde rejenere olan kemik miktarını arttırdığını, ancak defektin tamamen kapanmasını sağlayamadığını bildirmişler ve defektin membran yerine periosteumla kapatılmasının ya da başka büyüme faktörleri ilavesinin tam kapanmayı sağlayabileceğini ileri sürmüşlerdir (154).

Marx ve arkadaşları yaptıkları arştırmada (1998), kemik defektlerindeki trombositlerin ömrünün 5 günden az olduğunu, bu süre içerisinde trombositlerin içerdiği büyüme faktörlerinin tamamının ortama salındığını ve trombositlerin tümünün makrofajlar tarafından ortamdan uzaklaştırıldığını ileri sürmüşlerdir. Rekombinant büyüme faktörlerinin taşıyıcı matrikslerle birlikte implante edildiği durumlarda ise, uygulanan büyüme faktörünün tümü bir anda ortama salınmaktadır (101).

Yapılan çalışmalarda kemik grefti ve TZP karışımının başarılı olmamasının nedeni, TZP'nin kritik büyüklükteki kemik defektlerinde kemiksel iyileşme sağlayabilecek dozda büyüme faktörü içermemesi olabilir (101).

Kanın pıhtılaşmasını önlemek için antikoagülan seçimi ile ilgili literatürler incelendiğinde, büyük çoğunlukla sitrat türevlerinin kullanıldığı görülmektedir. Sitrat fosfat dekstroz adenozin, trisodyum sitrat, sodyum sitrat bu amaçla kullanılmaktadır. Landesberg ve arkadaşları, çalışmalarında sodyum sitratla beraber tilendiamin tetraasetik asit (EDTA) kullanmışlar ve EDTA grubunda daha yüksek sayıda trombosit elde etmelerine karşın, ışık mikroskobu incelemesi yapıldığında, bu gruptaki trombositlerin zarar gördüğünü, parçalandığını ve çok sayıda nonsellüler artık bulunduğunu rapor etmişlerdir (100).

PRP hazırlanırken araştırmacıların farklı yöntemler izlediği görülmektedir. Amaç, trombosit sayısı bakımından daha zengin bir plazmaya ulaşmak ve sonuçta trombositlerin degranülasyonu ile elde edilecek olan otojen büyüme faktörlerinin miktarını mümkün olduğu kadar artırmaktır. Bununla birlikte uygulanacak merkezkaç kuvvetinin değeri ve süresi ile uygulama sayısı konusunda ortak kabul edilen bir değer henüz yoktur. Yapılan çalışmalar incelendiğinde; yayınların bir kısmında tek, bir kısmında iki santrifüj yapıldığı, bazı araştırmalarda santrifüjün dakikada dönme sayısını bildiren rpm (round per minute) değerinin belirtildiği, bazılarında ise merkezkaç kuvvetini belirten *g* değerinin belirtildiği görülmüştür. Merkezkaç kuvveti, santrifüjün yarıçapı ve dakikada dönme sayısından etkilendiğinden, sadece rpm değerinin verilmesi, kanın şekilli elemanlarına uygulanacak gerçek kuvvetin bilinmemesine yol açacaktır.

Marx ve arkadaşlarının yayınladıkları makalede (1998), uyguladıkları santrifüjün rpm değerini vermiş olmalarına karşın, Landesberg ve arkadaşlarının yayınladıkları çalışmada ise rpm cinsinden değer vermenin anlamsız olduğunu ve *g* değeri verilmesinin gerekliliği bildirilmiştir (101,100).

**Bizim çalışmamızda kullandığımız santrifüj cihazında kullanılan birim rpm olduğu için, santrifüj değerini rpm olarak esas aldık.**

Merkezkaç kuvvetinin değeri, kandaki şekilli elemanlara uygulanacak kuvvetin değerini belirtmektedir. Venöz kan alındığında bütün kan elemanları karışık halde bulunduğundan, santrifüj sırasında kullanılan kuvvet önemlidir. Fazla kuvvet trombositlerin eritrositlerle beraber tüpün tabanına toplanmasına yol açar. Bu konuyu araştırmak üzere yapılan çalışmaların sonuçlarına göre, aşırı g kuvvetlerinin kullanılması trombosit sayısının artmasından çok azalmasıyla sonuçlanmaktadır (155). Landesberg ve ark.'nın çalışması, 200 g ve 10 dakika süre ile yapılan iki santrifüjün maksimum artışı sağlayabileceğini göstermiştir (100).

Dugrillon ve ark. (2002), venöz kana 205 g kuvvetinde santrifüj uyguladıktan sonra trombosit sayısında 1.4 kat artış elde etmişlerdir. Daha sonra farklı kuvvetler uygulayarak optimum ikinci santrifüj değerini belirlemeye çalıştıkları çalışmada, 800 g'den fazla uygulanan ikinci santrifüjün, elde edilen büyüme faktörlerinin miktarını artırmaktan çok azalttığını belirtmişlerdir (156).

Lekovic ve ark. (2002) ile Camargo ve ark. (2003), yaptıkları çalışmalarda; PRP/kemik greftini, YDR ile beraber ve ayrı olarak incelemişlerdir. Çalışmalarının sonuçları, PRP ile kemik grefti beraber kullanıldığında ek olarak YDR uygulamaya gerek olmadığını göstermektedir. Bu iki çalışmada PRP'nin kullanılmadığı, sadece kemik greft materyalinin uygulandığı grup bulunmamaktadır. Bundan dolayı sadece kemik greftinin, PRP/greft kombinasyonu ile karşılaştırılması yapılmamıştır (148,149).

Froum ve arkadaşları'nın yayınladıkları bir çalışmada da (1997), bilateral sinüs augmentasyonu ihtiyacı olan 3 hasta inorganik sıgır kemiği kullanılarak tedavi edilmiş, test grubunda ise greft ile PRP karıştırılmıştır. Yapılan histomorfometrik analiz sonucunda, grefte PRP eklemenin ne yeni kemik üretiminde ne de kemik ile kullanılan test implantları arasındaki temasta olumlu bir fark yaratmadığı belirlenmiştir. Froum'a göre, literatür bilgileri küçük periodontal defektlerde PRP'nin etkili olabileceğini düşündürse de, greft içinde otojen kemik bulunmadığında veya defekt büyük hacimli olduğunda PRP istenen stimülatör etkiyi

gösteremeyebilir. Bunun nedeni, bu stimülasyonun gerçekleşebilmesi için greft içinde canlı kemik hücrelerinin bulunmasının gerekliliğidir (157).

Wiltfang ve arkadaşları (2003), 35 hastada uyguladıkları sinüs augmentasyonunda 1000-2000 µ boyutunda β-trikalsiyum fosfat kemik grefti uygulamışlar, 17 sinüste greft ile PRP'yi karıştırırken, kalan 18 sinüste sadece greft kullanmışlardır. Operasyondan 6 ay sonra implant uygulaması öncesinde alınan biyopsilerden elde edilen sonuçlar, PRP uygulamasının sadece osteosit veya osteoblast gibi hedef hücrelerin varlığında hızlanmış kemik oluşumuna yol açtığını ve greft materyalinin degrade olmasını hızlandırmayacağını göstermiştir (158).

Bir başka çalışmada ise, Wiltfang ve arkadaşları domuzlarda açtıkları defektlere otojen kemik, ksenojenik kemik grefti ile PRP uygulamışlar ve sonuçta PRP'nin gruplar arasında belirgin bir fark yaratmadığını, sadece otojen kemik kullanılan grupta etkili olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmanın sonuçlarına göre ksenojenik kemik ile PRP'nin kombine kullanımı olumlu sonuçlar vermemiş, hatta olumsuz sonuçlara neden olmuştur (159). Araştırmacılar bu kombinasyonun tedavi amacıyla kullanımından kaçınılması gerektiğini önermişlerdir.

Marx isimli araştırmacı da (2004), PRP kullanımını irdelediği derlemesinde, PRP'nin faydalı olabilmesi için, FDA (Food and Drug Administration) tarafından onaylanmış sistemler kullanılarak hazırlanması gerektiğini ve günümüzde bu sistemlerden sadece iki tane olduğunu belirtmiştir. Araştırmacı bu sistemler kullanılmadan hazırlanan PRP'nin olumsuz sonuçlar vermesini yöntem hatasına bağlamaktadır (160) .

Başarılı tedavilere örnek olarak; Camargo ve arkadaşları'nın kemik içi periodontal defekt tedavisi (148), Kim ve arkadaşlarının periimplant defekt tedavisi (152), Kassolis ve arkadaşlarının sinüs lifting cerrahileri (108) gösterilebilir. Bununla beraber yukarıda atfedilen 3 çalışmada da, Marx'ın bahsettiği onaylı sistemlerin

kullanılmamış olması dikkat çekicidir. Dolayısıyla PRP'nin başarısını sadece onaylı sistemlere bağlamak, gerçeği yansıtmayabilir. Başarısızlığında yöntem hatası olarak antkoagülanın yanlış seçilmesi, aşırı dozda merkezkaç uygulanması, yeterli konsantrasyonda BF içermemesi vb. gibi nedenler göz önünde bulundurulmalıdır.

## SONUÇLAR

Çalışmamızda, deneysel olarak oluşturulan kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine kemik greftlerinin, kollajen membranın, yönlendirilmiş doku ve kemik rejenerasyonunun ve PRP uygulamasının etkilerini inceledik.

- 1- **Erken dönem incelemelerde**, membran uygulanan gruplarda (II,III ve IV) elde ettiğimiz sonuçların, kontrol grubuna kıyasla **kemik iyileşmesi yönünden** anlamlı olduğu saptandı. Membran uygulanan gruplarda sonucun kontrol grubuna kıyasla anlamlı olmalarını, membranın bir bariyer görevi yaparak fibrotik iyileşmeye engel olmasına ve uygulanan greftlerin defekt alanında kemik iyileşmesi üzerine etkili olmasına bağlamaktayız.
- 2- PRP+HA+Membran uygulanan gruptaki sonuçların diğer 3 gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olması; **PRP'nin içindeki büyüme faktörlerine** bağlı olarak iyileşmenin daha hızlı olmasına ve defekt tabanında osteoblastik aktivitenin daha erken süreçte başlamış olmasına bağlı olduğu düşünüldü.
- 3- Çalışmamızda kullanılan Hidroksiapatit, Tip-I kollajen membranın ve PRP'nin histolojik olarak **enflamasyon, yabancı doku reaksiyonu ve fibröz enkapsülasyon** oluşturmadıkları ve kemik dokusu ile **fiziksel bir ataçman** oluşturarak **biokompatibil** oldukları izlenmiştir.
- 4- **Geç dönem sonuçları** (45. ve 90. günlerde) değerlendirildiğinde, çalışmamızda membran, HA+membran ve PRP+HA+membran uygulanan gruplar arasında, kontrol grubuna kıyasla yeni kemik oluşumu açısından anlamlı farklılık görülmüş olup; oluşan yeni kemiğin kalitesi ve kantititesi yönünden daha ideal olduğu ve iyileşmenin istenilen düzeyde gerçekleştiği sonucuna varılmıştır.
- 5- PRP+HA+ membran, HA+membran ve sadece membran ilave edilen grupların **üç duvarlı defektlerde** mükemmel yakın sonuç verdiği izlenmiştir.

- 6- Greft ve PRP ilave edilen gruplarda **genel olarak kemik iyileşmesi** değerlendirildiğinde; kemikleşmenin tama yakın olduğu ve istenilen düzeyde gerçekleştiği saptanmıştır. Bu da bize defekt rekonstrüksiyonlarında greftin önemini göstermektedir.

Bu bulguların ışığında kollajen membran ve HA greft materyalinin 3 duvarlı defektlerde erken dönemlerde benzer iyileşme süreçleri geçirdiği, ancak membranın fibrotik iyileşmeye engel olarak, daha ideal bir osteogenezisi başlattığı kanısına varıldı. Kullanılan greft materyallerinin benzer düzeyde enflamasyona ve fibrotik yanıtı neden olduğu, doku ile uyumluluğunun (biyokompatibilite) mükemmel olduğu ve yabancı doku reaksiyonuna neden olmadıkları saptandı. İstatistiksel olarak PRP ilave edilen grubun osteogenezis açısından diğer gruplara kıyasla anlamlı bir farklılık gösterdiği, ancak bu greft materyallerinin ve PRP kombinasyonunun daha ileri deneysel ve klinik çalışmalarla desteklenmesi gerektiği sonucuna varıldı.

**KAYNAKLAR**

1. Junqueira LC, Carneiro J, Kelly RO, Basic Histology. Aytekin Y, Temel Histoloji, İstanbul, Barış Kitabevi, 1998;132-146.
2. Erdoğan D, Hatiboğlu M, Görgün M, Ilgaz C: Genel Histoloji, Ankara, 1999; Hatiboğlu Yayınevi,107-117.
3. Aslan M, Kemik Defektlerinin İyileşmesinde Kemik Greftlerinin ve Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu Yönteminin Etkilerinin İncelenmesi ve Karşılaştırılması, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2002.
4. Clara M, Maskar Ü. : Histoloji. Sermet Matbaası, 1961, 274-306.
5. Erdoğan D, Hatiboğlu M, Görgün M, Ilgaz C: Genel histoloji. Ankara, Hatiboğlu Yayınevi;1999,107-17.
6. Atılğan S,Kalsiyum Sülfat Partikülleri ile  $\beta$ -Trikalsiyumfosfat/Hidroksilapatit Granüllerinin Kemik İçi Kavitelerinde Osteogenezis Üzerine Olan Etkilerinin Deneysel Olarak Karşılaştırılması, Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2006.
7. Bancroft JD, Stevens A, A Theory and Practice of Histological Techniques. 4th edition, Churchill Livingstone, New York,1996; Chapter 15, Bone, 309-339.
8. Gartner LP, Hiatt JL., Color Textbook of histology, 2nd Edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia, Chapter 7, Cartilage and Bone, 2001, 129-153.
9. Cormack DH.: Essential Histology, JB Lippincott Company, Philadelphia, Chapter 8, Dense Connective Tissue, Cartilage, Bone and Joints,1993, 159-190.
10. Fawcett DW, Jesh RP: Bloom&Fawcett's Concise Histology, 2nd Ed., A member of the Hodder Headline Group, London, Chapter 6, Bone, 2002, 87-99.



11. Lynch SE, Genco RJ, Marx RE, Tissue Engineering Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics. Quintessence Publishing Co., Coral Stream, İllionis Chapter 2, Biology of Bone Healing: Its Impact on Clinical Therapy,1999, 17-55.
12. Çetingül E, Çene ve Yüz Travmatolojisi, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, Bölüm 3, Kırık Tedavisinde Genel Prensipler,1997; 47-54.
13. Efeoğlu C, Kemik Defektlerinde Otojen Trombositten Zengin Plazma (TZP) ve  $\beta$ -Trikalsiyum fosfat Uygulaması: Deneysel Çalışma, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2003.
14. Subach BR, Haid RW, Rodts GE, Kaiser MG, Bone morphogenetic protein in spinal fusion: overwiev and clinical update, Neurosurg. Focus, 2001; 10(4):3.
15. Aytuğ A, Otogreftler Aracılığı İle Elde Edilen Otojen Kemik Partiküllerinin Ve İki Farklı Greft Materyalinin Yalın Ve Kombine Uygulamalarının Histopatolojik İncelenmesi Sonuçları, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2003.
16. Pilitsis JG, Lucas DR, Regachary SS, Bone Healing and Spinal Fusion, Neurosurg. Focus 2002; 13(6):1.
17. Aaboe M, Pinholt EM, Hjørting-Hansen E, Solheim E and Prætorius F, Guided tissue regeneration using degradable and nondegradable membranes in rabbit tibia. 1993; Clin Oral Impl Res 4: 172-176.
18. Macintyre DR, Speculand B, Autogenous bone grafting for persistent maxillary cyst cavities. British Dental Journal 1983;155:173-276.
19. Wada T, Hara K, Ozawa U, Ultrastructural and histochemical-study of beta-tricalcium phosphahate resorbing cells in periodontium of dogs. Journal of Periodontal Research. 1989; 24;391-401.
20. Türker M, Yücetaş Ş, Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi, Ankara, Atlas Kitapçılık, 1999; 426-433.
21. Ünlü G, Doktora Ders Notları, 2004.
22. Ellis E, Oral and Maxillofacial Surgery 3rd Edition, 1998; Mosby, 680.
23. Stanton DC, Fonseca, Oral and Maxillofacial Surgery Volume:6, W.B. Saunders Company, 2000; 513-521,

24. Bloomquist DS, Turvey TA, Modern Practice in Orthogantic and Reconstructive Surgery, Saunders, Volume 2, 1992; 831-851.
25. Moore WR, Graves SE, Bain GI, Australian and New Zealand Journal of Surgery; 2001, 71: 6, 354.
26. Tuskan C, Yaltırık M, Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Biyomateryaller, İstanbul, 2002.
27. Constantino PD, Freidman CD. Soft tissue augmentation and replacement in the head and neck. Otolaryngol Clin North Am.1994; 27:1-12.
28. Bauer TW, Muschler GF. Bone graft materials. Clinical Orthopedics and Related Research. 2000; 371: 10-27
29. Silva RV, Camili JA, Bertran CA, Moreira NH, The use of hydroxyapatite and autogenous cancellous bone grafts to repair bone defects in rats, Int. J. of Oral Maxillofac. Surg. 2005; 34(2): 178-184
30. İpekoğlu M, Gören Ş, Gümüşpala S, Altındaş S, Hidroksiapatit üretiminde farklı yöntemlerin karşılaştırılması, Biyoumut; National Meeting on Biomedical Engineering, İstanbul, 2004.
31. Park JB, Kim JK, Kang YH, Effect of bone mineral particles on the porosity of bone cement, Biomedical Materials and Engineering, 1994; 4(1):37-46.
32. Aichelmann Reidy ME, Yukna RA, Bone Replacement Grafts, The Bone Substitutes. Dental Clinics of North America, 1998; 42;3:491-503.
33. Ertürk S, Selçuk E, Granül Formdaki Hidroksiapatit'in Lyofilize Fibrin Yapıştırıcısı (Tisseel/Tissucol) Kullanılarak Stabilizasyonu, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü , 1993.
34. Kenley AR, Yim K, Abrams J, Biotechnology and bone graft substitutes, Pharmaceutical Research,1993; 10: 1393-1401.
35. Lynch SE, Genco RJ, Marx RE, Tissue Engineering, applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics, Quintessence Publishing Co., Carol Stream, Illionis, Chapter 5, Grafting Materials in Repair and Restoration. 1999; 83-103.
36. Tomin E, Beksaç B, Lane JM, Amerika Birleşik Devletlerinde ortopedik girişimlerde otogreftlerin yerine kullanılan materyallere toplu bakış, J. Arthroplasty Arthroscopic Surg. 2002; 13 (2) : 114-129.

37. Fleming JE, Cornell CN, Muschler GF, Bone cells and matrices in orthopedic tissue engineering, *Orthop. Clin. North Am.* 2000; 31(3): 357-374.
38. Urist M, The search for and the discovery of bone morphogenetic protein (BMP). Ed. Urist M, OCB, Burwell R.G., 315-362 , Oxford, Butterworth-Heinemann, 1994.
39. Walsh R, Arm DM. Growth factor gel and resorbable porous ceramic for use in spinal fusion, *Trans ORS* 1999; 24: 270.
40. Tay B K, Le AX, Heilman M, et al. Use of collagen- hydroxyapatite matrix in spinal fusion. A rabbit model. *Spine* 1998; 23 (21) : 2276-81.
41. Bal E, Şengün O, Günhan Ö, Hidroksilapatitin çene kemiği defekt iyileşmesindeki etkinliğinin araştırılması, *G.Ü. Dişhek. Fak. Derg.* 1991, 7(2): 51-70.
42. White E, Shors EC, Biomaterial aspects of interpor-200 porous hydroxylapatite. *Reconstructive Imp. Surg. and Imp. Prosthodontics I* 1986; 30: 49-67.
43. Donohue WB, Mascres C, Effect of hydroxylapatite on bone formation around exposed heads of titanium implants in rabbits, *J.Oral Maxillofac. Surg.* 1990; 48: 1196-1200.
44. El Deeb M, Holmes RE, Tissue to facial contour Augmentation with dense and porous hydroxylapatite in rhesus monkeys. *J.Oral Maxillofac. Surg.* 1989; 47: 1282-1289.
45. Kent JN, Quinn JH, Zide MF, et al., Correction of alveolar ridge deficiencies with nonresorbable hydroxylapatite. *JADA* 1982; 105: 993-1001.
46. Wardrop RW, Wolford LM, Maxillary stability following downgraft and for advancement procedures with stabilization using rigid with stabilization using rigid fixation and porous block hydroxylapatite implants. *J.Oral Maxillofac. Surg.* 1989; 47(4): 336-342.
47. Jarcho M, Biomaterial aspects of calcium phosphates. *Dent. Clin. North Am.* 1986, 30: 25-47.
48. Oktar FN, Göller G, Heybeli N, Varol R; İnsan dişi kullanılarak gözenekli biyoseramik üretimi. *J. Arthroplasty-Arthroscopic Surg.*, 2002; 13(2): 99-104.

49. Oonishi H, Iwaki Y, Kin N, Kushitani S, Murata N, Wakitani S, Imoto K, Hydroxyapatite in revision of total hip replacament with massive acetabular defects. *J. Bone Joint Surg.*, 1997; 79-B: 87-17.
50. Suzuli T, Yamamoto T, Toriyama M, Nishizawa K, et al., Surface instability of calcium phosphate ceramics in tissue culture medium and the effect on adhesion and growth of anchorage-dependent animal cells. *J. Biomed. Mater Res.*, 1997; 34:507-517.
51. Korkusuz F, Karamete K, İrfanoğlu B, Yetkin H, Do porous calcium hydroxyapatite ceramics cause porosis in bone? A bone densitometry and biomechanical study on cortical bones of rabbits. *Biomaterials*, 1995; 16: 537-43.
52. Künhe JH, Bartl R, Frisch B, Hammer C, Jansson V, Zimmer M, Bone formation in coraline hydroxyapatite. Effect of pore size studied in rabbits. *Acta Orthop. Scand.*, 1994, 65:246-52.
53. Postner AS, Blumental NC, Betts NC, Chemistry and structure of precipitated hydroxyapatite. In: Nriagu O, Moore PB. Eds. *Phosphate minerals*. Berlin: Springer-Verlag., 1983; 331.
54. Sepulveda P, Gelcasting foams for porous ceramics. *Am. Ceram Soc. Bull.*, 1997; 76: 615
55. Hing KA, Best SM, Taner KE, Bonfield W, Revel PA, Biomechanical assesment of bone ingrowth in porous hydroxyapatite. *J. Mater Sci: Materials in Medicine* 1997; 8: 731-6.
56. Kuboki Y, Takita T, Kobayashi D, Tsuruga E, Inoue M, Murata M, Nagai N, Dohi Y, BMP- induced osteogenesis on the surface of hydroxyapatite for potential biomedical applications, *Artif Cells Blood Submit Immob. Biotechnol.* 1999; 27 (4): 367-79.
57. Kökden A, Türker M, Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Kemik Greftleri ve Biyomateryaller, *Cumhuriyet Ün. Dişhekimliği Fak. Derg.*, 1999, 2(2): 134-140.
58. Salyer KE, Taylor DB, *Bone Grafts in Craniofacial Surgery*, *Clinics in Plastic Surgery*. 1987; 14(1): 27-34.

59. Öberg S, Rosenquist JB, Bone healing after implantation of Hydroxyapatite granules and blocks (Interpore 200) combined with Autolyzed Antigen-Extracted Allogenic Bone and Fibrin Glue. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*1994; 23: 110-114.
60. Gürmeriç A, Hidroksiapatit, Allojenik Kemik Tozu, Doğal Mercan ve Kalsiyum karbonatın kemikleşme üzerine etkilerinin deneysel olarak incelenmesi. Doktora Tezi, Hacettepe Üni. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1995.
61. Younger EM, Chapman MP, Morbidity at bone graft donor sites, *J. Orthop. Trauma* 1989; 3: 192-195.
62. Boden SD, Finnegan M, Breakout Session 2: Bone Clin. *Orthop.* 1999; 273:130-132.
63. Bucholz RW, Carlton A, Holmes R, Interporous hydroxyapatite as a bone graft substitute in tibial plateau fractures. *Clin. Orthop.* 1989; 240: 53-62.
64. Mocan A, Kişnişçi R, Duran S, Tuğcu F, Klinik olarak yönlendirilmiş doku rejenerasyonlarının apikal rezeksiyon vakalarında hidroksiapatitin kullanımı. *Dicle Ün. Dişhekimliği Fak. Derg.* 1992; 3(3):126-131.
65. Kent J, Reconstruction of the alveolar ridge with hydroxyapatite In Ed. Guernsey LH *Reconstructive implant surgery and implant prosthodontics II.* *Dent. Clin. North Am.* 1986; 30: 231-25.
66. Misiek DJ, Kent JN, Carr RF, Soft tissue responses to hydroxyapatite particles of different shapes. *J. Oral and Maxillofac. Surg.* 1984; 42: 150-160.
67. Ertürk S, Öztürk B, Toksavul S, Ulusoy M, Selçuk E, Hidroksiapatit'in kret yükseltmeleri ve kist kavitelelerinde kullanımı. Araştırma Projesi, Ege Üniversitesi Diş hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Hastalıkları Cerrahisi A.D. Bornova, İzmir, 1990.
68. Papacharalambous SK, Anastasoff KI, Natural Coral Skeleton used as Onlay Graft for Contour Augmentation of the Face. A preliminary report. *Int J. Oral Maxillofac. Surg.*1993, 22: 260-264.
69. Levent Y, Guero S, Gullemin G, Utilisation du Corail en Remplacement de Greffes osseuses en Chirurgie Faciale Quatre ans de Recul. *Anneles de Chirurgie Plastique et Esthetique.*1988; 33(3): 279-282 .

70. Karaca İ, Çılıbr Ö, Sabuncuoğlu B, Akbay C, Saft mineralize kemik grefti pyrostun membranlı ve membransız uygulamalarının kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerinin deneysel olarak incelenmesi, Cumhuriyet Üni. Dişhek. Fak. Derg. 1999; 2(2): 91-97.
71. Polson MA, Garrett S, Stoller NH, Greenstein G, Polson AP, Harrold CQ, Laster L, Guided tissue regeneration in human furcation defects after using a biodegradable barrier: A multicenter feasibility study. J. Periodontology. 1995; 377-385.
72. Zellin G, Linde A, Healing of mandibular defects with different biodegradable and non-biodegradable membranes: An experimental study in rats, Biomaterials 1995; 16: 601-609.
73. Sandberg E, Dahlin C, Linde A, Bone regeneration by the osteopromotion technique using bioabsorbable membranes: An experimental study in rats. J Oral Maxillofac. Surg. 1993; 51: 1106-1114.
74. Fugazzoto AP, Maintenance of soft tissue closure following guided bone regeneration: Technical considerations and report of cases, J. Periodontol 1999; 1085-1097.
75. Mundell RD, Money MP, Siegel MI, Losken A, Osseous guided tissue regeneration using a collagen barrier membrane, J. Oral Maxillofac. Surg. 1993; 51: 1004-1012.
76. Tanrikulu R, Erol B, Büyükbayram H, Görgün B, Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunda Tip I kollogen membran ve insan perikardı kullanımının histopatolojik olarak karşılaştırılması, Türkiye Klinikleri Dişhekimliği Bilimleri Dergisi 2001; 7(2): 59-64.
77. Aukhil I. Biology of wound healing. Periodontology 2000 2000; 22: 44-50.
78. Martin P. Wound healing-aiming for perfect skin regeneration. Science 1997; 276: 75-81.
79. Schliephake H. Bone growth factors in maxillofacial skeletal reconstruction. Int. J. Oral and Maxillofacial Surgery 2002; 31: 469-484.
80. McCauley LK, Somerman MJ. Biologic modifiers in periodontal regeneration. Dental Clinics of North America 1998; 42: 361-387.

81. Tarnow D, Fletcher P. Classification of the vertical component of furcation involvement. *Journal of Periodontology* 1984; 55: 283-284.
82. Demir B. Kemikiçi defektlerin tedavisinde trombositten zengin plazmanın sentetik kemik grefti materyali ile beraber kullanımının klinik olarak incelenmesi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2005.
83. Adem A. Yağlı kalsiyum hidroksit süspansiyonu ve ksenogreft+trombositten zengin plazma (TZP) karışımının deneysel olarak kemik defektlerinde uygulanmasının kemik iyileşmesi üzerine olan etkilerinin karşılaştırmalı olarak histolojik değerlendirilmesi, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2007.
84. Öztürk KM, Bozkurt FY, Periodontal rejenerasyonda yeni bir yaklaşım: Trombositten Zengin Plazma. *Cumhuriyet Üni. Dişhek. Fak. Derg.* 2005; 8(2):119-127.
85. Corchan DL, Wozney JM, Biological mediators for periodontal regeneration, *Periodontol.* 2000, 19: 40-58.
86. Lynch SE, Buser D, Hernandez RA, et al. Effects of the platelet-derived growth factor/insulin-like growth factor-I combination on bone regeneration around titanium dental implants. Results of a pilot study in beagle dogs. *Journal of Periodontology* 1991; 62:710-716.
87. Boden SD, Finnegan M. Breakout Session 2: Bone Clin. *Orthop.* 1999; 237:130-132.
88. Jane MJ, Yasko AW, Tomin E, et al. Bone marrow and recombinant human bone morphogenetic protein-2 in osseous repair. *Clin. Orthop.* 1999; 361: 216-27.
89. Lindhom TS, Nilsson OS, Lindhom TC. Extraskkeletal and intraskkeletal new bone formation induced by demineralized bone matrix combined with bone marrow cells. *Clin. Orthop.* 1982; 171:251-5.
90. Lindhom TS, Urist MR. A quantitative analysis of new bone formation by induction in composite grafts of bone marrow and bone matrix. *Clin. Orthop.* 1980; 150: 288-300.

91. Takagi K, Urist MR. The role of bone marrow in bone morphogenetic protein induced repair of femoral massive diaphyseal defects. *Clin. Orthop.* 1982; 171: 224-31.
92. Tiedeman JJ, Connolly JF, Strates BS, Lippiello L. Treatment of nonunion by percutaneous injection of bone marrow and demineralized bone matrix. An experimental study in dogs. *Clin. Orthop.* 1991; 268: 294-302.
93. Wittbjer J, Palmer B, Rohlin M, Thorngren KG. Osteogenetic activity in composite grafts of demineralized compact bone and marrow. *Clin. Orthop.* 1983; 173: 229-38.
94. Marx ER, Garg AK. Dental and craniofacial applications of platelet-rich plasma. China 2005, Quintessence Publishing Co, 1-21.
95. Carlson NE, Roach RB Jr. Platelet-rich plasma: clinical applications in dentistry. *J. Am. Dent. Assoc.* 2002, 133: 1383-1386.
96. Tözüm TF, Demiralp B, Platelet-rich plasma: A promising innovation in dentistry. *J. Can. Dent. Assoc.* 2002; 133:1383-1386.
97. Freymiller EG, Aghaloo TL. Platelet-rich plasma: ready or not? *J. Oral Maxillofac. Surg.* 2004; 62(4): 484-488.
98. Caffesse RG, Quinones CR. Polypeptide growth factors and attachment proteins in periodontal wound healing and regeneration. *Periodontol* 2000. 1993;1: 69-79.
99. Lynch SE, Genco RJ, Marx RE. Tissue Engineering, applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics. Quintessence Publishing Co., Carol Stream, Illinois, Chapter 4, Platelet Rich Plasma: A Source of Multiple Autologous Growth Factors for Bone Grafts. 1999;71-83.
100. Landesberg R, Roy M, Glickman RS. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation, *J. Oral Maxillofac. Surg.* 2000; 58: 297-300.
101. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM. Platelet-Rich Plasma Growth Factor Enhancement for Bone Grafts. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology* 1998; 85(6): 638-646.
102. Synder EL. Topical platelet growth factor therapy: of Lotions and Potions. *Transfusion* 2001; 41: 1186-1189.



103. Weibrich G, Kleis WG. "Curasan PRP kit vs PCCS PRP system. Collection efficiency and platelet counts of two different methods for the preparation of platelet-rich plasma." *Clin. Oral Impl Res.*, 2002; 13:437-443.
104. Sanchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, 2003; 18:93-103.
105. Radomsky ML, Aufdemorte TB, Swain LD, et al. Novel formulation of fibroblasts growth factor-2 in a hyaluronan gel accelerates fracture healing in nonhuman primates. *J. Orthop. Res.* 1999; 17 (4): 607-14.
106. Okuda K, Kawase T, Momose M et al. Platelet-rich plasma contains high levels of platelet derived growth factor and transforming growth factor-B and modulates the proliferation of periodontally related cells in vitro. *J. Periodontol.* 2003; 74: 849-857.
107. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *The Int. J. Oral Maxillofac. Imp.* 1999; 14:529-535.
108. Kassolis JD, Rosen PS, Reynolds MA. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series. *J. of Periodontology*, 2000; 71:1654-1661.
109. Petrungaro PS. Treatment of the infected implant site using platelet-rich plasma. *Compendium of Continuing Education in Dentistry.* 2002; 23: 363-376.
110. Tomak T, Dabak N, Kokçu C et al. Allogreft kullanımı ve kemik bankası üzerinde deneylerimiz. *Acta Orthopaedica et Traumatologica Turcica*, 200; 34: 139-146.
111. Lane JM, Tomin E., Bostrom MP. Biosynthetic bone grafting. *Clin. Orthop.* 1999; 367:107-17.
112. Bostman O, Pihlajamaki H. Clinical biocompatibility of biodegradable orthopaedic implants for internal fixation: A review. *Biomaterials.* 2000; 21:2615-21.
113. Cornell CN. Osteoconductive materials and their role as substitutes for autogenous bone grafts. *Orthop Clin North Am.* 1999; 30: 591-8.

- 114.** Walsh WR, Morberg P, Yu Y, et al. Response of a calcium sulfate bone graft substitute in a confined cancellous defect. *Clin Orthopedic*. 1995;406:228-36.
- 115.** Gülsün B, Erol B, Yılmaz F, Atay Ç. Sentetik bir kemik alloplastı ile ksenojenik kemik greftinin osteogenezis üzerine olan etkilerinin deneysel olarak araştırılması. *Türk Oral ve Maksillofasiyal Cerrahi Dergisi*.1997; 1:1-12.
- 116.** Tanrıku R, Erol B, Büyükbayram H. Kemik defektlerinin rejenerasyonunda yalnızca allojenik kemik greftinin ve kollajen membran ile birlikte kullanımının deneysel olarak araştırılması. *Türkiye Klinikleri Diş Hekimliği Bilimleri Dergisi*. 2001; 7:65-70.
- 117.** Öz D. Demineralize kemik matriks partikülleri içeren kalsiyum sülfat esaslı putty ile  $\beta$ -trikalsiyum fosfat granüllerinin kemik içi kavitelere iyileşme üzerine etkilerinin histopatolojik olarak karşılaştırılması, Doktora Tezi, Dicle Üni. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 2005.
- 118.** Kavak G, Vural A, Us H. A histopathological comparison of the effects of demineralized bone-powder and natural coral implants on osteogenezis. *Tr J of Medical Sciences*. 1994; 21: 191-5.
- 119.** Akal ÜK, Cehiz T, Şahin M. İki farklı greft materyali ve kollajen membranın kıyaslanması: Klinik ve densitometrik çalışma. *Türk Oral ve Maksillofasiyal Cerrahi Dergisi*. 2002; 6:35-46.
- 120.** Akal ÜK, Cambazoğlu M. Kistektomi, kronik enfeksiyon bölgelerinin küretajı ve apikal rezeksiyon operasyonu sonucunda oluşan kemik defektlerinde solventlerle dehidrate edilmiş spongiöz kemik çipslerinin kullanılması. *A.Ü. Diş Hek. Fak. Derg.* 1995; 22:103-8.
- 121.** Dalkız M, Özcan A, Yapar M. ve ark. Evaluation of the effects of different biomaterials on bone defects. *Implant Dent*. 2000; 9:226-35.
- 122.** Balçık C, Şenköylü A, Koç N ve ark., Segmenter defekt içeren uzun kemik kırıklarının tedavisinde kullanılan gözenekli hidroksiapatit ve kalsiyum fosfat seramik bloklarının *invivo* uyumluluğu. *J. Arthroplasty- Arthroscopic Surg.*, 2003; 14: 39-44.

123. Kon E, Muraglia A, Corsi A, et al. Autologous bone marrow stromal cells loaded onto porous hydroxyapatite ceramic accelerate bone repair in critical-size defects of sheep long bones. *J. Biomed. Mat. Res.* 2000, 49: 328-337.
124. Zhang C, Whang J., Feng H., et al. Replacement of segmental bone defects using porous bioceramic cylinders: a biomechanical and X-ray diffraction study. *J. Biomed. Mat. Res.*, 2000; 49:328-337.
125. Caretenuto C, Spagnuolo G, Ambrosio L, Nicolais L, Macroporous hydroxyapatite as alloplastic material for dental applications. *J. Mater. Sci. Med.*, 1999; 10:671-676.
126. Bauer TW, Muschler GF. Bone graft materials. An overview of the basic science. *Clin. Orthop.*, 2000; 371: 10-27.
127. Nalbant AD. Kobaylarda subperiostal olarak uygulanan hidroksiapatit partiküllerine yumuşak doku cevabının ışık mikroskopunda incelenmesi, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1988.
128. White E, Shors EC. Biomaterial aspects of interpore-200 porous hydroxyapatite. *Reconstructive Imp. Surg. and Imp. Prosthodontics I* 1986; 30: 49-67.
129. Boyde A, Corsi A, Quarto R, et al. Osteoinduction in large macroporous hydroxyapatite ceramic implants: evidence for a complementary integration and disintegration mechanism. *Bone*, 1999, 24: 579-589.
130. Block MS, Kent JN. A comparison of particulate and solid forms of hydroxylapatite in dog extraction sites. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 1986; 44:89-93.
131. Lehtinen R, Kusihelto A, Nikkanen UM. Bone response to hydroxylapatite particles of different shapes in rabbit tibia. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 1990; 48: 1075-1078.
132. Chao SY, Poon CK. Histologic study of tissue response to implanted hydroxylapatite in two patients. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 1987, 45:359-362.
133. Özcan A, Yüncü M, Dalkız M, Yapar M. Kemik defektlerinin iyileşmesinde hidroksilapatitin etkisinin değerlendirilmesi. *T. Klin. Diş Hek. Bil. Derg.* 2000; 6: 138-144.

134. Klinge B, Alberius P, Isaksson S, Jönsson J. Osseous response to implanted natural bone mineral and synthetic hydroxyapatite ceramic in the repair of experimental skull bone defects. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 1992; 50:241-249.
135. May PK, Lundgren S, Holmes RE. Maxillary sinus augmentation: Histomorphometric analysis of graft materials for maxillary sinus floor augmentation. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 1993; 51: 857-862.
136. Persson GR, Falk H, Laurell L. A retrospective radiographic outcome assessment study of intra-bony defects treated by osseous surgery or by bone graft procedures. *J. Clin. Periodontol.* 2000; 27: 104-108.
137. Nasr HF, Aichelmann-Reidy ME, Yukna RA. Bone and bone substitutes. *Periodontology* 2000, 1999; 19: 74-86.
138. Linde A, Thorn C, Dahlin C, Sandberg E. Creation of new bone by an osteopromotive membrane technique: An experimental study in rats. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 1993, 892-7.
139. Aaboe M, Pinholt EM, Hjorting-Hansen E. Healing of Experimentally Created Defects: A Review, *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.* 1995; 33, 312-8.
140. Chen CC, Wang HL, Smith F, et al. Evaluation of a collagen membrane with and without bone grafts in treating periodontal intrabony defects. *J. Periodontol.*, 1995; 66:
141. Mellonig JT. Bone allografts in periodontal therapy, *Clin. Orthop.*, 1996; 324,116-52.
142. Delacure MD, Physiology of bone healing and bone grafts. *Otolaryngol. Clin.* 1994; 27(5):672-6.
143. Mellado JR, Salkin LM, Freedman AL, Stein MD. A comparative study of ePTFE periodontal membranes with and without decalcified Freeze-Dried Bone allografts for the regeneration of interproximal intraosseous defects. *J. Periodontol.* 1995; 66: 751-5.
144. Majauob Z, Berengo M, Giardino R, et al. Role of intramarrow penetration in osseous repair: A pilot study in the rabbit calvaria. *Periodontol.* 1999; 70: 1501-1510.

145. Machtei E, Peled M, Aizenbud D, Laufer D. Guided bone regeneration for the treatment of cleft plate defects: A report of two cases. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 1999; 57: 604-608.
146. Man D, Plosker H, Windland-Brown JE, The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin gel) in cosmetic surgery. *Plast.Recons. Surg.* 2002, 107:229-237.
147. De Obbario JJ, Aruz-Dutari JJ, Chamberlain TM, Croston A. The use of autologous growth factors in periodontal surgical therapy: platelet gel biotechnology-case reports. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* 2000; 20:487-497.
148. Camargo PM, Lekovic V, Weinleander M, et al. Platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. *J. Periodont. Res.* 2002; 37: 300-306.
149. Lekovic V, Camargo PM, Weinleander M., et al. Effectiveness of a combination of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration in the treatment of mandibular grade II furcations in humans. *J. Clin. Periodontol.* 2003; 30: 746-751.
150. Camargo PM, Lekovic V, Weinleander M., Vasilic N., et al. A reentry study on the use of bovine porous bone mineral, GTR, platelet-rich plasma in the regenerative treatment of intrabony defects in humans. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* 2005; 25:49-59.
151. Kim SG, Kim WK, Park JC, Kim HJ. A comparative study of osseointegration of avana implants in a demineralized freeze-dried bone alone or with platelet-rich plasma. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 2002; 60:1018-1025.
152. Lozada JL, Caplanis N, Proussaefs P. Platelet-rich plasma application in sinus graft surgery: Part 1- Background and processing Techniques. *J. Oral Imp.* 2001; 27;1:38-42.
153. Beck LS, Deguzman L, Lee WP. Rapid publication, TGF- $\beta_1$  induces bone closure of skull defects. *Journal of Bone and Mineral Research.* 1991; 6(11):1257-1265.

154. Vikjaer D, Blom S, Hjorting-Hansen E. Effect of platelet-derived growth factor-Bb on bone formation in calvarial defects: An experimental study in rabbits. *Eur. J.Oral Sci.*1997; 105:59-66.
155. Marx RE, Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. *J. Oral Maxillofacial Surg.* 2000; 58:300-301.
156. Dugrillon A, Eichler H, Kern S, Klüter H. Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. *Int. J Oral Maxillofac. Surg.* 2002; 31: 615-619.
157. Froum SJ, Weinberg MA, Tarnow DP, Cho SC. Effect of platelet-rich plasma on bone growth and osseointegration in human maxillary sinus grafts: three bilateral case reports. *Int. J. Periodontics and Restorative Dentistry* 1997; 6:93-101.
158. Wiltfang J, Schelegel KA, Shultze-Mosgau S, et al. Sinus floor augmentation with  $\beta$ -tricalciumphosphate ( $\beta$ -TCP): Does platelet-rich plasma promote its osseous integration and degradation? *Clinical Oral Implants Research* 2003; 14:213-218.
159. Wiltfang J, Kloss FR, Kessler P, et al. Effects of platelet-rich plasma on bone healing in combination with autogenous bone and bone substitutes in critical-size defects. An animal experiment. *Clinical Oral Implants Research* 2004; 15:187-193.
160. Marx RE, Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 2004; 62:489-496.

## **ÖZGEÇMİŞ**

11.08.1978 tarihinde Çanakkale’de doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Çanakkale’de tamamladım. 1997 yılında Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesini kazandım ve 2002 yılında mezun oldum, 2003 yılında Dicle Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Ağız-Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı’nda doktora eğitimime başladım. Halen aynı bölümde doktora eğitimimi sürdürmekteyim.