

**T.C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HIZLI ÜST ÇENE GENİŞLETMESİ SIRASINDA VE SONRASINDA  
TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA UYGULAMASININ TAVŞAN MİDPALATAL  
SÜTÜRÜNDEKİ KEMİK OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİNİN DENEYSEL OLARAK  
İNCELENMESİ**

**Dt. Hasan İlhan MUTAF**

**ORTODONTİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Ali Altuğ BIÇAKÇI**

**SİVAS-2014**

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Ortodonti Anabilim Dalında doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof. Dr. Cenk DORUK

Üye

Doç. Dr. Hüseyin KÖŞGER

Üye

Yrd. Doç. Dr. Hakan ÖZDEMİR

Üye

Yrd. Doç. Dr. Feyza HOLOĞLU

Üye (Danışman)

Prof. Dr. Ali Altuğ BIÇAKÇI

ONAY

Bu çalışma 22.04.2014 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

-----

Prof. Dr. Ali ÇELİKSÖZ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 24.09.2008 tarihli ve 007 sayılı toplantısında kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

## ÖZET

### HIZLI ÜST ÇENE GENİŞLETMESİ SIRASINDA VE SONRASINDA TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA UYGULAMASININ TAVŞAN MİDPALATAL SÜTÜRÜNDEKİ KEMİK OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİNİN DENEYSEL OLARAK İNCELENMESİ

Hasan İlhan MUTAF

Doktora Tezi, Ortodonti Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ali Altuğ BIÇAKÇI

2014, 120 sayfa

Çalışmamızın amacı, tavşanlarda hızlı üst çene genişletmesi sırasında ve sonrasında midpalatal sütür içerisine lokal olarak uygulanan trombositten zengin plazmanın (TZP) kemik formasyonu üzerine etkilerini histolojik ve radyolojik olarak incelemektir.

Bu çalışmada 24 adet Yeni Zelanda tavşanı kullanılmıştır. Üst çene genişletmesi uygulanan denekler 3 gruba ayrılmıştır. 7 günlük genişletme fazından sonra genişletme apareyi çıkartılıp pekiştirme apareyi takılmış ve 14 gün boyunca pekiştirmede tutulmuştur. Kontrol grubunda pekiştirmenin başladığı gün midpalatal sütür içerisine lokal olarak fizyolojik serum enjeksiyonu yapılırken, TZP enjeksiyonları Grup I için pekiştirmenin başladığı gün, Grup II için ise ilki genişletme başladıktan 24 saat sonra ve diğeri pekiştirmenin başladığı gün olmak üzere 2 kez olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Deneklerden çalışmanın başlangıcında (T0), genişletmenin sonunda (T1), ve pekiştirmenin bittiği (T2) dönemlerde çok kesitli bilgisayarlı tomografi yardımıyla genişletme miktarı ve sütürdeki yeni kemik yoğunluğu ölçülmüştür. Pekiştirmenin bittiği 21.gün sakrifiye edilen tavşanların midpalatal sütür bölgesinde histolojik ve immünohistokimyasal değerlendirme yapılmıştır.

Çok kesitli bilgisayarlı tomografi yardımıyla yapılan radyolojik analiz sonucunda; kemik yoğunluğu değişimi başlangıç ve pekiştirme dönemine göre

incelendiğinde en fazla kemik yoğunluğu artışı Grup II de bulunmakla birlikte Grup I ve Grup II deki kemik yoğunluğu artışı Kontrol grubundan anlamlı derecede fazla bulunmuştur ( $p<0,001$ ). Yapılan histolojik değerlendirmelerde radyolojik analizleri destekler nitelikte TZP'nin deney gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede kemik remodellingini artırdığını göstermektedir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler incelendiğinde hızlı üst çene genişletmesi sırasında ve sonrasında lokal olarak uygulanan TZP'nin midpalatal sütürde yeni kemik yapımını artırdığı dolayısıyla pekiştirme süresinin kısaltılabileceği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Hızlı üst çene genişletmesi, tavşan, midpalatal sütür, trombosit zengin plazma

## **ABSTRACT**

### **AN EXPERIMENTAL STUDY OF PLATELET RICH PLASMA ON BONE FORMATION IN MIDPALATAL SUTURE DURING AND AFTER RAPID MAXILLARY EXPANSION IN RABBITS**

Hasan İlhan MUTAF

Doctoral Thesis, Department of Orthodontics

Supervisor: Prof. Dr. Ali Altuğ BIÇAKÇI

2014, 120 pages

The aim of this study was to evaluate the effects of local administration of platelet rich plasma (PRP) on bone remodelling in midpalatal suture during and after rapid maxillary expansion in rabbits.

Twenty-four New Zealand rabbits were used for this purpose. The rabbits were divided into three groups. After 7 days expansion period, expansion springs were removed and retention appliances were applied for 14 days during retention period. The control group received saline solution and two experimental groups (group 1 and group 2) treated with PRP injection. Group 1 received PRP injection into the midpalatal suture at the beginning of the retention period while group 2 received repeated PRP administration for two times, the first injection was performed 24 hours after the beginning of expansion and the second injection was received at the beginning of the retention period. Radiologic imaging was performed by using multi-slice computed tomography at the beginning of the experiment (T0), at the end of the expansion (T1) and at the end of the retention periods. The subjects were sacrificed at the end of the retention period on day 21.

According to radiologic evaluation when the bone density difference was evaluated between T0 and T2 periods, there was a statically significant difference

between control and experimental groups also Group 2 showed the highest bone remodelling rate ( $p < 0,001$ ). The histological analysis which was supported by radiologic evaluation showed us that PRP enhanced the bone formation significantly when compared with the control group.

In the present study, it has been concluded that the local injection of PRP into the midpalatal suture during and after rapid maxillary expansion may increase bone formation and shorten the retention period.

## TEŞEKKÜR

Öğrenimi hayat boyu devam edecek olan hekimlik mesleğinde ara basamaklardan biri olan asistanlık eğitiminin sonuna gelmiş bulunuyorum. Mesleğimi elimden gelen en iyi şekilde yapabilmek, hastalarım ve bilime faydalı olabilmek adına önümde aşmam gereken birçok engelin farkında olduğumu belirterek;

Ortodonti eğitimim boyunca değerli bilgilerini benimle paylaşan, teorik ve pratik katkılarını esirgemeyen, hem maddi hem manevi olarak yanımda bulunan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Cenk DORUK'a ve Prof. Dr. Hasan BABACAN'a

Danışman hocadan öte, hem ortodonti eğitimimde hem de hayata dair her konuda maddi ve manevi desteğiyle her zaman yanımda olan değerli tez danışmanım Prof. Dr. A. Altuğ BIÇAKÇI'ya,

Araştırmamda histolojik değerlendirme ve laboratuvar çalışmalarında bilgilerini ve yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Sevinç İNAN, doktora öğrencisi Nihan ÇINAR'a ve yüksek lisans öğrencisi Eren YENİDÜNYA'ya

İstatistik bilgisini ve deneyimlerini benimle paylaşan Yrd. Doç. Dr. Ziyet ÇINAR'a,

Birlikte çalışmaktan zevk aldığım değerli asistan arkadaşlarıma; öğrenci arkadaşlarıma ve klinik çalışanlarına,

Sevgileri ve bana duydukları güvenle beni bugünlere getiren ve destekleriyle her zaman yanımda olduklarını hissettiren canım aileme ve ağabeyime,

en içten teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım...



## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xiv
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
1 GİRİŞ .....	1
2 GENEL BİLGİLER .....	3
2.1 Maloklüzyon .....	3
2.2 Hızlı Üst Çene Genişletmesi .....	4
2.2.1 Tarihçe .....	4
2.2.2 Maksiller Darlığın Etiyolojisi .....	7
2.2.3 Üst Çene Genişletmesinin Endikasyonları.....	8
2.2.4 Hızlı Üst Çene Genişletmesinin Kontrendikasyonları .....	9
2.2.5 Hızlı Üst Çene Genişletmesinde Kullanılan Apareyler.....	9
2.2.6 Vida Çevirme Programları .....	11
2.2.7 Üst Çene Genişletme Miktarının Belirlenmesi .....	11
2.2.8 Hızlı Üst Çene Genişletmesinde Zamanlama.....	12
2.2.9 Hızlı Üst Çene Genişletmesi ile Dentofasiyal Yapılarda Oluşan Değişiklikler..	14
2.2.10 Üst Çene Genişletmesinden Sonra Pekiştirme ve Nüks.....	20
2.3 Kemik Dokusu .....	21
2.3.1 Kemiğin Makroskobik Yapısı.....	21
2.3.2 Kemiğin Mikroskobik Yapısı.....	22
2.3.3 Kemik Zarları .....	23
2.3.4 Kemik Hücreleri.....	25
2.3.5 Kemikleşme.....	26
2.3.6 Kemik Metabolizması Düzenleyicileri.....	28
2.4 Trombositten Zengin Plazma .....	29

2.4.1	Trombositlerden Salınan Büyüme Faktörleri.....	31
2.4.2	Büyüme Faktörlerinin Osteogeneze Etkisi.....	36
2.4.3	TZP Hazırlama Yöntemleri.....	36
2.4.4	TZP Saklama Süresi.....	38
2.4.5	TZP ile Yapılan Çalışmalar.....	38
3	GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
3.1	Araştırmanın Deney Safhasında Kullanılan Malzemeler.....	40
3.2	Genişletme Apareyi ve Deneysel İşlemler.....	40
3.3	TZP Hazırlanması ve Uygulanması.....	45
3.4	Deneyin Sonlandırılması.....	50
3.5	Örneklerin Değerlendirilmesi.....	51
3.5.1	Radyolojik Değerlendirme.....	51
3.5.2	Histolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme.....	53
3.5.3	İstatistiksel Değerlendirmeler.....	57
4	BULGULAR.....	58
4.1	Klinik Bulgular.....	58
4.2	Radyolojik Bulgular.....	58
4.2.1	Genişletme Miktarının Değerlendirilmesi.....	58
4.2.2	Kemik Yoğunluğunun Değerlendirilmesi.....	60
4.3	Histolojik Bulgular.....	64
5	TARTIŞMA.....	75
5.1	Deney Hayvanı Seçimi.....	75
5.2	Aparey Seçimi ve Tasarımı.....	77
5.3	Kemik Yoğunluğu Değerlendirme Yöntemi.....	79
5.4	Maksiller Genişletme ve Pekiştirme süresi.....	80
5.5	Üst Çene Genişletmesi Sonrası Stabilite.....	83
5.6	Trombosit Zengin Plazma.....	85
6	SONUÇLAR.....	99

7	KAYNAKLAR .....	100
8	ÖZGEÇMİŞ .....	120

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 2-1</b> Horizontal düzlemde üst çene genişletmesinin biyomekaniği. <sup>64</sup> .....	16
<b>Şekil 2-2</b> Kemiğin makroskopik ve mikroskopik yapısı <sup>125</sup> .....	24
<b>Şekil 3-1</b> Deneyde kullanılan genişletme apareyi (solda) ve pekiştirme apareyi (sağda).....	41
<b>Şekil 3-2</b> Tavşanların numaralandırılması. ....	42
<b>Şekil 3-3</b> Gingival papilla hizasından delik açılması.....	42
<b>Şekil 3-4</b> Genişletme apareyinin ağız dışından uygulanması. ....	43
<b>Şekil 3-5</b> 7 günlük genişletme sonrası dişlerin aralanması. ....	44
<b>Şekil 3-6</b> Genişletme sonrası kesici dişlere takılan pekiştirme apareyi. ....	44
<b>Şekil 3-7</b> Curasan TZP kiti. ....	46
<b>Şekil 3-8</b> Marjinal kulak veninden kan alınması. ....	47
<b>Şekil 3-9</b> Kırmızı renkli monovet santrifüj cihazına yerleştirilerek 2400 devir/dk'de 10 dakika boyunca santrifüj edilmesi işlemi.....	47
<b>Şekil 3-10</b> Santrifüj işleminin sonunda, sarı monovete çekilen kanın, monovetin üst bölgesinde sarı, alt bölgesinde kırmızı renkli iki kısma ayrışması.....	48
<b>Şekil 3-11</b> Santrifüj sonrası üstteki sarı renkli kısım sarı renkli monovete çekilmesi işlemi. ....	48
<b>Şekil 3-12</b> İkinci santrifüj sonrası üstte kalan TFP, mavi monovet içerisine alınarak sarı monovetten uzaklaştırılması.....	49
<b>Şekil 3-13</b> Sarı monovet içerisindeki TZP ise vorteks karıştırıcısında 20 sn boyunca karıştırılarak insülin enjektörüne alınması. ....	49
<b>Şekil 3-14</b> Tavşan midpalatal sütürü içerisine TZP enjeksiyonu.....	50
<b>Şekil 3-15</b> Tomografi görüntüleri alınırken deneklerin gantriye standart pozisyonda yerleştirilmesi.....	51
<b>Şekil 3-16</b> Genişletme sonrası sütür bölgesinde oluşan kemik dokusunun yoğunluğunun değerlendirilmesi.....	52
<b>Şekil 3-17</b> Genişletme sonrası üst kesici dişler arasındaki mesafenin değerlendirilmesi.....	52
<b>Şekil 4-1</b> T1 ve T2 dönemlerinde elde edilen genişletme miktarı. ....	59
<b>Şekil 4-2</b> T0, T1 ve T2 dönemlerinde gruplardaki kemik yoğunluğunu gösteren grafik.....	61
<b>Şekil 4-3</b> Kontrol grubundan elde edilen T0, T1 ve T2 dönemlerinde ÇKBT görüntüleri.....	63
<b>Şekil 4-4</b> Grup I' den elde edilen T0, T1 ve T2 dönemlerinde ÇKBT görüntüleri.....	63
<b>Şekil 4-5</b> Grup II' den elde edilen T0, T1 ve T2 dönemlerinde ÇKBT görüntüleri .....	64
<b>Şekil 4-6</b> Histokimyasal ve immünohistokimyasal verilerin grafiği.....	66
<b>Şekil 4-7</b> Kontrol grubunun T2 dönemine ait doku örneklerinin H&E boyalı kesitlerinin ışık mikroskop altında görüntüleri.....	69
<b>Şekil 4-8</b> Grup I' e ait doku örneklerinin T2 dönemindeki H&E boyalı kesitlerinin ışık mikroskop altında görüntüleri.....	70

<b>Şekil 4-9</b> Grup II'ye ait doku örneklerinin T2 dönemindeki H&E boyalı kesitlerinin ışık mikroskop altında görüntüleri.....	71
<b>Şekil 4-10</b> Kontrol grubuna ait deney hayvanlarından T2 döneminde elde edilen örneklerin, anti BMP-4 ve anti TGF- $\beta$ primer antikoruna ile indirekt İHK yöntemle boyanmış kesitlerinin ışık mikroskop altında görüntüleri.....	72
<b>Şekil 4-11</b> Grup I'e ait deney hayvanlarından T2 döneminde elde edilen örneklerin, anti BMP-4 ve anti TGF- $\beta$ primer antikoruna ile indirekt İHK yöntemle boyanmış ışık mikroskop altında görüntüleri.....	73
<b>Şekil 4-12</b> Grup II'ye ait deney hayvanlarından T2 döneminde elde edilen örneklerin, anti BMP-4 ve anti TGF- $\beta$ primer antikoruna ile indirekt İHK yöntemle boyanmış kesitlerin ışık mikroskop altında görüntüleri.....	74

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2-1 TZP içerisinde varlığı saptanmış başlıca büyüme faktörleri ve temel özellikleri. <sup>166</sup>	35
Çizelge 3-1 Parafin doku takip protokolü .....	53
Çizelge 3-2 Hematoksilen-Eozin boyama protokolü .....	54
Çizelge 3-3 İmmünohistokimya için kullanılan malzemeler .....	55
Çizelge 3-4 Avidin-Biyotin Peroksidaz yöntemi ile indirekt - immünohistokimya boyama.....	56
Çizelge 4-1 T1 ve T2 dönemlerinde ölçülen maksiller keserler arası genişletme miktarları.....	59
Çizelge 4-2 T0, T1 ve T2 dönemlerindeki kemik yoğunluğu değerleri (Hounsfield Unit) .....	61
Çizelge 4-3 İzlem zamanlarına göre kemik yoğunluklarındaki değişimler .....	62
Çizelge 4-4 Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal değerlendirme .....	66

## KISALTMALAR DİZİNİ

RME	Rapid Maksiller Ekspansiyon
SME	Slow Maksiller Ekspansiyon
PRP	Platelet Rich Plasma
TZP	Trombositten Zengin Plazma
TFP	Trombositten Fakir Plazma
İHK	İmmunhistokimyasal
TME	Temporomandibular Eklem
Ni-Ti	Nikel Titanyum
BMP	Bone Morphogenic Protein
IGF	Insulin-Like Growth Factor
TGF	Transforming Growth Factor
PDGF	Platelet-Derived Growth Factor
FGF	Fibroblast Growth Factor
HE	Hematoksilen & Eozin
PDL	Periodontal Ligament
OK	Osteoklast
OB	Osteoblast
OS	Osteosit
Kp	Kapiller
Fb	Fibroblast

# 1 GİRİŞ

Ortodontik maloklüzyonlar içerisinde sıklıkla karşılaşılan transversal yön problemlerinin tanı ve tedavileri, güncelliğini hiç yitirmeyen araştırma konusu olmuş, yapılan çalışmaların sonucunda üst çene genişletmesi ile ilgili pek çok yeni teknik geliştirilmiştir.

Üst çenedeki transversal yetersizlik, dişsel veya iskeletsel olabileceği gibi, her ikisinin kombinasyonu şeklinde de ortaya çıkabilmektedir.<sup>1</sup> Hızlı üst çene genişletmesi (RME) iskeletsel seviyede meydana gelen üst çene darlığının tedavisi amacıyla sıklıkla kullanılan bir ortodontik tedavi yöntemi olup, dişlere ve alveoler yapılara ortodontik diş hareketi limitlerini aşan kuvvetler uygulayarak, midpalatal sütürün açılması işlemidir.<sup>2</sup>

Dar olan üst çene, hızlı üst çene genişletmesi prosedürü ile 1 ila 4 hafta genişletilerek normale getirilmeye çalışılırken<sup>1</sup>, elde edilen yeni durumun kalıcılığının sağlanması ve oklüzyonun stabilizasyonu için, 3-6 ay boyunca hareketli ya da sabit ağızlarla pekiştirme yapılır.<sup>1,3</sup>

Genişletme ve pekiştirme süresinin uzun sürmesi hem hastalar hem de hekimler açısından RME'nin dezavantajı olarak sayılabilir. Bu açıdan değerlendirildiğinde neredeyse tedavi açısından hiçbir işlemin yapılmadığı, pasif bir dönem olan pekiştirme periyodunun kısaltılması hem hekimler hem de hastalar açısından oldukça avantajlı bir durum olacaktır. Ancak bu sürenin kısaltılması, genişletme sonrası oluşan nüks nedeniyle pek mümkün değildir. Hatta üst çene genişletmesi sonrası nüks eğiliminin, uzun yıllar boyunca devam ettiği bilinen bir durumdur.<sup>4,5</sup> Üst çene genişletmesi sonrası oluşan nüks oranının değişik uygulamalarla azaltılması, daha stabil sonuçların daha erken elde edilmesi yönüyle önemli olduğundan uzun yıllardan beri gündemdedir. Bu amaçla bazı araştırmacılar midpalatal sütür içerisine transforming growth factor-H1 enjeksiyonu yapmış<sup>6</sup>, düşük doz lazer uygulayarak biyostimülasyon sağlamaya çalışmış<sup>7</sup>, sistemik olarak kalsitonin uygulamış<sup>8</sup>, lokal olarak vitamin D analogu ED-71 uygulamış<sup>9</sup> ve E vitamini enjeksiyonu<sup>10</sup> ile midpalatal sütür içerisinde kemikleşmeyi artırıp, hızlandırmaya çalışmışlardır.

Trombositten zengin plazma, bir dizi santrifüj işlemiyle hastanın kendi kanından otojen olarak elde edilen zengin trombosit konsantrasyonuna sahip plazmadır.<sup>11</sup> Sentetik olmayan, doğal bir rejenerasyon yöntemidir. Toksik değildir, immün reaksiyonlara yol



açmaz ve doğal yara iyileşme sürecini hızlandırdığı düşünülmektedir.<sup>12,13</sup> TZP uygulamasında amaç trombosit sayısının bölgede artırılması dolayısıyla trombosit kaynaklı büyüme faktörlerinin de yara bölgesindeki lokal konsantrasyonunun artmasının sağlanmasıdır.<sup>14</sup> Böylece yara iyileşmesi ve kemik rejenerasyonunu hızlandırmak ve elde edilecek yeni kemiğin kalite ve kantitesini artırmak hedeflenir.<sup>15</sup>

Çalışmamızın amacı da; trombositten zengin plazmanın tavşanlarda midpalatal sütür içerisinde hızlı üst çene genişletmesi sırasında ve sonrasında kemik formasyonu üzerine olan etkilerini araştırmaktır.

## 2 GENEL BİLGİLER

### 2.1 Maloklüzyon

Maloklüzyon, üst ve alt çene kapanış halinde iken dişler arasındaki normal oklüzal ilişkinin kaybolması ile beliren bozukluk olarak tanımlanabilir. Ortodontide maloklüzyon denilince sadece dişsel bozukluklar değil aynı zamanda çeneler arası iskeletsel uyumsuzluklar da anlaşılmaktadır. Çeneler arası maloklüzyonlar vertikal, sagittal ve transversal yönde olabilir.

Kraniofasiyal bölgede görülebilecek en yaygın iskeletsel problemlerden birisinin, üst çenenin transversal yöndeki yetersizliği olduğu kabul edilmektedir.<sup>3</sup> Transversal yetersizlik iskeletsel, dişsel veya her ikisinin kombinasyonu şeklinde olabilir.<sup>1</sup> Bu maloklüzyona sahip hastalarda genellikle tek veya çift taraflı posterior çapraz kapanış oluşmaktadır. Marshall ve ark.<sup>16</sup> posterior çapraz kapanışı; üst çene posterior dişlerin bukkal tüberküllerinin karşıt alt çene dişlerinin lingual tüberkülleriyle teması olarak tanımlanmıştır. Nadir olarak posterior çapraz kapanış oluşmaksızın üst çene de darlıkla karakterize baş başa kapanış ilişkisi veya normal vestibulo-lingual oklüzal ilişki de görülebilmektedir.

Çeneler arasında görülen transversal boyuttaki uyumsuzluk, genel veya lokal faktörlere bağlı olarak oluşabilmektedir. Kalıtım, nazal obstrüksiyon, parmak emme gibi kötü alışkanlıklar, dil itme gibi anormal fonksiyonlar, sistemik ve konjenital hastalıklar genel faktörler içerisinde yer alırken, erken temaslar, persistan süt dişi veya erken süt dişi çekimine bağlı olarak oluşan yer kayıplarından dolayı daimi dişin ektopik pozisyonda sürmesi vb. durumlar lokal faktörler içerisinde değerlendirilebilir.<sup>17,18</sup>

Transversal yöndeki maloklüzyonların sık görülen bir varyasyonu olan üst çenedeki darlık ve bununla birlikte görülen posterior çapraz kapanış, ortodontik açıdan önemli bir problemdir. Bu tip maloklüzyonlarda üst çene bazal kaidesi ve dişsel yapılarındaki uyumsuzluk ortodontik veya ortopedik yöntemler ile tedavi edilebilir.

Üst çene genişletilmesinde genel olarak iki farklı yöntem dikkati çekmektedir. Bunlar yavaş üst çene genişletmesi (slow maxiller expansion, SME) ve midpalatal sütürün ortopedik kuvvetlerle hızlıca açıldığı hızlı üst çene genişletmesi (rapid maxiller expansion, RME) yöntemleridir. SME genellikle süt ve karma dişlenme döneminde uygulanmakta ve daha çok dentoalveoler yapılarda genişleme sağlamaktadır. Her yaş

grubunda uygulanabilen RME yönteminde ise dişsel genişlemeden çok ortopedik etki hedeflenmektedir.

## 2.2 Hızlı Üst Çene Genişletmesi

### 2.2.1 Tarihçe

Hipokrat binlerce yıl önce (M.Ö. 460-377) üst çene darlığından söz etmesede bilimsel ve teknik nedenler yüzünden yakın sayılabilecek bir zamana kadar etkili bir tedavi mümkün olamamıştır.<sup>19</sup>

Pierre Fauchard'ın 1723 yılında ekspansiyon arkını icadından sonra Bourdet (1757), Fox (1803), Delabarre (1819), Allen (1850), White (1859) ve Westcott (1859) gibi bazı araştırmacılar da bir takım basit yavaş üst çene genişletmesi prosedürlerini uygulamışlardır.

Üst dental arkta genişleme sağlandığını belirten ilk çalışma Emerson H. Angell<sup>20</sup> tarafından 1860 yılında Dental Cosmos'ta yayınlanmıştır. Tasarımını gerçekleştirdiği apacey 14 yıl 6 aylık bir kız çocuğunda uygulanmış, apaceydeki vida 2 hafta boyunca günde 2 defa çevrilmiş ve 0.25" ark genişlemesi elde edilmiştir. Araştırmacı üst orta kesici dişler arasında meydana gelen diastemanın genişletme esnasında midpalatal sütürün yırtılması ile oluştuğunu savunmuştur.<sup>21</sup> Bu durum, o dönemdeki ortodontistler tarafından deneysel bir çalışma olarak algılanmış ve Angell bu konuda birçok itiraz ve tenkit ile karşılaşmıştır. Tartışmalar, genişletmenin röntgenler ile kanıtlanmasına kadar devam etmiştir.

1869 yılında Coffin<sup>22</sup>, ortasında omega ( $\Omega$ ) bükümlü bir tel bulunan ve maksiller arkta genişletme yapan bir aygıt geliştirmiştir.

1900'lü yıllara gelindiğinde değişik formlarda, genişletme plakları tanıtılmıştır. Fakat bu genişletme apaceyleri Angell'in sabit apaceylerinin yaygın kullanımı ile yarışamamış ve bu apaceylere olan ilgi giderek azalmıştır.<sup>23</sup>

Brown 1903 yılında üst çenenin genişletilmesiyle nazal septumun ve nazal pasajların etkilendiğini belirtmiş ancak teknik yetersizlikten dolayı bu görüşü radyografik olarak destekleyememiştir. Nihayet, 1910 yılına gelindiğinde Landsberger midpalatal sütürdeki açılımı ilk kez oklüzal filmler yardımıyla kanıtlamayı başarmıştır.

1912 yılında Puller ise, üst çenenin ve nazal pasaj darlıklarının hızlı üst çene genişletilmesi yöntemi ile tedavi edilmesinden bahsetmiştir.<sup>23</sup>

Literatür incelendiğinde 1920 ile 1960 yılları arasındaki dönemin üst çene genişletmesi açısından nispeten durgun geçtiği görülmektedir.

1956 yılında Prof. Dr. Gustav Korkhaus, İllinois Üniversitesinde vermiş olduğu seminerde, palatal genişletme yapılmış hastaları, sefalometrik kayıtlarıyla birlikte sunmuştur. Bundan etkilenen Andrew J. Haas yaptığı hayvan çalışmalarının sonucunda, prosedürün görülebildiği kadarıyla ağrısız olduğunu, sütürün çok fazla direnç göstermeden 2 haftada 15 mm ayrıldığını, alt dişlerde de genişleme gerçekleştiğini ve prosedürün internasal genişlemeye de sebep olduğunu açıklamıştır.<sup>24</sup>

Deneysel çalışmasının bulgularından cesaret alan Haas'ın, 1961<sup>21</sup> ve 1965<sup>24</sup> yıllarında insanlar üzerinde yaptığı klinik çalışmalar, hızlı üst çene genişletmesi prosedürünün yeniden önem kazanmasına sebep olmuştur.

Haas<sup>21</sup> 1961 yılında, diş ve doku destekli apareyini domuzlar üzerinde yaptığı bir histolojik çalışma ile tanıtmıştır. Kendi adını verdiği apareyin akrilik plağı nedeniyle dişlerde daha az devrilme oluşturduğunu ve üst çenede gövdesel hareket meydana geldiğini buna bağlı olarak da burun tabanının aşağı indiğini ve nefes almanın rahatladığını iddia etmiştir.

1968 yılında Biederman<sup>25</sup> ise daha hijyenik olacağını iddia ettiği sadece diş destekli “Hyrax” apareyinden bahsetmiştir. Vida yardımıyla kuvvet uygulayan bu aparey birinci premolar ve birinci molar dişlerinden destek almaktadır.

Cohen ve Silverman<sup>26</sup> 1973 yılında tanıttıkları apareylerinde, bant yerine dişlerin bukkal, lingual ve tercihen oklüzal yüzeylerinin de akrilik ile kaplandığını bu şekilde ağza yerleştirmenin daha kolay olacağını iddia etmişlerdir.

1975 yılında Lines<sup>27</sup>, yetişkin bireylerde hızlı üst çene genişletmesi yaparken yüz kemikleri ve bunların birbirleriyle olan ilişkilerinden kaynaklanan dirençleri azaltmak gerektiğini düşünmüş ve ilk kez maksiller osteotomi fikrini öne sürmüştür. Araştırmacı maksiller osteotomi yapılan bireylerde RME sonrasında daha stabil sonuçlar elde edilebileceğini iddia etmiştir.

Üst çenede hızlı genişletme yapmak amacıyla uygulanan ağır kuvvetlerin yerine daha hafif ve sürekli kuvvetler uygulayarak dişsel ve kısmen de olsa iskeletsel genişletme sağlayabileceği iddia edilen apareyler de tanıtılmıştır. Ricketts<sup>28,29</sup>, quadhelix apareyini kullanarak üst çenede daha yavaş bir genişletme elde etmesine karşın bazal kemiğe de etki edilebildiğini bununla birlikte azı dişlerinde rotasyon kontrolünün sağlanabileceğinden söz etmiştir.

Cotton<sup>30</sup> 1978 yılında “Modifiye Minne” apareyini tanıtarak üst çene genişletmesi için hafif kuvvet uygulanmasını ve vidanın daha az aktivasyon prosedürüyle çevrilmesini önermiştir.

1980 yılında Subtelny<sup>31</sup>, dik yön boyutlarının artmış olduğu vakalarda RME apareyine ısırma düzlemi eklemiş, bu şekilde dişlerin daha az devrilmeye uğradığını ve uygulanan kuvvetin diş kökleri vasıtasıyla nazomaksiller komplekse daha iyi iletilindiğini belirtmiştir.

Arndt<sup>32</sup> 1993 yılında, azı dişlerin rotasyonlarının çözülmesine ve distalizasyonuna da katkıda bulunan, vücut ısısı ile kendiliğinden aktive olan nikel titanyumdan yapılmış “Palatal Genişletme Apareyi”ni tanıtmıştır.

1994 yılında Darendeliler ve ark.<sup>33</sup> 250-500 gr manyetik kuvvet uygulayarak üst çene genişletmesi yaptıkları 6 hastaya ait çalışmayı rapor etmişlerdir.

İlk kez 1999 yılında Mommaerts<sup>34</sup>, distraksiyon osteogenezisindeki gelişmeler sonucunda “Transpalatal Distraktör” kullanarak üst çene darlığının giderilebileceğinden bahsetmiştir.

2004 yılında İşeri ve Özsoy<sup>35</sup> vida çevirme programı çok daha yavaş ve kademeli olan “Yarı Hızlı Üst Çene Genişletmesi” olarak adlandırdıkları bir yöntemden bahsetmişlerdir.

Literatür incelendiğinde günümüze gelene kadar birçok farklı ve modifiye edilmiş aparey tasarımları kullanıldığını görmekteyiz<sup>19-22,25-35</sup>. Günümüzde, bugüne kadar yapılan araştırmalar ve elde edilen sonuçlar ışığında farklı vaka tiplerine göre çeşitli tedavi planları izlenebilmektedir.

### 2.2.2 Maksiller Darlığın Etiyolojisi

Maksiller darlığın etiyolojisinde farklı sınıflandırmalar mevcuttur. Posterior çapraz kapanış genetik veya çevresel etkenlerle oluşabilir.<sup>1,16</sup> Ayrıca alışkanlıklar da etiyojik faktörler arasında sayılabilir.<sup>16</sup>

Harvold ve ark.<sup>36</sup> ile Graber'e<sup>37</sup> göre, daralmış üst çene dental arklarının birçoğu anormal bir fonksiyonun sonucunda oluşmaktadır.

Harvold ve ark.<sup>36,38</sup> nazal hava yolu tıkanıklığı oluşturulan ve deneysel olarak ağız solunumu yapmaları sağlanan rhesus maymunlarında, kontrollere kıyasla üst çenenin küçüldüğünü<sup>36</sup> ve kanin dişlerinin çapraz kapanışta sürdüğünü<sup>38</sup> gözlemlemişlerdir.

Behlfelt ve ark.<sup>39</sup>, hipertrofik tonsillere sahip çocuklarda orofarinksin tıkanmasıyla gelişen openbite postürü sonucunda dil ile hyoid kemiğin aşağıda konumlandığını, bu durumun dentisyonda değişimler oluşturabildiğini ve buna bağlı olarak üst dişsel arkın daha dar olduğunu rapor etmişlerdir.

Çapraz kapanışın etiyojik faktörleri arasında uzun süre ağızda kalmış süt dişleri, çapraşıklık, süt dişi erken kaybı, damak yarığı (dudak yarığı varlığında veya yokluğunda), başparmak emme ve ark yetersizlikleri sayılabilir.<sup>40</sup>

Persiste süt dişleri alttan gelen daimi dişin çapraz kapanışta sürmesine sebep olabilir. Ayrıca süt ikinci molar dişin erken kaybı sonucu daimi birinci molar dişin meziale hareketi, daimi ikinci molar dişin palato-pozisyonda sürmesine sebep olabilir.<sup>41</sup>

Dudak-damak yarıklı bireylerde, birçok vakada çevre bukkal kas yapılarının lateral maksiller segmentleri üst çenenin lingualine doğru harekete zorlaması, maksiller darlığa ve çapraz kapanışa sebep olmaktadır.<sup>42</sup>

Temporomadibular eklemin (TME) travma veya patolojik bir durumdan etkilenmesiyle bir tarafta alt çenenin büyümesinin sınırlanması sonucu yüzde asimetri oluşabilir.<sup>41</sup>

Daha çok süt ve karışık dişlenme döneminde görülen fonksiyonel yan çapraz kapanış hastalarında, istirahat halinde iken alt ve üst çene arkları arasında transversal yönde herhangi uyumsuzluk yoktur. Fakat alt çene istirahat konumundan maksimum interküspal pozisyona geçerken primer kontaklara bağlı olarak yana doğru kaymakta ve posteriorda tek taraflı yan çapraz kapanış oluşmaktadır.<sup>43</sup>

Uzun süre emzik emen bireylerde<sup>44</sup> ve başparmak emme alışkanlığı devam eden çocuklarda posterior çapraz kapanış oluşabilir.<sup>45,46</sup> Emzik ya da parmak ağza yerleştirilince dil aşağıda konumlanır. Emme esnasında çalışan kaslar posterior dişlerin bukkal yüzeylerine basınç yaparken dil aşağıda konumlandığı için bu basınç karşılıksız kalır ve üst çenede darlık meydana gelir.<sup>45,46</sup>

### 2.2.3 Üst Çene Genişletmesinin Endikasyonları

Birçok araştırmacı ve klinisyen üst çene genişletmesi endikasyonları konusunda hem fikir olmasına rağmen, işlem ilgili karşıt görüşler de bulunmaktadır. Genel olarak araştırmacıların fikir birliğine varmış oldukları görüşler şu şekilde özetlenebilir:

Üst çene genişletmesinin endikasyonlarının en önemlisi üst çenenin dişsel ve iskeletsel seviyede darlığına bağlı olarak oluşan tek veya çift taraflı çapraz kapanış vakalarıdır.<sup>1,3,19,21,42,47,48</sup>

Bishara ve Staley'e<sup>1</sup> göre; transversal yönde alt ve üst birinci molar ve premolar genişlikleri arasında 4 mm veya daha fazla sapma mevcutsa, çapraz kapanıştaki diş sayısı fazla ise, üst molar ve premolar dişlerin başlangıç angulasyonları artmış ise hızlı üst çene genişletmesi tercih edilmelidir.

Dudak-damak yarıklarındaki maksiller kollapsı gidermek için hızlı üst çene genişletmesi önerilmiştir.<sup>42</sup>

Süt ve karışık dişlenme başlangıç dönemindeki hastalarda tek taraflı fonksiyonel posterior çapraz kapanışın, ilerleyen yaşlarda morfolojik çapraz kapanışa dönüşmemesi için erken dönemde üst çene genişletmesi önerilmiştir.<sup>49-51</sup>

Sınıf II vakalarda kompensatif bir çene darlığı mevcut ise maksiller genişletmenin yapılmasından sonra bir pekiştirme plağı yerleştirilmesi ile Sınıf II anomalisinin sıklıkla spontane olarak düzelebileceği bildirilmiştir.<sup>3,47,48</sup>

Hızlı üst çene genişletmesinin, sınıf III maloklüzyonların ortopedik tedavisinde sirkummaksiller sütürel sistemi hareketlendirerek, üst çenenin cevabını kolaylaştıracağı ve sınıf III maloklüzyonun düzelmesine pozitif katkı sağlayacağını bildiren araştırmacılar vardır.<sup>21,42,47,52</sup>

Posterior dişlerin aksiyal eğimlerinin düzeltilmesi ve Wilson düzleminin seviyelenmesi amacıyla da üst çene genişletmesi önerilmektedir.<sup>47</sup>

Nazal hava yolu tıkanıklığına bağlı üst çene darlığı olan hastalarda, hızlı üst çene genişletmesi yapılmasının burundan nefes almayı kolaylaştıracağı bildirilmiştir.<sup>19,53-56</sup>

Fonksiyonel çene ortopedisi veya ortognatik cerrahiye hazırlık amacıyla hızlı üst çene genişletmesi uygulanabilir.<sup>48</sup>

McNamara ve Brudon<sup>47,48</sup> çekimli veya çekimsiz olmasına bakılmaksızın, üst çenesi dar olan bireylerde gülümseme esnasında ağız köşelerinde oluşan karanlık alanların RME tedavisi ile düzeltilebileceğini, üst kaninler arası mesafenin artırılarak, koyu bölgelerin azaltılması veya tamamen yok edilmesi ile estetik bir görüntü elde edilebileceği bildirmişlerdir.

Asimetrik kondiller pozisyonu olan hastalarda fonksiyonel kaymaları ve TME disfonksiyonlarını elimine etmek, posterior dişleri normal oklüzyona yönlendirmek ve asimetrik kondiller pozisyonu düzeltmek için Bishara ve Staley<sup>1</sup>, RME yapılmasını önermiştir.

#### **2.2.4 Hızlı Üst Çene Genişletmesinin Kontrendikasyonları**

Kooperasyon bozukluğu olan bireylerde, tek dişin çapraz kapanışta olduğu durumlarda, anteroposterior ve vertikal yönde şiddetli iskeletsel sapması olan erişkin hastalarda, aşırı iskeletsel probleme sahip ve ortognatik cerrahi ile tedavi edilmesi gereken hastalarda, anterior açık kapanış, aşırı eğimli mandibuler düzlem açısı ve konveks profili olan bireylerde RME tedavisi uygun değildir.<sup>1</sup>

#### **2.2.5 Hızlı Üst Çene Genişletmesinde Kullanılan Apareyler**

- **Haas Apareyi:** Dr. Andrew Haas tarafından 1961 yılında tanıtılan bu aparey akrilik plak içinden çıkan kalın tellerin, üst birinci premolar ve molar dişlere yerleştirilen bantlara lehimlenmesiyle yapılmaktadır. Genişletme vidası akrilik plak içerisinde ve apareyin ortasında yer almaktadır. Apareyin akrilik desteği sayesinde kuvveti bir bütün olarak üst çenenin iskeletsel ve dentoalveoler yapılarına uyguladığını bildiren araştırmacı, bu şekilde daha fazla paralel genişletme sağladığını ve elde edilen ortopedik etkinin ortodontik etkiden daha fazla olduğunu öne sürmüştür.<sup>21,57</sup> Ancak, akrilik plağın oluşan basınçla birlikte yumuşak dokularda irritasyona sebep olduğunu ve yeterince hijyenik olmadığını rapor eden araştırmacılar vardır.<sup>58</sup>



- **Cap Splint Apareyi:** Timms<sup>19</sup> tarafından 1981 yılında tanıtılan bu aparey üst santral dişler dışında tüm dişlerin oklüzal ve insizal kenarlarını örten krom-kobalt döküm plak ve bir vidadan oluşur. Bu aparey zamanla modifiye edilerek döküm yerine akrilik plaktan yapılmaya başlanmıştır.
- **Rijit Akrilik Bonded Maksiller Genişletme Apareyi:** Hekim açısından klinik yapımı ve hastaya uygulanması kolay olan bu aparey Memikoğlu ve İşeri<sup>59</sup> tarafından literatüre kazandırılmıştır. Posterior dişlerin bukkal, oklüzal ve palatinal yüzleri ile anterior dişlerin sadece palatinal yüzlerini ve üst çenenin palatinal kısmını tamamen saran rijit akrilikten oluşan doku destekli bir apareydir. Genişletme vidası midpalatal sütür doğrultusunda premolarlar arasına yerleştirilen apareyin, rijit bir yapıya sahip olmasından dolayı dişlerde daha az devrilme ve daha fazla iskeletsel genişletme sağladığı düşünülmüş, buna bağlı olarak bu apareyle daha kalıcı sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir.<sup>35,59,60</sup>
- **Hyrax:** Biederman<sup>25</sup> tarafından “Hygienic Rapid Expander” olarak tanıtılan bu apareyin Haas apareyine göre daha hijyenik olduğu bildirilmiştir. Tamamen metalden meydana gelen aparey dişlere bantlar vasıtasıyla yapıştırılmaktadır. Metal yapının temizlenmesi kolay olduğu için daha az mukoza irritasyonu yaptığı düşünülmektedir. Ayrıca konuşmaya minimal seviyede engel olan Hyrax apareyi klinisyenler tarafından oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır.<sup>1,61-65</sup>
- **Hyrax Modifikasyonları:** Hyrax apareyinin posterior dişlerin oklüzal yüzeyleri veya buna ek olarak diğer yüzeylerine akrilik eklenerek yapılan modifikasyonları geliştirilmiştir. Bu akrilik desteklerin eklenmesinin vertikal yön kontrolü başta olmak üzere bir takım avantajları olduğu bildirilmiştir.<sup>66-69</sup>
- **Hafızalı vidalar:** Devamlı kuvvet uygulamak için vida haznesinde nikel-titanyum (Ni-Ti) açık coil springler bulunduran aparey Wichelhaus ve ark.<sup>70</sup> tarafından “Ni-Ti Hızlı Maksiller Genişletme Vidası” olarak literatüre kazandırılmıştır. Araştırmacılar, vidanın günde 6 defa aktivasyonu ile sürekli olarak 1,225-1,425 g kuvvet uyguladığını ve bunun da sütürün açılması için yeterli bir kuvvet olduğunu belirtmişlerdir.<sup>70</sup>

Bu apareylerin dışında 1996 yılında Darendeliler ve Lorenzon,<sup>33</sup> “Lorenzon-Darendeliler Self Expander (LDSE)” adını verdikleri apareyi tanıtmışlardır. Apareyin ortasındaki süperelastik yay tam olarak sıkıştırıldığında 800 g kuvvet uygulayabilmektedir. Bununla birlikte Mommaerts<sup>34</sup> 1999 yılında, üst çenenin yan

duvarlarında kemik üzerine sabitlenen, “Transpalatal Distractor” kullanarak üst çene genişletmesi yapmıştır.

### **2.2.6 Vida Çevirme Programları**

Literatürde bir takım farklı uygulamalar olmasına rağmen hızlı üst çene genişletmesinde, genel olarak vidanın sabah ve akşam olmak üzere günde 2 çeyrek tur çevrilmesi önerilmektedir.<sup>2,21,54,56,59,60,62,65-67,71,72</sup>

Genişletme için kullanılan vidanın her 1/4 tur aktivasyonunda yaş, genişleme miktarı gibi faktörlere bağlı olarak 0,9-4,5 kg kuvvet oluşmaktadır.<sup>1,21,24,52,53,57,71</sup> Zimmering ve Isaacson<sup>73</sup> RME apeareleriyle 7,7- 15,8 kg arasındaki transversal kuvvetin destek dişlere ve dokulara iletildiğini belirtmiştir. RME’de genişleme günlük tur sayısına bağlı olarak değişmekle birlikte günde 0,3-0,5 mm kadardır ve ortalama 2-4 haftada tamamlanmaktadır.<sup>42,73</sup>

Genç bireylerde ilk 4-5 gün, günde 2 çeyrek tur, RME tedavisinin kalan günlerinde günde 1 çeyrek tur aktivasyon öneren Zimmering ve Isaacson<sup>73</sup>, erişkin bireylerde ise ilk iki gün 2, sonraki 5-7 gün 1, takip eden günlerde de 2 günde 1 çeyrek tur aktivasyon önermişlerdir.

Bazı araştırmacılar<sup>69</sup> vida çevirme protokolünde sütünel açılma oluncaya kadar günde 2 çeyrek tur ve sütünel açılma meydana geldikten sonra günde 1 çeyrek tur şeklinde aktivasyon önerirken, sütünel açılma oluşuncaya kadar günde 3 çeyrek tur ve sütünel açılma sonrasında günde 2 çeyrek tur aktivasyon öneren klinisyenler<sup>58,74</sup> de bulunmaktadır. Diğer bazı araştırmacılar ise vidanın ilk gün, günde 4 çeyrek tur, takip eden günlerde günde 1 çeyrek tur şeklinde çevrilmesini önermişlerdir.<sup>75</sup>

### **2.2.7 Üst Çene Genişletme Miktarının Belirlenmesi**

“Howes Model Analizi” gerekli üst çene genişletmesi miktarının belirlenmesinde kullanılan en yaygın yöntemdir.<sup>76</sup> Bu analizde diş kavsi ile apikal kemik kaidesi arasındaki optimal ilişkiler rakamlar verilerek kantitatif olarak belirlenmektedir. Howes<sup>76</sup>, normal oklüzyon gösteren bireylerde apikal kemik kaidesinin genişliğinin, premolarlar arası mesafeden büyük veya eşit olması gerektiğini belirtmiştir. Araştırmacı bu duruma göre, apikal kemik kaidesinin dar ve dişlerin bukkale eğimlenmiş olduğu durumlarda hızlı üst çene genişletmesinin yapılması gerektiğini, apikal kemik

kaidesinin geniş ve dişlerin palatinal eğimlenmiş olduğu durumlarda yavaş üst çene genişletmesi yani dişsel genişletme yapılmasının uygun olacağını belirtmiştir.

Genişletme ihtiyacının belirlenmesinde kullanılan bir diğer yöntem Staley ve arkadaşları<sup>77</sup> tarafından literatüre kazandırılmıştır. Bu yöntemde kullanılan ölçümler:

- Maksiller 1.molar dişlerin meziobukkal tüberkülleri arası genişlik
- Mandibuler 1.molar dişlerin median sulkusunun gingivaya en yakın veya orta kısımları arasındaki mesafe
- Maksiller mesafeden mandibuler mesafenin çıkarılmasıyla bulunan sonuç

Staley ve ark<sup>77</sup>, normal oklüzyonlu bireylerde ortalama mesafe farkının, erkekler için +1,6 mm, kızlar için +1,2 mm olduğunu ve bu farka göre genişletme miktarı konusunda karar verilebileceğini belirtmişlerdir.

Normal oklüzyona sahip bireylerin transpalatal genişlik ortalamasını 36-38 mm olarak belirten McNamara ve Brudon<sup>47</sup>, bu genişliğin 30-32 mm arası veya daha az olduğu bireylerde, başka bir deyişle normalden 4-6 mm veya daha fazla dar olduğu durumlarda, RME uygulanmasını önermiştir. Ayrıca molarların 2-4 mm daha fazla genişletilmesinin, genişletme sonrası beklenen nüks açısından gerekli olduğunu vurgulayan araştırmacılar da vardır.<sup>78,79</sup>

### **2.2.8 Hızlı Üst Çene Genişletmesinde Zamanlama**

Björk ve Skieller,<sup>80</sup> yaptıkları implant çalışmasında üst çenede transversal ve sagittal yöndeki sütünel büyümenin 17 yaşında tamamlandığını bununla birlikte büyüme atılımının maksimum olduğu dönemde, sütünel büyümenin de maksimum seviyede olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca 4-20 yaşları arasında üst çenede oluşan transversal yöndeki büyümenin ortalama 6,5 mm olduğunu göstermişlerdir.

Melsen<sup>81</sup>, midpalatal sütünün morfolojisini ve prenatal ve postnatal gelişimini, otopsi materyalleri üzerinde çalışarak göstermiş, bu çalışmalar RME ile hasta yaşı ilişkisinin anlaşılmasında önemli bir rol oynamıştır. Araştırmacı, infantil dönemde sütünün çok geniş olduğunu, vomer ile üst çenenin sağ ve sol yarılarının birleşerek Y şeklinde bir midpalatal sütün oluşturduğunu, jüvenil dönemde sütünün daha dalgalı bir yapı izlediğini, adolesan dönemde ise oldukça girintili çıkıntılı bir hal aldığını göstermiştir. Melsen<sup>81</sup> ayrıca, midpalatal sütünün transversal yönde büyümesinin kızlarda 16, erkeklerde 18 yaşına kadar devam ettiğini belirtmiştir.

Persson ve Thilander<sup>82</sup> kazalarda aniden hayatını kaybeden 15-35 yaş arasındaki bireylerde midpalatal sütürün kapanmasını incelemişlerdir. Araştırmacılar, 15 yaşındaki bir kızda intermaksiller sütürün posterior kısmında kaynaşma varken, 27 yaşındaki bir bayanın sütür kenarlarında hiç bir kaynaşma gözlenmediğini belirterek, incelenen bireyler arasında çok fazla değişkenlik olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte, RME'nin 25 yaşına kadar denenebileceğini, çünkü bu yaşa kadar %5'lik ihtimal ile midpalatal sütürün tam olarak kapanmadığını söylemektedirler.

Birçok araştırmacı çapraz kapanışın tedavi edilmediği olgularda transversal yöndeki büyümenin, sagittal ve vertikal yöndeki büyümeye göre daha erken tamamlandığını bildirmiştir.<sup>48,61,83,84</sup>

Wertz ve Dreksin,<sup>85</sup> 12 yaşın altındaki çocuklarda daha fazla ve daha stabil ortopedik değişimlerin elde edildiğini rapor etmişlerdir. Baccetti ve ark.<sup>86</sup> ise pubertal büyüme atılımı tepe noktaya erişmeden önce yapılan RME tedavisinin, iskeletsel seviyede daha belirgin transversal kraniofasial değişimler meydana getirdiğini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar hızlı üst çene genişletmesinin büyüme atılımından sonra yapılması durumunda üst çenenin çevre yüz kemikleri ile artikülasyonlarında rijiditenin artacağını ve ortopedik etkinin azalacağını dolayısıyla iskeletsel etkiden çok dişsel etki elde edileceğini belirtmişlerdir.<sup>71,86</sup>

Bishara ve Staley<sup>1</sup> optimal genişletme zamanının 13-15 yaş öncesi olduğunu, yaşı daha büyük hastalarda da genişletme yapılabileceğini fakat sonuçların kalıcı olmayacağını ve tahmin edilemez olacağını belirtmiştir. Alpern ve Yurosko<sup>87</sup> bu yaş sınırını kızlarda 18 erkeklerde 21 olarak tanımlamıştır. Bazı araştırmacılar erişkin bireylerde genişletme aparatlarının etkisinin iskeletsel etkiden çok dentoalveoler etki olarak ortaya çıkacağını<sup>88</sup> dolayısıyla üst çenenin yan duvarlarında ve midpalatal sütürde yapılacak osteotomiler ile hızlı üst çene genişletmesi yapılmasının daha uygun olacağını bildirmişlerdir.<sup>19</sup>

McDonald ve Avery<sup>84</sup> çenenin bir tarafa kaymasıyla karakterize erken temasa bağlı fonksiyonel çapraz kapanışların erken dönemde tedavi edilmediği takdirde iskeletsel bir probleme dönüşeceğini belirtmişlerdir.

Posterior çapraz kapanışların üst çene genişletmesi ile erken dönemde düzeltilmesi; sürmekte olan dişleri daha normal bir pozisyona doğru yönlendirdiği,

erken oklüzal temasları elimine ederek fonksiyonel problemleri azalttığı ve büyüme periyodu sırasında sağlanan dişsel ve iskeletsel düzelme ile tedavi süresini ve zorluklarını azalttığı için avantaj sağlamaktadır.<sup>89</sup>

Birçok araştırmacı, pubertal büyüme sonrası midpalatal sütürdeki ayrılmanın zorlaşması nedeniyle hızlı üst çene genişletmesinin pubertal büyüme öncesi veya sırasında yapılmasını tavsiye etmektedir. Bu dönemlerde iskeletsel ve dişsel etkiler daha kolay elde edilmekte ve daha az nüks görülmektedir.<sup>1,2,24,52,53,57,64,71,89-91</sup>

Sonuç olarak RME hem genç hem erişkin bireylerde uygulanabilmektedir ancak yaşın artması ile iskelet yapıların densitesi artmakta ve genişletmenin stabilitesi zayıflamaktadır.<sup>19,92</sup> Dikkat edilmesi gereken diğer bir noktada okul öncesi dönemdeki çocuklarda ortopedik kuvvetler uygulayarak yapılan hızlı üst çene genişletmesinin çeşitli yüz yapılarında distorsiyon ve burunda deviasyon gibi istenmeyen değişikliklere yol açabileceği ihtimalidir.<sup>93</sup>

## **2.2.9 Hızlı Üst Çene Genişletmesi ile Dentofasiyal Yapılarda Oluşan Değişiklikler**

### **2.2.9.1 Maksiller Komplekse Etkisi**

Maksiller kemik, RME ile ikiye ayrıldıktan sonra frontal düzlemde hareketine paralel olarak devam edememekte, hareket daha çok rotasyon ve bukkale doğru devrilme şeklinde olmaktadır. Ayrılma, tabanı kesici dişler, tepesi nazal kavite olan bir üçgen şeklinde izlenmektedir. Rotasyon merkezi frontomaksiller sütür bölgesine yakın olan bu açılmada en fazla lateral yönde hareket sırasıyla dişler, alveolar bölge, maksiller bölgede oluşmaktadır.<sup>2,37,55,64,71,94</sup>

Horizontal düzlemde, midpalatal sütürün paralel olarak ayrılmasına karşı posteriorda bazı bölgeler direnç gösterir. Bu bölgeler, zigomatik ark ve sfenoid kemiğin korpusudur. Bu direnç bölgeleri sebebiyle oluşan etki, butressing etkisi<sup>95</sup> olarak isimlendirilir (Şekil 2-1). Bu etki sebebiyle de, RME ile A noktası 1-2 mm anteriora hareket eder.<sup>67</sup>

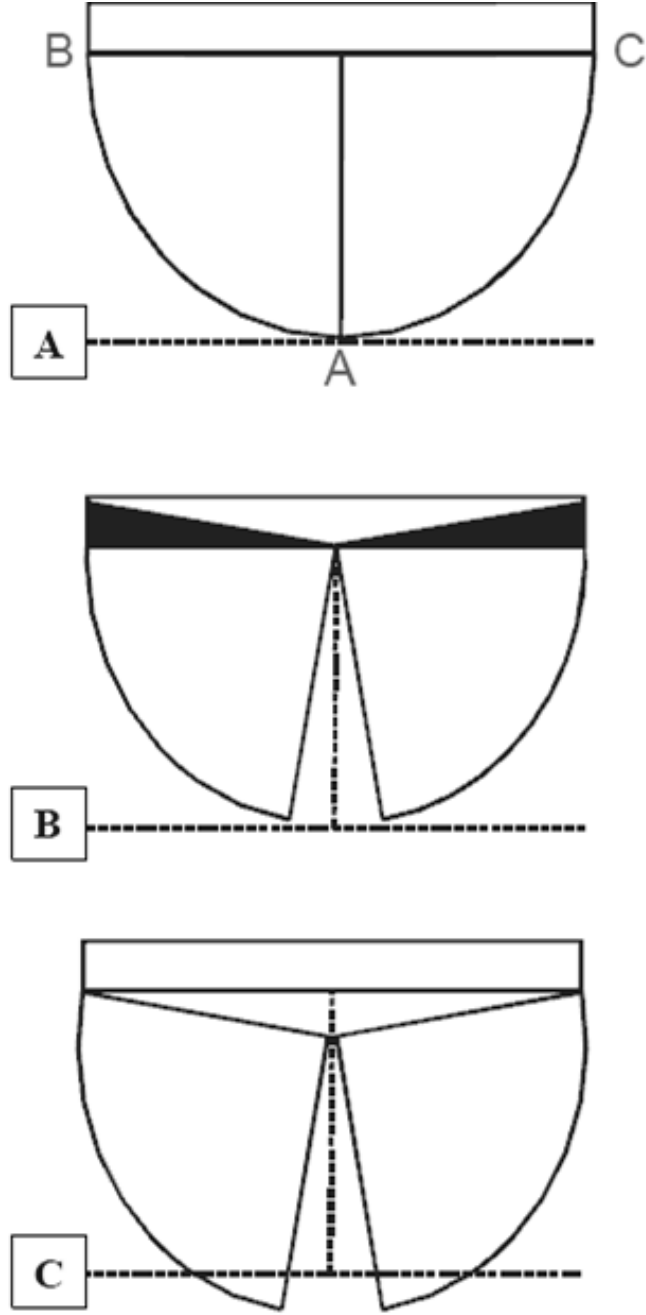
Haas'a<sup>21</sup> göre dişlere ve maksiller alveoler proseslere tatbik edilen kuvvet diş hareketi için gereken limitleri aştığında, oluşan baskı midpalatal sütürü açan ortopedik bir kuvvet olarak işlev görür ve hızlı maksiller genişleme oluşur. Genişletme apareyi periodontal ligamenti sıkıştırır, alveoler prosesleri eğer, ankraj dişleri devirir ve

midpalatal sütürü kademeli olarak açar. Midpalatal sütür açılırken üst çene daima ne ve aşağı doğru kayarak hareket eder.

Doruk ve ark.<sup>95</sup> RME'nin etkilerini araştırdıkları çalışmalarında hyrax vidası koydukları full akrilik bonded apareyi ile fan type vidalı akrilik bonded apareyini karılatırmılar ve her iki grupta da üst çenenin ne ve aşağı doğru hareketini tespit etmişlerdir.

Öte yandan, Sarver ve Johnston<sup>96</sup> 1989 yılında yaptıkları çalışmalarında üst çenenin geri ve yukarı hareket ettiğini rapor etmişlerdir.

Biederman ve Chem<sup>64</sup>, üst çenenin sagital yöndeki hareketinin biyomekaniğini tanımlarken genişleme esnasında eğer sağ ve sol üst çene kemikleri için bir tek rotasyon merkezi oluşursa A noktasının geri gideceğini buna karşın eğer iki ayrı rotasyon merkezi oluşursa A noktasının ileri gideceğini belirtmişlerdir (ekil 2-1).



**Şekil 2-1** Horizontal düzlemde üst çene genişletmesinin biyomekaniği.<sup>64</sup> Yarım daire üst çenenin sağ ve sol yarılarını, dikdörtgen posterior komşu kemikleri temsil etmekte (A). Eğer rotasyon merkezi orta hatta bir yerde ise A noktası geri hareket eder, taralı alanda ise kemik rezorpsiyonu gözlenir (B). Eğer genişletmede B ve C noktalarında rotasyon gerçekleşirse A noktası ileri hareket edecektir (Butressing etkisi) (C).

### **2.2.9.2 Midpalatal Sütüre Etkisi**

RME ile sütürün açılmaya başlaması gençlerde 1-2 günde, erişkinlerde 3-4 günde olmaktadır. Sütürün açılıp açılmadığı mutlaka radyolojik olarak kontrol edilmeli, açılma gözlemlendikten sonra her hafta oklüzal film alınması önerilmektedir.<sup>97</sup>

Oklüzalden bakıldığında, sütürel açılmanın anterior bölgede posterior bölgeden daha fazla olduğu,<sup>19,71</sup> ayrıca sütürel açılmanın dişsel genişlemenin yaklaşık yarısı kadar olduğu<sup>19</sup> bildirilmiştir.

Frontalden düzlemde incelendiğinde maksiller sütür, tabanı ağız tarafında bir piramit oluşturacak şekilde açılır.<sup>19,52,71</sup> Frontal düzlemde her bir maksiller kemiğin, merkezi fronto-maksiller sütür olacak şekilde rotasyon yaptığı ayrıca üst çenenin çoğunlukla aşağıya ve öne hareket ettiği bildirilmiştir.<sup>52,71</sup>

Sütürel açılma miktarı ile intermolar mesafe artışı arasındaki ilişkiyi inceleyen Krebs<sup>92</sup>, intermolar genişlik artışını modeller üzerinde 6 mm, infrazigomatik çıkıntılar üzerindeki artışı ise 3,7 mm olarak bulmuşken sütürel açılma miktarının dişsel arktaki genişlemenin yarısı kadar veya daha az olduğunu bulmuştur. Bununla birlikte kesiciler bölgesindeki iskeletsel açılmanın, molar bölgeye göre 2 kat daha fazla olduğunu bildirmiştir.

### **2.2.9.3 Palatal Kubbeye Etkisi**

Hızlı üst çene genişletmesi sonrasında palatal kubbenin düzleştiğini fakat palatal yükseklikte bir değişiklik olmadığını iddia edilmesine<sup>62</sup> olmasına rağmen, burun tabanı ve palatal kubbenin genişlediği ve aşağı doğru indiği ve dolayısıyla palatal yüksekliğin azaldığı genel bir kanı olarak kabul edilmektedir.<sup>1,21,24,52,71,98</sup>

### **2.2.9.4 Alveoler Çıkıntılara Etkisi**

Hızlı üst çene genişletmesinde uygulanan mekanik baskı alveoler çıkıntılarının bukkale doğru eğilmesine yol açar. Burada en büyük etkenin, uygulanan maksiller genişletme aparatının olduğu kabul edilmektedir. Hyrax genişletme aparatı ile yapılan hızlı üst çene genişletmesinde alveoler çıkıntılarının daha fazla eğildiği, diş ve doku destekli aparatlarda bu eğilmenin ya çok az olduğu ya da hiç olmadığını belirtilmiştir.<sup>69</sup> Bu durum Haas aparatının kuvvet vektörünün üst çenenin direnç noktasına daha yakın olmasına bağlanmıştır.<sup>62</sup>



RME sonrasında alveoler proseslerin yumuşak doku direncine bağlı olarak dikleşme eğilimi göstermeleri nedeniyle, gerekenden 2-3 mm daha fazla genişletme önerilmiştir.<sup>24,71</sup>

#### **2.2.9.5 Maksiller Dentisyona Etkisi**

Hızlı üst çene genişletmesi sonrasında midpalatal sütürdeki ayrılmaya bağlı olarak maksiller santral kesiciler arasında bir diastema oluşur. Mevcut transseptal liflerin gerilmesine bağlı olarak, genişletme sonrasında üst ön kesici dişlerin önce kronlarının ve daha sonra da köklerinin ilk hallerine geri dönme eğiliminde olduğu ve böylece diastemanın spontane olarak kapandığı kabul edilmektedir.<sup>52</sup> Santral dişler arasındaki bu diastemanın midpalatal sütürdeki ayrılmanın bir belirtisi olmadığı<sup>71</sup>, herhangi bir çapraşıklık yoksa bu dişler arasındaki diastemanın vidadaki açılmanın yaklaşık yarısı kadar oluşacağı bildirilmiştir.<sup>21,24</sup>

Perioral kasların hızlı üst çene genişletmesi sonrasında üst kesicilerin genel olarak palatinala devrilmesinde rol aldığı düşünülmektedir.<sup>1</sup> Öte yandan maksiller kesicilerin ekstrüzyon eğiliminde olduğu da rapor edilmiştir.<sup>24,71,99</sup>

Üst çene genişletmesi sonucunda maksiller posterior dişlerde vestibül yöne devrilme olduğu kabul edilmektedir.<sup>61,62,65,71,94,99,100</sup> Hicks<sup>94</sup>, hızlı üst çene genişletmesi sonrasında sağ ve sol molarlar arasındaki devrilme miktarının 1°-24° arasında değişkenlik gösterebileceğini bildirmiştir. Ayrıca dişlerde görülen bu devrilme hareketine alveoler çıkıntıların devrilmesi de katkıda bulunmaktadır.

Hızlı üst çene genişletmesi sonucunda destek dişlerde vestibüle doğru devrilme oluşmakta ve periodontal dokularda sıkışma ve gerilme meydana gelmektedir.<sup>30,89,94,101,102</sup> Bunun neticesinde ankraj dişlerinin bukkal yüzeylerindeki alveoler kemikte dehissenslerde artış ve özellikle birinci premolarların bukkal alveol kret seviyelerinde çekilmeler gözlenebilmektedir.<sup>102</sup>

Bazı araştırmacılar, hızlı üst çene genişletmesi sırasında ve sabit pekiştirme döneminde ankraj alınan dişlerde belirgin bukkal kök rezorbsiyonu tespit etmişlerdir.<sup>101,103</sup>

#### **2.2.9.6 Mandibulaya Etkisi**

Hızlı üst çene genişletmesi sonrasında mandibulanın aşağı ve geriye doğru rotasyon yaptığı böylece alt çene düzlem eğiminin ve overjetin arttığı kabul edilmekte; buna

bağlı olarak alt yüz yüksekliğinin arttığı bildirilmektedir.<sup>52,67,71,99</sup> Hızlı üst çene genişletmesi sırasında mandibuler düzlemin açılması, maksiller posterior dişlerin ekstrüzyonu ve devrilmesi ile açıklanabilir.<sup>1</sup>

Hızlı üst çene genişletmesini takiben mandibuler intermolar mesafenin de arttığı bildirilmiştir.<sup>85</sup>

### **2.2.9.7 Komşu Fasiyal Yapılara Etkisi**

Mandibuladan sonra yüzün en büyük kemiği olan üst çene, hızlı üst çene genişletmesi ile ilişkili olduğu tüm yapıları harekete zorlar. Bu yapılar arasında sfenoid, zigomatik, nazal, frontal, lakrimal, etmoid, vomer, palatinal kemikler ve nazal konka mevcuttur.<sup>19</sup>

Hızlı üst çene genişletmesinde meydana gelen en yüksek stres seviyesinin, sfenoid kemiğin pterygoid çıkıntısının kafa kaidesine yakın olan üst kısmında oluştuğu bildirilmiştir. Ayrıca zigomatik kemik, orbita dış duvarı, nazal kavite dış duvarı ile üst çenenin molarlar ve kaninler bölgesinde yüksek stresler meydana gelmektedir.<sup>72</sup> Öte yandan hızlı üst çene genişletmesiyle oluşabilecek stres yoğunlaşmalarını incelenmiş, en fazla kuvvetin molar dişlerin arasında biriktiği belirtilmiştir.<sup>104</sup>

Sert dokuların genişletme kuvvetlerine karşı oluşturduğu direncin yanında, yumuşak doku kompleksinin oluşturacağı direnci göz ardı etmemek gerekir. Çiğneme kasları, yüz kasları ve bunları saran yumuşak dokular uygulanan genişletmeye bağlı olarak gerilmeler gösterebilirler.<sup>96</sup>

Sonlu elemanlar yöntemiyle yapılan çalışmalarda<sup>72,104</sup> elde edilen bu bulgular asıl direnç merkezinin midpalatal sütür değil, sirkümmaksiller yapılar olduğunu göstermektedir. Bu bölgelerde biriken streslerin nükse sebep olabileceği de bildirilmiştir<sup>73</sup>.

Bu etkilerinin haricinde literatür incelendiğinde nazal hava yolu tıkanıklığı, septal deformasyon, tekrar eden kulak ve burun enfeksiyonları, alerjik rinit ve astım gibi hastalıkların kombine tedavisinde ve üst hava yolundaki obstrüksiyona bağlı huzursuz uyuma sonucu oluşabilen nocturnal enuresis'in tedavisinde hızlı üst çene genişletmesinin olumlu etkilerinin olduğu rapor edilmiştir.<sup>105,106</sup>

### 2.2.10 Üst Çene Genişletmesinden Sonra Pekiştirme ve Nüks

Hızlı üst çene genişletmesi iki periyottan oluşmaktadır. Birinci periyot sütünel ayrılma ile üst çenenin aktif olarak genişlemesi, ikincisi ise midpalatal sütünün reorganizasyonu ve kalsifikasyonu için geçen pekiştirme periyodudur.<sup>24,96</sup>

Aktif genişleme periyodu sonrasında ortaya çıkan nükste, maksiller ve kraniyofasiyal yapılarda biriken rezidüel kuvvetlerin en önemli faktör olduğu bildirilmiştir.<sup>73</sup> Bu yoğun kuvvetler maksiller kompleksteki yapılar tarafından iyi tolere edilemez ise, uygulanan kuvvetlere karşı oluşacak tepki şiddetli nükse sebep olabilir.

Bazı araştırmacılar nüks miktarını azaltmak için uzun süreli pekiştirme<sup>5,52,57,107</sup> ve bir miktar fazladan genişletme<sup>5,52,108</sup> yapılması gerektiğini bildirmişken, bazı araştırmacılar vida çevirme programını değiştirme<sup>35,109</sup> yada daha hafif ve devamlı kuvvetlerle yavaş genişletme prosedürleri<sup>30,61,89,110</sup> uygulanabileceğini bildirmiştir.

Midpalatal sütünün hızlı üst çene genişletmesi sonrası mineralizasyonunu inceleyen Ekström ve ark.<sup>111</sup>, ilk 1 ay içinde mineralizasyonun büyük oranda tamamlandığını ancak 3 ay sonunda ölçüm bölgelerinin mineral içeriğinin hepsinin aynı olduğunu belirtmiştir. Dolayısıyla ancak 3 ay sonunda iyice mineralize olmuş bir sütününden bahsedilebilir.

Bishara ve Staley<sup>1</sup>, genişletme apareyinin 3–6 boyunca sabit pekiştirme apareyi olarak kullanılmasını böylece dokuların yeni konumlarında reorganize olmasına izin verilmesi gerektiğini önermiş ayrıca yapılan genişletme miktarı arttıkça sabit pekiştirme döneminin de uzaması gerektiğini bildirmiştir. McNamara ve Brudon<sup>47</sup> hareketli apareye geçilmeden önce genişletme apareyinin 5 ay kadar kullanılmasının uygun olacağını belirtmiştir.

Bazı araştırmacılar ise genişletme apareyinin sütünel bölgede kemik rejenerasyonu için 3-4 ay kullanılmasının ardından çıkarılmasını, sonraki tedavi ve pekiştirme periyodu boyunca kullanmak üzere akrilik plağın takılmasını önermiştir.<sup>93</sup>

Üst çene genişletmesinde aparey tasarımının da nüks üzerinde etkiliği olduğu düşünülmektedir. Haas<sup>57</sup> ile Moussa ve ark.<sup>112</sup> çalışmalarında nüksün az olmasının nedenlerinden biri olarak dişler ile birlikte damaktan da destek alan aparey tasarımını göstermişler ve bu tasarımın stabiliteyi artırdığını ifade etmişlerdir. Memikoğlu ve İşeri,<sup>60</sup> de rijit akrilik bonded apareyi ile yürüttükleri üst çene genişletmesinin gayet

stabil olduğunu belirtmişlerdir. Aynı şekilde Brogan<sup>107</sup>, stabil bir üst çene genişletmesi için rijit aparey tasarımını önermiştir.

Üst çene genişletmesi sonrasında kullanılan pekiştirme aygıtının tipinin de nüks üzerine etkili olduğu düşünülmüş, Hicks<sup>94</sup> ve Stockfish<sup>108</sup> sabit pekiştirme yapılan hastalarda hareketli pekiştirme yapılanlara göre daha stabil sonuçların elde edildiğini bildirmiştir.

Bazı araştırmacılar yumuşak dokulardaki gerilmelerin nükse sebep olabileceğini belirtmişlerdir.<sup>19,30,113</sup> Muguerza ve ark.<sup>114</sup> stabiliteyi artırmaya yönelik yaptıkları deneysel çalışmada genişletme sonrasında gerilen palatal mukozada insizyon yaparak oluşan gerilimi azaltmaya çalışmıştır.

Ayrıca midpalatal sütürdeki yetersiz kemik formasyonunun nüks nedeni olabileceği<sup>115</sup>, sütürdeki kemik formasyonunu<sup>7,116,117</sup> veya kemik kalitesini artırmanın<sup>110</sup> stabiliteyi olumlu yönde etkileyebileceği de belirtilmiştir.

## **2.3 Kemik Dokusu**

Kemik, hücreler arası madde üzerine inorganik tuzların çökelmiş olduğu; bu şekilde sağlamlık, esneklik gibi fiziksel özellikler kazanmış bir bağ dokusu çeşididir. Kemikler iskelet sistemini oluşturup kaslarla birlikte hareketi sağlar, vücudu destekler, hayati bazı organları çevreleyip korurlar, kan hücrelerinin yapıldığı kemik iliğini içerirler ve kalsiyum metabolizmasında görev alırlar.<sup>118,119</sup>

Kemik dokusu kemik matriksi denilen hücreler arası madde ve kemik hücrelerinden oluşur ve son derece karışık bir kollojen protein lif ağı içerir. Kemiğin kimyasal yapısında %71 inorganik tuzlar (kalsiyumfosfat ve kalsiyumhidroksiapatit), %18,5 kollajen, %0,25 mukopolisakkarid, %1,75 protein ve %8,5 de su bulunur. Kemikteki mineraller genellikle hidroksiapatit ( $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ) formundadır. Hidroksiapatit kristallerinin kollajen liflerle olan birleşmeleri kemiğe özgün sertlik ve dayanıklılık kazandırır. Kemik içerisinde ayrıca; kemik metabolizmasından sorumlu canlı hücreler ile bu hücrelere yaşamsal desteği sağlayan son derece zengin damar ve sinir ağları bulunmaktadır.<sup>118,120-122</sup>

### **2.3.1 Kemiğin Makroskobik Yapısı**

Kemikler uzun, kısa, yassı ve düzensiz şekillerde olabilirler. Kemikler üzerinde çıplak gözle veya mercek kullanılarak yapılan incelemeler sonucunda, süngerimsi kemik

(spongiyöz kemik) ve sert kemik (kompakt kemik) olmak üzere iki tip kemik ayırt edilmiştir (Şekil 2-2).<sup>118,120,122</sup>

Süngerimsi kemik birbirleriyle ağzlaşan kemik trabeküllerinden oluşmuştur. Bu trabeküllerin aralarında, içleri kemik iliğiyle dolu labirente benzeyen birbirleriyle ilişkili, düzensiz boşluklar vardır.

Sert kemikte ise benzeri boşluklar yoktur. Ancak mikroskopla görülebilen ve kan damarlarını taşıyan kanallar bulunur. Bu kanallar lakünlerden çıkan kanaliküli adı verilen ince kanalcıklardan çok daha kalındır. Bu iki tip kemik birinden diğerine keskin bir hatla ayrılmadan geçiş yapar (Şekil 2-2).

### **2.3.2 Kemiğin Mikroskopik Yapısı**

Kemiğin mikroskopik olarak woven (demet) ve lamellar kemik olmak üzere iki fenotipi vardır. Woven kemik embriyonik ve fetal gelişime ait olmasına rağmen sağlıklı yetişkin iskeletinde ligament ve tendon bağlantılarında, osteojenik tümör gibi patolojik durumlarda ya da iyileşen kırığın kallusunda bulunur.<sup>123</sup> Demet kemiği yapısal olarak düzensiz, organize olmamış fiber oryantasyonu ve osteosit dağılımına sahiptir. Lamellar ya da olgun kemik hem kortikal hem de trabeküler kemikte bulunur. Yapısal alt üniteler yani lameller, trabeküllere paralel seyrederek ya da kortikal kemikte 200-300 µm çapında silindirik şekilli osteonlar oluştururlar. Osteonun içinden merkezi bir kapiller geçer ve duvarlarında osteositler yer alır.<sup>123</sup>

Sert kemikte kemik lamelleri üç ayrı şekilde yerleşmiştir.

1. Bunların büyük çoğunluğu uzunlamasına duran damar kanalları (Havers kanalları) etrafında iç içe yerleşmiş halkalar şeklindedir. Kemiğin içindeki silindirik birimlerin oluşturduğu bu yapıya havers sistemi veya osteon denir.
2. Havers sistemleri aralarında değişik büyüklükte, düzensiz şekilli ve köşeli lamelli kemik alanları vardır. Bu alanlara ara lamel sistemi (interstisyel sistem) adı verilir. Havers sistemi ve ara lamel sisteminin sınırları yapıştırıcı çizgi denilen keskin bir hat ile birbirinden ayrılır.
3. Sert kemiklerin dış (periosteumun hemen altı) ve iç (endosteumun hemen altı) yüzleri üçüncü tür lamellerle çevrilidir. Bu lameller kemiğin gövdesinin dışında ve içinde iç içe daireler şeklinde uzanır. Bu lamellere dış ve iç çembersel lameller adı verilir.<sup>118,124</sup>

Sert kemikte iki türlü damar kanalı vardır. Bunlar Havers kanalı ve Volkmann kanalıdır. Havers kanalı, havers sisteminin merkezinde uzunlamasına yer alan kanaldır (Şekil 2-2).<sup>118,124</sup>

Volkmann kanalları kemiğin periosteumundan endosteumuna kadar uzanır. Çok ender olarak da kapalı uçlarla sonlanır. Periosteum ve endosteumundan gelen kan damarları Volkmann kanalları aracılığıyla Havers sistemindekilerle ilişki kurar.<sup>118,124</sup>

Süngerimsi kemik ince trabeküllerden oluştuğundan bunların içinde Havers ve Volkmann kanalları, dolayısıyla da damarlar hemen hemen hiç bulunmaz. Bunlardaki kemik hücreleri besin maddelerini kanaliküliler aracılığıyla endosteumdan temin ederler (Şekil 2-2).<sup>118,124</sup>

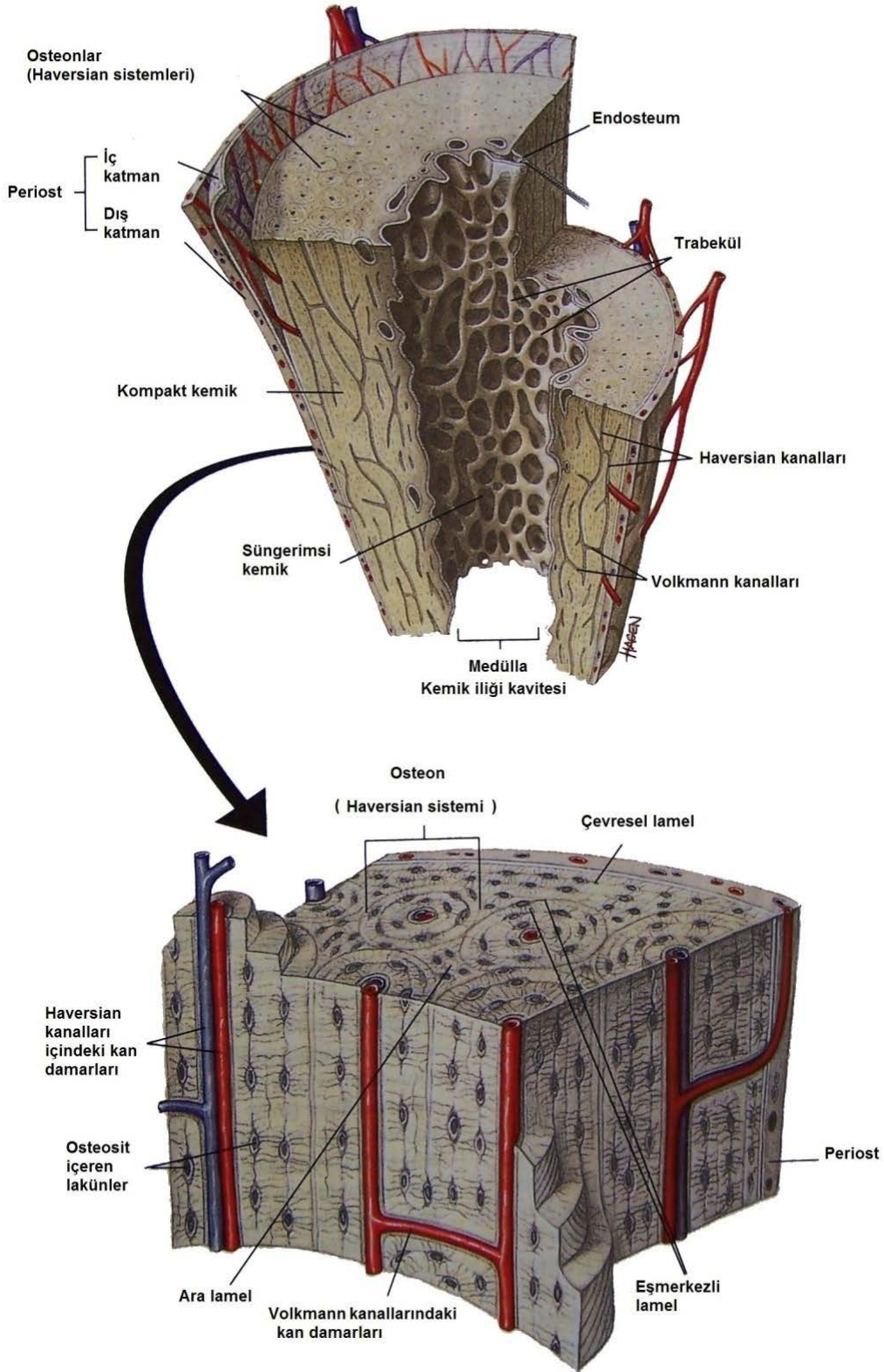
### **2.3.3 Kemik Zarları**

Birkaç istisna dışında, hemen hemen tüm kemiklerin dış yüzeyi periost adı verilen osteojenik potansiyele sahip özel bir bağ dokusu tabakasıyla örtülüdür.<sup>118,124</sup>

Periost, kemiğin eklem yüzeyleri haricinde üzerini örten, sert, vasküler bir bağ dokusu tabakasıdır. “Fibröz tabaka” olarak adlandırılan kalın dış tabaka, düzensiz, yoğun bağ dokusundan oluşur. Daha ince ve zor ayırt edilebilen “osteojenik tabaka” isimli iç tabaka ise osteojenik hücrelerden oluşmaktadır. Sıkı bağ dokusu kıvamındaki periostta kemiğe yaklaştıkça kemik yapıcı hücrelerin sayısı artar. Kemik oluşturma özelliği olan bu tabakanın bulunmadığı yerlerde kemik yüzeyiyle ilişkili bağ dokusu osteojenik potansiyelini yitirir ve kemik kırıklarının iyileşmesine katkıda bulunamaz (Şekil 2-2).<sup>118,124</sup>

Kemik ve periost arasındaki bağlantı ise periosttan çıkarak kemiğe giren, Sharpey lifleri adı verilen kollajen lifler tarafından sağlanmaktadır.<sup>120,122</sup>

Endosteum, içinde kemik iliğini bulduran kemik boşluklarının duvarlarını döşeyen yassı osteojenik hücrelerin oluşturduğu ince bir tabakadır. Kemik iliği stromasının periferik (dış yüzey veya kenar) tabakası olup, osteojenik potansiyel açısından periosteumu andırır; ancak ondan biraz daha incedir. Tek kat oluşturan hücreleri genellikle bağ dokusu fibrilleriyle ilişkili değildir. Kemikte bulunan tüm boşluklar, Havers kanalları, Volkmann kanalları ve süngerimsi kemiğin ilik boşlukları tamamen endosteum ile örtülüdür (Şekil 2-2).<sup>118,122,124</sup>



Şekil 2-2 Kemiğin makroskopik ve mikroskopik yapısı<sup>125</sup>

### **2.3.4 Kemik Hücreleri**

Kemiğin hücresel komponentleri osteojenik prekürsor hücreler, osteoblastlar, osteoklastlar, osteositler ve kemik iliğinin hematopoietik elemanlarından oluşur.<sup>118,120,122,124</sup>

#### **2.3.4.1 Osteoprogenitör Hücreler**

Mitozla çoğalabilen, mezenşimden kaynaklanan, kemik yapıcı öncü hücreler olup, osteoblastlara veya düşük oksijen konsantrasyonunda kondrojenik hücrelere farklılaşabilirler. Kemik büyümesinde ve kırık tamirinde aktif hale gelerek bölünüp, osteoblast hücrelerine dönüşürler. Genellikle soluk boyanan nükleuslu, asidofilik sitoplazmalı hücreler olup, periostun derin tabakasında, Havers kanallarında ve endosteumda bulunurlar.<sup>119,126,127</sup>

#### **2.3.4.2 Osteoblastlar**

Matür, metabolik yönden aktif, kemik organik matriksin yapımından sorumlu hücrelerdir. Bu hücreler, kübik ya da alçak prizmatik hücrelerden yapılmıştır. İri nükleusları olup sitoplazmaları koyu bazofiliktir. Osteoid doku ve tip I kollajeni, glikoproteinleri, proteoglikanları ve osteokalsin, osteonektin, osteopontin, osteoprotegerin gibi bazı proteinleri salgırlar. Bunların yanında kemik rejenerasyonunda önemli rol aldıkları düşünülen, BMP (bone morphogenic protein), TGF- $\beta$ , IGF-I, IGF-II, IL-1, PDGF gibi sinyal proteinlerini salgırlar. Kemik yapım aktivitesi sonlanmaya başladığında, osteoblastların bir kısmı oluşturdukları matriks içinde hapsolarak osteositlere dönüşürken, diğer kısmı periost ve endosteal örtücü yüzey hücrelerine dönüşürler.<sup>119,126,127</sup>

#### **2.3.4.3 Osteositler**

Kemik matriks içerisinde lakün olarak adlandırılan küçük boşluklarda yerleşmiş olgun osteoblastlardır. Her bir osteositten çıkan sitoplazmik uzantılar diğer osteositlere uzanarak bir ağ oluştururlar. Lakünlerde bulunan kanaliküller yardımıyla da kan damarlarına ve diğer lakünlere bağlanırlar. Lokal çevre faktörlerinden etkilenirler ve kemiğe etki eden kuvvetler karşısında siklik adenosin monofosfat (cAMP), osteokalsin ve IGF salgırlar. Bu faktörlerin salgılanmasını takiben, öncül osteoblastların sayısı artarak kemikte remodeling ve kemik apozisyonu görülür. Ayrıca osteositler ekstrasellüler kalsiyum ve fosfor konsantrasyonun düzenlenmesinde de önemli rol alırlar.<sup>119,126,127</sup>



#### **2.3.4.4 Osteoklastlar**

Osteoklastlar, hematopoietik stem (kök) hücrelerden menşе alırlar. Oldukça hareketli, multinükleer ve lizozomal enzimler taşıyan polarize hücrelerdir.<sup>123</sup> Ayrıca çok sayıda mitokondri, serbest ribozom ve yaygın golgi kompleksi içerirler.<sup>128</sup> Bir osteoklastta 2 ila 100 çekirdek olabilir, ancak osteoklastlar genelde her bir mm<sup>3</sup> kemikte 2-3 tane bulunan hücre başına 10-20 nükleus içeren hücrelerdir. Aktif kemik döngüsünün arttığı bölgelerde sayıları artar. Genelde kemiğe yapışık olarak bulunurlar. Osteoklastların makrofaj polikaryonlarda bulunmayan karakteristik bir özelliği tırtıklı kenarlarıdır (ruffled border). Ruffled border, stoplazma membranının çok sayıda, ince, parmak şekilli uzantılarından oluşur. Mineralize kemik matriksinin rezorpsiyonu ve yıkılımı, tırtıklı kenardan tampon bölgeye hidrojen iyonları ve proteolitik enzimlerin geçmesi ile oluşur.<sup>129</sup> Osteoklastlar içerdikleri kollajenaz ile diğer proteolitik enzimlerini salgılayarak, kemiğin inorganik ve organik matriksi ile kalsifiye kartilajı çözerler ve bu süreç sonunda “Howship Lakünaları” olarak adlandırılan kemik yüzeyi eroziv alanları ortaya çıkar.<sup>127</sup>

#### **2.3.5 Kemikleşme**

İntramembranöz ve enkondral olmak üzere 2 tür kemikleşme vardır. İntramembranöz (zarsal, direkt) kemikleşme bağ dokudan oluşurken, enkondral (kıkırdaksal, indirekt) kemikleşme kıkırdak dokunun katılımıyla oluşmaktadır. Kemikleşme hangi türde olursa olsun, ilk oluşan kemik dokusu birincil kemik olarak adlandırılır ve olgunlaşmamış kemiktir, kalıcı olmayıp olgun lamelli kemik haline dönüşür.<sup>130</sup>

##### **2.3.5.1 İntramembranöz Kemikleşme**

Direkt olarak mezenşimal bağ dokusundan kemik şekillenmesidir. Frontal, parietal, oksipital ve temporal kemikler gibi kafatasının bazı yassı kemikleri, mandibula ve üst çenenin bazı kısımları bu tür kemikleşme ile meydana gelmektedir. Mezenşim hücreleri önce osteoprogenitör hücreye farklılaşır, daha sonra da osteoblastlara dönüşerek kemik matriksini oluştururlar. Çok sayıdaki kılcal damar osteoid dokuya kalsiyum ve fosfor iyonlarını taşır. Bu iyonlar, osteoblastların salgıladığı alkalin fosfataz aracılığıyla kalsiyum fosfat moleküllerine dönüşerek kalsifikasyonu sağlarlar. Oluşan doku kemik trabekülleri olarak adlandırılır. Trabeküller içinde kalan osteoblastlar aktivitesi azalmış osteositlere dönüşür. Şekillenen trabeküllerin yüzeyine osteoprogenitör hücrelerden farklılaşan osteoblastlar tek sıra halinde dizilirler ve kemik lamellerini yaparlar. Osteoblastlar da bir taraftan yeni kemik lamelleri eklerken, osteoklastlar kemikleri iç

yüzlerinden rezorbe ederler. Komşu trabeküller birbirleriyle kaynaşarak spongiyöz kemiği şekillendirirler. Bu kemiklerin iç ve dış yüzlerinde yine intramembranöz yolla bir miktar kompakt kemik eklenir ve kemikleşme sona erer.<sup>119,126,127</sup>

### **2.3.5.2 Enkondral Kemikleşme**

Uzun ve kısa kemiklerde görülen enkondral kemikleşme meydana gelirken öncelikle hyalin kıkırdaktan bir model oluşur. Kıkırdak modeldeki kondrositler genişleyip yıkılırlar. Geriye kalsifiye kıkırdak matriksi septalarının birbirinden ayırdığı genişlemiş laküna kalır. Bu bölgelerde osteoprogenitor hücreler ve kan damarlarından oluşan bir yapı oluşmaya başlar. Osteoprogenitör hücreler, kıkırdağımsı septumun üstünü kemik matriksi ile kaplayan osteoblastlara dönüşür, böylece kartilaj yapı kemik matriksiyle örtülmeye başlar. Kalsifiye kıkırdak dokusunda kemikleşme başlar. Sonra bu primer kemik dokusunun yerini sekonder kemik dokusu alır.<sup>118,119,122,127</sup>

### **2.3.5.3 Midpalatal Sütürde Kemikleşme**

Komşu iki kemik arasında bulunan sütür bir bağ dokusu şeridinden ibarettir. Sütürde karşı karşıya gelen iki kemiğin üzerini örten periost sütürde de devam ediyormuş gibi düşünülebilir. Her iki kemik periostu sütürde ayrı ayrı birbirlerine sırtlarını vermiş olarak, iki ayrı periost halinde devam etmektedir. Periost bir bağ dokusu membranıdır. Periostun en üst tabakası fibröz bir tabaka olup fibroblastlar, kollojen lifler, damar ve sinirlerden oluşmuştur. Periostun kemiğe komşu tabakası ise esas kemik yapan (osteojenik) kambiyum tabakası olup, osteoblastların çoğaldığı, osteoblastlar tarafından salgılanan kollojen lifler üzerine kalsiyum tuzlarının çökelerek sharpey lifleri haline dönüştüğü ve kemiğin imal edildiği tabakadır. Sütürde karşı karşıya gelen iki kemiğin de ayrı ayrı birer kambiyum tabakası ve fibröz dokudan oluşan birer kapsüler tabakası vardır. İki kapsüler tabaka arasında da kan damarlarının bulunduğu bir ara tabaka vardır. Sütürde karşı karşıya gelen iki kemiğin de ayrı ayrı birer kambiyum tabakaları bulunduğundan, her iki kemik de ayrı ayrı büyürler. Her iki kemik eşit miktarlarda büyüebildiği gibi biri diğerinden daha fazla büyüebilir.<sup>131</sup>

Sütürde oluşan değişiklikler ile ilgili elimizdeki bilgiler hayvan çalışmaları ve insan biyopsi materyallerinden ibarettir. Literatür tarandığında bu konudaki çalışmaların benzer sonuçları ortaya koyduğunu görmekteyiz.<sup>132-135</sup> Bu çalışmalara göre sütürde önce bir hiperemi gözlenmekte, bunu takiben sütür etrafında osteoblastik aktivite

başlamaktadır. Sonrasında sütür boyunca mikrofraktürler oluşup nihayetinde ayrılma başlamaktadır.<sup>132-135</sup>

Midpalatal sütüre uygulanan genişletme kuvvetleri osteoklastların aktivasyonu sonucu kemik rezorpsiyonunu ve periosteal hücrelerin proliferasyonu ve diferansiyonuna bağlı olarak da kemik oluşumunu artırmaktadır.<sup>136</sup>

Fareler üzerinde yaptıkları bir çalışmada midpalatal sütüre kuvvet uygulayan Hou ve ark.<sup>136</sup> midpalatal sütürde görülen genişleme sonrasında birinci günden başlayarak kollojen liflerin sütür boyunca reoriente olduklarını aynı zamanda periosteal hücrelerin de sütüre doğru migrate olmaya başladıklarını gözlemişlerdir. Araştırmacılar üçüncü günde sütürün mekanik kuvvete paralel yönde spindle-shayped hücrelerle dolduğunu ve kondrositlerin sayısında azalma olduğunu bildirmişlerdir. Yedinci günde palatal kemik uçlarında yeni kemik oluşumu gözlemlemiş ve bu oluşan yeni kemik yüzeyinde periosteal hücrelerin iyice artmaya devam ettiğini ve on dördüncü günde de genişlemiş olan sütürün içinin fibröz doku ile dolduğunu bulmuşlardır. Sütürün oral tarafında yeni oluşan kemik, orijinal sütürün kıkırdak tabakasına benzer bir yapıda birkaç tabaka kondrositle kaplanmıştı ancak sütürün nazal tarafında ise kıkırdak benzeri yapı oluşmadan direkt nazal epitel altında kemik oluşmaya başlamıştır.<sup>136</sup>

### **2.3.6 Kemik Metabolizması Düzenleyicileri**

Kemik metabolizması çok sayıda hormonal ve lokal faktörün devamlı denetimi altındadır. Kalsitropik hormonlardan kemik metabolizmasını en çok etkileyen üçü; paratiroid hormon, vitamin D ve kalsitonindir.<sup>121,137</sup>

Bunların haricinde kemik metabolizması bazı kimyasal, elektriksel ve mekanik uyarılarla düzenlenir. Özellikle kemik iyileşmesi sırasında trombositler, makrofajlar ve fibroblastlar, bazı proteinler ve büyüme faktörleri salgırlar. Bu proteinler karmaşık trafiği düzenlemekte, migrasyon, proliferasyon ve diferansiyasyon ile rezorpsiyon arasındaki hassas dengeyi yerel olarak sağlamaktadırlar. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, kemik iyileşmesinde rol alan birçok kemik uyarıcı faktör tanımlanmıştır. Bunlar arasında; kemik morfojenik proteinleri (Bone Morphogenic Proteins, BMP), insülin benzeri büyüme faktörü (Insulin-Like Growth Factor, IGF) , transforme edici büyüme faktörü (Transforming Growth Factor, TGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (Platelet-Derived Growth Factor, PDGF) ve fibroblast büyüme faktörü (Fibroblast Growth Factor, FGF) sayılabilir. Bu faktörler çeşitli saflaştırma metotlarıyla

direkt denekten elde edilebildiği gibi, rekombinant olarak da istenilen miktarda elde edilmesi mümkündür.<sup>119,121,137-139</sup>

Bu büyüme faktörlerinin deneysel çalışmalarla kemik iyileşme üzerine etkinliği gösterilmiş, bazıları sınırlı da olsa klinikte kullanılmış olmasına rağmen, rutin klinik kullanıma girmeleri zor görünmektedir. Bunun en önemli nedeni ise rekombinant teknolojinin pahalı olmasıdır.

İçeriği göz önüne alındığında otojen büyüme faktörü kokteyli olarak da değerlendirilen Trombositten Zengin Plazma, kemik iyileşmesi ve yeniden şekillenmesi sırasında meydana gelen karmaşık hücresel olayların büyük bir kısmını içerdiği büyüme faktörleri sayesinde düzenler ve kontrol eder. Dolayısıyla yara bölgesinde trombositlerin sayıca artması, trombosit kaynaklı PDGF, TGF- $\beta$ , IGF, EGF, FGF ve VEGF gibi başlıca büyüme faktörlerinin de yara bölgesindeki konsantrasyonlarının artması anlamına gelmektedir.<sup>13</sup> Büyüme faktörlerinin trombositlerden elde edilmesi, bu faktörlerin rekombinant formlarının tek başına kullanılmasından daha uygun bir yaklaşım olacaktır.<sup>140</sup> Her bir büyüme faktörünün aynı doku üzerinde farklı etki göstermesi ve farklı doku yanıtlarını tetiklemesi, bu büyüme faktörlerinin etkilerini oldukça karmaşık bir hale getirmektedir. Büyüme faktörleri ayrıca birbirleriyle etkileşime geçerek, birden fazla farklı etki mekanizması bulunan proteinleri oluştururlar. Bu bilgiler ışığında büyüme faktörlerinin kemik metabolizmasında kritik bir role sahip olduğu söylenebilir. Araştırmacılar birçok farklı büyüme faktörü içeren TZP'nin, tek bir rejenerasyon mekanizmasını tetikleyen rekombinant büyüme faktörlerinin kullanımına üstün olduğunu belirtmektedir.<sup>140</sup>

#### **2.4 Trombositten Zengin Plazma**

Trombositler birincil olarak hemoostaziste görevli olarak bilinen periferik kandaki küçük, çekirdeksiz maddelerdir. Kemik iliğindeki megakaryositler tarafından üretilen 2-4  $\mu\text{m}$  çapında, mitokondri ve mRNA içermesine rağmen çekirdek içermeyen sitoplazma parçacıklarıdır. Dinlenme halinde tipik olarak disk şeklinde olmalarına rağmen aktive olduklarında 5  $\mu\text{m}$ 'ye kadar ulaşabilen psödopodlar içeren globüler bir şekil almaktadırlar. Vücutta herhangi bir zamanda dalakta lokalize olarak bulunmakta ve periferik dolaşıma geçtikten sonra ortalama 8-10 gün yaşamaktadırlar. Periferik yaymada kümeler halinde gözlenebilen trombositler tek tek incelendiğinde açık mavi boyanan periferik "hyalomer"; mor granüller ve mitokondrilardan oluşan santral

“granülomer” kısımlarından oluştuğu görülmektedir. Hem hücre zarlarının sitoplazma içine parmak şeklinde girmesi sonucu oluşan ve yüzeye açılan “açık kanaliküler sistem” olarak adlandırılan bir kanalikül sistemine, hem de hyalomer bölgesinde trombosit aktivasyonu için gerekli olan Ca iyonlarını depolayan “yoğun tübüler sistem” adı verilen ikinci bir kanalikül sistemine sahiptirler. Yüzeylerinde bulunan reseptörleri, trombin, kollajen vb. moleküllerin uyarılmasıyla aktif hale geçen trombositler, sitoplazmalarındaki aktif molekülleri içeren granülleri “açık kanaliküler sistem” yoluyla dışarı atmaktadırlar.<sup>141</sup> Yoğunluk ve içeriklerine göre delta, alfa ve lambda olarak üç değişik granül tariflenmiştir.<sup>142</sup>

Trombositten Zengin Plazma, bir dizi santrifüj işlemiyle hastanın kendi kanından otojen olarak elde edilen zengin trombosit konsantrasyonuna sahip plazmadır.<sup>11</sup> Sentetik olmayan doğal bir rejenerasyon yöntemidir. Nontoksiktir, immün reaksiyonlara yol açmaz, doğal yara iyileşme sürecini hızlandırdığı düşünülmektedir.<sup>12,13</sup>

Trombositlerin normal kandaki sayıları 150.000-400.000/ $\mu$ l ( $1,5-4 \times 10^8$ /ml kan) olarak bilimektedir.<sup>143</sup> Günümüzdeki TZP hazırlama metotlarıyla %300-700 oranında trombosit zenginleştirilmesinin mümkün olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir.<sup>144</sup> TZP kullanımının öncülerinden olan Marx<sup>15</sup>, TZP uygulamasıyla yara bölgesindeki trombosit kaynaklı büyüme faktörlerinin toplam konsantrasyonunun %338’e kadar artırılabilirdiğini bildirilmiştir. Tsay ve ark.<sup>145</sup>, TZP içerisindeki büyüme faktörlerini ELISA yöntemi ile değerlendirdiklerinde, PDGF oranında 30 kat, TGF- $\beta$ ’da ise 7 kat artış bulduklarını bildirmişlerdir.

Trombositler, hem pıhtı formasyonundaki rolleri, hem de yara iyileşmesini başlatan ve destekleyen büyüme faktörlerini salgılamalarıyla, yara iyileşmesinde primer olarak rol oynarlar.<sup>146</sup> TZP kullanımının temel mantığı, kemik yara bölgesindeki lokal trombosit konsantrasyonunu arttırmaktır.<sup>14,15</sup> Bu şekilde yara iyileşmesi ve kemik rejenerasyonunun başlangıcını hızlandırmak ve sonuçta elde edilecek yeni kemiğin kalite ve kantitesini arttırmak hedeflenmektedir.<sup>15</sup>

Büyüme faktörü kaynağı olarak kullanılan TZP'nin başlıca avantajları şöyle sıralanabilir;<sup>13,140,144,147,148</sup>

- Alıcı ve verici alanda operasyon sırasında ve sonrasında kanamanın azalması
- Yumuşak doku iyileşmesinin hızlandırılmasına yardımcı olması
- Yapıştırıcı etkisi sayesinde alıcı sahadaki greft materyalinin stabilitesini artırması
- Büyüme faktörleri sayesinde iyileşmekte olan dokuların vaskülarizasyonunun hızlandırılması
- Kemik replasman materyalleri ile kombine kullanılarak rejenerasyonun artırılmasını sağlaması
- Toksik olmaması
- Orijinal donörden alındığında otojen materyal olduğu için immün reaksiyona sebep olmaması
- Operasyon sırasında veya öncesinde kısa sürede hazırlanması (Operasyon sırasında zaman kaybına neden olmaz.)
- Doku uyumlu olması
- Enfeksiyöz hastalıkların geçiş riskinin bulunmaması

Bununla birlikte TZP uygulamalarının kontrendike olduğu durumlarda mevcuttur. Şiddetli hipovolemik durumlarda, unstabil anjina, hematokrit seviyesi %30'un altında olan hastalarda, akut miyokardial iskemi, hemodinamik instabilite, sepsis, fibrinolitik ilaç tedavisi, doku plazminojen aktivatörü (Tissue plasminogen activator, TPA) ya da streptokinaz kullanımı, ana koroner arter hastalıkları, trombosit sayımının 100'ün altında olması gibi durumlarda da TZP uygulamalarının kontrendike olabileceği belirtilmiştir.<sup>149</sup>

#### **2.4.1 Trombositlerden Salınan Büyüme Faktörleri**

Kemik iyileşmesi ve yeniden şekillenmesi sırasında meydana gelen karışık hücresel olayların büyük bir kısmını büyüme faktörleri düzenler ve kontrol eder. Büyüme faktörleri kendi üzerilerine olan etkilerinin yanında hormonların etkilerini de ayarlayabilirler.

TZP yapısı dolayısıyla birçok büyüme faktörü ihtiva eder (Çizelge 2-1). Bunlardan trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), dönüştürücü büyüme faktörü

beta (TGF-  $\beta$ ), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), epidermal büyüme faktörü (EGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve damarsal endotelial büyüme faktörü (VEGF) trombositlerde bulunan ve dolayısıyla TZP içeriğinde saptanmış başlıca büyüme faktörleridir.<sup>15,143,144,150</sup>

#### **2.4.1.1 PDGF (Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü)**

PDGF, moleküler ağırlığı yaklaşık 30 kD olan bir glikoproteindir. Isıya dayanıklı, katyonik, polipeptid yapıda ve pıhtılaşmış kan serumunda en çok miktarda bulunan büyüme faktörüdür. Kanda trombositler içerisinde taşınır ve yine trombositler içerisindeki  $\alpha$  granülleri içerisinde depolanırlar. Kanın pıhtılaşması sırasında dışarı salınırlar. Plazmaya PDGF ilavesi hücrelerin büyümesini stimüle eder. PDGF kollajen ve non-kollajen protein sentezini sağladığı gibi DNA sentezi ve kemotaksisini de stimüle eder.<sup>15</sup>

Trombosit kaynaklı büyüme faktörü insan mezenkimal hücreleri için birincil mitojen olan bir büyüme faktörüdür. Bu etki plazmada diğer büyüme faktörlerinin bulunmasına bağlı olup interferon- $\gamma$  sayesinde daha da artar.<sup>151-154</sup> PDGF trombositlerin başlıca büyüme faktörü olmasına rağmen, makrofaj ve endotel hücrelerinden de sentez edilip salınabilmektedir.<sup>15</sup>

Trombosit kaynaklı büyüme faktörünün nötrofil, monosit, makrofaj ve fibroblastlar için kemotaktik olmasının diğer büyüme faktörlerinin varlığından bağımsız olmasının yanısıra, yara iyileşmesinin ileri safhalarında kollajenaz aktivasyonu yaparak remodelinge katkıda bulunması gibi bir özelliği de vardır.<sup>145,151,153,155-157</sup> PDGF ve TGF- $\beta$  yara iyileşmesinde rol oynayan faktörler olup genellikle sinerjistik etki gösterir. Kollajen miktarını arttıran bu iki proteinin de kemik, periodonsiyum ve deri iyileşmesini stimüle ettiği, yara kuvvetini arttırdığı gösterilmiştir.<sup>157</sup>

Trombosit kaynaklı büyüme faktörü kemik iyileşmesine temel olarak osteoblast ve inflamatuvar mediatörlerin kemotaksisi, kemik hücre proliferasyonu, kollajen sentezini ve döngüsünü arttırması, kemik matriks sentez ve döngüsünü uyarması ve diğer anjiyogenik faktörlerin salınımını uyarması yoluyla yardımcı olur (Çizelge 2-1).<sup>158</sup>

#### **2.4.1.2 TGF- $\beta$ (Transforme Edici Büyüme Faktörü- $\beta$ )**

TGF- $\beta$ , kemik morfogenetik proteinlerinin de (BMP) üyesi olduğu büyüme ve farklılaşma faktörlerinin bir süper ailesi olarak adlandırılır.<sup>159</sup> TGF- $\beta_1$  ve TGF- $\beta_2$

moleküler ağırlığı yaklaşık 25 kD olan, TZP içinde en yaygın bulunan büyüme faktörlerindedir. Bu proteinler, bağ dokusu iyileşmesi ve kemik rejenerasyonunda önemli rol oynar.<sup>160</sup> TGF- $\beta$ , başlıca osteoblast ve trombositler olmak üzere birçok hücre ve doku tarafından üretilmektedir.<sup>11,15</sup> TGF- $\beta_1$  ve TGF- $\beta_2$  osteoblast prekürsörlerinin kemotaksisi ve mitogenezisi üzerine etkilidir. Ayrıca, osteoblastların kollajen sentezlemesini sağlar. Trombosit degranülasyonu sonucu veya makrofajlar tarafından aktif olarak salgılanan TGF- $\beta$ ' lar, fibroblastlar, ilik kök hücreleri ve preosteoblastlar üzerinde parakrin etki göstermektedir (Çizelge 2-1).<sup>15,152</sup>

#### **2.4.1.3 IGF-I (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü)**

IGF-I, fibroblast, kondrosit, keratinosit, osteoblast, mezanşimal eritroid progenitör hücreler gibi pek çok hücre tipinin çoğalmasını arttırarak büyümeyi uyarır. PDGF ile birlikte olduğunda daha iyi bir etki gösterir. Dolaşımdaki IGF-I'in protein sentezini, periferel glukoz alımını, glikojen sentezini, sinir sağ kalımını, miyelin sentezini, kemik oluşumunu arttıran anabolik etkileri arttırdığı, kaslardaki protein yıkımı gibi katabolik etkileri azalttığı bilinmektedir.<sup>161,162</sup> Aşıl tendonunda travma oluşturarak yapılan çalışmada IGF-I düzeyinin arttığı görülüp tendon iyileşmesinde muhtemelen mitozu arttırarak etki gösterdiği düşünülmüştür. Egzojen olarak verilen IGF-I'in DNA, kollajen ve proteoglikanı arttırdığı gösterilmiştir.<sup>151,155</sup> İnsülin benzeri büyüme faktörünün proteoglikan sentez ve yıkımını dengeleyerek kıkırdak homeostazında önemli rol oynadığı öne sürülmüş ve atlarda yapılan kıkırdak defekti modelinde fibrin pıhtıya IGF ilave edilerek bu defekte uygulandığında onarılan dokunun kalite ve miktarını arttırdığı gözlenmiştir (Çizelge 2-1).<sup>154</sup>

#### **2.4.1.4 EGF (Epidermal Büyüme Faktörü)**

EGF, yara iyileşmesinin erken safhalarında fibronektin gibi proteinlerin üretimini ve epitel hücre göçünü uyarır. Kollajen üretimini arttırmadan fibroblastların çoğalmasını sağladığı düşünülmüş olmasına rağmen Brown ve ark.<sup>163</sup> sıçanlarda insizyon bölgelerine biyosentetik EGF uygulamalarının ardından yaptıkları elektron mikroskopik incelemede artmış kollajen oluşumu göstermişler ve 7-14 gün sonra yara gerim kuvvetinin %200 arttığını bildirmişlerdir. İn vivo olarak anjiogenezi uyardığı bilinen EGF ile yapılan klinik çalışmalarda gümüş sülfadiazin içine koyularak kronik yaralara uygulandığında epitelizasyonu arttırdığı saptanmıştır (Çizelge 2-1).<sup>164</sup>



#### **2.4.1.5 FGF (Fibroblast Büyüme Faktörü)**

FGF mitojenik polipeptid ailesindedir. İçlerinde en çok incelenmiş olan alt grup bFGF; fibroblastlar, endotel hücreleri, osteoblastlar, kondrositler ve keratinositler üzerinde mitozu arttırıcı etki gösterir, anjiogenezis ve endotelyal hücre göçünde rol oynar, TGF- $\beta$ 'nın dağılımını arttırıcı etki yapar. VEGF ve TNF- $\alpha$  ile birlikte olduğunda maksimum anjiogenik etkisini gösterir. Yara iyileşmesinde özellikle keratinositlerin proliferasyon ve göçüne neden olur. Anjiogenezin başlaması için gerekli olan fibroblastlardan kollajenaz üretimi ve kapiller endotel hücrelerinin proliferasyonunu sağlar.<sup>165</sup> Granülasyon dokusu oluşumunu başlatmaya da yardımcı olur.<sup>153</sup> Kemik iyileşmesi için düşünüldüğünde, kırık bölgesinde anjiyogenezis arttırarak, osteoblast diferansiasyon ve proliferasyonunu doz bağımlı uyararak, mekanik dayanıklılığı arttırarak yardımcı olur (Çizelge 2-1).<sup>138,139</sup>

#### **2.4.1.6 VEGF (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü)**

Vasküler endotelyal büyüme faktörü en kuvvetli anjiogenezis uyarıcısıdır.<sup>166</sup> Kendi salınımından sonra diğer proteoglikan bağı salınımı olan büyüme faktörlerinin de salınımını uyarır. Anjiogenezin ilk basamaklarında vasküler bazal membranların yıkılması için gerekli olan kollajenaz ve jelatinazın indüksiyonuna, daha sonra yine anjiogenez için gerekli olan  $\alpha$  integrinlerin ekspresyonuna neden olarak iyileşen dokuda anjiogenezis başlatır. Doğrudan mitotik etkisinin yanında, VEGF bir taraftan kısmen nitrik oksit sentezini uyararak vazodilatasyona neden olurken, diğer taraftan hücre göçünü ve apoptozu inhibe eder.<sup>167</sup> Yara iyileşmesinde önemli rol oynayan fibroblast, inflamatuvar ve endotelyal hücrelerin proliferasyon ve göçünün uyarılmasında görevlidir ve vasküler geçirgenliği arttırır.<sup>152,167,168</sup>

VEGF kemik iyileşmesi bölgesine osteoblastlar, osteoklastlar ve mezenkimal hücrelerden yoğun olarak salınır. Kırık bölgesinde yeni damar oluşumu arttırarak kemik iyileşmesine yardımcı olur (Çizelge 2-1).<sup>138,139</sup>

**Çizelge 2-1** TZP içerisinde varlığı saptanmış başlıca büyüme faktörleri ve temel özellikleri.

<b>İZOFORMLARI</b>	<b>SENTEZLENDİĞİ HÜCRELER</b>	<b>FONKSİYONU</b>
<b>TGF-β</b>	5 izoformu vardır. β1 ve β2 Trombositler, makrofajlar, lenfositler, nötrofiller, mezenşimal kök hücreleri (MKH), osteoblastlar, kemik matriksi. <sup>143</sup>	Kemotaksis, MKH farklılaşması, anjiyogenez destekleyen osteoblast kollajen üretimi, kemik rezorpsiyonu ve osteoklastogenez inhibisyonu gerçekleştirirler. Diğer büyüme faktörlerine bağlı olarak MKH'ye mitojenik etki ve epitelyal hücre proliferasyonu inhibisyonu sağlarlar. <sup>143</sup>
<b>PDGF</b>	3 izoformu vardır. Bunlar Trombositler, makrofajlar, AA, AB ve BB'dir. <sup>150</sup> osteoblastlar, kondrositler, fibroblastlar, keratinositler <sup>143,170</sup>	İndirekt olarak makrofajlar yoluyla anjiyogenezisi başlatırlar. Enflamatuar hücrelerin kemotaksisi ve aktivasyonunu, kemotaksisini ve mezenşimal hücre proliferasyonunu kolaylaştırıp, kollajen tip I formasyonunu desteklerler. <sup>143</sup>
<b>FGF</b>	3 izoformu vardır. Bunlar Fibroblastlar, osteoblastlar, Tip I (asidik), tip II (bazik) ve tip 4'dür. <sup>170</sup>	Osteoblastların proliferasyonunu ve farklılaşmasını arttırmak, osteoklastların inhibisyonunu sağlarlar. <sup>143</sup> Fibroblastlar üzerinde proliferasyonlarını ve fibronektin sentezlerini artırıcı etkileri vardır. <sup>143,170</sup> Endotelyal hücreler üzerindeki mitojenik ve kemotaktik etkileriyle anjiyogenezisi desteklerler. <sup>170</sup>
<b>IGF</b>	2 izoformu vardır. Bunlar Trombositler, makrofajlar, Tip I ve tip II'dir. <sup>143</sup> osteoblastlar, MKH ve kemik matriksi. <sup>143</sup>	MKH ve çevreleyen hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşmasını BMP'ler ve TGF-β ile benzer yol izleyerek indüklerler, osteoblastların osteokalsin, alkanin fosfataz ve tip I kollajen üretimini stimüle ederler. <sup>143</sup> Fibroblast proliferasyonunu desteklerler. <sup>170</sup>
<b>VEGF</b>	4 izoformu vardır. <sup>143</sup> Trombositler, makrofajlar, osteoblastlar, düz kas hücreleri ve keratinositler. <sup>143,170</sup>	Damarsal hiper-permeabilite sağlayarak endotelyal hücrelerin kemotaksisi ve proliferasyonu üzerinde etkilidir. <sup>143</sup> Bu fonksiyonun ise TGF-β ve PDGF ile düzenlendiği düşünülmektedir. <sup>143</sup>
<b>EGF</b>	Tek bir izoformu vardır. <sup>170</sup> Trombositler, fibroblastlar, endotelyal hücreler. <sup>143</sup>	Endotelyal hücrelerle birlikte fibroblastlar, renal hücreler, mezenşimal hücrelerden kaynaklanan glial hücreler üzerinde mitojenik, proapoptik ve migrasyonu ile farklılaşma aktivitesini desteklerler. <sup>143</sup> Reepitelizasyon etkisi mevcuttur. <sup>170</sup>

### 2.4.2 Büyüme Faktörlerinin Osteogeneze Etkisi

Kemiğin yeniden şekillenmesinde; kemik rezorpsiyonu ve kemik oluşumu bir arada meydana gelmektedir. Bu iki olayda büyüme faktörleri kritik rol oynamaktadır. Osteoklastik kemik rezorpsiyonunun başlangıcı PTH hormonunun kontrolü altındadır. Osteoklastik kemik rezorpsiyonu sırasında, rezorbe olan kemik matriksinden büyüme faktörleri salınmaktadır. Özellikle TGF- $\beta$  devam etmekte olan osteoklastik aktivasyonu inhibe eder. TGF- $\beta$  ve IGF'ler komşu periosteal yüzeylerdeki osteoprogenitör hücrelerin proliferasyonunu stimüle ederken; BMP'ler diferansiasyonu meydana getirir. Daha sonra; PDGF ve TGF- $\beta$  osteoblastların rezorpsiyon bölgesine kemotaksik migrasyonunu sağlar. Bu osteoblastlar, büyüme faktörlerinin otokrin ve parakrin sekresyonu ile kemik matriksinin sentezini meydana getirir.

Kemik iyileşme olayı sırasında; yeni kemik oluşumunu sağlayan osteoblast ve osteoprogenitör hücrelerin proliferasyonu ve diferansiasyonunun devamlılığı için büyüme faktörlerinin sürekli varlığı gereklidir. İyileşmenin erken fazında; kan pıhtısı içerisinden salınan TGF- $\beta$  ve PDGF, osteoprogenitör hücrelerin proliferasyonunu başlatır. Travmatize olmuş kemik uçlarından salınan büyüme faktörleri osteoblastik aktiviteyi devam ettirir.<sup>171</sup> IGF-I, fibroblast, kondrosit, keratinosit, osteoblast, mezangial eritroid progenitör hücreler gibi pek çok hücre tipinin çoğalmasını arttırarak büyümeyi uyarır. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü ile birlikte olduğunda daha iyi bir etki gösterir.<sup>161,162</sup> VEGF kemik iyileşmesi bölgesine osteoblastlar, osteoklastlar ve mezenkimal hücrelerden yoğun olarak salınır. Kırık bölgesinde yeni damar oluşumunu arttırarak kemik iyileşmesine yardımcı olur.<sup>138,139</sup> FGF de benzer şekilde kırık bölgesinde anjiyogenezi arttırarak, osteoblast diferansiasyon ve proliferasyonunu doz bağımlı uyararak, mekanik dayanıklılığı arttırarak kemik iyileşmesine yardımcı olur.<sup>138,139</sup>

### 2.4.3 TZP Hazırlama Yöntemleri

TZP hazırlanması sırasında amaç aynı olmasına rağmen, literatürde, araştırmacıların kullandıkları yöntemlerde santrifüj sırasında uygulanan g ya da rpm değeri, santrifüj sayısı ve süreleri ile ilgili birleştikleri ortak bir nokta olmadığı, bazı araştırmacıların uyguladıkları santrifüj işlemiyle ilgili g değerini bildirirken<sup>144,172,173</sup> bazı araştırmacıların rpm değerini bildirdikleri<sup>15,174,175</sup>; bazı araştırmacıların ise tek santrifüj uyguladıklarını<sup>172,176</sup>, bazılarının da çift santrifüj uyguladıkları<sup>174,175</sup> görülmüştür. Bununla birlikte TZP hazırlama yöntemleri trombosit zengin plazma yöntemi ve

buffy-coat yöntemi olarak ana iki başlık altında toplanabilir. Trombositten zengin plazma yöntemi genellikle Amerika Birleşik Devletleri'nde, buffy-coat ise daha çok Avrupa'da uygulanan metotlardır.

Trombositten zengin plazma yönteminde, elde edilen venöz kan ilk olarak yavaş bir dönme hızında ve kısa süreli olarak santrifüj edilerek kan iki bölüme ayrılmaktadır. Bu bölümlerden tüpün alt kısmında kalan tabaka eritrositlerden, üstte kalan kısım ise trombosit ve kanın diğer şekilli elemanlarından oluşmaktadır. Eritrositlerin olduğu tabaka ayrıldıktan sonra geri kalan kısım daha süratli bir dönme hızında ve uzun süreli olarak ikinci bir santrifüj işlemine tabi tutulmaktadır. Santrifüj sonrası bu kez tüpün taban kısmında molekül ağırlığı en yüksek hücre olan trombositlerin ve az miktarda da lökositlerin biriktiği düşünülmektedir. Altteki bu kısım tedavi işlemlerinde kullanılmaktadır.<sup>177</sup>

Buffy-coat yönteminde ise venöz kan alındıktan hemen sonra yüksek hızda santrifüj işlemine tabi tutulmakta ve bu işlem sonrası venöz kan farklı renkten oluşan üç tabakaya ayrılmaktadır. Bu tabakalar en alt kısım eritrosit, ortadaki kısım trombosit ve lökosit, üst kısım ise hücresiz plazmanın olduğu düşünülen katmanlardır. İşlemin devamında eritrosit ve trombosit tabakaları ikinci tüpe aktarılıp düşük hızda santrifüj işlemi uygulanarak trombosit konsantrisi elde edilmektedir. Bu iki temel hazırlama anlayışından yola çıkılarak çok sayıda TZP hazırlama yöntemi tanımlanmıştır.<sup>177</sup>

Bununla birlikte trombositten zengin plazma sadece pıhtılaşmamış kandan yapılabilir. Trombositler pıhtının bir parçası haline geldiğinden pıhtılaşmış kandan elde edilemez. Kan hücreleri ve pıhtılaşma proteinleri uzaklaştırıldığında arda kalanları içeren kanın şeffaf sıvısı serum, çok az miktarda trombosit içermektedir. Bu yüzden trombositten zengin plazma serumdan da yapılamaz. TZP hazırlanması pıhtılaşma mekanizmasını inihibe etmek ve iyonize kalsiyumu bağlamak için kan içerisine sitrat eklemek ile başlamaktadır. Bu süreci 1 veya 2 basamaklı santrifüj izler. İlk santrifüj safhası plazma ve trombositlerden kırmızı ve beyaz hücrelerini ayırır. Plazma ve trombositlerden ayrıştırılan kırmızı kan hücreleri (7 µm çapındadır) ve beyaz kan hücreleri (7-15 µm çapındadır) trombositlerden (2 µm çapındadır) oldukça büyüktür. İkinci santrifüj safhası trombositleri tekrar deriştirerek trombositten fakir plazmadan (TFP) ayrılmış TZP elde etmemizi sağlar.<sup>178</sup>

#### 2.4.4 TZP Saklama Süresi

Operasyon öncesinde hastadan alınacak kan miktarı uygulamanın yapılacağı kemik defekti bölgesinin genişliğine göre ve TZP hazırlanmasında kullanılacak yöntemle göre farklılıklar gösterebilir.<sup>174</sup> TZP hazırlanış süresi de kullanılan yöntemle bağı olarak değişmekle birlikte ortalama 20-30 dk alan bir işlemdir.

TZP'nin PDGF ve TGF- $\beta$  içeriğinin uzun saklama periyotlarında azaldığı ve venöz kan alımı sonrasında 4 saat ile 3 gün arasında hücre büyümesini stimüle edici etkilerinin kademeli olarak azaldığı bildirilmiştir.<sup>147</sup> Trombositlerin agregasyon cevaplarında da saklandıkları süreç içinde belirgin bir düşüş saptandığı rapor edilmiştir.<sup>179</sup> Otojen hazırlanan TZP materyalinin, hazırlandıktan sonra en kısa zaman içinde kullanılması gerektiği<sup>179</sup>, özellikle ilk 6 saat içerisinde kullanımının materyal kontaminasyonu ve hastalık taşıyıcılığı risklerini düşük tutmada önemli olduğu bildirilmiştir.<sup>180</sup>

#### 2.4.5 TZP ile Yapılan Çalışmalar

Literatürü incelediğimizde TZP'nin güvenilirliği ve etkinliği ile ilgili sayısız makale bulunduğunu görmekteyiz. Oral ve maksillofasiyal cerrahi, otolaringoloji, plastik cerrahi, genel cerrahi, ortopedik cerrahi, oftalmolojik cerrahi vb. alanlarda bir çok hayvan çalışması ve vaka raporları ile, çeşitli klinik durumlarda TZP'nin rolü araştırılmıştır.<sup>15,80,145,157,167,172,175,180-182</sup>

TZP diş hekimliği literatüründe, ilk olarak “trombosit jeli” adıyla 1997 yılında Whitman ve ark.<sup>175</sup> yayınında yer aldığı görülmüştür. Marx ve arkadaşlarının 1998 yılında yayınladıkları olumlu sonuçlardan sonra da TZP uygulamaları artış göstermiştir.<sup>15</sup> Günümüze kadar TZP ile ilgili klinik çalışmalara bakıldığında, TZP'nin alveoler kret augmentasyonlarında<sup>15</sup>, alveoler kleftlerin cerrahi olarak tedavisinde<sup>183</sup>, implant cerrahisi ile ilgili gerekli durumlarda<sup>147,172</sup>, mandibuler rekonstrüksiyon amacıyla<sup>172</sup>, periapikal kist rezeksiyonları sonrasında<sup>148</sup>, periodontal kemik defektlerinin tedavisinde<sup>176</sup> ve sinüs tabanı elevasyonu çalışmalarında<sup>184</sup> kullanıldığı görülmektedir. TZP'nin bir büyüme faktörü deposu olarak yara bölgesine uygulanmasının birçok doku üzerinde iyileşme ve rejenerasyonu artırdığı çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir.<sup>15,172</sup>

### 3 GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Çalışmaya başlamadan önce, 05/01/2012 tarih ve 254 sayılı Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurul onayı alınmış ve çalışma sırasında Cumhuriyet Üniversitesi Etik Kurulu yönergelerinin 13. maddesinde belirtilen “Etik kurallara uygunluk esası” kararına uyulmuştur.

Çalışmamız deneysel, radyolojik ve histolojik olmak üzere üç bölüm altında planlanmıştır. Çalışmamızın deneysel kısmı Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında, radyolojik kısmı Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalında, histolojik kısmı ise Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalında gerçekleştirilmiştir.

Deneysel aşama Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Etik Kurulunun hayvan bakımı kılavuzları doğrultusunda yapılmıştır. Deney hayvanı olarak 24 adet 14-18 haftalık 2,2 - 2,7 kg ağırlığında erkek Yeni Zelanda tavşanı kullanılmıştır. Tavşanlar standart deney kafesleri içerisine konulmuş ve tavşanlara hayvan odasında (22-24°C de, %55-70 nem, 1 atm, 12 saat aydınlık/karanlık oda) yumuşak diyet uygulanmıştır. Tavşanların laboratuvar ortamına uyum sağlayabilmeleri için, deneyden iki hafta önce tavşanlar kafeslerine yerleştirilip, sağlıkları yönünden gözlemlenmiştir.

Denekler rastgele seçilerek 3 gruba ayrılmıştır.

- Kontrol grubu: 7 gün boyunca hızlı üst çene genişletmesi yapılmış, 14 gün boyunca pekiştirmede tutulmuştur. Pekiştirmenin 1. Gününde fizyolojik serum enjeksiyonu yapılmıştır. (n=8)
- Grup I: 7 gün boyunca hızlı üst çene genişletmesi yapılmış, 14 gün boyunca pekiştirmede tutulmuştur. Pekiştirmenin 1. gününde TZP uygulaması yapılmıştır. (n=8)
- Grup II: 7 gün boyunca hızlı üst çene genişletmesi yapılmış, 14 gün boyunca pekiştirmede tutulmuştur. Genişletme başladıktan 24 saat sonra ve pekiştirmenin 1. gününde olmak üzere toplamda 2 kez TZP uygulaması yapılmıştır. (n=8)

### 3.1 Araştırmanın Deney Safhasında Kullanılan Malzemeler

- 0.028" tam yuvarlak çelik tel<sup>a</sup>
- 0.016"×0.016" köşeli tel<sup>b</sup>
- 0.010" ligatür teli<sup>c</sup>
- Young pensi<sup>d</sup>
- Bird Beak pensi<sup>e</sup>
- Kesici pens<sup>f</sup>
- Portegü<sup>g</sup>
- Asma motor ve klinik piyasemen
- Piyasemen için alev uçlu ince elmas frez
- Kuvvet ölçer<sup>h</sup>
- Fotoğraf makinesi<sup>i</sup>
- Steril tek dozluk mikro enjektör<sup>j</sup>
- Curasan PRP sistem kiti<sup>k</sup>
- Heraeus Labofuge 300 santrifüj cihazı<sup>l</sup>
- Vortex mixer-Zx3 karıştırıcı<sup>m</sup>

### 3.2 Genişletme Apareyi ve Deneysel İşlemler

Tavşanların orafasiyal yapısı değerlendirildikten sonra üst kesici dişlere ortopedik kuvvet uygulanmıştır. Aparey 0.028" telden milimetrik kağıt üzerinde hazırlanmış olup, zembereğin heliksini oluşturmak için young pensinin orta ucu ile tek sarımlı büküm yapılmıştır (Şekil 3-1). Zembereğin heliksi 5mm çapında olup; dış kollar arasındaki mesafe 20 mm ve kol ile heliks arasındaki mesafe 22 mm dir. Apareyin dış kolları kesici dişlerin distallerine değiştirildiğinde ise 250 g kuvvet verecek şekilde ayarlanmıştır. Mekanik özelliklerini geliştirmek amacıyla apareye ısı işlem uygulanmıştır.

---

<sup>a</sup> Dentaaurum; 530-035-00, Germany

<sup>b</sup> Dentaaurum; 765-200-00, Germany

<sup>c</sup> Dentaaurum; 751-001-00, Germany

<sup>d</sup> Dentaaurum; 012-351-00, Germany

<sup>e</sup> Dentaaurum; 004-139-00, Germany

<sup>f</sup> Dentaaurum; 016-153-00, Germany

<sup>g</sup> Dentaaurum; 000-030-00, Germany

<sup>h</sup> Dentaaurum; 040-711-00, Germany

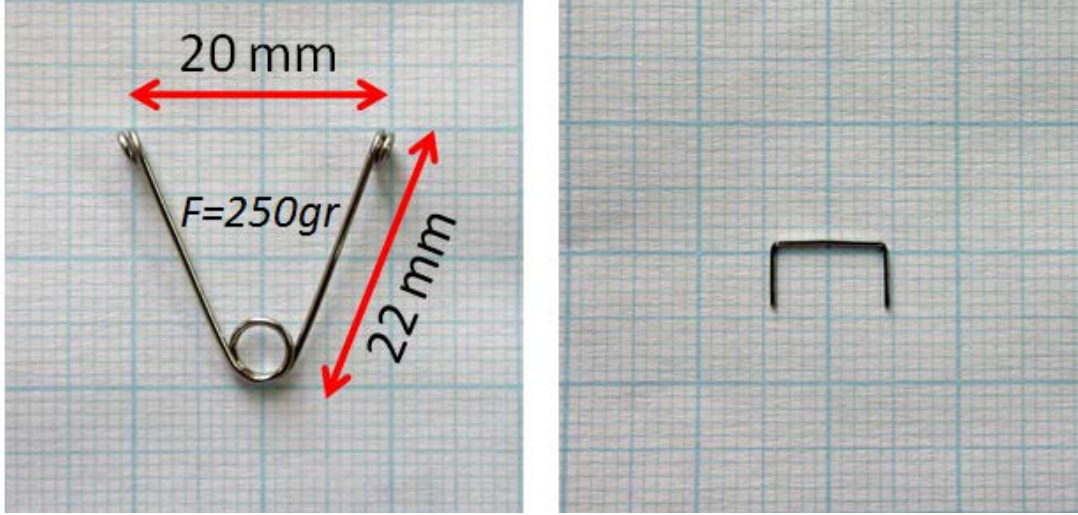
<sup>i</sup> Olympus, Camedia CD 5060, Olympus Optical Co., Ltd., Japan

<sup>j</sup> Ayset steril İnsulin TS 5659-EN ISO 1ml=40U

<sup>k</sup> PRP kit, Curasan, Pharma GmbH AG, Kleinostheim, Germany

<sup>l</sup> Heraeus Labofuge 300, Kendro Laboratory Products, Osterrode, Germany

<sup>m</sup> Vortex Mixer - ZX3, VELP Scientifica, Usmate, Italy



**Şekil 3-1** Deneyde kullanılan genişletme apareyi (solda) ve pekiştirme apareyi (sağda).

Deney hayvanları gruplarına göre kafeslere alınmıştır. Apareylerin yerinden çıkması ve dişlerin kırılması ihtimaline karşı, yem peletleri su ile yumuşatılarak deneklerin beslenmesi sağlanmıştır. Her bir tavşan, asetat kalemiyle kulağına yazılan numaralarla kimliklendirilmiş; yazılan numaraların silinme riskine karşı 2 günde bir, numaralar tekrar üzerlerinden geçilerek yenilenmiştir (Şekil 3-2). Deney süresince bütün hayvanlar ayrı ayrı kafeslerde tutulmuş ve ad libitum (hayvanların herhangi bir kısıtlama olmadan istediği kadar yiyebilmesi) olarak hazır peletlerle beslenmiş, hayvanların suya serbest olarak erişimi de sağlanmıştır. Tavşanların ortamı otomatik zaman ayarlı ışıklandırma sistemi ile 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmış, yeterli havalandırma sağlanmıştır.

Keser dişlerin gingival papil hizasından anteroposterior yönde delik açılmıştır (Şekil 3-3). Apareyin kollarındaki heliksler dişlerde açılan deliklere ligatür teli yardımıyla bağlanmıştır. Aparey deney hayvanının beslenmesini engellemek ve gıda retansiyonu oluşturmamak amacıyla ağız dışından uygulanmıştır (Şekil 3-4). Tüm bu uygulamalar 50mg/kg Ketamine-HCL<sup>a</sup> ve 9 mg/kg Ksilazin-HCL<sup>b</sup> karışımı ile sağlanan anestezi altında gerçekleştirilmiştir.

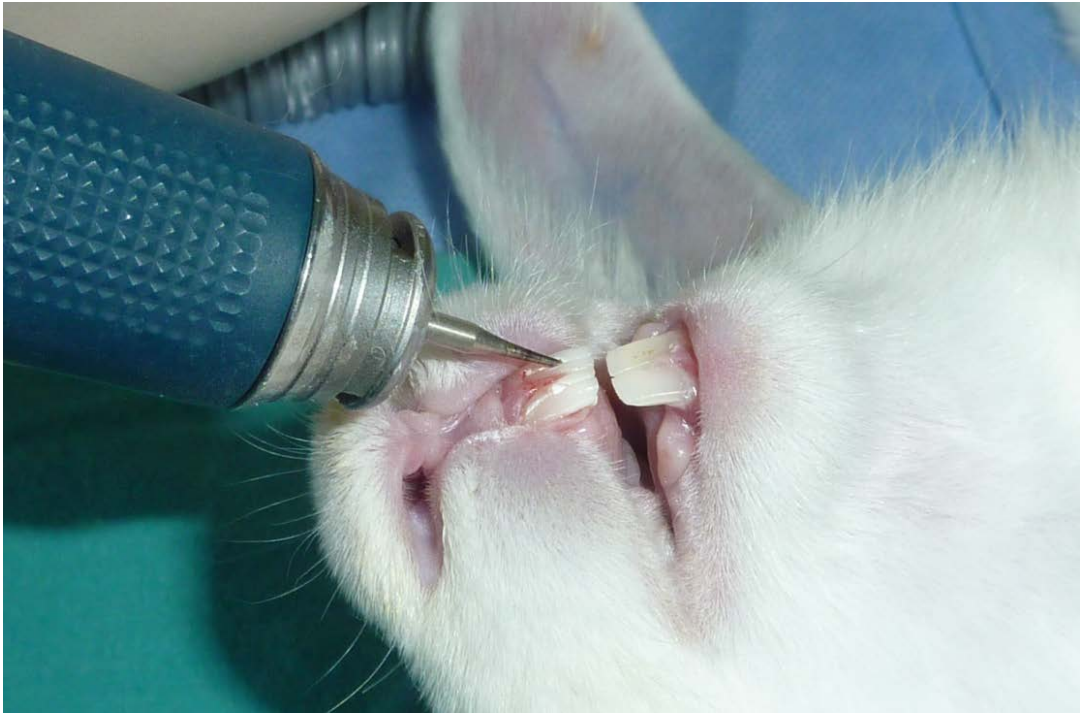
<sup>a</sup> Ketalar, Pfizer, Parke-Davis, New York, USA

<sup>b</sup> Rompun, Lloyd Pharmaceuticals, Shenandoah, IA, USA





**Şekil 3-2** Tavşanların numaralandırılması.



**Şekil 3-3** Gingival papilla hizasından delik açılması.



**Şekil 3-4** Genişletme apareyinin ağız dışından uygulanması.

Genişletme apareyinin tatbikinden itibaren 7 gün boyunca midpalatal sütürde açılma olması beklenmiş, apareyler aktive edilmemiş ve deneklerin her gün ağız içi ve genel sağlıkları gözlemsel olarak kontrol edilmiştir. 7 günlük genişletme periyodu sonucunda dişlerde aralanma meydana geldiği gözlemlenmiştir (Şekil 3-5). Genişletme sonrası genişletme apareyi çıkartılmış yerine 0.016"×0.016" köşeli çelik telden pekiştirme apareyi yerleştirilmiş ve pekiştirme fazına geçilmiştir (Şekil 3-6).

Deney prosedürünü tavşanların iyi tolere ettikleri gözlenmiştir. İki adet tavşan anestezi sonrasında uyanamayıp hayatını kaybetmiş, ayrıca iki tavşanın daha deneysel işlemler sırasında kesici dişleri kırıldığından bunların yerine aynı kilo ve yaşta, daha önce çalışılmamış 4 adet tavşan çalışmaya dâhil edilmiştir. Başka herhangi bir tavşanda kayda değer bir probleme rastlanmamıştır.

Genişletme apareyi uygulanan 24 tavşandan 5 tanesinin dişlerinde delik açılan kısmın dişlerin uzamasından dolayı giderek insizale yer değiştirmesinden ve ligatür telini koparmalarından dolayı sonraki günlerde apareylerin düştüğü gözlemlenmiştir. Bu apareyler aynı gün içerisinde tekrar bağlanmıştır.



**Şekil 3-5** 7 günlük genişletme sonrası dişlerin aralanması.



**Şekil 3-6** Genişletme sonrası kesici dişlere takılan pekiştirme apareyi.

### 3.3 TZP Hazırlanması ve Uygulanması

Kontrol grubuna pekiştirmenin başladığı gün fizyolojik serum enjeksiyonu yapılırken, Grup I ve Grup II' ye TZP uygulanmıştır. Grup I' e pekiştirmenin başladığı gün, Grup II' ye genişletme başladıktan 24 saat sonra ve pekiştirmenin başladığı gün olmak üzere 2 kez TZP uygulanmıştır. TZP hazırlanması amacıyla tüm tavşanlardan standart, özel olarak üretilmiş, steril, tek kullanımlık monovet ve enjektör setleri<sup>a</sup> ile bu monovetlere uygun düzenlenmiş santrifüj cihazı<sup>b</sup>, monovet rafı, vorteks karıştırıcı<sup>c</sup> kullanılmıştır.

TZP üretici firmanın tavsiye ettiği prosedürle hazırlanmıştır. Curasan TZP seti kullanım kolaylığı açısından kullanım sırasına göre farklı renklerle işaretlenmiş monovetlerden oluşmuştur (Şekil 3-7). Önce kan alımında kullanılan kırmızı işaretli monovet<sup>d</sup> ve kırmızı işaretli kelebek iğne seti<sup>e</sup>, daha sonra, sırasıyla, sarı 4,9 ml monovet<sup>f</sup>, sarı adaptör<sup>g</sup>, sarı 0,8×80 mm enjektör iğnesi<sup>h</sup> ve sarı hava kanülü<sup>i</sup>, mavi 9 ml monovet<sup>j</sup>, mavi adaptör<sup>k</sup>, mavi 0,8×120 mm enjektör iğnesi<sup>l</sup> ve mavi hava kanülü<sup>m</sup> ve son olarak da hazırlanan TZP'nin uygulama alanına taşınacağı yeşil işaretli enjektör<sup>n</sup> ve yeşil 0,8×120 mm enjektör iğnesi<sup>o</sup> kullanılmıştır.

TZP hazırlanmadan önce tavşanlar enjeksiyon kafesine konularak sabitlenmiştir. Kan alma işleminden önce ksilol yardımıyla marjinal kulak veni genişletilmiştir. Kırmızı kelebek iğne seti ve 0.5 ml %10'luk trisodyum sitrat içeren kırmızı monovet kullanılarak tavşanların marjinal kulak veninden 8 ml kan alınmıştır (Şekil 3-8).

---

<sup>a</sup> PRP kit, Curasan, Pharma GmbH AG, Kleinostheim, Germany

<sup>b</sup> Heraeus Labofuge 300, Kendro Laboratory Products, Osterrode, Germany

<sup>c</sup> Vortex Mixer - ZX3, VELP Scientifica, Usmate, Italy

<sup>d</sup> 8,5 ml CPDA monovette, Sarstedt, Cat. no. 01.1600.001

<sup>e</sup> Multifly seti, Sarstedt, Cat. no. 85.1637.005

<sup>f</sup> Sarstedt, Cat. no. 02.1726.001

<sup>g</sup> Sarstedt, Cat. no. 93552213

<sup>h</sup> Melsungen, Ref. No. 4665465

<sup>i</sup> Intake air cannulas, Melsungen, Ref. no.4190017

<sup>j</sup> Sarstedt, Cat. no. 02.1727.001

<sup>k</sup> Sarstedt, Cat. no. 93552213

<sup>l</sup> Melsungen, Ref. No. 4665643

<sup>m</sup> Melsungen, Ref. no. 4190017

<sup>n</sup> Sarstedt, Ref. no. 9161406F

<sup>o</sup> Melsungen, Ref. no. 4665643



**Şekil 3-7** Curasan TZP kiti.

Monovetlerden alınan kanın tavşanın dolaşım sistemine geri verilmemesine çok dikkat edilmiş ve kan monovetlerinin vidalı kapakları kesinlikle açılmamıştır. Karışmamamsı amacıyla tüm monovetlere, kan alınan tavşanların numaraları yazılmıştır. Alınan kan ile sitratin tam olarak karışabilmesi için monovet birkaç kez dikkatlice ters düz edilmiş, kesinlikle çalkalama yapılmamıştır. Kan alma işleminden sonra tavşanların kulakları bol su ile durulanmış ve vazelin sürülmüştür.

Antikoagülan madde ve kan homojen olarak karıştıktan sonra, kırmızı renkli monovet santrifuj cihazına yerleştirilerek 2400 devir/dk'de 10 dakika boyunca santrifuj edilmiştir (Şekil 3-9). Santrifuj işleminin sonunda, monovete alınan kanın, monovetin üst bölgesinde sarı, alt bölgesinde kırmızı renkli iki kısma ayrıştığı görülmüştür (Şekil 3-10). Sarı renkli kısmın TZP ve TFP' dan oluştuğu, kırmızı renkli kısımda ise ağırlıklı olarak eritrositlerin ve lökositlerin bulunduğu bilinmektedir.<sup>185</sup> Ayrıca, kırmızı renkli kısmın üst 1-2 mm'lik bölümünde dolaşıma yeni katılan trombositlerin de bulunduğu kimi çalışmalarda bildirilmiştir.<sup>185</sup>

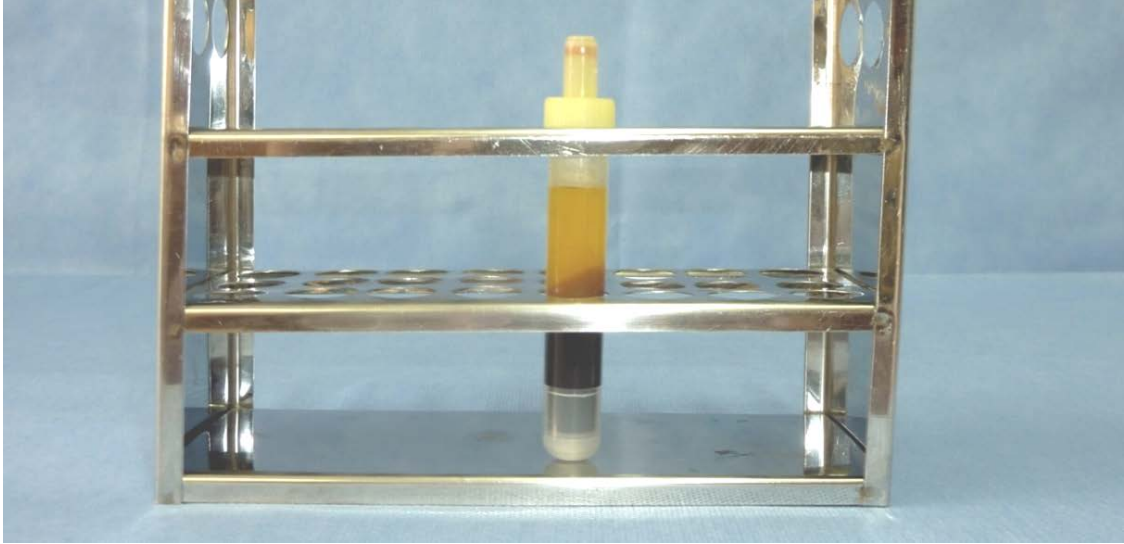
Üstteki sarı renkli kısım ve kırmızı renkli kısmın üst 1-2 mm'lik bölümü sarı renkli monovete çekilmiş ve elde edilen yaklaşık 4 ml'lik plazma ikinci kez santrifuj edilmiştir (Şekil 3-11). 3600 devir/dk'de 15 dakika boyunca süren ikinci santrifuj işleminin sonunda plazma iki kısma ayrılmıştır. Her ne kadar çıplak gözle ayırt edilemiyor da olsa; alttaki 0,7 ml'lik kısmın TZP, üstte kalan kısmın ise TFP olduğu bilinmektedir.<sup>185</sup>



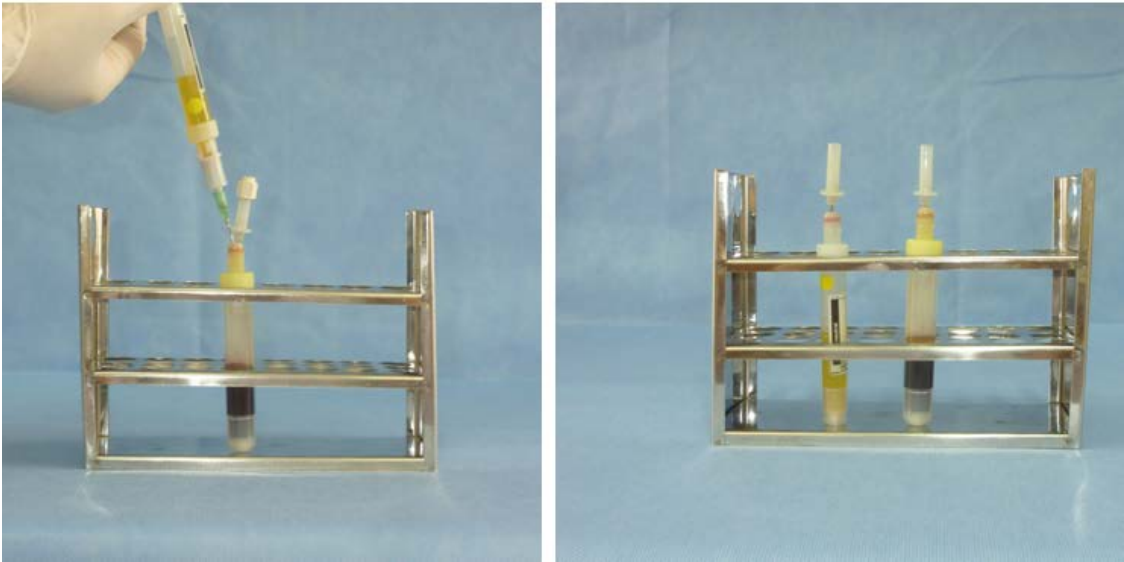
**Şekil 3-8** Marjinal kulak veninden kan alınması.



**Şekil 3-9** Kırmızı renkli monovet santrifüj cihazına yerleştirilerek 2400 devir/dk'de 10 dakika boyunca santrifüj edilmesi işlemi.

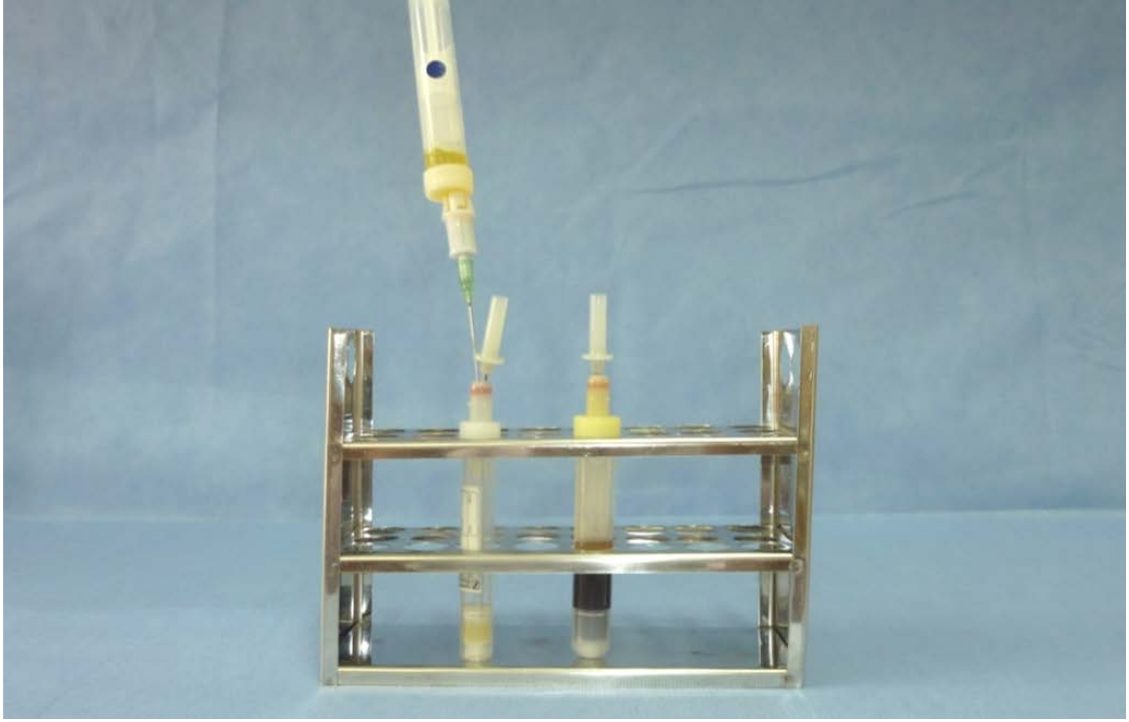


**Şekil 3-10** Santrifüj işleminin sonunda, sarı monovete çekilen kanın, monovetin üst bölgesinde sarı, alt bölgesinde kırmızı renkli iki kısma ayrışması.

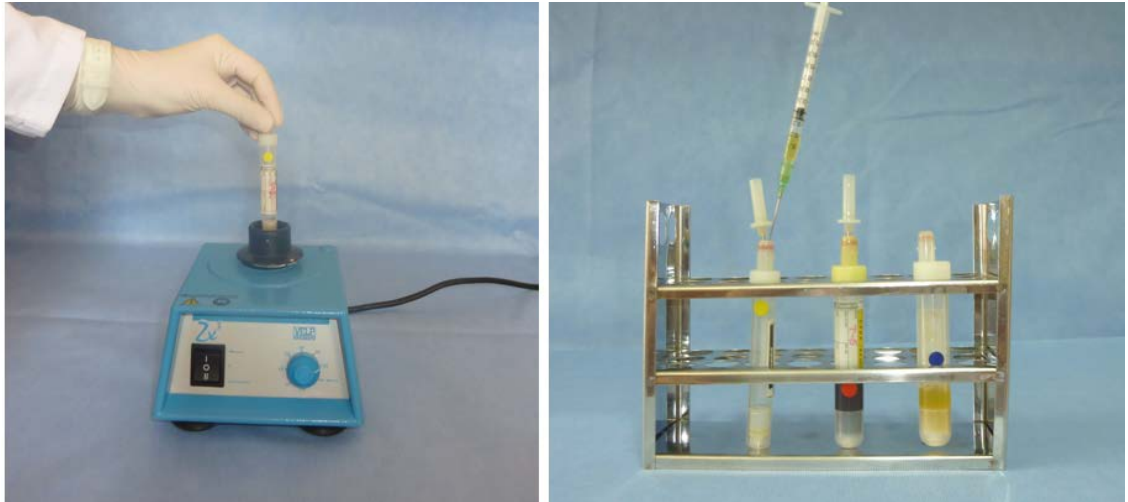


**Şekil 3-11** Santrifüj sonrası üstteki sarı renkli kısım sarı renkli monovete çekilmesi işlemi.

Üstte kalan TFP, mavi monovet içerisine alınarak sarı monovetten uzaklaştırılmıştır (Şekil 3-12). Sarı monovet içerisinde kalan yaklaşık 0,7 ml'lik TZP ise trombositlerin aktivasyonu için vorteks karıştırıcısında yaklaşık 20 sn boyunca karıştırılarak insülin enjektörüne alınmış ve kullanıma hazır hale getirilmiştir (Şekil 3-13).



**Şekil 3-12** İkinci santrifüj sonrası üstte kalan TFP, mavi monovet içerisinde alınarak sarı monovetten uzaklaştırılması.

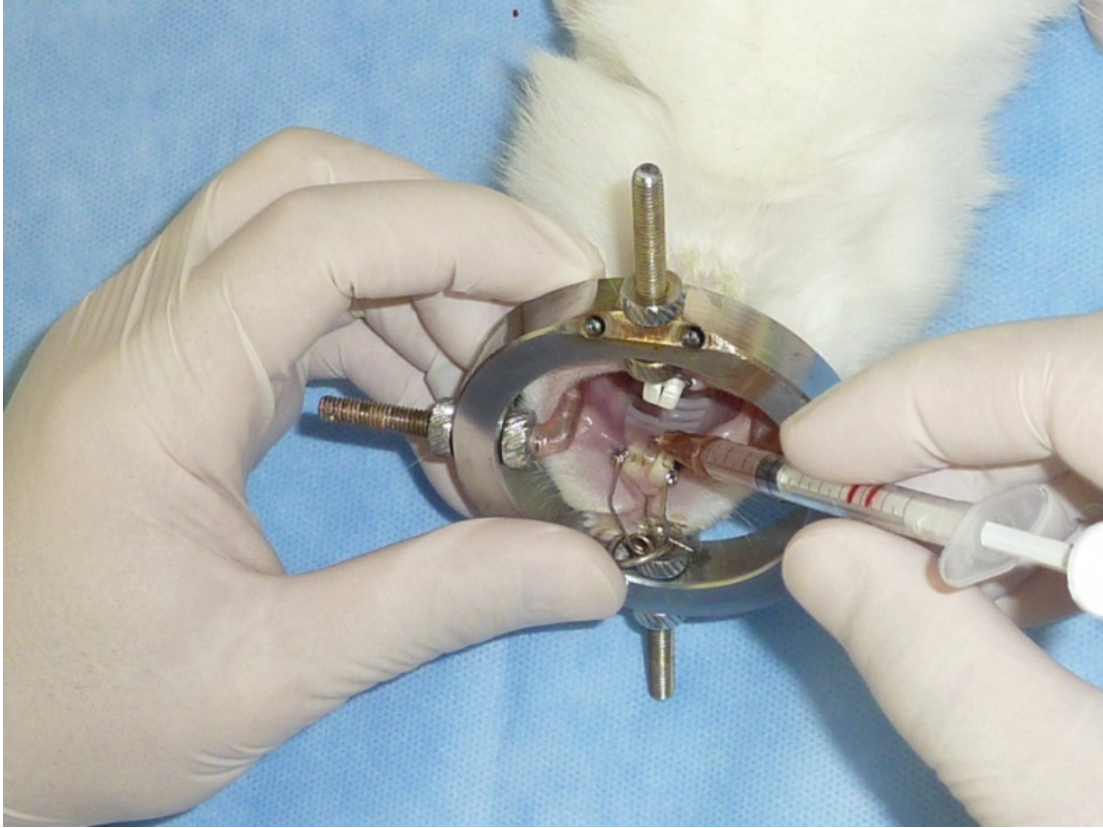


**Şekil 3-13** Sarı monovet içerisindeki TZP ise vorteks karıştırıcısında 20 sn boyunca karıştırılarak insülin enjektörüne alınması.



Santrifüj edilmiş monovet aynı şekilde dikey konumda dikkatlice çıkartılarak monovet rafına dik olarak yerleştirilmiş, bir sonraki tavşanın TZP üretimi için santrifüj bir dezenfektan ile dikkatlice temizlenmiştir.

TZP uygulaması 50mg/kg Ketamine-HCL ve 9 mg/kg Ksilazin-HCL kullanılarak anestezi uygulaması altında gerçekleşmiştir. Operasyon bölgesinde daha rahat çalışmak amacıyla tavşanların ağızları ekartör yardımıyla açılıp sabit tutulmuştur (Şekil 3-14). Elde edilen TZP homojen bir dağılım sağlamak açısından sütür boyunca önden arkaya doğru 3 ayrı noktadan sütür içerisine lokal olarak enjekte edilmiştir.



**Şekil 3-14** Tavşan midpalatal sütürü içerisine TZP enjeksiyonu.

#### **3.4 Deneyin Sonlandırılması**

21 günlük deney süreci sonunda tüm gruplardaki tavşanlar 200mg/kg sodyum pentobarbital ile sakrifiye edilmiş ve ardından deneklerin üst çeneleri diseke edilerek fiksasyon işlemi için %10'luk formalin solüsyonuna konulmuştur. Maksiller sütürdeki nüks etme olasılığını engellemek için pekiştirme apareyleri fiksasyon işlemi tamamlandıktan sonra çıkartılmıştır. Geriye kalan hayvan atıkları plastik torba içinde toplanmış ve hastane tıbbi atık bölümüne gönderilmiştir.

### 3.5 Örneklerin Değerlendirilmesi

#### 3.5.1 Radyolojik Değerlendirme

Çalışmadaki suturel genişletme sonrası oluşan yeni kemik yoğunluğunun değerlendirilmesi için Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı'nda çok kesitli bilgisayarlı tomografi (ÇKBT) ile deney başlangıcında (T0), genişletme sonrası (T1) ve pekiştirme sonrası (T2) görüntüler elde edilmiştir.

ÇKBT cihazında\* anestezi altında tavşanlar yüzüstü pozisyonda gantriye yerleştirilmiş, 0,5 mm kalınlığında aralıksız aksiyal kesitler alınmıştır (Şekil 3-15).

Alınan kesitler daha sonra çalışma istasyonundaki monitörlerde bilgisayar yazılımı<sup>Ω</sup> aracılığıyla incelenmiştir. Elde edilen görüntüler aksiyal, koronal, sagittal ve 3 boyutlu olarak değerlendirilerek midpalatal suturedeki açılma ile oluşan yeni kemiğin yoğunluğu ölçülmüş (Şekil 3-16) bununla birlikte üst kesici dişler arası mesafe gingival sınırdaki dişlerin mezial kenarlarından ölçülerek hesaplanmıştır (Şekil 3-17).



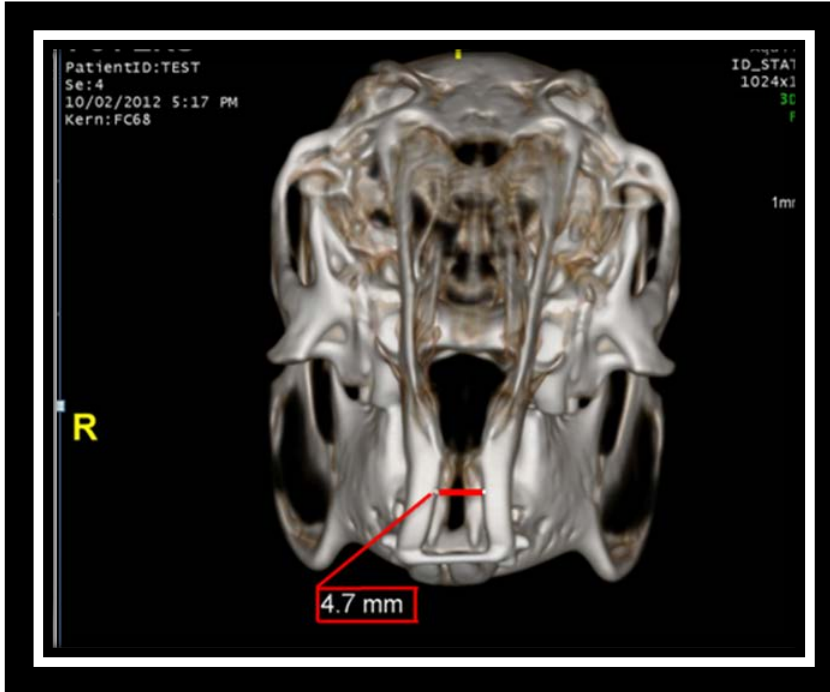
**Şekil 3-15** Tomografi görüntüleri alınırken deneklerin gantriye standart pozisyonda yerleştirilmesi.

\* Aquilion CX, Toshiba Medical Systems, Otawara, Japan

<sup>Ω</sup> Aquarius iNtuition edition, version 4.4.6; TeraRecon, San Mateo, California, USA



Şekil 3-16 Genişletme sonrası sütür bölgesinde oluşan kemik dokusunun yoğunluğunun değerlendirilmesi.



Şekil 3-17 Genişletme sonrası üst kesici dişler arasındaki mesafenin değerlendirilmesi.

### 3.5.2 Histolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Deney hayvanlarından alınan doku örnekleri rutin parafin doku takip protokolüne uygun olarak % 10'luk formalin içinde 24-48 saat tespit edilmiştir. Daha sonra dekalsifikasyon işlemi için, örnekler EDTA (ethylenediaminotetra-acetic acid) solüsyonu içerisinde (100 ml 0.1 M fosfat tamponda çözünmüş, pH: 7.1) iki günde bir değiştirilerek, + 4°C'de 4 hafta süreyle, kontrol edilerek takip edilmiştir.

Derecesi giderek artan alkol serileri ile dehidratasyonu takiben, ksilen ile şeffaflaştırma işlemi uygulanan doku örnekleri parafine gömülmüştür (Çizelge 3-1).

**Çizelge 3-1** Parafin doku takip protokolü

İŞLEM	MADDE	SÜRE
<b>TESPİT</b>	% 10 FORMALİN	24-48 SAAT
<b>DEKALSİFİKASYON</b>	EDTA	4 HAFTA
	AKAR SU	12 SAAT
<b>DEHİDRATASYON</b>	% 60 ALKOL	½ SAAT
	% 70 ALKOL	½ SAAT
	% 80 ALKOL	½ SAAT
	% 95 ALKOL	½ SAAT
	% 100 ABSOLÜ ALKOL	1 SAAT
<b>ŞEFFAFLAŞTIRMA</b>	ALKOL:KSİLEN (1:1)	½ SAAT
	KSİLEN I	1 SAAT
	KSİLEN II	1 SAAT
<b>İNFİLTRASYON (60°C)</b>	KSİLEN-PARAFİN (1:1)	½ SAAT
	PARAFİN I	1 SAAT
	PARAFİN II	1 SAAT
<b>GÖMME</b>	PARAFİN	1 SAAT

Bloklardan alınan 5 µm kalınlıktaki kesitler, deparafinize ve rehidrate edilerek Hematoksilen-Eosin (H-E) ile boyanmıştır (Çizelge 3-2). Işık mikroskop altında incelenerek değerlendirme yapılmıştır.

**Çizelge 3-2** Hematoksilen-Eozin boyama protokolü

<b>İŞLEM</b>	<b>MADDE</b>	<b>SÜRE</b>
<b>DEPARAFİNİZASYON</b>	60 °C etüvde	1 GECE
	KSİLEN I	30 DAKİKA
	KSİLEN II	30 DAKİKA
<b>REHİDRATASYON</b>	% 95 ALKOL	2 DAKİKA
	% 80 ALKOL	2 DAKİKA
	% 70 ALKOL	2 DAKİKA
	% 60 ALKOL	2 DAKİKA
<b>YIKAMA</b>	AKAR SU	5 DAKİKA
<b>BOYAMA</b>	HEMATOKSİLEN	5 DAKİKA
<b>YIKAMA</b>	AKAR SU	5 DAKİKA
<b>DİFERANSİYASYON</b>	ASİT-ALKOL	1-2 SANİYE
<b>YIKAMA</b>	AKAR SU	5 DAKİKA
<b>BOYAMA</b>	EOZİN	3 DAKİKA
<b>YIKAMA</b>	AKAR SU	5 DAKİKA
	% 80 ALKOL	1 DAKİKA
	% 95 ALKOL	1 DAKİKA
<b>KURUTMA (ETÜVDE)</b>	KSİLEN	1 SAAT
<b>KAPAMA</b>	ENTELLAN	

Aynı dokulardan yapılan ek kesitler anti-BMP-4 ve anti-TGF- $\beta$  primer antikorları kullanılarak indirekt immünohistokimyasal boyama için hazırlanmıştır (Çizelge 3-3). Deparafinizasyon işlemi yapılan kesitler önce tripsinize edilip dakopen ile çevrelenerek, dokuda bulunan peroksidaz aktivitesini inhibe etmek için % 3'lük hidrojen peroksidaz uygulanmıştır. Fosfat tamponu (PBS) ile yıkanan kesitlere spesifik boyanma sağlama amacıyla non-immün bloklama serum ile inkübe edilmiştir.

Kesitler yıkanmadan bloklama solüsyonu uzaklaştırılmış ve anti-BMP 4<sup>\*</sup>, anti-TGF- $\beta^{\Omega}$ , primer antikoru ile 1:100 dilüsyonlarında 18 saat + 4° C’de nemli ortamda inkübe edilmiştir.

Sekonder kit olarak avidin-biotin-peroksidaz sistemi<sup>#</sup> kullanılmış, PBS ile yıkanan kesitler biyotinle işaretlenmiş hidrojen peroksidaz sekonder antikoru ile 30 dakika inkübe edilmiştir. PBS ile yıkanan kesitlere 30 dakika boyunca streptavidin uygulanmıştır. İmmünoaktivitenin görünür hale gelebilmesi için DAB<sup>δ</sup> uygulanan kesitler, Mayer’s hematoksilen ile artalan boyaması yapılarak alkolden geçirilip, ksilen ile şeffaflaştırma yapılarak entellan ile kapatılmıştır (Çizelge 3-4).

İmmünoaktivitelerin spesifik olup olmadığını test etmek amacı ile birer kesit kontrol boyaması için ayrılmış ve antikor uygulanmadan boyama gerçekleştirilmiştir.

Işık mikroskobu<sup>♦</sup> altında X 40 objektif ile immün boyalı kesitler incelenerek, immünoaktivitenin şiddetine göre hafif (1, +), orta (2, ++), şiddetli (3, +++) ve çok şiddetli (4, +++) olarak skorlanmıştır.

**Çizelge 3-3** İmmünohistokimya için kullanılan malzemeler

<b>MALZEME</b>	<b>FİRMA</b>	<b>KAT. NO</b>
<b>Dako Pen</b>	Invitrogen	00-8877
<b>Tripsin</b>	Invitrogen	00-3008
<b>Anti- BMP 4</b>	Chemicon International	Mab1049
<b>Anti- TGF - <math>\beta</math></b>	Bioss	bs0086R
<b>Sekonder Antikor</b>	Invitrogen	Histostain Plus Bulk Kit

\* anti-Bone Morphogenetic Protein-4, Mab1049 Chemicon International

<sup>Ω</sup> anti-Transforming Growth Factor-  $\beta$ , bs0086R BİOSS

<sup>#</sup> Invitrogen® -Histostain Plus Bulk Kit, Invitrogen® 2nd Generation LAB-SA Detection System, Cat no: 85-9043, Broad spectrum, Camarillo, CA

<sup>δ</sup> Diaminobenzidine Kromojen, DAB Kit, Invitrogen® Cat. No: 00-2014

<sup>♦</sup> Olympus BX40, Olympus Optical Co., Ltd., Japan

**Çizelge 3-4** Avidin-Biyotin Peroksidaz yöntemi ile indirekt - immünohistokimya boyama protokolü

<b>İŞLEM</b>	<b>MADDE</b>	<b>SÜRE</b>
<b>DEPARAFİNİZASYON</b>	60 °C ETÜVDE	1 GECE
	KSİLEN I	30 DK
	KSİLEN II	30 DK
<b>REHİDRATASYON</b>	% 95 ALKOL	2 DK
	% 80 ALKOL	2 DK
	% 70 ALKOL	2 DK
	% 60 ALKOL	2 DK
<b>YIKAMA</b>	DİSTİLE SU	10 DK
	FOSFAT TAMPON SOLÜSYONU	10 DK
<b>HAVUZCUK OLUŞTURMA</b>	DAKO PEN	
<b>YIKAMA</b>	TRİPSİN 37°C ETÜVDE	10 DK
<b>YIKAMA</b>	PBS	3×5 DK
<b>PEROKSİDAZ BLOK</b>	% 3 HİDROJEN PEROKSİT	5 DK
<b>YIKAMA</b>	PBS	3×5 DK
<b>BLOKLAMA</b>	NON-İMMÜN BLOKLAMA SOLÜSYONU	1 SAAT
<b>PRİMER ANTİKORLAR</b>	ANTİ-BMP 4 (+4°C NEMLİ)	18 SAAT
	ANTİ-TGF B (+4°C NEMLİ)	18 SAAT
<b>YIKAMA</b>	PBS	3×5 DK
<b>SEKONDER ANTİKOR</b>	BİYOTİNLE İŞARETLİ SEKONDER ANTİKOR	30 DK
<b>YIKAMA</b>	PBS	3×5 DK
	STREPTAVİDİN	30 DK
<b>YIKAMA</b>	PBS	3×5 DK
<b>BOYAMA</b>	DAB (DİAMİNO BENZİDİNE)	10 DK
<b>YIKAMA</b>	DİSTİLE SU	3×5 DK
<b>ARTALAN BOYAMA</b>	MAYER'S HEMATOKSİLEN	3 DK
<b>YIKAMA</b>	DİSTİLE SU	10 DK
<b>KAPAMA</b>	ENTELLAN	

### 3.5.3 İstatistiksel Değerlendirmeler

Denekler üzerinde farklı ölçüm zamanlarında elde edilen genişletme mesafesi, kemik yoğunluğu ve histolojik değerlendirme verileri SPSS (Ver. 14) programına<sup>Ω</sup> yüklenerek istatistiksel analizleri gerçekleştirilmiştir.

Sürekli ve kesikli değişkenlerin dağılımının normale yakın olup olmadığı Shapiro Wilk testi ile varyansların homojenliği ise Levene testiyle araştırılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler sürekli ve kesikli sayısal değişkenler için ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde orjinal değişkenler ise medyan (minimum-maksimum) şeklinde gösterilmiştir.

Gruplar arasında ortalamalar yönünden farkın önemliliği Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ile medyan değerler yönünden farkın önemliliği ise Kruskal Wallis testiyle araştırılmış, Tek Yönlü Varyans Analizi veya Kruskal Wallis test istatistiği sonuçlarının önemli bulunması halinde post hoc Tukey HSD veya Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanılarak farka neden olan durum(lar) tespit edilmiştir.

Gruplar içerisinde tekrarlayan ölçümlere ait ortalamalar yönünden farkın önemliliği tekrarlayan ölçüm sayısı iki olduğunda Bağımlı t testiyle ikiden fazla tekrarlayan ölçümün değerlendirilmesinde ise Tekrarlı Ölçümlerde Varyans Analizi kullanılarak değerlendirilmiştir. Tekrarlı Ölçümlerde Varyans Analizi sonuçlarının önemli bulunması halinde Bonferroni Düzeltmeli çoklu karşılaştırma testi kullanılarak farka neden olan izlem zaman(lar)ı tespit edilmiştir.

Aksi belirtilmedikçe  $p < 0,05$  için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiş, ancak bu çalışmada olası tüm çoklu karşılaştırmalarda Tip I hatayı kontrol edebilmek için Bonferroni Düzeltmesi yapılmıştır.

---

<sup>Ω</sup> SPSS version 14; SPSS Inc., Chicago, IL, USA



## 4 BULGULAR

### 4.1 Klinik Bulgular

Deney prosedürünü tavşanların iyi tolere ettikleri gözlenmiştir. Yapılan klinik değerlendirme sonrasında kullanılan genişletme apareyinin sütünsel açılma sağlamada başarılı olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada uyguladığımız apareylerin standart olarak hazırlanıp, tutuculuğunun ve doku uyumunun deney süresince istenen düzeyde olduğu gözlenmiştir. Deney süresince iki adet tavşan anestezi sonrasında uyanamayıp hayatını kaybetmiştir bununla birlikte iki tavşanın daha deneysel işlemler sırasında kesici dişleri kırıldığından bunların yerine aynı kilo ve yaşta, daha önce çalışılmamış dört adet tavşan çalışmaya dâhil edilmiştir. Bunun dışında deneyin ilerleyen safhalarında genişletme apareyi uygulanan 5 tavşanın kesici dişlerindeki delik açılan kısım dişlerin uzamasından dolayı giderek insizale yer değiştirmiş, tavşanlar ligatür telini kemirmiş ve apareylerin düştüğü gözlemlenmiştir. Bu apareyler aynı gün içerisinde tekrar bağlanmıştır. Bunun dışında deneklerde kullanılan apareye bağlı uygulama sırasında ve sonrasında diş etlerinde hafif bir hiperemiden başka herhangi bir periodontal problem, eritem, ödem veya enflamasyon bulgularına rastlanmamıştır.

### 4.2 Radyolojik Bulgular

#### 4.2.1 Genişletme Miktarının Değerlendirilmesi

ÇKBT yardımıyla maksiller kesici dişlerin mezial kenarının gingival seviyesinden ölçülen dişler arasındaki mesafelerin, genişletme sonrası (T1) ve pekiştirme sonrası (T2) dönemlerdeki istatistiksel karşılaştırma sonuçları Çizelge 4-1’de verilmiştir. T1 ve T2 dönemlerinde elde edilen tomografi görüntüleri Şekil 4-1’de gösterilmiştir.

Gruplar arasında T1 döneminde ortalama genişletme miktarları yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ( $p=0,978$ ). Gruplar arasında T2 döneminde ortalama genişletme miktarları yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ( $p=0,899$ ).

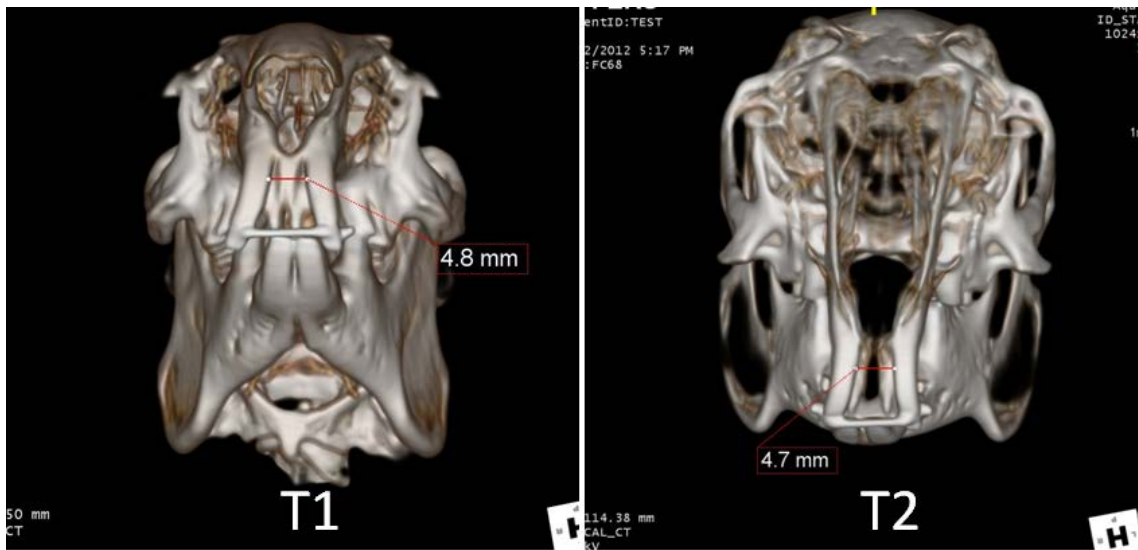
Kontrol grubu içerisinde ekspansiyon ve retansiyondaki ortalama genişletme miktarları istatistiksel olarak benzer bulunmuştur ( $p=0,229$ ). Grup I içerisinde ekspansiyon ve retansiyondaki ortalama genişletme miktarları Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak benzer bulunmuştur ( $p=0,043$ ). Grup II içerisinde ekspansiyon

ve retansiyondaki ortalama genişletme miktarları istatistiksel olarak benzer bulunmuştur (p=0,067).

**Çizelge 4-1** T1 ve T2 dönemlerinde ölçülen maksiller keserler arası genişletme miktarları

GRUPLAR	T1	T2	p-değeri <sup>a</sup>
KONTROL	4,0 ± 0,32	3,9 ± 0,17	0,229
GRUP I	4,1 ± 0,36	3,9 ± 0,34	0,043
GRUP II	4,0 ± 0,54	3,8 ± 0,43	0,067
p-değeri <sup>b</sup>	0,978	0,899	

a: Gruplar içerisinde T1 ve T2 dönemlerinde genişletme miktarları arasında yapılan karşılaştırmalar, Bağımlı t testi, Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,025 için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir, b: Gruplar arasında T1 ve T2 dönemlerinde genişletme miktarları yönünden yapılan karşılaştırmalar, Tek Yönlü Varyans Analizi, Bonferroni Düzeltmesine göre p<0,025 için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



**Şekil 4-1** T1 ve T2 dönemlerinde elde edilen genişletme miktarı.

#### 4.2.2 Kemik Yoğunluğunun Değerlendirilmesi

ÇKBT yardımıyla başlangıç T0, genişletme sonrası T1 ve pekiştirme sonrası T2 dönemlerde midpalatal sütürde saptanan kemik yoğunluğu değerleri Çizelge 4-2'de gösterilmiştir. Sonuçların grafiğe aktarılmış hali Şekil 4-2' de gösterilmiştir.

Kontrol grubunda T0, T1 ve T2 dönemlerinde ölçülen kemik yoğunluğu değerleri karşılaştırıldığında ölçümler arası farklılık önemli bulunmuştur ( $p<0,001$ ). T0 ve T2 dönemlerine göre T1 dönemindeki ortalama kemik yoğunluğu istatistiksel anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ( $p<0,001$  ve  $p<0,001$ ). T0 ve T2 dönemlerinde ölçülen kemik yoğunluğu değerleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir ( $p=0,163$ ).

Grup I'de T0, T1 ve T2 dönemlerinde ölçülen kemik yoğunluğu düzeylerinde istatistiksel olarak farklılık anlamlı bulunmuştur ( $p<0,001$ ). T0 ve T2 dönemlerine göre T1 dönemindeki ortalama kemik yoğunluğu istatistiksel anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır ( $p<0,001$  ve  $p<0,001$ ). T0 ve T2 dönemlerinde ölçülen kemik yoğunluğu değerleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir ( $p=0,091$ ).

Grup II'de T0, T1 ve T2 dönemlerinde ölçülen kemik yoğunluğu düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmüştür ( $p<0,001$ ). T0 ve T2 dönemlerine göre T1 dönemindeki ortalama kemik yoğunluğu istatistiksel anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır ( $p<0,002$  ve  $p<0,001$ ). Ayrıca, T0 dönemine göre T2 dönemindeki kemik yoğunluğu da istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ( $p<0,001$ ).

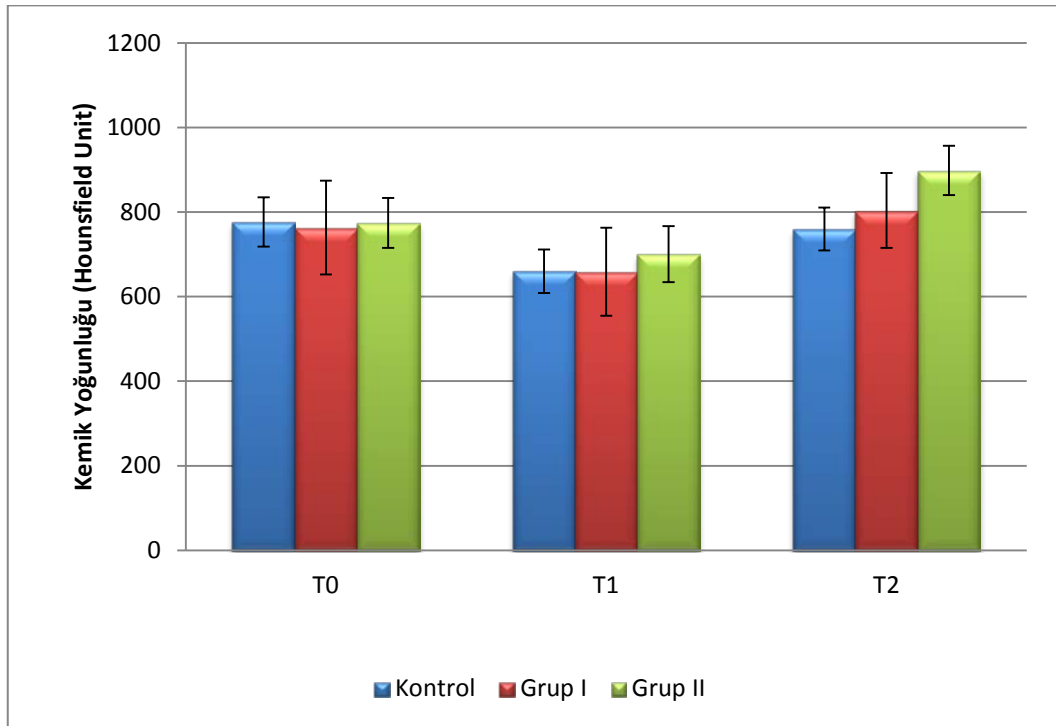
Başlangıç (T0), genişletme sonrası (T1) ve pekiştirme sonrası (T2) zaman aralıklarındaki kemik yoğunluğu değişim miktarları Çizelge 4-3'de verilmiştir.

T0 dönemine göre T1 dönemindeki kemik yoğunluğu değişimi incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $p=0,009$ ). Kontrol grubuna göre Grup II'de kemik yoğunluğu istatistiksel anlamlı olarak daha az azalmıştır ( $p=0,009$ ). Kontrol grubu ile Grup I arasında ve Grup I ile Grup II arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ( $p=0,585$  ve  $p=0,062$ ).

**Çizelge 4-2** T0, T1 ve T2 dönemlerindeki kemik yoğunluğu değerleri (Hounsfield Unit)

GRUPLAR	T0	T1	T2	p-değeri <sup>a</sup>
<b>KONTROL</b>	776,7 ± 58,20 <sup>b</sup>	660,0 ± 51,77 <sup>b,c</sup>	760,0 ± 50,60 <sup>c</sup>	<0,001
<b>GRUP I</b>	763,2 ± 111,08 <sup>b</sup>	658,8 ± 104,29 <sup>b,c</sup>	803,7 ± 88,64 <sup>c</sup>	<0,001
<b>GRUP II</b>	774,2 ± 59,20 <sup>b,d</sup>	700,3 ± 66,10 <sup>b,c</sup>	898,3 ± 58,49 <sup>c,d</sup>	<0,001

a: Tekrarlayan Ölçümlerde Varyans Analizi, Bonferroni Düzeltmesine göre  $p < 0,017$  için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir, b: T0 ile T1 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0,01$ ), c: T1 ile T2 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0,001$ ), d: T0 ile T2 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0,001$ ).



**Şekil 4-2** T0, T1 ve T2 dönemlerinde gruptaki kemik yoğunluğunu gösteren grafik

T0 dönemine göre T2 dönemindeki kemik yoğunluğu değişimi incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $p<0,001$ ). Kontrol grubuna göre hem Grup I hem de Grup II’de kemik yoğunluğu istatistiksel anlamlı olarak daha fazla artmıştır ( $p=0,007$  ve  $p<0,001$ ). Grup I’e göre Grup II’deki kemik yoğunluğu artışı da istatistiksel anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur ( $p<0,001$ ).

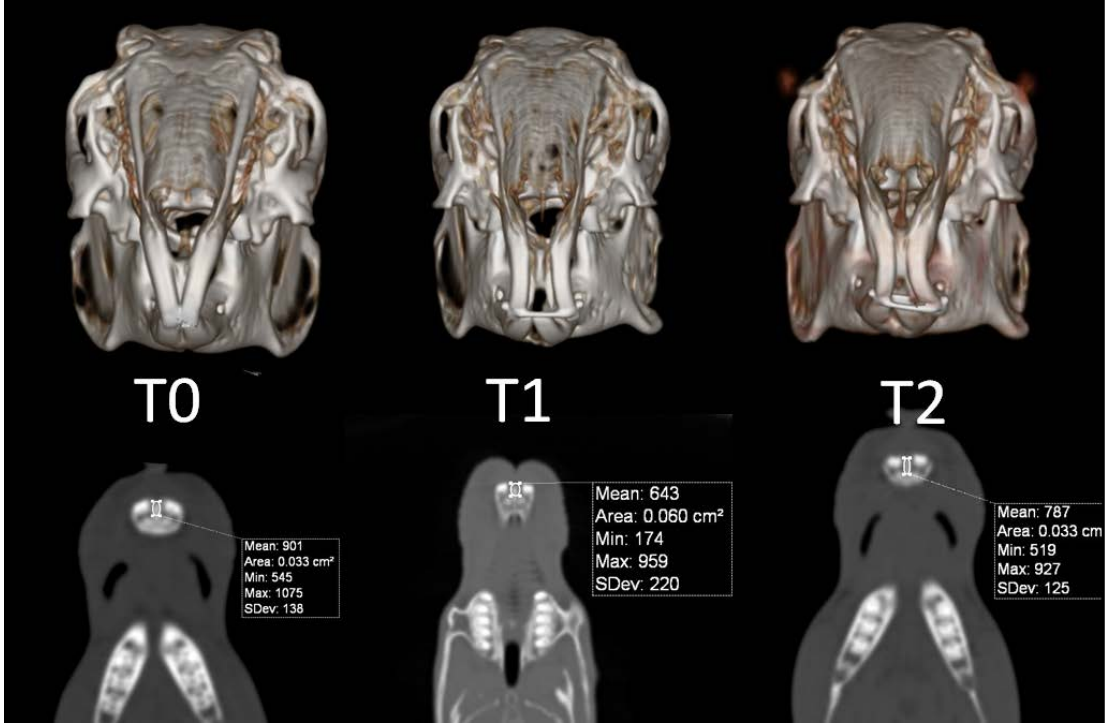
T1 dönemine göre T2 dönemindeki kemik yoğunluğu değişimi incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. ( $p<0,001$ ). Hem kontrol grubuna hem de Grup I’e göre Grup II’de kemik yoğunluğu istatistiksel anlamlı olarak daha fazla artmıştır ( $p<0,001$  ve  $p=0,006$ ). Kontrol grubu ile Grup I arasında ise Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir ( $p=0,018$ ).

**Çizelge 4-3** İzlem zamanlarına göre kemik yoğunluklarındaki değişimler

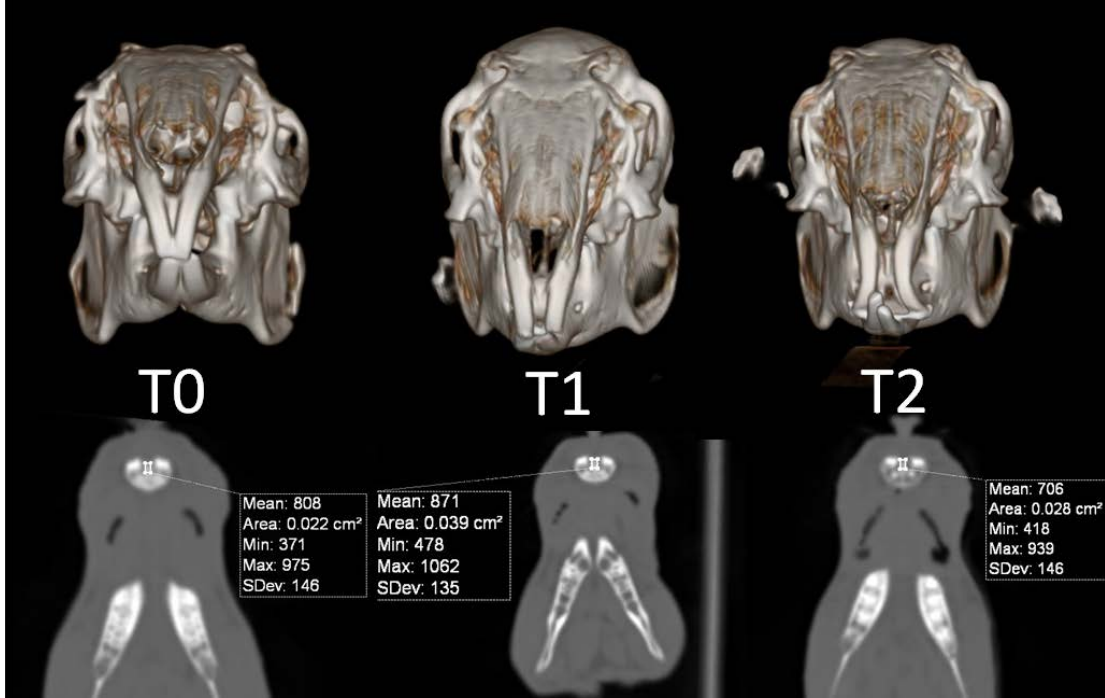
DEĞİŞİMLER	KONTROL	GRUP I	GRUP II	p-değeri <sup>a</sup>
<b>T0-T1</b>	-116,7±13,66 <sup>b</sup>	-104,3±23,14	-73,8±25,14 <sup>b</sup>	0,009
<b>T0-T2</b>	-16,7±16,33 <sup>b,c</sup>	40,5±33,17 <sup>c,d</sup>	124,2±30,68 <sup>b,d</sup>	<0,001
<b>T1-T2</b>	100,0±12,65 <sup>b</sup>	144,8±30,51 <sup>d</sup>	198,0±27,90 <sup>b,d</sup>	<0,001

a: Tek Yönlü Varyans Analizi, Bonferroni Düzeltmesine göre  $p<0,017$  için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir, b: Kontrol grubu ile Grup II arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,01$ ), c: Kontrol grubu ile Grup I arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ( $p=0,007$ ), d: Grup I ile Grup II arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,01$ ).

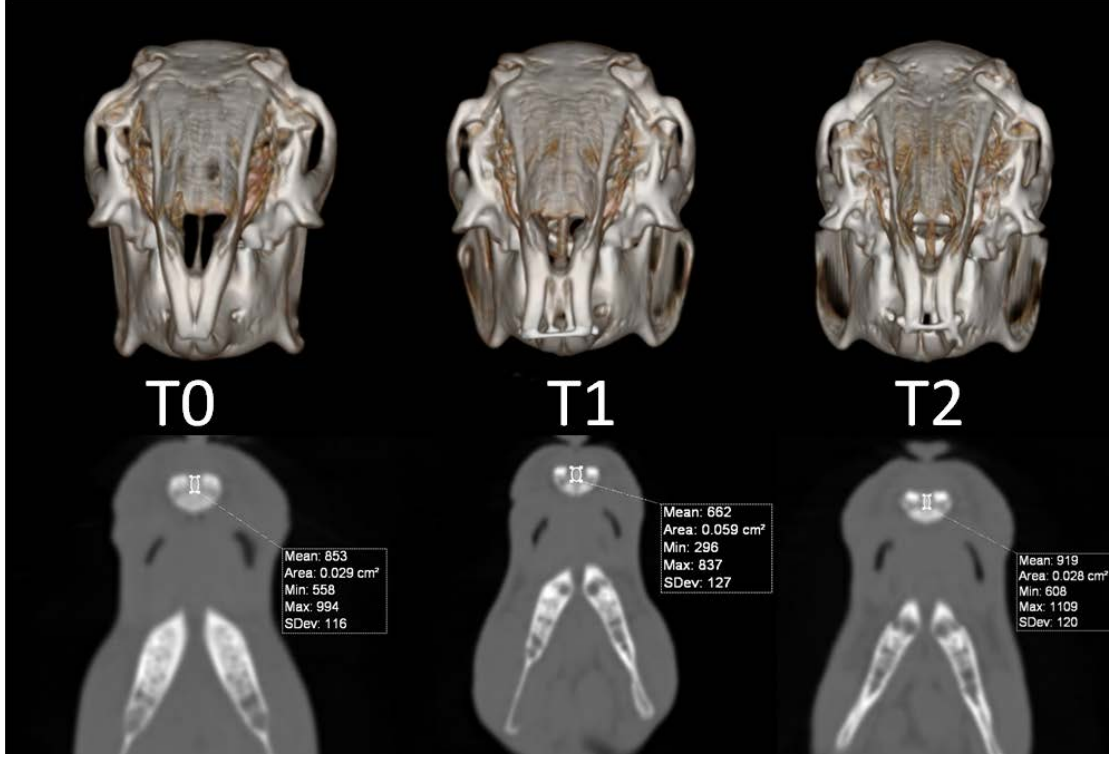
T0, T1 ve T2 dönemlerinde ÇKBT ile elde edilen 3 boyutlu ve aksiyal kesit görüntü örnekleri Kontrol grubu için Şekil 4-3 , Grup I için Şekil 4-4 ve Grup II için Şekil 4-5’ de gösterilmiştir.



Şekil 4-3 Kontrol grubundan elde edilen T0, T1 ve T2 dönemlerinde ÇKBT görüntüleri



Şekil 4-4 Grup I' den elde edilen T0, T1 ve T2 dönemlerinde ÇKBT görüntüleri.



Şekil 4-5 Grup II' den elde edilen T0, T1 ve T2 dönemlerinde ÇKBT görüntüleri

### 4.3 Histolojik Bulgular

Bu çalışmada, deney hayvanları hiçbir deneysel işlem yapılmayan kontrol grubu, bir defa TZP uygulaması yapılan Grup I ve iki defa TZP uygulaması yapılan Grup II olmak üzere 3 grup altında değerlendirilmiştir.

Histokimyasal olarak parafin doku takibi sonucu alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler Hematoksilen & Eosin (H&E) boyamasıyla ışık mikroskop altında değerlendirilmiş, bununla birlikte ek kesitler anti-BMP-4 ve anti-TGF-β primer antikorları ile indirekt immünohistokimyasal (İHK) yöntemle değerlendirilmiştir

Tüm grupların kesitleri X 400 büyütme birim alanında (X40 objektif X 10 oküler büyütmesi: X400) kapiller dilatasyon, enflamatuvar hücreler, hücre infiltrasyonu, osteoklast ve osteoblast yönünden değerlendirilmiştir. Osteoblast, osteoklast aktivasyonu ile dokuların ışık mikroskop altında normal görüntüleri dinlenme durumunda olarak değerlendirilmiştir. Bununla birlikte gruplarda kemik resorpsiyonundan sorumlu olarak Howship lakunası içinde yerleşmiş, sitoplazması

eosinofilik kemik yüzeyindeki çok çekirdekli hücreler osteoklastlar olarak sayılmışken, kan elemanları içeren, endotel ile çevrili alanlar kapiller alan kabul edilerek sayılmıştır.

Aktif osteoblast sayısı:  $5-2 = 1$ ,  $11-20 = 2$ ,  $> 21 = 3$ ; Osteoklast sayısı:  $1-2 = 1$ ,  $3-5 = 2$ ,  $>6 = 3$ ; Kapiller sayısı ve genişliği: normal sınırlarda: 1, orta genişlikte ve sayıda: 2, genişlemiş ve artmış sayıda: 3 olarak skorlanmıştır.

İmmünohistokimyasal değerlendirmeler hafif (+), orta (++) , şiddetli (+++) ve çok şiddetli (++++) olarak değerlendirilmiştir.

Graplardan elde edilen histokimyasal ve immünohistokimyasal verilerin istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4-4’de verilmiştir.

Hematoksilen & Eosin (H&E) boyamasıyla ışık mikroskop altında değerlendirilmiş gruplardan elde edilen ışık mikroskopik görüntüleri Kontrol grubu için Şekil 4-7, Grup I için Şekil 4-8 ve Grup II için Şekil 4-9’da verilmiştir.

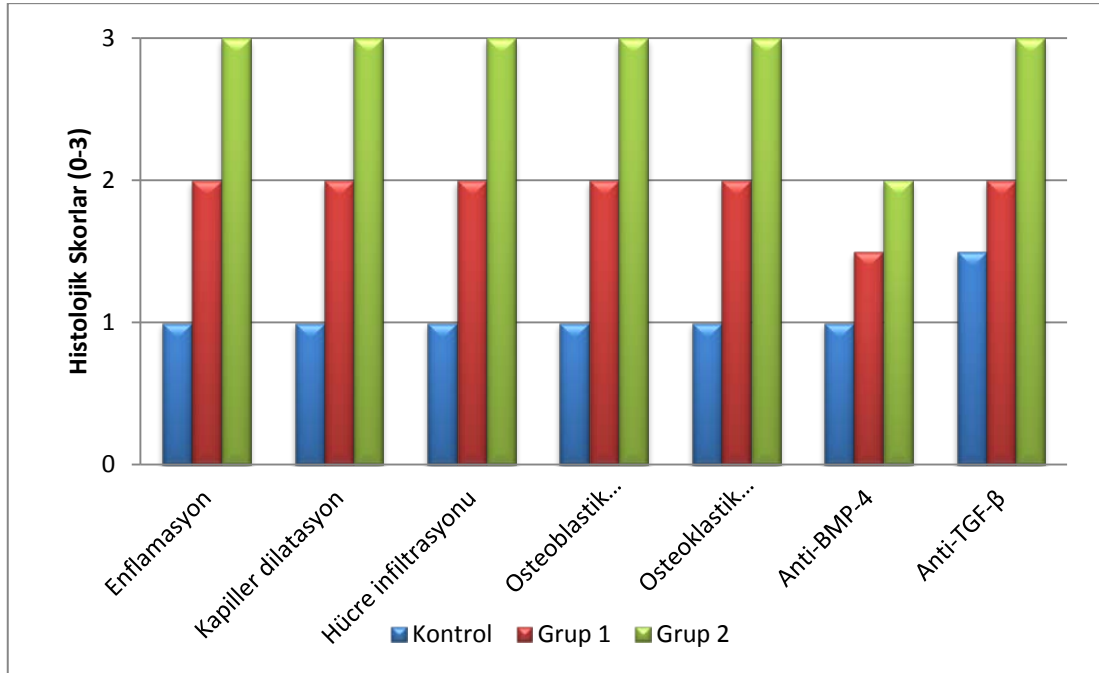
Anti-BMP-4 ve anti-TGF- $\beta$  primer antikorları ile indirekt immünohistokimyasal yöntemle değerlendirilen ek kesitlerin görüntüleri Kontrol grubu için Şekil 4-10, Grup I için Şekil 4-11 ve Grup II için Şekil 4-12’de gösterilmiştir.



**Çizelge 4-4** Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal değerlendirme

	KONTROL	GRUP I	GRUP II	p-değeri <sup>a</sup>
<b>Enflamasyon</b>	1 (1-2) <sup>b</sup>	2 (1-2)	3 (2-3) <sup>b</sup>	0,004
<b>Kapiller dilatasyon</b>	1 (1-2) <sup>b,c</sup>	2 (2-3) <sup>c</sup>	3 (2-3) <sup>b</sup>	0,004
<b>Hücre infiltrasyonu</b>	1 (1-2) <sup>b</sup>	2 (1-2)	3 (2-3) <sup>b</sup>	0,005
<b>Osteoblastik aktivasyon</b>	1 (1-1) <sup>b,c</sup>	2 (1-2) <sup>c</sup>	3 (2-3) <sup>b</sup>	<0,001
<b>Osteoklastik aktivasyon</b>	1 (1-1) <sup>b,c</sup>	2 (2-3) <sup>c</sup>	3 (2-3) <sup>b</sup>	0,002
<b>Anti-BMP-4</b>	1 (1-2) <sup>b</sup>	1,5 (1-2)	2 (2-3) <sup>b</sup>	0,020
<b>Anti-TGF-β</b>	1,5 (1-2) <sup>b</sup>	2 (2-3)	3 (2-3) <sup>b</sup>	0,011

a: Kruskal Wallis testi,  $p < 0,05$  için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir, b: Kontrol grubu ile Grup II arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0,017$ ), c: Kontrol grubu ile Grup I arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0,017$ ).



**Şekil 4-6** Histokimyasal ve immünohistokimyasal verilerin grafiği

Kontrol grubundan elde edilen H&E ile boyanmış kesitlerde gingiva, her iki alveol kemik yapısı içinde dişler, periodontal ligament ve sütür bağ dokusu normal histolojik yapılarında izlenmiştir. Her iki diş arasında yer alan sütür bağ dokusunun fibroblastlar, kollajen lifler ve az sayıda kan damarları içerdiği izlenmiştir. Sütür bağ dokusunun değerlendirilmesinde normal histolojik yapı gözlenirken enflamasyon, kan kapillerlerinin dilatasyonu, hücre infiltrasyonu bulguları izlenmemiştir. Endosteumda yerleşmiş bazofilik sitoplazmalı osteoblastlar, lakünalar içinde osteositler ve Howship lakünasında yerleşmiş, az sayıda çok çekirdekli asidofilik sitoplazmalı osteoklastlar, az sayıda ve normal genişlikte kapiller ve az sayıda enflamatuvar hücreler izlenmiştir (Şekil 4-7).

Grup I'den elde edilen H&E ile boyanan kesitlerde, Grup II'ye göre daha az olmak üzere, diş etrafındaki bağ dokusunda Kontrol grubuna göre kan damarlarında artma ve dilatasyon, enflamatuvar hücrelerde, alveol kemik endosteumunda aktif osteoblast ve osteoklastlarda artış izlenmiştir (Şekil 4-8).

Grup II'den elde edilen, H&E ile boyanan kesitlerde, diş alveolü etrafındaki bağ dokusunda artmış enflamatuvar hücre aktivasyonu, genişlemiş ve sayıca artmış kapiller, alveol kemiği endosteumunda artmış sayıda çok çekirdekli osteoklastlar ve aktif osteoblastlar izlenmiştir. Periodontal ligamenti oluşturan kollajen liflerin devamlılığında bozulmalar ve yer yer ayrılmalar olduğu görülmektedir (Şekil 4-9).

Grumlardan elde edilen histokimyasal ve immünohistokimyasal verilerin istatistiksel değerlendirmeler Çizelge 4-4'da ve Şekil 4-6'da gösterilmiştir.

Gruplar arasında enflamasyon skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olup ( $p=0,004$ ), söz konusu farka neden olan durum Kontrol grubuna göre Grup II'in skorlarının daha yüksek bulunmasından kaynaklanmaktadır ( $p=0,004$ ). Kontrol grubu ile Grup I arasında ve Grup II ile Grup I arasında ise Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ( $p=0,180$  ve  $p=0,017$ ).

Gruplar arasında kapiller dilatasyon skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olup ( $p=0,004$ ), söz konusu farka neden olan durum Kontrol grubuna göre hem Grup II'in hem de Grup I'nin skorlarının daha yüksek bulunmasından kaynaklanmıştır. ( $p=0,009$  ve  $p=0,009$ ). Grup II ile Grup I arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ( $p=0,247$ ).

Gruplar arasında hücre infiltrasyonu skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olup ( $p=0,005$ ), söz konusu farka neden olan durum Kontrol grubuna göre Grup II'in skorlarının daha yüksek bulunmasından kaynaklanmıştır ( $p=0,009$ ). Kontrol grubu ile Grup I arasında ve Grup II ile Grup I arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ( $p=0,065$  ve  $p=0,082$ ).

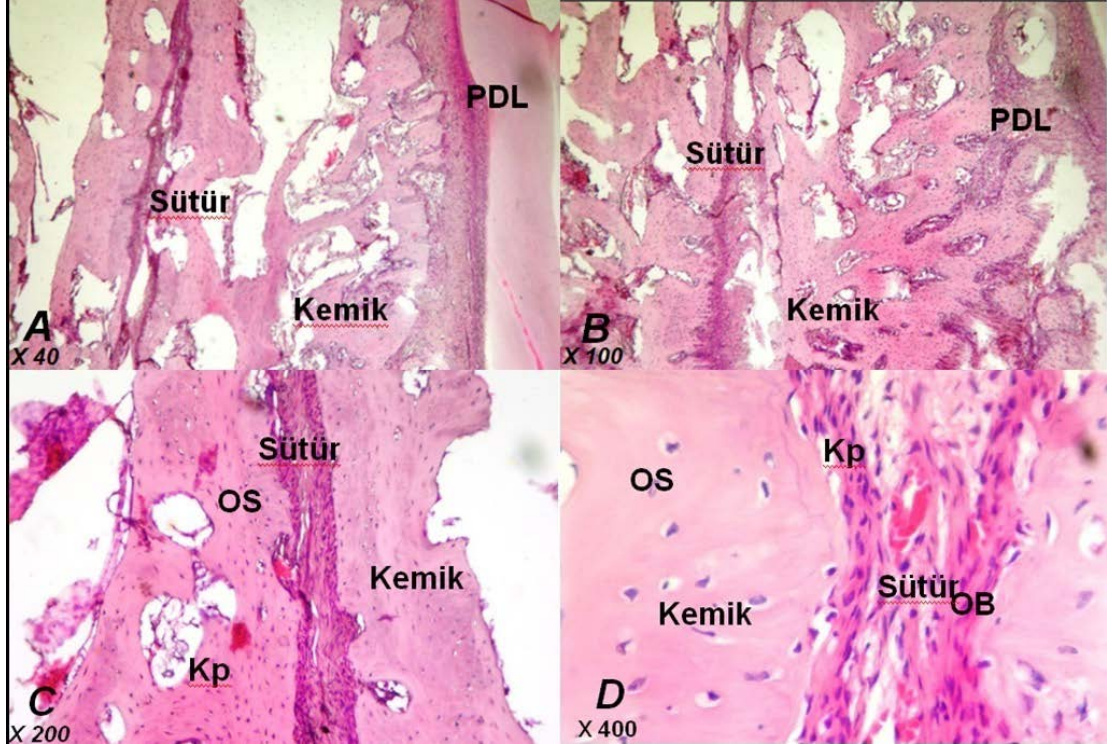
Gruplar arasında osteoblastik aktivasyon skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olup ( $p<0,001$ ), söz konusu farka neden olan durum Kontrol grubuna göre hem Grup II'in hem de Grup I'nin skorlarının daha yüksek bulunmasından kaynaklanmıştır ( $p=0,004$  ve  $p=0,015$ ). Grup II ile Grup I arasında ise Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ( $p=0,017$ ).

Gruplar arasında osteoklastik aktivasyon skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olup ( $p=0,002$ ), söz konusu farka neden olan durum Kontrol grubuna göre hem Grup II'in hem de Grup I'nin skorlarının daha yüksek olmasından kaynaklanmıştır ( $p=0,008$  ve  $p=0,004$ ). Grup II ile Grup I arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ( $p=0,082$ ).

Çizelge 4-4'de BMP-4 ve TGF- $\beta$  immünoaktivitelerinin sütürü oluşturan fibroblastlarda, osteoblast ve osteositlerde Grup II de daha fazla olmak üzere kemik yapımı göstergesi olarak artmış olduğu izlenmektedir (Şekil 4-10, 4-11, 4-12).

Gruplar arasında Anti-BMP-4 yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olup ( $p=0,020$ ), söz konusu farka neden olan durum Kontrol grubuna göre Grup II'in skorlarının daha yüksek bulunmasından kaynaklanmıştır ( $p=0,016$ ). Kontrol ile Grup I arasında ve Grup II ile Grup I arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ( $p=0,394$  ve  $p=0,126$ ).

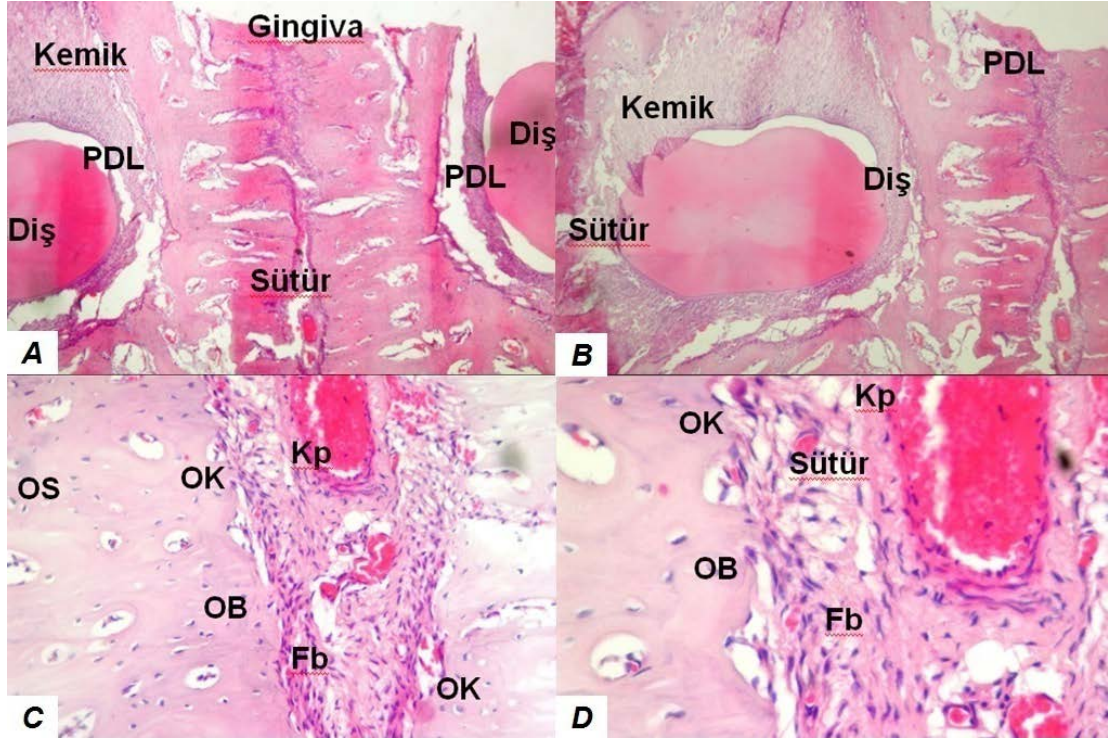
Gruplar arasında Anti-TGF- $\beta$  yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olup ( $p=0,011$ ), söz konusu farka neden olan durum Kontrol grubuna göre Grup II'in skorlarının daha yüksek bulunmasından kaynaklanmıştır ( $p=0,009$ ). Kontrol ile Grup I arasında ve Grup II ile Grup I arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ( $p=0,065$  ve  $p=0,247$ ).



**Şekil 4-7** Kontrol grubunun T2 dönemine ait doku örneklerinin H&E boyalı kesitlerinin ışık mikroskop altında görüntüleri. Diş ve etrafındaki periodontal ligament (PDL), alveol kemik ve sütür incelemesinde normal histolojik görünüm izlenmektedir.

Osteoklast (OK), Osteoblast (OB), Osteosit (OS), Kapiller (Kp), Fibroblast (Fb)

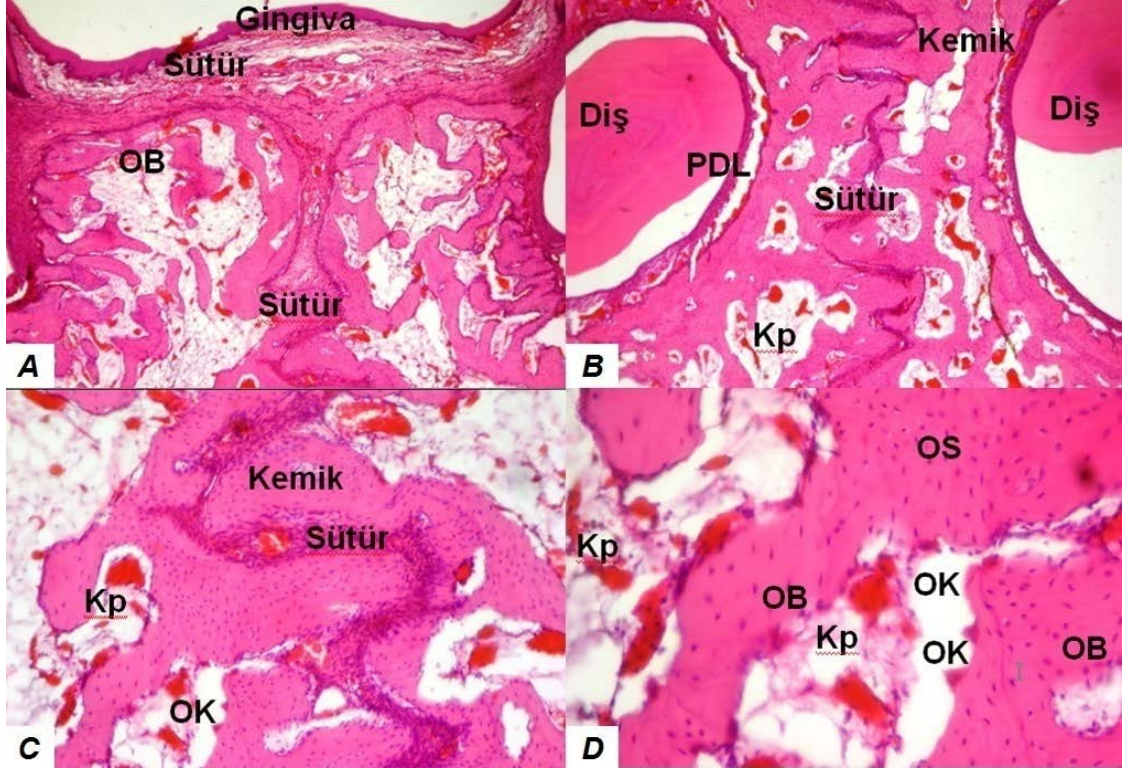
Boya: H&E A: X 40, B: X 100, C: X 200, D: X 400 (Orijinal büyütme)



**Şekil 4-8** Grup I' e ait doku örneklerinin T2 dönemindeki H&E boyalı kesitlerinin ışık mikroskop altında görüntüleri. Grup II' ye göre daha az olmakla beraber kontrol grubuna göre artmış olarak diş ve etrafındaki periodontal ligament (PDL), alveol kemik ve genişlemiş sütür incelemesinde artmış kan kapilleri (Kp), sütürü oluşturan aktif fibroblastlar (Fb), endosteumda osteoklastlar (OK) ve aktif osteoblastlar (OB) izlenmektedir.

Osteoklast (OK), Osteoblast (OB), Osteosit (OS), Kapiller (Kp), Fibroblast (Fb)

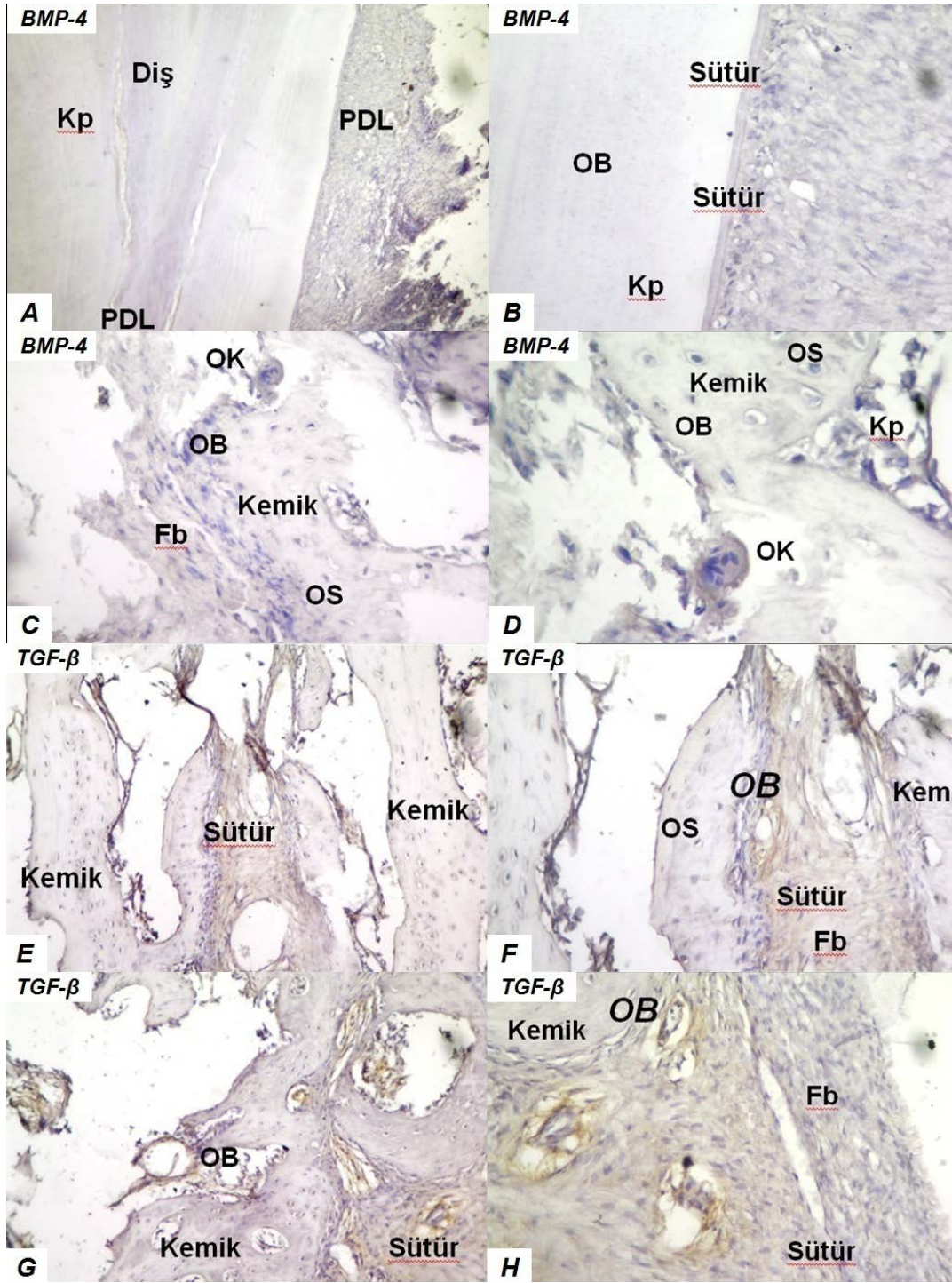
Boya: H&E A: X 40, B: X 100, C: X 200, D: X 400 (Orijinal büyütme)



**Şekil 4-9** Grup II'ye ait doku örneklerinin T2 dönemindeki H&E boyalı kesitlerinin ışık mikroskop altında görüntüleri. Diş ve etrafındaki periodontal ligament (PDL), alveol kemik ve genişlemiş suture incelemesinde artmış kan kapilleri (Kp), suture oluşturan aktif fibroblastlar (Fb), endosteumda çok sayıda osteoklastlar (OK) ve aktif osteoblastlar (OB) izlenmektedir.

Osteoklast (OK), Osteoblast (OB), Osteosit (OS), Kapiller (Kp), Fibroblast (Fb)

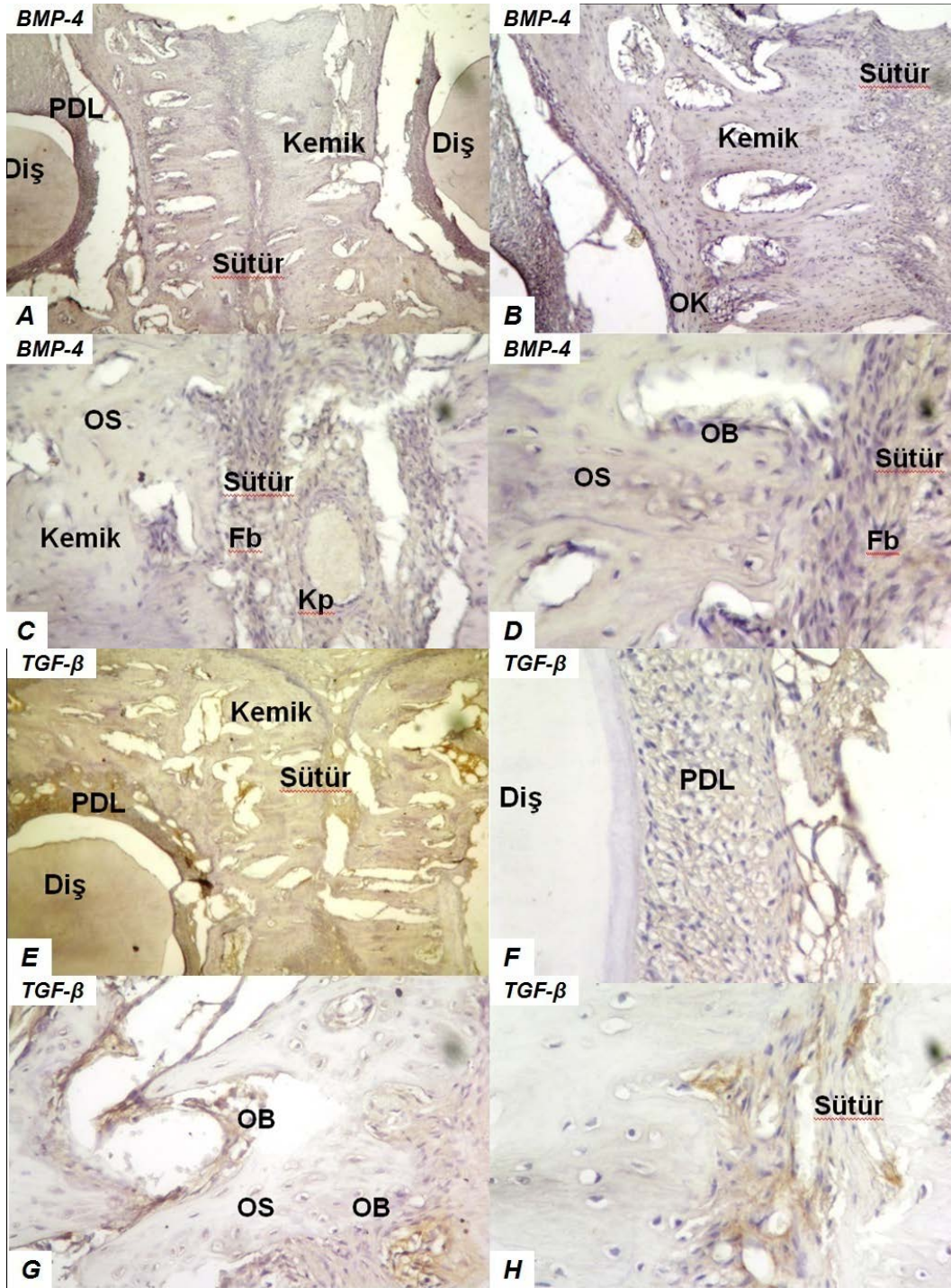
Boya: H&E A: X 40, B: X 100, C: X 200, D: X 400 (Orijinal büyütme)



**Şekil 4-10** Kontrol grubuna ait deney hayvanlarından T2 döneminde elde edilen örneklerin, anti BMP-4 ve anti TGF- $\beta$  primer antikorları ile indirekt İHK yöntemiyle boyanmış kesitlerinin ışık mikroskop altında görüntüleri. Pozitif immünoreaktivite kahverengi boyanmış olarak görülmektedir.

Osteoklast (OK), Osteoblast (OB), Osteosit (OS), Kapiller (Kp), Fibroblast (Fb)

A: X 40, B: X 100, C: X 200, D: X 400 (Orijinal büyütme)

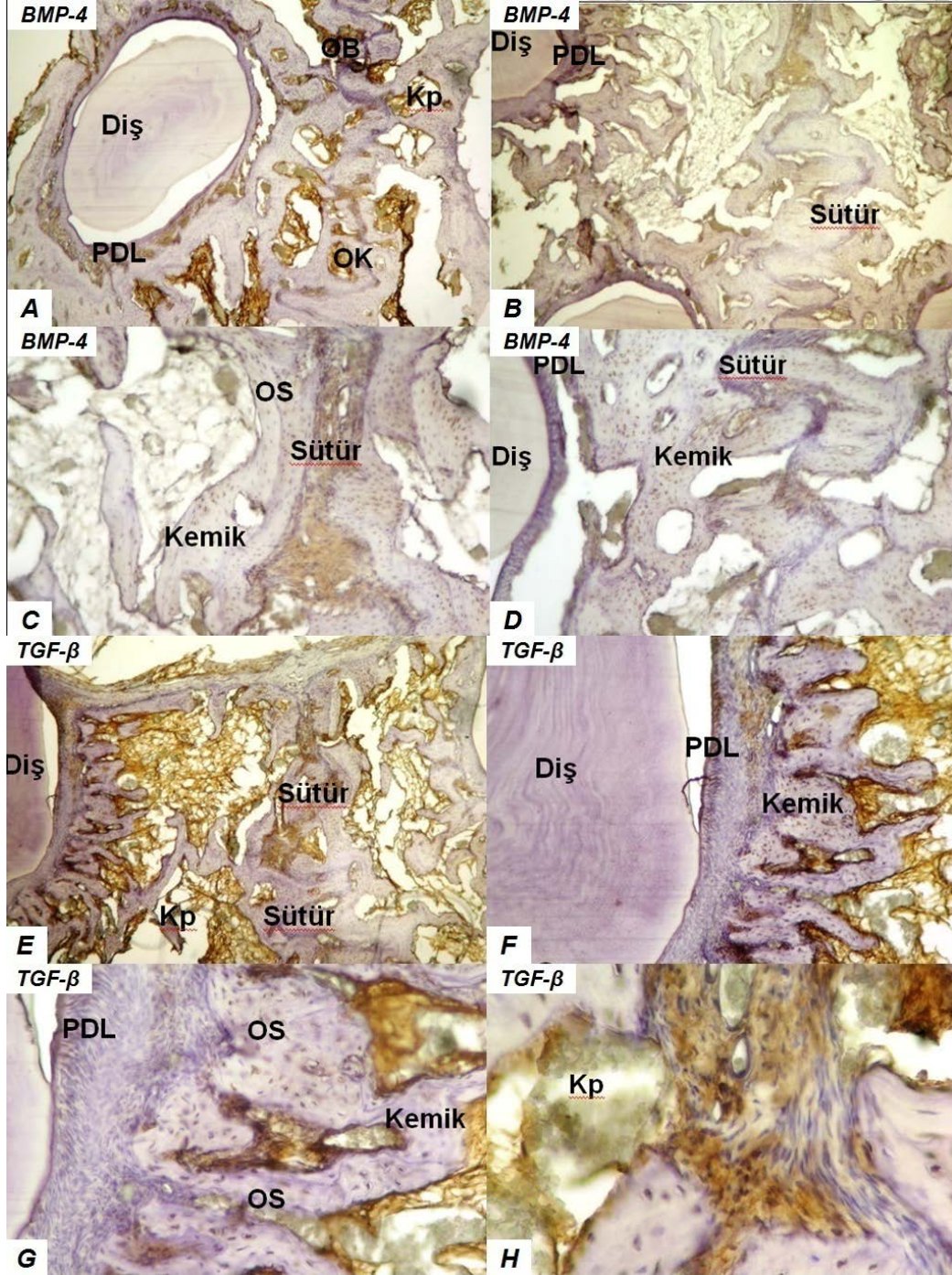


Şekil 4-11 Grup I'e ait deney hayvanlarından T2 döneminde elde edilen örneklerin, anti BMP-4 ve anti TGF- $\beta$  primer antikoru ile indirekt İHK yöntemle boyanmış ışık mikroskop altında görüntüleri. Sütürü oluşturan fibroblastlarda, osteoblast ve osteositlerde kahverengi olarak pozitif artmış immünoreaktivite izlenmektedir.

Osteoklast (OK), Osteoblast (OB), Osteosit (OS), Kapiller (Kp), Fibroblast (Fb)

A: X 40, B: X 100, C: X 200, D: X 400 (Orijinal büyütme)





Şekil 4-12 Grup II'ye ait deney hayvanlarından T2 döneminde elde edilen örneklerin, anti BMP-4 ve anti TGF- $\beta$  primer antikoru ile indirekt İHK yöntemle boyanmış kesitlerin ışık mikroskop altında görüntüleri. Sütürü oluşturan fibroblastlarda, osteoblast ve osteositlerde Grup I'e göre daha fazla olmak üzere kahverengi olarak pozitif artmış immünoreaktivite izlenmektedir.

Osteoklast (OK), Osteoblast (OB), Osteosit (OS), Kapiller (Kp), Fibroblast (Fb)

A: X 40, B: X 100, C: X 200, D: X 400 (Orijinal büyütme)

## 5 TARTIŞMA

### 5.1 Deney Hayvanı Seçimi

Üst çene genişletmesi için literatürü incelediğimizde hayvan deneylerinde maymunlar<sup>30,132,134,135</sup>, domuzlar<sup>21</sup>, kediler<sup>186</sup>, ratlar<sup>7,9,91,116,187,188</sup>, ve tavşanların<sup>189-191</sup> kullanıldığını görmekteyiz. Bununla beraber çalışmalarda kullanılan deney hayvanları insan üst çenesini taklit etmekte yetersiz kalmaktadır.

İnsan ile anatomik olarak en fazla benzerliği olan hayvan maymundur. Her ne kadar diş formülü ve diş erüpsüyonu açısından insanı taklit etse bile, ayrı bir premaksillası olması açısından üst çene yapısı çok farklıdır. Premaksilla ile üst çene arasındaki ossifiye olmamış sütür ise kanin ve lateral kesiciler arasından seyrederek maksiller kemikler arasındaki midpalatal sütür ile insiziv foramenin arkasında birleşerek Y şekilli bir sütür oluşturur.<sup>30,132</sup>

Storey<sup>110</sup> maymunlar, kediler ve insanların maksiller sütürlerinin birçok yönden birbirine benzediğini ve bu nedenle genişletme deneylerinde kullandıklarını, ancak kuvvet altında kemik ve sütür yapılarında meydana gelen değişimleri açıkça incelemek için ideal hayvanların tavşan ve rat olduğunu belirtmiştir.

Üst çene genişletmesi yapılan çalışmalarda ratlar oldukça yoğun olarak kullanılan deney hayvanlarındandır. Birçok araştırmacı ratları kullanarak üst çene genişletmesinin çeşitli yönlerini araştırmıştır.<sup>7,9,91,116,117,187,188,192,193</sup>

Bu çalışmaların çoğunda ratların üst kesici dişleri arasına ekspansif yönde kuvvet uygulanarak premaksiller genişletme elde edilmiştir. Takahashi ve ark.<sup>187</sup> ile Kobayashi ve ark.<sup>188</sup> yaptıkları çalışmalarda ratların molar dişleri arasına kuvvet uygulayarak üst çene genişletmesi yapmıştır. Ancak, ratların ağzının küçük ve ağız açıklığının az olması, sağ ve sol arklarda üçer adet bulunan posterior dişlere ulaşmayı zorlaştırmaktadır. Ayrıca bu dişlerin oldukça küçük, kuron boylarının çok kısa ve birbirleriyle sıkıca temasta olmaları nedeniyle hem bantlı bir apareyin yapılması hem de uygulanabilecek bir vidanın aktive edilmesi ile midpalatal sütürün açılması oldukça zor görünmektedir. Bu zorluklar nedeniyle Lee ve ark.<sup>192</sup> ve Tanaka ve ark.<sup>194</sup> gibi bazı araştırmacılar, ratların sagittal sütürlerinde (interparietal sütür) genişletme işlemi yapmışlardır.

Hayvan deneylerinde laboratuvar hayvanlarından çeşitli amaçlar için farklı bölgelerden değişik miktarlarda kan alınabilmektedir. Bununla birlikte güvenli kan alımı için her türün vücut ağırlığına göre farklı hacimlerde kan ihtiva ettiği göz önünde bulundurulmalıdır. Eğer kan alındıktan sonra hayvanın yaşaması isteniyorsa dolaşımda bulunan kan miktarının % 10'undan fazlasının alınmaması gerekir.<sup>195</sup> Pratikte vücuttaki toplam kanın % 30-40'ı alınabiliyorsa da bunun ciddi hipovolemi ve kardiyovasküler yetmezliğe yol açacağı da unutulmamalıdır. Ratlarda % 40'dan daha fazla kan kaybı % 50 oranında mortaliteye neden olabilir.<sup>196</sup> Bu bilgiler ışığında vücut ağırlığına bağlı olarak değişmekle birlikte tek seferde alınacak kan miktarı ortalama olarak fareden 0,3 ml, rattan 2 ml, tavşandan 15 ml civarındadır.<sup>197</sup>

Standart terapötik TZP hazırlanması için 6 ml kan alındığında ratların hayatı kan eksikliğinden dolayı tehlikeye gireceğinden dolayı çalışmamızda rat kullanılmamıştır. Yetersiz kan miktarına sahip hayvanlarda TZP hazırlamak için donör kan kullanılan bazı çalışmalar mevcuttur.<sup>198</sup> Bilindiği gibi TZP otojen bir uygulamadır, homolog olamaz. Donör kan kullanımı otojen TZP uygulamasında görülmeyen immün reaksiyonlara yol açabilir. Marx<sup>199</sup> donör kan kullanımının hatalı sonuçlar doğurabileceğini bildirmiştir.

Bulduğumuz coğrafyada teminin mümkün olmaması dolayısıyla deney hayvanı olarak maymun kullanılmamıştır. Deneyin yürütüldüğü Cumhuriyet Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinde rutin olarak üretimlerinin yapılmaması, ayrıca bu hayvanlar için yeterli barınakların olmaması nedeniyle domuzlar, köpekler ve kediler de bu çalışma için uygun görülmemiştir.

TZP çalışmaları için tavşan iyi bir model olarak kabul edilir.<sup>200</sup> Çünkü tavşanın hematolojik yapısı insana çok benzer ve deneğin hayatını tehlikeye atmadan standart terapötik TZP için gerekli 6 ml kan güvenli bir şekilde alınabilir. Tavşan kanının içerdiği koagülasyon faktörleri insan kanından fazla olabilmektedir. Normal tavşan kanında trombosit miktarı 286.000 - 650.000 /mm<sup>3</sup> iken<sup>200</sup> insan kanında normal trombosit sayısı 150.000–400.000/mm<sup>3</sup>'tür.

Tavşanın kafatasının; dolayısıyla ağzının ratlara nispeten daha büyük olmasının deneysel aşamada kolaylık sağlamasının yanı sıra çalışmamızda TZP hazırlamak için seçtiğimiz Curasan TZP kitinin 8ml kan gerektirdiği düşünülerek çalışmamızda kullanılacak en uygun hayvan modelinin tavşan olduğuna karar verilmiştir.

Çalışmamız da cinsiyetler ve türler arasında ağırlık, gelişim ve metabolik aktiviteler yönüyle bir takım farklılıkların mevcut olması nedeniyle, çalışmanın daha standart bir hale getirilebilmesi amacıyla, sadece erkek Yeni Zelanda tavşanları üzerinde çalışılmıştır.<sup>195</sup>

Yaptıkları çalışmada ortopedik genişletme için ideal dönemin pubertal dönem olduğunu rapor eden Revelo ve Fishman<sup>201</sup>, maturasyonel gelişim ile midpalatal sütüranın kaynaşması arasında önemli bir korelasyon bulmuşlardır. Bununla birlikte yaşın artmasıyla yüz iskeletinde direncin artması<sup>73</sup> ve relapsın daha fazla olması<sup>109</sup> sebebiyle çalışmamızda kullanılan bütün tavşanlar pubertal gelişim döneminde olan 14-18 haftalık hayvanlardan seçilmiştir. Tavşanın yaklaşık olarak 7,5 ayda erişkin hale gelebilmesi<sup>190</sup> ve normal yaşam süresinin 5-6 yıl olması dolayısıyla deneysel çalışma, tavşan yaşam döngüsü için uzun bir süre sayılabilecek, 1 haftası genişletme, 2 haftası pekiştirme olmak üzere 3 hafta boyunca sürdürülmüştür.

Deney grupları oluşturulurken vücut ağırlığında ve üst çenenin yatay boyutunda deneysel prosedürlere bağlı olarak meydana gelen değişimleri büyüme ile oluşabilecek değişimlerden ayırabilmek amacıyla aynı deneysel prosedürler altında TZP yerine serum fizyolojik enjekte edilen bir kontrol grubu oluşturulmuştur.

## 5.2 Aperey Seçimi ve Tasarımı

Literatür incelendiğinde deneysel üst çene genişletmesi uygulamalarında kedi, köpek, domuz ve maymun gibi ağız açıklığı nispeten daha fazla olan hayvanların kullanıldığını ve insanlarda uygulananlara benzer apereyler ile genişletme yapıldığını görmekteyiz.

Kedilerde üst çene genişletmesi yapan Vardimon ve ark.<sup>186</sup>, Hyrax vidası kullanmış, vidanın kollarını premolar ve kanin dişlerinden geçecek şekilde ayarlamış, dişleri ve damağı akrilik ile kaplayacak şekilde apereyini tasarlamıştır.

Haas<sup>21</sup>, domuzlardaki çalışmasında dişlere bantlarla tutunan, akrilik bir gövde ile desteklenen ve ortasındaki vidanın çevrilmesiyle aktive olan üst çene genişletme apereyini kullanmıştır.

Maymunlarda üst çene genişletmesi yapan Cleall ve ark.<sup>132</sup>, üst birinci daimi molar ve süt molar dişlere bantlarla tutunan vidalı ve akrilik destekli bir aperey kullanmışlardır. Yine çalışmalarında deney hayvanı olarak maymun kullanan birçok araştırmacı insanlarda kullanılanlara benzer apereyler kullanmışlardır.<sup>30,133,135,202</sup>

Walters<sup>203</sup>, maymunun apareyi parmaklarıyla çıkardığını fark etmiş, bu yüzden birinci premolar ve molar dişlerin lingual embrasürlerine yerleştirdiği pinlerden destek alan vidalı bir genişletme apareyi kullanmıştır.

Deney hayvanı olarak tavşan ve rat gibi daha küçük yapılı ve üst çene anatomisi farklı hayvanlar kullanılan çalışmalarda hem üst çene genişletmesinde uygulanan mekanikler hem de uygulama bölgeleri farklılık arz etmektedir<sup>6,10,204</sup>. Araştırmacılar makalelerinde belirtmemiş olsalar da, bu hayvanların ağzının küçük ve ağız açıklığının az olması, premolar ve molar dişlerin kron boylarının kısa olması sebebiyle posterior dişlerden destek olarak midpalatal sütürü ayırmak oldukça zor gözükmektedir. Bu yüzden birçok araştırmacı ratlarda ve tavşanlarda üst çene genişletme uygulamasını, kemirgen olmalarından dolayı oldukça uzun birer köke sahip olan ön iki keser dişten destek olarak premaksiller bölgede yapmışlardır.<sup>9,10,205,206</sup>

Storey<sup>110</sup>, hem rat hem de tavşanlarda heliks bükümlü bir zembereğin uçlarını üst kesici dişlerde antero-posterior yönde açtığı deliklere sabitleyerek premaksiller genişletme yapmıştır.

Uysal ve ark.<sup>189</sup> tavşanlarda yaptıkları çalışmada üst kesici dişlere bağladıkları helikal spring vasıtasıyla midpalatal sütürde genişletme yaptıklarını belirtmişlerdir.

Maksiller genişletme için üst kesici dişlere uygulanan springleri kullanan araştırmacıların<sup>6,7,9,10,110,189,193</sup> yanısıra metal halkalar<sup>7</sup> ve elastomerik<sup>116</sup> halkalar kullanan araştırmacılarda mevcuttur.

Ratlarda genişletme için 5 g<sup>207</sup> ile 200 g<sup>193</sup> arasında değişen kuvvetlerin uygulandığı bilinmektedir. Zahrowski ve Turley<sup>193</sup>, kuvvet miktarının ve uygulama noktasının erken kemik formasyonunu değiştirebileceğini ve bunun da nüksü azaltmada önemli olabileceğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar ratların üst ön dişlerine yerleştirilen bantlara lehimlenmiş helikal springler kullanarak aktarılan 100 g kuvvetin, 50 ve 200 g kuvvetlere göre daha fazla kemik remodellingi sağladığını tespit etmişlerdir.

Parr ve ark.<sup>191</sup> tavşan midnazal sütürüne uygulanan 100 g ve 300 g kuvvetlerin her ikisinin de genişleme sağladığını bildirmişken, Storey<sup>110</sup> tavşanların üst kesici dişlerine 250 g kuvvet uygulayarak hızlı premaksiller genişletme, aynı helikal springle 100 g kuvvet uygulayarak da yavaş premaksiller genişletme yaptığını belirtmiştir.

Uysal ve ark.<sup>189</sup> tavşanlara besinsel boron diyeti uygulayarak midpalatal sütürdeki kemikleşmeyi inceledikleri çalışmalarında sütürel ayrılma için helikal spring kullanarak 250 g kuvvet uygulamışlardır.

Kiki ve ark.<sup>8</sup> tavşanlarda maksiller genişletme yaptığı çalışmalarında midplatal sütürün ayrılması için insanlardakine benzer vidalı genişletme apareyi kullanmış ve 250 g kuvvetin yeterli olduğunu belirtmişlerdir.

Literatür bilgileri ışığında rat ve tavşan gibi kemirgen hayvanlarda gerçekleştirilen üst çene genişletmesi uygulamalarının çoğunun üst kesici dişler arasına ekspansif yönde kuvvet uygulayarak midpalatal sütürün ayrılması şeklinde olduğu görülmektedir. Çalışmamızda sütürel genişletme için, daha önceki çalışmalarda uygulama kolaylığı ve avantajları belirtilen spring şeklindeki aparey modeli<sup>189</sup> 250 g kuvvet uygulayacak şekilde kullanılmış ve başarılı bir şekilde bütün tavşanlarda üst çene genişletmesi işlemi gerçekleştirilmiştir.

Her bir grup kendi içerisinde değerlendirildiğinde (Çizelge 4-2) takip zamanları arasında kemik yoğunluğu düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmüştür ( $p<0,001$ ). Beklenildiği gibi bütün gruplarda genişletme sonrası dönemdeki kemik yoğunluğu, başlangıç ve pekiştirme sonrası döneme göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ( $p<0,001$ ). Kemik yoğunluğundaki bu azalma genişletme apareyinin midpalatal sütürde ayrılmanın gerçekleşmesinde başarılı olduğunu göstermektedir.

### **5.3 Kemik Yoğunluğu Değerlendirme Yöntemi**

Kemik mineral yoğunluğunun tespiti direkt radyolojik yöntemlerle de yapılabilmektedir fakat direkt radyolojik yöntemlerin duyarlılığının düşük olması daha duyarlı ve kantitatif değerlendirme yapılabilen yöntemlerin geliştirilmesi zorunluluğunu ortaya çıkarmıştır. Kemik mineral yoğunluğunun ölçülmesi amacıyla kantitatif ultrasonografi, dual enerji X ışını absorpsiyometri (DEXA) ve kantitatif BT yöntemleri günümüzde kemik mineral yoğunluğunun değerlendirilmesinde en yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir.<sup>130</sup>

Bilgisayarlı tomografi x-ışını (röntgen) kullanılarak vücudun incelenen bölgesinin kesitsel görüntüsünü oluşturmaya yönelik radyolojik teşhis yöntemidir.<sup>208</sup> Belirtilen yöntemlerin dışında, yerini yeni tetkiklere bırakan, daha nadir olarak

kullanılan, ya da geliştirilme aşamasında olan single foton absorbsiyometri, dual foton absorbsiyometri, single enerji X-ışını absorbsiyometri, nötron aktivasyon yöntemi, kemik sintigrafisi ve kantitatif magnetik rezonans görüntüleme gibi metotlar da mevcuttur.<sup>209,210</sup> Konvansiyonel röntgenlerden sonra devrim olarak nitelendirilebilecek, X ışını cihazlarının en gelişmiş olan BT<sup>208</sup> omurgada hem kemiklerin hem de disk gibi yumuşak dokuların incelenmesini sağladığı için tıpta ve özellikle ortopedide önemli bir yere sahiptir.<sup>208</sup> BT bir organdaki kitlenin sınırlarını ve büyüklüğünü gösterebileceği gibi, farklı fazlarda yapılan incelemelerde, dokunun yapısı hakkındaki önemli ipuçlarını başka bir girişim gerektirmeden verebilir.<sup>208</sup>

Çalışmamızda geleneksel x ışını görüntüleme yöntemlerine göre daha üstün olması sebebiyle sütür bölgesinde genişletme sonrası oluşan yeni kemiğin yoğunluğu ve keser dişler arasındaki mesafe ölçümleri için ÇKBT\* kullanılmıştır.

#### **5.4 Maksiller Genişletme ve Pekiştirme süresi**

Literatür incelendiğinde maksiller genişletme ve pekiştirme sürelerinin çeşitli etkenlere bağlı olarak değişkenlik arz ettiği görülmektedir

Kedilerde yapılan çalışmalarda Vardimon ve ark.<sup>186</sup> aktif genişletme fazını 25 gün olarak uygulamışlardır. Haas<sup>21</sup> ise domuzlarda yaptığı çalışmada aktif genişletme periyodu 10 gün boyunca sürmüştür. Murray ve Cleall.<sup>135</sup> üst çene genişletmesi yaptıkları çalışmalarında, 4 adet Rhesus maymunundan birincisini ilk aktivasyondan 24 saat sonra diğerlerini de sırasıyla 4 gün, 7 gün ve 14 günlük genişletme periyoduna tabii tutmuşlardır. Cleall ve ark.<sup>132</sup> 14 gün boyunca genişletme yaptıkları maymunlarda midpalatal sütürün ayrıldığını rapor etmişlerdir. Takahashi ve ark.<sup>187</sup>, 3 gruba ayırdıkları ratlarda sırasıyla 4, 7 ve 14 gün boyunca genişletme yapmışlardır. Ratlarda çalışan birçok araştırmacı,<sup>6,7,116,117,188,192</sup> aktif genişletme periyodu olarak 1 hafta ya da daha az bir süreyi tercih etmiştir.

Tavşanlarda üst çene genişletmesi yapan araştırmacılardan Storey<sup>110</sup>, üst santral dişlere kuvvet uygulayarak bir grup tavşanda 2 gün, diğer bir grup tavşanda da 4 hafta boyunca genişletme yapmıştır. Araştırmacı aynı çalışmasında ratlarda ise genişletme süresini 14 gün olarak gerçekleştirmiştir. Bununla birlikte Kiki ve ark.<sup>8</sup> hafızalı vida kullanarak midpalatal sütürü genişlettikleri tavşanlarda 14 gün boyunca genişletme yapmışlardır. Bununla birlikte araştırmacıların nüksü değerlendirdiği çalışmalarında

---

\* Aquilion CX, Toshiba Medical Systems, Otawara, Japan

genişletme apareyinin tasarımından dolayı pekiştirme uygulanamamış bu yüzden genişletme süresi diğer çalışmalara göre biraz daha uzun tutulmuştur. Uysal ve ark.<sup>189</sup> st çene genişletmesi yaptıkları tavşanlarda genişletme süresini 5 gün olarak belirlemişlerdir.

Üst ene genişletmesi sonrası pekiştirme süreleri incelendiğinde Lee ve ark.<sup>192</sup>, ratlarda yaptıkları çalışmalarında genişletme zembereğinin looplarını akrilik rezin ile fikse ederek 7 günlük pekiştirme periyodu uyguladıkları görülmektedir. Öztürk ve ark.<sup>211</sup> ise sagittal sütürde genişletme yaptıkları çalışmada ratları 3 gruba ayırmış ve nüks açısından değerlendirmek amacıyla bir grubu 14 gün diğer iki grubu 7 gün pekiştirmede tutmuştur.

Uysal ve ark.<sup>189</sup> tavşanlara besinsel boron verdikleri çalışmalarında gruplara 10 günlük ve 20 günlük pekiştirme periyodu uygulamışlardır. Bununla beraber uzun dönem pekiştirme grubunda 10. ve 20. günler arasında mineralize alanlar açısından kontrol grubuyla istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır. Bu sonuçlar, uzun dönemde belli bir sreden sonra fiyolojik kemikleşmenin oluşabileceği ihtimalini göstermektedir.

Storey<sup>110</sup>, tavşan premaksiller strn genişletmeye başladıktan 4 gün sonra sütür kenarlarında yeni trabeküllerin oluşmaya başladığını, genişletici springlerin çıkarılması ile 2-3 hafta içinde sütürün yeniden şekillendiğini bildirmiştir.

Heikel<sup>212</sup> insan ve tavşan iskeletsel yaşını değerlendirdiği çalışmasında tavşanlardaki dört haftalık dönemin, insan hayatı ile kıyaslandığında, yaklaşık 2,5-3 yıla denk geldiği bildirilmiştir. Literatürle uyumlu olarak çalışmamızda tavşanlarda optimum genişletme ve pekiştirme periyodunun altındaki sürelerde yeterli genişletme sağlanamayacağı, daha uzun süreli genişletmelerde ise fiyolojik kemikleşme oluşabileceği ihtimalinden dolayı üst çene genişletmesi için 7 günlük genişletme periyodu ve akabinde 14 günlük pekiştirme periyodu uygulanmasına karar verilmiştir.

Kontrol grubu farklı zaman dilimlerinde değerlendirildiğinde T2 dönemindeki kemik yoğunluğunun T0 dönemindeki değere yaklaşmış olduğu görülmektedir (p=0,163). Bu durum, 14 günlük pekiştirme periyodunun fiyolojik kemik oluşumunu değerlendirme açısından ideal bir zaman dilimi olduğunu göstermektedir. Çünkü daha



uzun pekiştirme periyodunda fizyolojik kemikleşme gerçekleşmiş olacak ve TZP'nin kemik iyileşmesi üzerine olan etkilerini değerlendirme imkanı olmayacaktır.

Pekiştirme periyodunun aktif kuvvetin uygulanmadığı pasif bir dönem olması sebebiyle kullanılan apareyin mevcut genişlemeyi muhafaza etmesi gerekmektedir. Lee ve ark.<sup>192</sup> ratlarda yaptıkları çalışmada genişletme sonrası pekiştirme amacı ile ekspansiyon zembereğinin looplarını akrilik rezin ile fikse ederek pekiştirme periyodu uygulamıştır. Elde ettikleri sonuçlara göre 7 günlük pekiştirme döneminde de sütürlerde bir miktar genişleme olduğunu belirtmişlerdir. Sütürlerdeki pekiştirme döneminde gerçekleşen genişleme, apareyin akrilik rezin ile fikse edilmesine rağmen kuvvet uygulamaya devam ettiğini göstermektedir.

Çalışmamızda pekiştirme periyoduna başlanıldığında genişletme apareyi çıkartılmış yerine kuvvet uygulamayan tamamen pasif 0.016"×0.016" köşeli telden pekiştirme apareyi uygulanmıştır.

Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak deneyin ilk günlerinde tavşanların keser dişleri arasındaki mesafede artış görülmüştür. Bütün deney gruplarında 7 günlük genişletme periyodu sonrasında sütürel ayrılmanın gerçekleştiği ve sonrasındaki pekiştirme periyodunda da mesafenin korunduğu ÇKBT yardımıyla tespit edilmiştir (Şekil 4-1).

Üst kesici dişler arasındaki mesafe ÇKBT yardımıyla genişletme dönemi sonrası (T1) ve pekiştirme dönemi sonrasında (T2) dişlerin mezial proksimal yüzeyleri arasından gingival sınırdan ölçülmüştür. Gingival sınırdan yapılan ölçümler sayesinde dişlerin uzaması ve devrilmesine bağlı oluşacak yanıtıcı sonuçlardan kaçınılmaya çalışılmıştır. Elde ettiğimiz veriler incelendiğinde T1 ve T2 dönemlerinde gruplar arası keser dişler arası mesafe farkının anlamsız olduğu görülmektedir ( $p=0,978$  ve  $p=0,899$ ). Bu sonuç çalışmamızda kullandığımız genişletme ve pekiştirme apareylerinin standart olarak hazırlandığını göstermektedir. Kontrol grubu, Grup I ve Grup II içerisinde T1 ve T2 dönemlerinde ortalama genişletme miktarlarının istatistiksel olarak benzer olması ise uygulanan pekiştirme apareyinin elde edilen ekspansiyonun korunmasında başarılı olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte bazı tavşanlarda T1 ve T2 dönemlerinde keserler arası mesafede 0,1 mm düzeyinde azalma meydana gelmiştir. Azalmanın istatistiksel olarak anlamsız olmasıyla birlikte; bu azalmayı kemirgen hayvanlarda kesici dişlerin sürekli uzamasına bağlı olarak, tavşanların üst kesici dişlerinde gingival

papilla hizasında bulunan pekiştirme apareyinin zamanla insizal kenara doğru yer değiştirmesiyle açıklayabiliriz. Bu durumda pekiştirme apareyi, diş köklerinin zamanla dikleşmesinden dolayı sütürü tekrar kapatmaya zorlayan rezidüel kuvvetlere karşı gingival sınırdan olduğundan daha az etkili olacaktır. Bu yüzden kesici dişler arası mesafede çok hafif bir azalma olması beklenen bir durumdur.

### 5.5 Üst Çene Genişletmesi Sonrası Stabilité

RME sonrasında uygun apareylerle yeterli süre pekiştirme yapılmazsa nüks meydana geldiği yapılan araştırmalar ve klinik gözlemler sonucu ortaya konmuştur.<sup>8,211</sup> Nüks oluşmasında en büyük etkenin genişletme olduğu bununla beraber genetik ve çevresel faktörlerin de katkısı olduğu düşünülmektedir. RME ile oluşan ağır kuvvetler ve stres sonucu sert dokularda deformasyonlar ve yumuşak dokularda gerilmeler meydana gelmektedir.<sup>19</sup> Ayrıca üst çenenin komşu kemiklerle yaptığı artikülasyonlar nedeniyle genişletme sonrası rezidüel kuvvetlerin nükse sebep olabileceği de vurgulanmıştır.<sup>73</sup>

Haas<sup>52</sup>, Timms<sup>5</sup>, Mew<sup>109</sup> Stockfish<sup>108</sup>, gibi araştırmacılar gerekenden bir miktar daha fazla genişletme (over-correction) yapılmasını tavsiye etmektedirler. Bununla birlikte genişletme apareyi çıkarıldıktan sonra sabit bir pekiştirme apareyi kullanılmasının nüks oranını daha da azaltabileceği rapor edilmiştir.<sup>108</sup>

Bazı yazarlar<sup>52,57,107,109</sup> nüksü azaltmak için uzun süreli pekiştirme uygulamasını gerekli görmüştür.

Midpalatal sütürün daha yavaş ve kontrollü bir şekilde ayrılmasının en iyi pekiştirme şekli olduğunu savunan Storey<sup>110</sup> ve bu prosedürün en az nüks potansiyeli taşıdığını ileri sürmektedir. Yine Ekström ve ark.<sup>30</sup> tarafından üst çene genişletmesinden sonra nüksü azaltmak için, daha hafif ve devamlı kuvvetlerle yapılan yavaş üst çene genişletmesi önerilmiştir.

İşeri ve Özsoy<sup>35</sup> da, yarı hızlı üst çene genişletmesinin nazomaksiller komplekste adaptasyon prosesini uyarabileceğini, böylece pekiştirme sonrası dönemde nüksü azaltabileceğini ifade etmişlerdir.

Üst çene genişletmesinde kullanılan aparey tasarımının nüks miktarını etkilediği düşünülen araştırmacılardan Haas<sup>57</sup> ile Moussa ve ark.<sup>112</sup>, nüksün daha az olmasının sebeplerinden biri olarak apareyin tasarımını ileri sürmüşler, dişlerle birlikte damak dokusundan da destek alan aparey tasarımının stabiliteyi artırdığını dolayısıyla nüksü

azalttığını ifade etmişlerdir. Bununla birlikte üst çene genişletmesi sonrasında kullanılan pekiştirme aygıtının tipinin de nüksü etkilediğini öne süren Stockfish<sup>108</sup>, hareketli plaklarla yapılan pekiştirmenin yeterli olmadığını, genişletme sonrasında bantlı sabit pekiştirme aygıtlarının nüksü azaltacağını belirtmektedir.

Güncel literatür incelendiğinde sistemik veya lokal uygulama yapılarak genişletme bölgesindeki yeni kemik formasyonunun hızlandırılıp, oluşan kemiğin kalitesinin artırılarak tedavi süresini kısaltmayı ve tedavi sonrası elde edilen durumun stabilitesini korumayı amaçlayan çeşitli çalışmaların mevcut olduğu görülmektedir.<sup>6,7,116,117,189,206,211</sup> Haas<sup>21</sup>, yıllar önce midpalatal sütürün açılmasıyla ark genişliğinde elde edilen artışın kalıcılığının sütürdeki yeni kemik tamiri ile sağlanabileceğini rapor etmiştir.

Öztürk ve ark.<sup>211</sup> rat sagittal sütürü üzerinde zoledronik asidin etkilerini araştırdıkları çalışmalarında zoledronik asidin yeni kemik formasyonunu stimüle ettiğini ve nüks oranını azalttığını bulmuşlardır.

Altan ve ark.<sup>206</sup> 2013 yılında yayınlanan çalışmalarında ratlarda sistemik uygulanan propolisin midpalatal sütürde yeni kemik formasyonunu artırabileceğini rapor etmişlerdir.

Erdoğan<sup>213</sup> sonuçlarını stereolojik olarak incelediği çalışmasında ratlar üzerinde hızlı üst çene genişletmesi sonrasında sistemik capparıs spinoza ekstresinin sütürel kemikleşmeye olan etkisini araştırmış, capparıs spinoza ekstresinin erken dönemde osteoblastik aktiviteyi iki katına çıkardığını, geç dönemde ise kontrol grubundaki fizyolojik kemiksel faaliyetlerin capparıs spinoza grubunu yakaladığını bulmuşlardır.

Göçtürk<sup>205</sup> üst çene genişletmesi sonrasında sistemik olarak uygulanan teriparatid, kalsiyum+D vitamini kombinasyonu ile teriparatid+kalsiyum+D vitamini kombinasyonunun midpalatal sütürde kemik formasyonu üzerindeki etkilerini incelediği çalışmasında teriparatid+kalsiyum+ D vitamini uygulanması ile midpalatal sütürde yeni kemik yapımının arttığını ve bu yeni kemiğin daha kısa sürede olgunlaşıp mineralize olarak nüksü azaltabileceğini bildirmiştir.

Uysal ve ark.<sup>189</sup>, yaptıkları tavşan çalışmasında üst çenede genişletme yapmışlar ve sistemik olarak besinsel boron verdikleri ve vermedikleri grupları karşılaştırmışlardır. Besinsel boronun üst çene genişletmesinde erken dönemde kemik

rejenerasyonuna katkısı olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca yine bir diğer çalışmasında Uysal ve ark.<sup>9</sup> kemikleşmeye olan etkisini araştırmak üzere genişletme yaptıkları rat midpalatal sütürüne lokal olarak aktif vitamin D analogu olan ED-71 enjekte etmişler ve midpalatal sütürde erken dönemde kemikleşmeye pozitif yönde katkısı olduğunu bildirmişlerdir.

Sawada ve Shimizu<sup>6</sup> ratlar üzerinde yaptıkları RME çalışmasında genişletmeden 1 gün sonra midpalatal sütür bölgesine lokal olarak TGF- $\beta_1$  enjekte etmiş ve sütürdeki yeni kemik oluşum hızında ve miktarında artış olduğunu bildirmişlerdir.

Saito ve Shimizu<sup>7</sup> yaptıkları lazer çalışmasında, genişletme süresince midpalatal sütür bölgesine lokal olarak değişik süre ve frekanslarda gallium aluminum diode lazer uygulamışlar ve lazer uygulamasının sütür bölgesinde kemik rejenerasyonunu hızlandırdığını, pekiştirme süresini kısalttığını ve nüksü engelleyici etkileri olduğunu bildirmişlerdir.

Chang ve ark.<sup>116</sup> hücre migrasyon modelinde anjiogenik faktörlerin etkilerini araştırdıkları çalışmalarında distile suda çözülmüş insan rekombinant endotelial hücre büyüme faktörünü rat premaksiller sütürü içerisine enjekte etmiştir. Araştırmacılar preosteoblast sayısında artış bulmuşlar, uygulanacak optimal kuvvetin ve yardımcı büyüme faktörlerinin tedavi süresini kısaltabileceğini ve stabiliteye katkı sağlayabileceğini bildirmişlerdir.

## **5.6 Trombositten Zengin Plazma**

Bilindiği üzere kemik metabolizması çok sayıda hormonal ve lokal faktörün devamlı denetimi altındadır. Kalsitropik hormonlardan kemik metabolizmasını en çok etkileyen üçü; paratiroid hormon, vitamin D ve kalsitonindir.<sup>121,137</sup>

Bunların haricinde kemik metabolizması bazı kimyasal, elektriksel ve mekanik uyarılarla düzenlenir. Özellikle kemik iyileşmesi sırasında trombosit, makrofaj ve fibroblastlar, bazı proteinler ve büyüme faktörleri salgırlar. Bu proteinler karmaşık trafiği düzenlemekte, migrasyon, proliferasyon ve diferansiyasyon ile rezorpsiyon arasındaki hassas dengeyi yerel olarak sağlamaktadırlar. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, kemik iyileşmesinde rol alan birçok kemik uyarıcı faktör tanımlanmıştır. Bunlar arasında BMP, IGF, TGF, PDGF ve FGF sayılabilir. Bu faktörler çeşitli

saflaştırma metotlarıyla direkt denekten elde edilebildiği gibi, rekombinant olarak da istenilen miktarda elde edilmesi mümkündür.<sup>119,121,137-139</sup>

Çalışmamızda yara iyileşmesinin başlatıcıları olan trombosit kaynaklı büyüme faktörlerinin üst çene genişletmesi sonrası sütür içerisindeki lokal konsantrasyonunun artırılması; dolayısıyla kemik formasyonunun hızlandırılması, elde edilecek yeni kemiğin kalite ve kantitesinin artırılması ve pekiştirme süresinin azaltılması amacıyla Trombositten Zengin Plazmanın kullanılmasına karar verilmiştir.

Deneysel çalışmaları tamamlanmadan önce kullanıma giren TZP ile yapılan klinik çalışmalarda genel olarak kontrol gruplarının olmaması veya yetersiz olması, deneysel çalışmalara olan ihtiyacı ön plana çıkarmıştır. Bununla birlikte literatür incelendiğinde TZP'nin midpalatal sütür bölgesinde kemik formasyonuna olan etkilerini araştıran herhangi bir çalışma bulunmadığı görülmektedir.

TZP hazırlanması sırasında amaç aynı olmasına rağmen, literatürde, araştırmacıların kullandıkları yöntemlerde santrifüj sırasında uygulanan g ya da rpm değeri, santrifüj sayısı ve süreleri ile ilgili birleştikleri ortak bir nokta olmadığı, bazı araştırmacıların uyguladıkları santrifüj işlemiyle ilgili g değerini bildirirken<sup>144,172,173</sup> bazı araştırmacıların rpm değerini bildirdikleri<sup>15,174,175</sup>; bazı araştırmacıların ise tek santrifüj uyguladıkları<sup>172,176</sup>, bazılarının da çift santrifüj uyguladıkları<sup>174,175</sup> görülmüştür.

Literatürdeki çalışmalarda TZP elde etmek için farklı santrifüj metotlarının kullanıldığı görülmektedir. Kimi araştırmacılar çift aşamalı santrifüj yönteminde daha yüksek trombosit sayılarına ulaşıldığını belirtmekte<sup>15,174,175,214,215</sup> buna karşın bazı araştırmacılar ise tek aşamalı santrifüjün trombositleri konsantre etmek için yeterli olduğunu savunmaktadırlar.<sup>172,176,216</sup>

2010 yılında Nagata ve ark.<sup>214</sup> tek aşamalı ve çift aşamalı santrifüj yönteminin etkinliğini karşılaştırdıkları çalışmalarında, çift aşamalı santrifüj yöntemiyle daha fazla trombosit konsantrasyonu elde edilebileceğini ancak çift aşamalı santrifüj yönteminin trombosit morfolojisinde bozulmalara yol açabileceğini ve işlemsel hatalara daha yatkın olduğunu rapor etmiştir.

Bu bilgiler ışığında, mevcut çalışmamızda, TZP hazırlanması için tercih ettiğimiz teknik, literatürde kullanımını yaygın olduğunu gördüğümüz<sup>150,169,174,217-219</sup>, ilki 2400

rpm'de 10 dk, ikincisi ise 3600 rpm'de 15 dk olmak üzere iki aşamalı santrifüjün kullanıldığı Curasan\* metodu olmuştur.

Diş hekimliğinde, rejeneratif tedavilerde gerekli olan TZP miktarlarının çok fazla olmaması nedeni ile gerekli kan miktarının en az olduğu yöntemler tercih edilebilmektedir. Bu tip yöntemlerde alınan kan miktarı 10 ml civarında olduğu için hastada işlem sonrası herhangi bir komplikasyon görülme riski oluşmamaktadır.

Çalışmamızda kullanmayı seçtiğimiz Curasan TZP kiti tavşanların hayatını tehlikeye sokmayacak sınırlar içerisinde 8 ml kan gerektirmektedir.

Mevcut literatürde TZP'nin içermesi gereken en uygun trombosit miktarının hala kesin olarak bilinmediği ve büyüme faktörlerinin ideal konsantrasyonları ya da dozu ile ilgili yeterli bilgi bulunmadığı farklı otörlerce vurgulanmaktadır.<sup>15,143,178,220</sup> 1998 tarihli yayınlarında Marx ve ark.<sup>15</sup> total kan trombosit sayısına göre, en az 3 kat artmış trombosit miktarına sahip plazmanın TZP olarak adlandırılabilceğini ileri sürmüşlerdir.

Weibrich ve ark.<sup>174</sup> 47 sağlıklı vericiden aldıkları venöz kanlar üzerinde yaptıkları araştırmalarında, Curasan metoduyla hazırlanan TZP içerisindeki trombosit miktarının başlangıç değerine göre yaklaşık 3,7 kat arttığını bildirmişlerdir ( $p < 0.001$ ).

Thorwarth ve ark.<sup>219</sup> domuz modelinde gerçekleştirdikleri immünohistokimyasal çalışma sonucunda, venöz kandaki trombosit sayısının Curasan metoduyla 4,1 kat arttığını bildirmişlerdir. Bu değerlerin Marx'ın<sup>15</sup> TZP tanımlamasına uyduğu görülmektedir.

TZP hazırlanması amacıyla preoperatif dönemde hastadan alınan kanın işlem süresince pıhtılaşmaması için çeşitli antikoagülan ajanlar kullanılmaktadır. Literatürü incelediğimizde bu amaçla en çok tercih edilen ajanların sitrat türevleri olduğunu görmekteyiz.<sup>15,175,221</sup> Hastadan alınan kandan daha fazla sayıda trombosit elde etmek amacıyla sodyum sitrat ile birlikte EDTA kullanılan bir çalışmada ise trombosit sayısının arttığı ancak trombositlerde hasar ve parçalanma izlendiği bildirilmiştir.<sup>144</sup> Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak, tavşanlardan alınan 8 ml kan Curasan TZP kitinde bulunan 0,5 ml %10'luk trisodyum sitrat içeren steril monovetlere aktarılmıştır.

---

\* PRP kit, Curasan, Pharma GmbH AG, Kleinostheim, Germany

TZP hazırlanmasında kullanılan santrifüj cihazının özelliği ve uygulanan metotta araştırma sonuçlarını etkilemektedir. Santrifüj sırasında trombositlere içlerindeki büyüme faktörlerinin aktivasyonlarını ve salınımlarını önleyecek şekilde zarar verilmemeli ve kırmızı kan hücrelerinden trombositlerin tamamen ayrılması sağlanmalıdır.<sup>199</sup> Çalışmalar düşük kalitede TZP üreten cihazların kullanımının sakıncalı olduğunu da göstermiştir.<sup>174</sup> Marx<sup>199</sup> TZP'nin yara iyileşmesi üzerine etkisinin olmadığı gösterilen çalışmalar ile ilgili olarak, TZP hazırlanması sırasında yeterli miktarda terapötik trombosit konsantrasyonunun muhafaza edilmesi gerektiğini bildirmiştir. Çalışmamızda kullandığımız Curasan PRP sistemi\* ve Heraeus Labofuge 300<sup>†</sup> marka santrifüj cihazı istenen özellikleri taşımakta ve ideal terapötik trombosit konsantrasyonu sağlamaktadır.

Literatür incelendiğinde TZP'yi otojen kemik<sup>15,184,200,219</sup>, ksenogreft, alloplastik greft<sup>222</sup> ve allogreft<sup>215</sup> gibi farklı materyallerle birlikte uygulayan araştırmacıların yanında çalışmamızda olduğu gibi TZP'yi tek başına uygulayan araştırmacıların<sup>185,222,223</sup> olduğu da görülmektedir. Bununla birlikte TZP'nin tek başına uygulanmasıyla ilgili yapılmış çalışmaların sonuçları incelendiğinde, araştırmacıların farklı sonuçlar elde ettikleri görülmüştür.

Aghaloo ve ark.<sup>222</sup> tavşan kraniumunda oluşturulan kemik defektlerinde, TZP uygulanan grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulamadıklarını bildirmişlerdir. Diğer yandan, Fontana ve ark.<sup>223</sup> ise, 2004 yılında Winstar tipi sıçan modelinde tibia'ya yerleştirdikleri TZP'li ve TZP'siz titanyum implantlar etrafındaki osteogenezisi değerlendirdiklerinde, TZP'li grupta yeni oluşan kemik miktarının 4 hafta sonunda TZP'siz gruptan istatistiksel olarak fazla olduğunu bildirmişlerdir. Ancak, Monov ve ark.<sup>185</sup> insanda TZP'li ve TZP'siz uyguladıkları titanyum implantlar çevresindeki incelemelerinde 6 haftalık erken iyileşme döneminde gruplar arasında fark bulamadıklarını bildirmişlerdir. TZP'nin tek başına uygulamalarını, insanda gömülü 3. molarların alınmasıyla oluşan sağlıklı çekim soketlerinde inceleyen çalışmalarda ise, TZP uygulamasının postoperatif komplikasyonları azalttığı ve radyolojik olarak gözlenen kemik remodellingini arttırdığı bildirilmiştir.<sup>172,224</sup>

---

\* PRP kit, Curasan, Pharma GmbH AG, Kleinostheim, Germany

† Heraeus Labofuge 300, Kendro Laboratory Products, Osterrode, Germany

Çalışmamızda TZP uygulamasının; daha pratik olması, maliyetinin daha az olması, ek bir protokol ya da cerrahi bir işlem gerektirmemesi ve kliniğe yönelik uygulamasının daha gerçekçi olması göz önünde bulundurularak tek başına yapılmasına karar verilmiştir.

Literatür incelendiğinde distraksiyon osteogenezisin ve TZP uygulamalarının doku mühendisliğinde son yıllarda kullanılan büyüme eksenli uygulamalar olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalarda distraksiyon osteogenezisi esnasında TZP uygulamalarının kemik dokusunun iyileşmesini arttıracığı düşünülmüştür.<sup>225-227</sup>

Distraksiyon osteogenezisinde bölünmüş kemik fragmanları arasında oluşan tamir kallusuna dereceli traksiyon uygulanmakta olup, bu traksiyonun kallus üzerinde stress oluşturması sonucu yeni kemik formasyonu stimüle edilmektedir. Kemikte meydana gelen bir kırık veya uygulanan bir osteotomi sonucu kemik rejenerasyonu başlatılıp, iskeletsel büyüme faktörleri (BMP) aktive olmaktadır. Bunlar tamir prosesini düzenleyen kollajen olmayan proteinlerdir. Bu büyüme faktörleri etkisi altında primitif hücreler önce preosteoblastlara sonra osteoblastlara dönüşmektedir.<sup>228</sup>

Bilindiği gibi ortodontik tedavilerde distraksiyon osteogenezinde olduğu gibi kraniyofasiyal bölgedeki kemiklere germe ve kompresyon tipi kuvvetler uygulamak yeni bir kavram değildir. Çok uzun zamandır iskeletsel deformiteleri düzeltmeyi amaçlayan dental traksiyon prensipleri üzerine çalışmalar yapılmıştır. Bu açıdan ortodontik perspektiften bakıldığında hızlı üst çene genişletmesi ve distraksiyon osteogenezisin prensip olarak birbirine benzediği söylenebilir.

Swennen ve ark.<sup>225</sup> koyunlar üzerinde yürüttüğü çalışmalarında TZP'nin kranial distraksiyon osteogenezisdeki kemikleşmeye olan etkilerini araştırmışlardır. Distraksiyona operasyondan hemen sonra başlanan olgularda TZP uygulandığında kemik rejenerasyonunun arttığı gözlenmiş ancak 5 günlük bir latent periodun ardından distraksiyona başlanan olgularda kemik rejenerasyonunda artma gözlenmemiştir. Distraksiyona hemen başlanan ya da 5 günlük latent periodun ardından başlanan TZP uygulamalarında, TZP uygulanmayan olgulara oranla kemik hacminde ve yoğunluğunda istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır.

Latalski ve ark.<sup>226</sup> 2011 yılında yayınlanan çalışmalarında bacak boyu uyumsuzluğu sebebiyle distraksiyon osteogenezisi uyguladığı 19 hastayı iki gruba bölmüş



ve bir gruba distraksiyon sırasında TZP uygulamışlardır. Araştırmacılar rejenerat kemiğe TZP enjeksiyonu uygulamanın bacak boyu uzatması sırasında tedavi süresini kısaltması açısından etkili bir metot olabileceği sonucuna varmışlardır.

Sanchez ve ark.<sup>227</sup>, 16 aseptik nonhipertrofik nonunionu olan 15 hastayı TZP kullanarak tedavi ettiklerini açıklamışlardır. Unstabil kırıkları olan hastalara plak ya da i.m. çivilemeye ek olarak allojenik greft ile karıştırılmış TZP uygulaması, stabil kırıklara da sadece perkütan TZP enjeksiyonu yapmışlardır. Ortalama 4,9 ayda tüm kırıklarda kaynama elde etmişlerdir.

Bununla birlikte distraksiyon osteogenezisi ve hızlı üst çene genişletmesinde benzer stratejiler uygulansa da kemik oluşumunun indüklenmesinde bazı farklılıklar olduğu bildirilmiştir.<sup>229,230</sup> Hou ve ark. distraksiyondan farklı olarak genişletmede bekleme süresi, ödem ve nötrofil infiltrasyonu ile karakterize akut inflamasyon görülmediğini, midpalatal sütürün genişletilmesi sonucu oluşan biyolojik cevabın yara iyileşmesinden ziyade mekanosensitiv mekanizmayla meydana geldiğini bildirmişlerdir.<sup>136</sup>

Literatürde distraksiyon osteogenezisi dışında TZP'nin kemik iyileşmesini artırdığını rapor eden birçok çalışma mevcuttur.

Mancuso ve ark.<sup>224</sup> çalışmalarında TZP'yi 3. molar dişlerin çekim soketlerine uygulamış TZP'nin alveolit oluşma oranını azalttığı, daha az ağrıya sebep olduğu ve radyografik olarak da daha yoğun kemik iyileşmesi sağladığını bildirmişlerdir.

Anitua<sup>172</sup>, implant öncesinde çekim endikasyonu konulmuş 20 sağlıklı bireyde dişlerin çekim soketlerinde yaptığı karşılaştırmalı çalışmasında, çekim boşluklarının bir kısmı TZP ile tedavi edilirken bir kısmı kontrol grubu olarak spontane iyileşmeye bırakılmıştır. Araştırmacı çalışmasının sonucunda TZP uygulamalarının hiçbir negatif yan etki oluşturmadığını, bu bölgelerin %100'ünde epitelizasyonun tamamlandığını ve kontrol bölgelerinden daha iyi epitelizasyon saptandığını, olgun kemiğin rejenerasyonunun hem kalite hem de kantite açısından TZP'li test bölgelerinde daha iyi olduğunu bildirmiştir.

Hwang ve Choi<sup>231</sup> tavşanlarda mandibuler alveolar distraksiyon osteogenezi gerçekleştirdikleri çalışmalarında mezenşimal kök hücreleri ve TZP kombinasyonunun kallusdaki kemik formasyonuna olan etkilerini araştırmışlardır. 5 günlük latent periyot

sonrasında 6 gün boyunca 6,3 mm distrakte ettikleri mandibuladaki kemikleşmeyi histolojik, radyolojik ve mekanik olarak analiz etmişlerdir. Araştırmacılar TZP birlikte mezenşimal kök hücrelerinin kemikleşmeyi artırarak konsolidasyon periyodunu kısaltabileceğini iddia etmişlerdir.

Marx<sup>15</sup> tarafından yapılan bir çalışmada mandibuler defekti olan 88 hastanın 44 tanesinde sadece kemik grefti, 44 tanesinde ise kemik grefti ile birlikte TZP kullanılmıştır. Operasyondan 6 ay sonra bölge implant cerrahisi için açıldığında örnek alınarak, histomorfometrik analiz yapılmıştır. Kemik grefti ile TZP'nin birlikte uygulandığı hastalarda defekt bölgesinin ortalama % 74'ünde trabeküler kemik alanlarının olduğu, sadece kemik grefti kullanılan hastalarda trabeküler kemik alanlarının ortalama % 55,1 seviyesinde olduğu bildirilmiştir.

Hakimi ve ark.<sup>232</sup> kemik rejenerasyon hızı insanlara (1,0-1,5mm/gün) benzeyen domuzlarda (1,2-1,5 mm/gün) yapılan bir başka çalışmada; TZP ile kombine olarak greftlenen defektin kortikal kısmının ortalama % 55,9'unda, sadece kemik grefti kullanılan defekte kortikal kısmın ortalama % 39,3'ünde yeni kemik dokusu olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada defekt alanının merkezinden alınan örnekler incelendiğinde TZP kullanılan grubun defekt alanının ortalama % 53,6'sında, TZP kullanılmayan grubun ortalama % 37,4'ünde yeni kemik dokusu olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonucuna göre TZP ile kombine olarak greftlenen olgularda yeni kemik oluşum miktarı, TZP kullanılmayan olgulara oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Literatürdeki birçok araştırma TZP'nin kemik iyileşmesine pozitif etkileri olduğunu savunsa da bunun aksini gösteren araştırmalarda mevcuttur.

2010 yılında Mooren ve ark.<sup>233</sup> 20 adet keçinin iliak kemiğinden elde ettikleri otojen kemik greftini, allojen kemik grefti ve TZP ile karıştırmıştır. Araştırmacılar kontrol grubunda ise otojen ve allojen kemik greftini karıştırmış, TZP kullanmamışlardır. Erken ve geç dönemde yapılan histolojik ve histomorfometrik analizler sonucunda TZP'nin kemik iyileşmesini arttırmadığı sonucuna varmışlardır.

Aghaloo ve ark.<sup>222</sup> tavşanların kafatasında kritik boyutlu kemik defekti hazırladıkları çalışmalarında defektleri otojen kemik grefti, otojen kemik grefti ile TZP ve sadece TZP kullanılarak doldurmuşlardır. Çalışmanın sonucunda otojen kemik grefti

ile birlikte TZP kullanılan grupta kemikleşme miktarı sadece otojen kemik grefti kullanılan grupla aynı seviyede bulunmuştur. Sadece TZP kullanılan grupta ise kemikleşme miktarı diğer iki gruptan istatistiksel açıdan anlamlı derecede daha az bulunmuştur.

Bahsi geçen çalışmalarda TZP'nin kemik iyileşmesini arttırmada etkisinin olmadığı gösterilmesi hayvanlardan elde edilen trombosit konsantrasyonunun varyasyonlar göstermesine bağlanmaktadır.<sup>233</sup> Bununla birlikte TZP ile ilgili olarak yapılan çalışmaların birbirleriyle çelişen sonuçlar vermesi, çalışmaların insan ya da hayvan üzerinde yapılmasına, oluşturulan defektlerin büyüklüğüne, TZP'nin biyolojik etkilerinin farklılık göstermesine, TZP'nin hazırlanış biçimine, TZP ile birlikte kullanılan greft materyalinin tipine ve incelenen zaman dilimlerinin farklılıklarına bağlanabilir.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler TZP'nin kemik remodellingine pozitif etkileri olduğunu bildiren çalışmalarla<sup>15,172,224,231,232,234</sup> paralel olarak, midpalatal sütüre TZP enjeksiyonunun kemik formasyonunu artırdığını göstermektedir. Midpalatal sütürdeki kemik yoğunluğu değişimi başlangıç ve pekiştirme sonrası döneme göre incelendiğinde (Çizelge 4-3); beklenildiği gibi en fazla kemik yoğunluğu artışı Grup II'de tespit edilmiştir (124,2±30,68 HU, p<0,001). Grup II'nin pekiştirme sonundaki kemik yoğunluğu değerinin (898,3±58,49 HU) başlangıç kemik yoğunluğu değerinden (774,2±59,20) anlamlı derecede daha fazla olması başlangıçtaki kemikten daha yoğun bir kemik oluştuğunu desteklemektedir.(Çizelge 4-2). Bununla birlikte başlangıç kemik yoğunluğuna göre pekiştirme sonrası kemik yoğunluğu değişimi Grup I açısından değerlendirildiğinde (Çizelge 4-3); bir kez TZP uygulanan Grup I'deki kemik yoğunluğu artışı da (40,5±33,17 HU) kontrol grubundan (-16,7±16,33 HU) istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha fazla bulunmuştur (p=0,007). Bu sonuçlar, bir kez TZP uygulamanın da kemikleşmeyi artırabildiğini ancak uygulanan TZP sayısı arttıkça oluşan yeni kemiğin kalite ve kantitesinin artarak daha yoğun bir kemik oluşabileceğini göstermektedir.

Literatür incelendiğinde, kullanılan materyale göre farklılık gösterse de genişleme sonrası midpalatal sütüre enjeksiyon yaparak kemik formasyonunu artırmayı amaçlayan araştırmacılar, zamanlama ve doz uygulamasında farklılıklar göstermektedir. Bununla

birlikte araştırmacıların lokal enjeksiyon için daha çok genişleme başladıktan 12-24 saat sonrasını tercih ettikleri görülmektedir.<sup>6,9,116</sup>

Chang ve ark.<sup>116</sup> hücre migrasyon modelinde anjiogenik faktörlerin etkilerini araştırdıkları çalışmalarında distile suda çözülmüş insan rekombinant endotelial hücre büyüme faktörünü (rhECGF) rat premaksiller sütürü içerisine enjekte etmişlerdir. Araştırmacılar anjiogenik indüksiyonu maksimize etmek<sup>235</sup> amacıyla rhECGF enjeksiyonunu kuvvet uygulandıktan 12 saat sonra uygulamışlardır.

Sawada ve Shimizu<sup>6</sup> 25 adet erkek winstar rat üzerinde yaptıkları çalışmalarında, midpalatal sütür içerisinde genişletme başladıktan 24 saat sonra osteoblast ve fibroblastlarda TGF-  $\beta_1$  ekspresyonunun ortaya çıktığını saptamışlardır. Bu bilgidan yola çıkarak genişletmeden 24 saat sonra TGF-  $\beta_1$ 'i midpalatal sütür alanına enjekte eden araştırmacılar, midpalatal sütürdeki kemik formasyon hızında ve miktarında artış olduğunu bildirmişlerdir.

Uysal ve ark.<sup>9</sup> kemikleşmeye olan etkisini araştırmak üzere genişletme yaptıkları rat midpalatal sütürüne lokal olarak aktif vitamin D analogu olan ED-71 enjekte etmişlerdir. Araştırmacılar ED-71 enjeksiyonunu genişletme prosedürü başladıktan 24 saat sonra gerçekleştirmiş ve sütürdeki kemik formasyonunda önemli derecede stimülasyon gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Yine literatürde hızlı üst çene genişletmesiyle benzer protokole sahip olan distraksiyon osteogenezinde kemik formasyonu üzerine çalışma yapan araştırmacıların distraksiyon ve konsolidasyon fazları içerisinde çeşitli dönemlerde ve farklı dozlarda kallus içerisine TZP enjeksiyonu yaptığı görülmektedir.<sup>231,236-238</sup>

Kitoh ve ark.<sup>237</sup>, akondroplazi ve konjenital psödoartrozisi olan bireylerde kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücre ve TZP enjeksiyonunu distraksiyon aralığına sırasıyla distraksiyonun başladığı gün ve konsolidasyon sırasında olmak üzere 2 doz halinde uygulamışlardır.

Kitoh ve ark.<sup>236</sup> ön sonuçlarını sunduğu kemik iliği kaynaklı mezanşimal kök hücre ve TZP enjeksiyonu yaptıkları vaka raporunda enjeksiyon uygulamasını distraksiyon sırasında (operasyonun 21.günü) ve konsolidasyon başladığı gün olmak üzere 2 doz şeklinde uygulamışlardır.

Kinoshita ve ark.<sup>238</sup> yüksek hızda distraksiyon yaptıkları tavşan üst çenesinin zigomatik proseslerinde, kemik rejenerasyonunu artırmak amacıyla içeriğinde otolog mezenşimal kök hücreleriyle TZP kombinasyonu olan doku mühendisliğiyle yapılmış osteojenik materyali (TEOM) distraksiyonun bitip konsolidasyon fazının başladığı gün distraksiyon sahasına enjekte etmişlerdir.

Hwang ve Choi<sup>231</sup> tavşanlarda mandibuler alveolar distraksiyon osteogenezi gerçekleştirdikleri çalışmalarında mezenşimal kök hücreleri ve TZP kombinasyonunu konsolidasyon periyodunun 1. günü enjekte etmişler ve bu kombinasyonun kemikleşmeyi artırarak konsolidasyon periyodunu kısaltabileceğini iddia etmişlerdir.

Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak TZP'nin kemik formasyonu üzerine olan etkilerini araştırmak amacıyla Grup I'de genişletme bittikten sonra pekiştirmenin başladığı gün TZP enjeksiyonu yapılmasına karar verilmiştir. Grup II de ise TZP'nin doza bağımlı etkilerini belirlemek amacıyla ikinci bir ek doz yapılmasına karar verilmiştir. Bununla birlikte TGF-  $\beta_1$  ekspresyonunun genişletmeden 24 saat sonra ortaya çıktığı<sup>6</sup> bilgisine dayanarak Grup II'de TZP enjeksiyonları sırasıyla genişletme başladıktan 24 saat sonra ve pekiştirmenin başladığı gün olmak üzere 2 doz halinde gerçekleştirilmiştir.

Grup II'de kemik yoğunluğu değişimi T0 ve T1 dönemine göre incelendiğinde Kontrol grubuna göre Grup II'deki kemik yoğunluğunun daha az azaldığı görülmektedir (p=0,009). Bu sonuç, genişletme başladıktan 24 saat sonra TZP enjeksiyonu gerçekleştirildiğinde TGF-  $\beta_1$  ekspresyonunun en fazla olduğu dönemin yakalanmış olacağını; dolayısıyla büyüme faktörlerinin kemikleşmeye etkisinin maksimum seviyede olacağını göstermektedir.

Crovetti ve ark.<sup>239</sup> 24 bireyde, diyabet, nöropati, venöz ya da arteriyel dolaşım bozukluğu ve vaskülit sonucunda oluşmuş kronik kütanöz ülserlerin tedavisinde vakaya göre değişen sürelerde haftalık topikal TZP uygulaması yapmışlar; önceki tedavilere cevap vermemiş ve yara iyileşmesi bozulmuş bu vakaların 9'unda tam iyileşme, 11'inde ise %50'ye yakın iyileşme elde ettiklerini bildirmişlerdir. Bu bulgular, TZP'nin yara bölgesine birden fazla uygulanmasının da farklı etkileşimlere yol açabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda en fazla kemik yoğunluğunun iki kez TZP uygulanan Grup II'deki görülmesi bu bilgileri<sup>239</sup> desteklemektedir.

TZP'nin etki süresinin kesin olarak bildirildiği bir yayın henüz literatür bilgilerimiz dahilinde yer almamakla birlikte günümüzde TZP'nin özellikle iyileşmenin erken dönemlerinde etkili olduğu genel bir kanı halini almıştır. Trombositler ve trombositlerden kaynaklanan büyüme faktörlerinin ömürleri ve etki süreleri pek çok otör tarafından tartışılmıştır.<sup>14,15,240</sup> Trombositlerin degranülasyonu ve büyüme faktörü salınımlarının ilk 3-5 günde olduğu ve büyüme faktörü aktivitesinin bu yüzden 7-10 gün olduğu bildirilmiştir.<sup>240</sup> Trombositlerin ve dolayısıyla trombosit degranülasyonu sırasında açığa çıkan büyüme faktörlerinin direkt etkilerinin ortalama olarak ilk 5-6 günden sonra yavaş yavaş kaybolacağı<sup>15</sup>, ancak aktif osteoblastların ömrünün yaklaşık 3 ay olduğu göz önüne alındığında, kemik tamirinin fizyolojik mekanizmasının kemik rejenerasyonu yönünde hızlanmış bir şekilde devam edeceği öne sürülmüştür.<sup>14,15</sup> Bu bilgiler ışığında TZP uygulamasının belirli aralıklarla tekrarlanarak, TZP'nin doza bağımlı etkilerinin kısa ve uzun dönemlerde farklı boyutlarıyla da incelenmesine gereksinim olduğunu düşünmekteyiz.

Ödem, hemoraji ve enflamasyon genişletme sonrasında midpalatal sütürde rastlanabilen mikroskobik bulgulardandır.<sup>30</sup> Bununla birlikte erken kırık iyileşmesinde enflamasyonun hayati bir rolü olduğuna dair kanıtlar mevcuttur.<sup>241</sup> Çalışmamızda histolojik olarak elde edilen bulgularda ÇKBT sonuçlarını destekler niteliktedir. Enflamasyon, hücre infiltrasyonu, osteoblastik aktivasyon, osteoklastik aktivasyon ve damarlanma en az kontrol grubunda olmak üzere en fazla 2 kez TZP uygulanan Grup II de gözlemlenmiştir ( $p < 0.05$ ) (Şekil 4-6). Grup II'den elde edilen, histolojik kesitlerde, diş alveolü etrafındaki bağ dokusunda artmış enflamatuvar hücre aktivasyonu, genişlemiş ve sayıca artmış kapiller, alveoli kemik endosteumunda artmış sayıda çok çekirdekli osteoklastlar ve aktif osteoblastlar izlenmiştir. TZP ekspansiyon bölgesinde kemik oluşumundan sorumlu hücreler olan osteoblastları ve osteoklastları stimüle etmiş ve bölgedeki damarlanmayı artırarak kemik remodelingini artırmıştır. Bununla birlikte 1 kez TZP uygulanan Grup I deki damarlanma, osteoblast ve osteoklast aktivasyonu Kontrol grubundan anlamlı derecede fazla gözlemlenmiştir. Bu veriler, 1 kez TZP uygulamasında kemik remodellingini artırabileceğini ancak tekrarlayan TZP uygulamasına (2 kez) göre daha az olduğunu göstermektedir.

Kanno ve ark.<sup>13</sup> yaptıkları in vitro çalışmada insan osteosarkom hücre kültürüne TZP uygulamışlar, doz ve zamana bağlı bir modelde osteoblast benzeri hücrelerin 2 farklı tipinde proliferasyonu önemli oranda arttırdığını göstermişlerdir.

Creep ve ark.<sup>242</sup> yaptıkları çalışmada hücre kültürlerine farklı konsantrasyonlarda uygulanan TZP'nin osteoblast ve periodontal ligament hücreleri üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Uygulanan tüm TZP örneklerinin ilk 24 saat içerisinde mitojenik aktivitelerini artırdığını, beşinci günde yapılan MTT (hücre canlılığını ölçen test) analizinde en yüksek değerlerin % 50 konsantrasyonda uygulanan TZP örneklerinde olduğu kaydedilmiştir.

Gruber ve ark.<sup>243</sup> kemik iliği kültüründe yaptıkları in vitro çalışmalarında trombositlerden salınan süpernatantların osteoklast benzeri hücre formasyonuna olan etkilerini araştırmışlardır. Gerçekleştirdikleri histokimyasal analiz sonucunda trombositlerden salgılanan süpernatantların osteoklast stimülasyonu yaparak kemik remodellingine katkıda bulunduğunu rapor etmişlerdir.

TZP uygulanan gruplarda damarlanmanın arttırmasını TZP'nin içerdiği vasküler endotelial büyüme faktörünün etkileşimlerine bağlayabiliriz. Çünkü VEGF en kuvvetli anjiyogenezis uyarıcısıdır.<sup>166</sup> Kendi salınımından sonra diğer proteoglikan-bağlı salınımı olan büyüme faktörlerinin de salınımını uyarır. Bununla birlikte VEGF kemik iyileşmesi bölgesine osteoblastlar, osteoklastlar ve mezenkimal hücrelerden yoğun olarak salınır. Kırık bölgesinde yeni damar oluşumu arttırarak kemik iyileşmesine yardımcı olur.<sup>138,139</sup>

Çalışmamızın sonuçları da literatürle uyumlu olarak TZP'nin uygulandığı bölgede damarlanmayı artırıp osteoblastik ve osteoklastik hücre aktivasyonunu artırdığını böylece kemik remodellingi üzerinde pozitif etkisi olduğunu desteklemektedir.

TZP uygulanan gruplarda deney süresi içerisinde kontrol grubuna göre midpalatal sütürde kemikleşmenin artması ve daha yoğun bir kemik oluşması TZP'nin pekiştirme süresini azaltabileceğini göstermektedir. Literatürde kemikleşmenin artması sonucu tedavi süresinin kısalacağını rapor eden bir çok çalışma mevcuttur.<sup>7,116,226,231,237</sup>

Tavşanların mandibulasında alveolar distraksiyon osteogenezi gerçekleştiren Hwang ve Choi<sup>231</sup> yeni oluşan rejenerat kemiğe TZP ile birlikte mezenşimal kök hücreleri enjekte etmişlerdir. Araştırmacılar TZP birlikte mezenşimal kök hücrelerinin kemikleşmeyi artırarak konsolidasyon periyodunu kısaltabileceğini iddia etmişlerdir. Femur boyunu uzatmak amacıyla distraksiyon osteogenezi protokolünü uygulayan Latalski ve ark.<sup>226</sup> kırık hattında oluşan kallus içerisine TZP enjeksiyonu yapmışlardır.

Araştırmacılar kallus içersine TZP uygulamanın bacak boyu uzatması sırasında tedavi süresini kısaltması açısından etkili bir metot olabileceği sonucuna varmışlardır. Kitoh ve ark.<sup>237</sup>, konjenital psödoartrozisi olan bir hasta ve akondroplazisi olan iki hastada, bacak uzatmak amacı ile distraksiyon uygulamışlar, bu hastalara kemik uzatma ve konsolidasyon safhalarında TZP + kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücre enjekte etmişlerdir. Sonuç olarak distraksiyon osteenezisi esnasında kemik rejenerasyonunun hızlanarak, tedavi süresini kısaltabileceğini ifade etmişlerdir.

Sütür bölgesinde kemik rejenerasyonun hızlanmasıyla pekiştirme süresinin azalacağını savunan bir diğer çalışmada Saito ve Shimizu<sup>7</sup>'a aittir. Araştırmacılar midpalatal sütür bölgesine ekspansiyon süresince lokal olarak değişik süre ve frekanslarda gallium aluminum diode lazer uygulamışlar ve lazer uygulamasının sütür bölgesinde kemik rejenerasyonunu hızlandırdığını, pekiştirme süresini kısalttığını ve relapsı engelleyici faydaları olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte hücre migrasyon modelinde anjiogenik faktörlerin etkilerini araştırmak amacıyla insan rekombinant endotelial hücre büyüme faktörünü rat premaksiller sütürü içersine enjekte eden Chang ve ark.<sup>116</sup> preosteoblast sayısında artış bulmuş, uygulanacak optimal kuvvetin ve yardımcı büyüme faktörlerinin tedavi süresini kısaltabileceğini ve stabilizeye katkı sağlayabileceğini bildirmişlerdir.

Görüldüğü gibi araştırmacılar artan kemik formasyonunun daha kısa sürede sütür bölgesini dolduracağı varsayımdan yola çıkarak kemikleşme için beklenen zamanın azalacağını dolayısıyla tedavi süresinin kısalacağını iddia etmektedirler. Bu araştırmacılardan sadece Latalski ve ark.<sup>226</sup> external fixator indeksi ve iyileşme indeksi kullanarak bu sonuca varmıştır. Bununla birlikte TZP'nin pekiştirme zamanına etkilerinin kantitatif şekilde ölçülebildiği, farklı pekiştirme sürelerinin değerlendirilebildiği çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

İçeriği göz önüne alındığında otojen büyüme faktörü kokteyli olarak da değerlendirilen TZP kemik iyileşmesi ve yeniden şekillenmesi sırasında meydana gelen karışık hücresel olayların büyük bir kısmını içerdii büyüme faktörleri sayesinde düzenlemekte ve kontrol etmektedir. TZP'nin özellikle TGF- $\beta$  açısından oldukça zengin olduğu bildirilmiştir.<sup>15</sup> TGF- $\beta$ , BMP'lerinde üyesi olduğu, büyüme ve farklılaşma faktörlerinin bir süper ailesi olarak adlandırılır.<sup>159</sup> Günümüzde 15 adet BMP



tanımlanmışken BMP-2, BMP-4 ve BMP-7'nin en etkin osteoindüktif özelliklere sahip olduğu saptanmıştır.<sup>244</sup>

TGF- $\beta$  ailesinin kemik formasyonunda aktif rol almasından yola çıkarak çalışmamızda midpalatal sütürden alınan ek kesitlerde immüno reaktivitelerini saptamak amacıyla primer antikor olarak anti-TGF- $\beta$  ve anti-BMP-4 antikorunu kullanılmıştır.

İmmüno histokimyasal değerlendirmede midpalatal sütürü oluşturan fibroblast, osteoblast ve osteoklastlarda en fazla anti-TGF- $\beta$  ve anti-BMP-4 reaktivitesi, 2 kez TZP uygulanan Grup II'de saptanmıştır. ( $p=0,016$  ve  $p=0,009$ ). Bu sonuçların, histokimyasal ve radyolojik verilerle uyum içerisinde olduğu görülmektedir (Çizelge 4-3,4-4).

TZP'nin iyileşme sürecindeki mekanizmaları tetikleyici etkisinin, ihtiva ettiği trombositlerin ve trombositlerden kaynaklanan büyüme faktörlerinin ömrüne ve etkisine bağlı olduğu göz önüne alınırsa, TZP içeriğinin, hazırlanmasındaki yöntemsel farklılıkların ve farklı doz uygulamalarının daha net anlaşılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu sebeple, gelecekte yapılacak daha geniş çaplı, kontrollü, histolojik ve radyolojik verilerle desteklenmiş insan çalışmalarının, bu konuda daha detaylı ve gerçeğe yakın bilgiler sağlayacağını düşünüyoruz. Diğer yandan, günümüzde sıklıkla tercih edilen dijital görüntüleme ve bilgisayar destekli görüntü analiz yöntemlerinin teknolojideki hızlı ilerlemelerle birlikte popülerliğini daha da arttıracığına ve kemik iyileşmesinin takibinde invaziv olmayan bir alternatif sunacağına inanıyoruz.

## 6 SONUÇLAR

Hızlı üst çene genişletmesi sırasında ve sonrasında tavşan midpalatal sütürüne lokal olarak uygulanan TZP'nin kemik formasyonu üzerine etkilerinin incelendiği bu çalışmada bulguların değerlendirilmesiyle şu sonuçlara varılmıştır:

1. Uygulanan genişletme apareyi tavşan midpalatal sütüründe genişletme işlemi başarıyla sağlamıştır.
2. Pekiştirme apareyi midpalatal sütürde yeterli stabilizasyonu sağlamıştır.
3. Midpalatal sütürdeki kemik yoğunluğu değişimi ÇKBT yardımıyla başlangıç ve pekiştirme sonrası döneme göre incelendiğinde en fazla kemik yoğunluğu artışı, 2 defa TZP uygulanan Grup II'de tespit edilmiştir. Ayrıca Grup II'nin pekiştirme sonundaki kemik yoğunluğu değeri başlangıç kemik yoğunluğu değerinden anlamlı derecede daha fazla bulunmuştur.
4. 1 kez TZP uygulanan Grup I'in kemik yoğunluğu değişimi başlangıç ve pekiştirme sonrası döneme göre incelendiğinde hem Kontrol grubu hem de Grup II ile arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.
5. TZP'nin etkilerinin tekrarlayan uygulamalara bağlı olabileceği sonucuna varılmış, uygulama sayısı arttıkça kemik yapımının arttığı gözlemlenmiştir.
6. Histokimyasal incelemeler sonucunda TZP uygulanan gruplarda osteoblast, osteoklast ve damarlanmadaki artışın, kontrol grubundan daha fazla olduğu görülmekte buna bağlı olarak TZP'nin kemik remodelingini artırdığı tespit edilmiştir.
7. TZP uygulanan gruplarda midpalatal sütürü oluşturan fibroblast, osteoblast ve osteoklastların immünoreaktivite yönünden daha aktif olduğu tespit edilmiştir.
8. TZP uygulamasının yeni kemiğin kalite ve kantitesini arttırdığı saptanmıştır.

Bu sonuçlar göz önüne alındığında; TZP'in içerdiği büyüme faktörleri sayesinde üst çene genişletmesi sonrası sütür içerisinde yara iyileşmesi ve kemik formasyonunu hızlandırarak oluşacak yeni kemiğin kalite ve kantitesinin artırılacağı dolayısıyla pekiştirme süresinin kısaltılabileceği sonucuna varılabilir.

## 7 KAYNAKLAR

1. Bishara, S.E. and Staley, R.N. (1987). Maxillary expansion: clinical implications, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 91,3–14.
2. Timms, D.J. (1980). A study of basal movement with rapid maxillary expansion, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 77,500–7.
3. McNamara, J.A. (2000). Maxillary transverse deficiency, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 117,567–70.
4. Gurel, H.G., Memili, B., Erkan, M. and Sukurica, Y. (2010). Long-term effects of rapid maxillary expansion followed by fixed appliances, *Angle Orthod.*, 80,5–9.
5. Timms, D. (1976). Long-term follow-up of cases treated by rapid maxillary expansion, *Trans Eur Orthod Soc.*, 52, 211-215.
6. Sawada, M. and Shimizu, N. (1996). Stimulation of bone formation in the expanding mid-palatal suture by transforming growth factor-beta 1 in the rat, *Eur. J. Orthod.*, 18,169–79.
7. Saito, S. and Shimizu, N. (1997) Stimulatory effects of low-power laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in the rat, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 111,525–32.
8. Kiki, A. ve Erdem, A., (2006). Tavşanlarda maksiller genişletme ve relaps: deneysel çalışma, *Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg.*, 16,7-13.
9. Uysal, T., Amasyali, M., Enhos, S., Sonmez, M.F. and Sagdic, D. (2009). Effect of ED-71, a New Active Vitamin D Analog, on Bone Formation in an Orthopedically Expanded Suture in Rats. A Histomorphometric Study, *Eur. J. Dent.*, 3,165–72.
10. Uysal, T., Amasyali, M., Olmez, H., Karslioglu, Y. and Gunhan, O. (2009) Stimulation of bone formation in the expanding inter-premaxillary suture by vitamin E, in rat, *Korean J. Orthod.*, 39,337.
11. Lynch, S.E. and Colvin, R.B. (1989). Antoniades HN. Growth factors in wound healing. Single and synergistic effects on partial thickness porcine skin wounds, *J. Clin. Invest.*, 84,640–6.
12. Carlson, N. and Roach, R. (2002). Platelet-rich plasma. Clinical Applications in Dentistry, *The Journal of the American Dental Association*, 133,1383-86

13. Kanno, T., Takahashi, T. and Tsujisawa, T. (2005). Platelet-rich plasma enhances human osteoblast-like cell proliferation and differentiation, *Maxillofac. Surg.*
14. Jakse, N., Tangl, S., Gilli, R., et al.(2003). Influence of PRP on autogenous sinus grafts. An experimental study on sheep, *Clin. Oral Implants Res.*, 14,578–83.
15. Marx, R.E., Carlson, E.R., Eichstaedt, R.M., Schimmele, S.R., Strauss, J.E. and Georgeff, K.R. (1998). Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts, *Surgery, Oral Med.*, 85,638–46.
16. Marshall, S.D., Southard, K.A. and Southard, T.E. (2005). Early Transverse Treatment, *Semin. Orthod.*, 11,130–9.
17. Greenbaum, K.R. and Zachrisson, B.U. (1982). The effect of palatal expansion therapy on the periodontal supporting tissues, *Am. J. Orthod.*, 81,12–21.
18. Moyers, R.E. (1998). *Handbook of orthodontics*, Yearbook of Medical Publications. Chicago.
19. Timms, D.J.(1981). *Rapid maxillary expansion*, Quintessence Publishing Co. Inc., Chicago.
20. Angell, E.H. (1860). Treatment of irregularity of the permanent or adult teeth, *Dental Cosmos*, 1,540-4. (Alınmıştır) Spahl, T.J. and Witzig, J.W. The clinical management of basic maxillofacial orthopedic appliances, *Year Book Medical Publishers I, Hong Kong*.
21. Haas, A.J. (1961). Rapid Expansion Of The Maxillary Dental Arch And Nasal Cavity By Opening The Midpalatal Suture, *Angle Orthod.*, 31,73–90.
22. Chaconas S.J. and de Alba y Levy JA. (1977). Orthopedic and orthodontic applications of the quad-helix appliance, *Am. J. Orthod.* , 72,422–8.
23. Spahl, T.J. WJ. (1987) The clinical management of basic maxillofacial orthopedic appliances, *Year Book Medical Publishers Inc., Hong Kong*.
24. Haas, A.J. (1965). The treatment of maxillary deficiency by opening the midpalatal suture, *Angle Orthod.*, 35,200–17.
25. Biederman, W. A. (1968). Hygienic appliance for rapid expansion, *JPO. J. Pract. Orthod.*, 2,67–70.
26. Cohen, M. and Silverman, E. (1973). A new and simple palate splitting device, *J. Clin. Orthod.*, 7,368–9.
27. Lines, P.A. (1975). Adult rapid maxillary expansion with corticotomy, *Am. J. Orthod.*, 67,44–56.

28. Brandt, S. and Ricketts, R.M. (1975). Interview: Dr. Robert M. Ricketts on growth prediction. 2. *J. Clin. Orthod.* , 9,340–9, 352–62.
29. Ricketts, R.M. (1979). Dr. Robert M. Ricketts on early treatment. (Part 3), *J. Clin. Orthod.*, 13,181–99.
30. Cotton, L.A. (1978). Slow maxillary expansion: skeletal versus dental response to low magnitude force in *Macaca mulatta*, *Am. J. Orthod.*, 73,1–23.
31. Subtelny, J.D. (1980). Oral respiration: facial maldevelopment and corrective dentofacial orthopedics, *Angle Orthod.*, 50,147–64.
32. Arndt, W. V. (1993). Nickel titanium palatal expander, *J. Clin. Orthod.*, 27,129–37.
33. Darendeliler, M.A. and Lorenzon C. (1996). Maxillary expander using light, continuous force and autoblocking, *J. Clin. Orthod.*, 30,212–6.
34. Mommaerts, M.Y. (1999). Transpalatal distraction as a method of maxillary expansion, *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 37,268–72.
35. Işeri, H. ve Ozsoy, S. (2004). Semirapid maxillary expansion--a study of long-term transverse effects in older adolescents and adults, *Angle Orthod.*, 74,71–8.
36. Harvold, E.P., Chierici, G. and Vargervik, K. (1972). Experiments on the development of dental malocclusions, *Am. J. Orthod.*, 61,38–44.
37. Graber, T.M. (1969) Dentofacial orthopedics, in *Current orthodontics concepts and techniques*, Volume II, Ed 2, eds. Graber, T.M., W.B. Saunders Company, Philadelphia, 918-988.
38. Harvold, E.P, Tomer, B.S, Vargervik, K. And Chierici, G. (1981). Primate experiments on oral respiration, *Am. J. Orthod.*, 79,359–72.
39. Behlfelt, K., Linder-Aronson, S., McWilliam, J., Neander, P. and Laage-Hellman, J. (1989). Dentition in children with enlarged tonsils compared to control children, *Eur. J. Orthod.*, 11,416–29.
40. Kutin, G. and Hawes, R.R. (1969). Posterior cross-bites in the deciduous and mixed dentitions, *Am. J. Orthod.*, 56,491–504.
41. Mitchell, L. (1998). *An introduction to orthodontics*, Oxford University Pres, U.S.
42. Isaacson, J.A. and Murphy, T.D. (1964). Some effects of rapid maxillary expansion in cleft lip and palate patients, *Angle Orthod.*, 34,143-153.

43. Kılıç, N. (2005). Yarı hızlı (semi rapid) ve hızlı üst çenegenişletmesinin dentofasiyal yapılar ve çiğneme kaslarının tonositelerinde yaptığı değişimlerin incelenmesi, A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
44. Larsson, E. (1986). The effect of dummy-sucking on the occlusion: a review, *Eur. J. Orthod.*, 8,127–30.
45. Ülgen, M. (2005). Ortodontik tedavi prensipleri, 7th ed., Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
46. Pinkham, J.R. (1994). *Pediatric dentistry: Infancy through adolescence*, Second edition, W.B Saunders Company, USA.
47. McNamara Jr , J.A. and Brudon, W.L. (2001). *Orthodontics and dentofacial orthopedics*, Needham Press, Ann Arbor, USA.
48. McNamara Jr, J.A. and Brudon, W.L. (1993) *Orthodontic and orthopedic treatment in mixed dentition*, Needham Press, Ann Arbor, USA.
49. Thilander, B. and Lennartsson, B. (2002). A study of children with unilateral posterior crossbite, treated and untreated, in the deciduous dentition--occlusal and skeletal characteristics of significance in predicting the long-term outcome, *J. Orofac. Orthop.*, 63,371–83.
50. Kurol, J. and Berglund, L. (1992). Longitudinal study and cost-benefit analysis of the effect of early treatment of posterior cross-bites in the primary dentition, *Eur. J. Orthod.*, 14,173–9.
51. Faber, R.D. (1981). The differential diagnosis and treatment of crossbites, *Dent. Clin. North Am.*, 25,53–68.
52. Haas, A.J. (1970). Palatal expansion: just the beginning of dentofacial orthopedics, *Am. J. Orthod.*, 57,219–55.
53. Warren, D.W., Hershey, H.G., Turvey, T.A., Hinton, V.A. and Hairfield, W.M. (1987). The nasal airway following maxillary expansion, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 91,111–6.
54. Basciftci, F.A., Mutlu, N., Karaman, A.I., Malkoc, S. and Küçükkolbasi, H. (2002). Does the timing and method of rapid maxillary expansion have an effect on the changes in nasal dimensions?, *Angle Orthod.*, 72,118–23.
55. Hershey, H.G., Stewart, B.L. and Warren, D.W. (1976). Changes in nasal airway resistance associated with rapid maxillary expansion, *Am. J. Orthod.*, 69,274–84.

56. Bicakci, A.A., Agar, U., Sökücü, O., Babacan, H. and Doruk, C. (2005). Nasal airway changes due to rapid maxillary expansion timing, *Angle Orthod.*, 75,1–6.
57. Haas, A.J. (1980). Long-term posttreatment evaluation of rapid palatal expansion, *Angle Orthod.*, 50,189–217.
58. Ceylan, I., Oktay, H. and Demirci, M. (1996). The effect of rapid maxillary expansion on conductive hearing loss, *Angle Orthod.*, 66,301–7.
59. Memikoğlu, T.U. and Iseri, H. (1997). Nonextraction treatment with a rigid acrylic, bonded rapid maxillary expander, *J. Clin. Orthod.*, 31,113–8.
60. Memikoglu, T.U. and Işeri, H. (1999). Effects of a bonded rapid maxillary expansion appliance during orthodontic treatment, *Angle Orthod.*, 69,251–6.
61. Mossaz-Joëlsen, K. and Mossaz, C.F. (1989). Slow maxillary expansion: a comparison between banded and bonded appliances, *Eur. J. Orthod.*, 11,67–76.
62. Oliveira, N.L., Da Silveira, A.C., Kusnoto, B. and Viana, G. (2004). Three-dimensional assessment of morphologic changes of the maxilla: a comparison of 2 kinds of palatal expanders, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 126,354–62.
63. Sandikçioğlu, M. and Hazar, S. (1997). Skeletal and dental changes after maxillary expansion in the mixed dentition, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 111,321–7.
64. Biederman, W. (1973). Rapid correction of Class 3 malocclusion by midpalatal expansion, *Am. J. Orthod.*, 63,47–55.
65. Ciambotti, C., Ngan, P., Durkee, M., Kohli, K. and Kim, H. (2001). A comparison of dental and dentoalveolar changes between rapid palatal expansion and nickel-titanium palatal expansion appliances., *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 119,11–20.
66. Akkaya, S., Lorenzon, S. and Uçem, T.T. (1998). Comparison of dental arch and arch perimeter changes between bonded rapid and slow maxillary expansion procedures, *Eur. J. Orthod.*, 20,255–61.
67. Akkaya, S., Lorenzon, S. and Uçem, T.T. (1999). A comparison of sagittal and vertical effects between bonded rapid and slow maxillary expansion procedures, *Eur. J. Orthod.*, 21,175–80.
68. Howe, R.P. (1982). Palatal expansion using a bonded appliance. Report of a case, *Am. J. Orthod.*, 82,464–8.

69. Basciftci, F.A. and Karaman, A.I. (2002). Effects of a modified acrylic bonded rapid maxillary expansion appliance and vertical chin cap on dentofacial structures, *Angle Orthod.*, 72,61–71.
70. Wichelhaus, A., Geserick, M. and Ball, J. (2004). A new nickel titanium rapid maxillary expansion screw, *J. Clin. Orthod.*, 38,677–80; quiz 671–2.
71. Wertz, R.A. (1970). Skeletal and dental changes accompanying rapid midpalatal suture opening, *Am. J. Orthod.*, 58,41–66.
72. Işeri, H., Tekkaya, A.E., Oztan, O. and Bilgiç, S. (1998). Biomechanical effects of rapid maxillary expansion on the craniofacial skeleton, studied by the finite element method, *Eur. J. Orthod.*, 20,347–56.
73. Zimring, J.F., Isaacson, R.J. (1965). Forces produced by rapid maxillary expansion. 3. Forces present during retention, *Angle orthod.*, 35,178–86.
74. Taşpınar, F., Uçüncü, H. and Bishara, S.E. (2003). Rapid maxillary expansion and conductive hearing loss, *Angle Orthod.*, 73,669–73.
75. Tecco, S., Festa, F., Tete, S., Longhi, V. and D’Attilio, M. (2005). Changes in head posture after rapid maxillary expansion in mouth-breathing girls: a controlled study, *Angle Orthod.*, 75,171–6.
76. Howes, A.E. (1947). Case analysis and treatment planning based upon the relationship of the tooth material to its supporting bone, *Am. J. Orthod.*, 33,499–533.
77. Staley, R.N., Stuntz, W.R. and Peterson, L.C. (1985). A comparison of arch widths in adults with normal occlusion and adults with class II, Division 1 malocclusion, *Am. J. Orthod.*, 88,163–9.
78. Bishara, S.E. (2001). *Textbook of Orthodontics*, 1. ed., W. B. Saunders Company Philadelphia, USA.
79. Özsoy, F.S. (2001). Semirapid üst çene genişletmesinin dentofasiyal yapılar üzerine olan etkilerinin incelenmesi. Doktora Tezi. A. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
80. Björk, A. and Skieller, V. (1974). Growth in width of the maxilla studied by the implant method, *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.*, 8,26–33.
81. Melsen, B. (1975). Palatal growth studied on human autopsy material. A histologic microradiographic study, *Am. J. Orthod.*, 68,42–54.
82. Persson, M. and Thilander, B. (1977). Palatal suture closure in man from 15 to 35 years of age, *Am. J. Orthod.*, 72,42–52.



83. Bell, W.H. and Epker, B.N. (1976). Surgical-orthodontic expansion of the maxilla, *Am. J. Orthod.*, 70,517–28.
84. McDonald, R.E. and Avery, D.R. (1994). *Dentistry for the child and adolescent*, 6th Edition, Mosby-Year Book Inc.,USA.
85. Wertz, R. and Dreskin, M.(1977). Midpalatal suture opening: a normative study, *Am. J. Orthod.*, 71,367–81.
86. Baccetti, T., Franchi, L., Cameron, C.G. and McNamara, J.A. (2001). Treatment timing for rapid maxillary expansion, *Angle Orthod.*, 71,343–50.
87. Alpern, M.C. and Yurosko, J.J. (1987). Rapid palatal expansion in adults with and without surgery, *Angle Orthod.*, 57,245–63.
88. Alessandri Bonetti, G., Marini, I. and Rizzi, R. (1996). Disconnectable rapid palatal expander, *J. Clin. Orthod.*, 30,334–6.
89. Bell, R.A. and LeCompte, E.J. (1981). The effects of maxillary expansion using a quad-helix appliance during the deciduous and mixed dentitions, *Am. J. Orthod.*, 79,152–61.
90. Velázquez, P., Benito, E. and Bravo, L.A. (1996). Rapid maxillary expansion. A study of the long-term effects, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 109,361–7.
91. Ten Cate, A.R., Freeman, E. and Dickinson, J.B. (1977). Sutural development: structure and its response to rapid expansion, *Am. J. Orthod.*, 71,622–36.
92. Krebs, A. (1964). Midpalatal suture expansion studies by the implant method over a seven-year period, *Rep. Congr. Eur. Orthod. Soc.*, 40,131–42.
93. Proffit, W.R. (2000). *Contemporary Orthodontics*, 3rd ed., C.V. Mosby, St Louis.
94. Hicks, E.P. (1978). Slow maxillary expansion. A clinical study of the skeletal versus dental response to low-magnitude force, *Am. J. Orthod.*, 73,121–41.
95. Doruk, C., Bicakci, A.A., Basciftci, F.A., Agar, U. and Babacan, H. (2004). A comparison of the effects of rapid maxillary expansion and fan-type rapid maxillary expansion on dentofacial structures, *Angle Orthod.*, 74,184–94.
96. Sarver, D.M. and Johnston, M.W. (1989). Skeletal changes in vertical and anterior displacement of the maxilla with bonded rapid palatal expansion appliances, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 95,462–6.
97. Orhan, M. (1999). High Angle özellikli bireylerde rapid maksiller ekspansiyonun etkileri, *Uzmanlık tezi, Selçuk Üniversitesi DişHekimliği Fakültesi, Konya.*

98. Kusayama, M., Motohashi, N. and Kuroda, T. (2003). Relationship between transverse dental anomalies and skeletal asymmetry, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 123,329–37.
99. Chung, C.H. and Font, B. (2004). Skeletal and dental changes in the sagittal, vertical, and transverse dimensions after rapid palatal expansion, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 126,569–75.
100. Handelman, C.S., Wang, L., BeGole, E.A. and Haas, A.J. (2000). Nonsurgical rapid maxillary expansion in adults: report on 47 cases using the Haas expander, *Angle Orthod.*, 70,129–44.
101. Barber, A.F. and Sims, M.R. (1981). Rapid maxillary expansion and external root resorption in man: a scanning electron microscope study, *Am. J. Orthod.*, 79,630–52.
102. Garib, D.G., Henriques, J.F.C., Janson, G., Freitas, M.R. and Coelho, R.A. (2005). Rapid maxillary expansion--tooth tissue-borne versus tooth-borne expanders: a computed tomography evaluation of dentoskeletal effects, *Angle Orthod.*, 75,548–57.
103. Langford, S.R. (1982). Root resorption extremes resulting from clinical RME, *Am. J. Orthod.*, 81,371–7.
104. Jafari, A., Shetty, K.S. and Kumar M. (2003). Study of stress distribution and displacement of various craniofacial structures following application of transverse orthopedic forces--a three-dimensional FEM study, *Angle Orthod.*, 73,12–20.
105. Kiliç, N. and Oktay, H. (2008). Effects of rapid maxillary expansion on nasal breathing and some naso-respiratory and breathing problems in growing children: a literature review, *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.*, 72,1595–601.
106. Timms, D.J. (1990). Rapid maxillary expansion in the treatment of nocturnal enuresis, *Angle Orthod.*, 60,229–33; discussion 234.
107. Brogan, W.F. (1977). The stability of maxillary expansion, *Aust. Dent. J.*, 22,92–9.
108. Stockfisch, H. (1969). Rapid expansion of the maxilla--success and relapse, *Rep. Congr. Eur. Orthod. Soc.*, 469–81.
109. Mew, J. (1983). Relapse following maxillary expansion. A study of twenty-five consecutive cases, *Am. J. Orthod.*, 83,56–61.

110. Storey, E. (1973). Tissue response to the movement of bones, *Am. J. Orthod.*, 64,229–47.
111. Ekström, C., Henrikson, C.O. and Jensen, R. (1977). Mineralization in the midpalatal suture after orthodontic expansion, *Am. J. Orthod.*, 71,449–55.
112. Moussa, R., O'Reilly, M.T. and Close, J.M. (1995). Long-term stability of rapid palatal expander treatment and edgewise mechanotherapy, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 108,478–88.
113. Arat, Z.M., Gökalp, H., Atasever, T. and Türkkahraman, H. (2003). <sup>99m</sup>Techneium-labeled methylene diphosphonate uptake in maxillary bone during and after rapid maxillary expansion, *Angle Orthod.*, 73,545–9.
114. Muguerza, O.E. and Shapiro, P.A. (1980). Palatal mucoperiostomy: an attempt to reduce relapse after slow maxillary expansion, *Am. J. Orthod.*, 78,548–58.
115. Sarnäs, K. V., Björk, A. and Rune, B. (1992). Long-term effect of rapid maxillary expansion studied in one patient with the aid of metallic implants and roentgen stereometry, *Eur. J. Orthod.*, 14,427–32.
116. Chang, H., Garetto, L. and Katona, T. (1996). Angiogenic induction and cell migration in an orthopaedically expanded maxillary suture in the rat, *Arch. oral* ., 41,985–94.
117. Chang, H.N., Garetto, L.P., Potter, R.H., Katona, T.R., Lee, C.H. and Roberts, W.E. (1997). Angiogenesis and osteogenesis in an orthopedically expanded suture, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 111,382–90.
118. Soydan ,N. (1985). Genel histoloji, İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Yayınları, İstanbul, 189s.
119. Junqueira, L.C. and Carneiro, J. (2003). *Basic Histology*. 10th ed., McGraw-Hill, New York,144–6p.
120. Akay, M.T. (2001). Genel histoloji, Palme Yayıncılık, Ankara.
121. Garg, A.K. (2004). *Bone Biology, Harvesting, & Grafting For Dental Implants: Rationale and Clinical Applications*, Quintessence Publishing Company, Chicago,279p.
122. Tekelioğlu, M. (1993). Genel tıp histolojisi, Güneş Kitabevi, Ankara.
123. Sommerfeldt, D.W. and Rubin, C.T. (2001). Biology of bone and how it orchestrates the form and function of the skeleton, *Eur. Spine J.*, 2,86–95.
124. Erkoçak, A. (1975). Genel histoloji, Ankara Üniv. Tıp Fakültesi Yayınları, Ankara,317s.

125. Tez, E., Thibodeau, G.A. and Patton, K.T. (2003). *Anatomy and Physiology*, 5 ed., Mosby Inc., China, 190–202p.
126. Bancroft, J.D. and Gamble, M. (1996). *Theory and Practice of Histological Techniques*, Elsevier Health Sciences, Newyork, 309–39p.
127. Kierszenbaum, A.L. (2002). *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology*, 1st ed, Mosby Elsevier, St.Louis, 131p.
128. Vaes, G. (1988). Cellular biology and biochemical mechanism of bone resorption. A review of recent developments on the formation, activation, and mode of action of osteoclasts, *Clin. Orthop. Relat. Res.*, 239–71.
129. Roodman, G.D. (1996). Advances in bone biology: the osteoclast, *Endocr. Rev.*, 17,308–32.
130. Öztürk, F. (2008). Zoledronik asit uygulamasının hızlı genişletme sonrasında rat sagittal suturundaki kemik oluşumuna ve relaps üzerine etkisinin incelenmesi, Doktora Tezi, C.Ü., Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas.
131. Ülgen M. (2000). Ortodontik anomaliler, sefalometri, etiyoloji, büyüme ve gelişim, tanı, T.C Yeditepe Üniversitesi Yayınları, İstanbul.
132. Cleall, J.F., Bayne, D.I., Posen, J.M. and Subtelny, J.D. (1965). Expansion of the midpalatal suture in the monkey, *Angle orthod.*, 35,23–35.
133. Starnbach, H., Bayne, D., Cleall, J. and Subtelny, J.D. (1966). Facioskeletal and dental changes resulting from rapid maxillary expansion, *Angle Orthod.*, 36,152–64.
134. Gardner, G.E. and Kronman, J.H. (1971). Cranioskeletal displacements caused by rapid palatal expansion in the rhesus monkey, *Am. J. Orthod.*, 59,146–55.
135. Murray, J.M. and Cleall, J.F. (1971). Early tissue response to rapid maxillary expansion in the midpalatal suture of the rhesus monkey, *J. Dent. Res.*, 50,1654–60.
136. Hou, B., Fukai, N. and Olsen, B.R. (2007). Mechanical force-induced midpalatal suture remodeling in mice, *Bone*, 40,1483–93.
137. Meyer, U., Wiesmann, H. and Meyer, T. (2006). *Bone and cartilage engineering*. Springer-Verlag, Berlin.
138. Boden, S.D. (1999). Bioactive factors for bone tissue engineering, *Clin. Orthop. Relat. Res.*, (367 Suppl),84–94.
139. Khan, S.N., Bostrom, M.P. and Lane, J.M. (2000). Bone growth factors. *Orthop. Clin. North Am.*, 31,375–88.

140. Sánchez, A.R., Sheridan, P.J. and Kupp, L.I. (2003). Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review, *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, 18,93–103.
141. Findıkçioğlu, K. (2006). Trombositten zengin ve fakir plazmanın kritik boyutta kemik defekti iyileşmesine etkisi, *Uzmanlık Tezi*, G.Ü., Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif Ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara.
142. Rendu, F. and Brohard-Bohn, B. (2001). The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. *Platelets*, 12,261–73.
143. Martinez-Gonzalez, J.M., Cano-Sanchez, J., Gonzalo-Lafuente, J.C., Campo-Trapero, J., Esparza-Gomez, G. and Seoane, J. (2002). Do ambulatory-use Platelet-Rich Plasma (PRP) concentrates present risks?, *Med. Oral*, 7,375–90.
144. Landesberg, R., Roy, M. and Glickman, R.S. (2000). Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation, *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 58,297–300; discussion 300–1.
145. Tsay, R.C., Vo, J., Burke, A., Eisig, S.B., Lu, H.H. and Landesberg, R. (2005). Differential growth factor retention by platelet-rich plasma composites, *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 63,521–8.
146. Ogino, Y., Ayukawa, Y., Tsukiyama, Y. and Koyano, K. (2005). The effect of platelet-rich plasma on the cellular response of rat bone marrow cells in vitro, *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 100,302–7.
147. Ferreira, C.F., Carriel Gomes, M.C., Filho, J.S., Granjeiro, J.M., Oliveira Simões, C.M., Magini, Rde. S. (2005). Platelet-rich plasma influence on human osteoblasts growth, *Clin. Oral Implants Res.*,16,456–60.
148. Tözüm, T.F. and Demiralp, B. (2003). Platelet-rich plasma: a promising innovation in dentistry, *J. Can. Dent. Assoc.*, 69,664.
149. Smith, R.G., Gassmann, C.J. and Campbell, M.S. (2007). Platelet-rich Plasma: Properties and Clinical Applications, *The Journal of Lancaster General Hospital*, 2, 73-8.
150. Weibrich, G., Kleis, W.K.G., Hafner, G., Hitzler, W.E. and Wagner, W. (2003). Comparison of platelet, leukocyte, and growth factor levels in point-of-care platelet-enriched plasma, prepared using a modified Curasan kit, with preparations received from a local blood bank, *Clin. Oral Implants Res.*, 14,357–62.

151. Anitua, E., Andia, I., Ardanza, B., Nurden, P. and Nurden, A.T. (2004). Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration, *Thromb. Haemost.*, 91,4–15.
152. Becker, J.C., Beckbauer, M., Domschke, W., Herbst, H. and Pohle, T. (2005). Fibrin glue, healing of gastric mucosal injury, and expression of growth factors: results from a human in vivo study, *Gastrointest. Endosc.*, 61,560–7.
153. Grotendorst, G.R., Martin, G.R., Pincev, D., Sodek, J. and Harvey, A.K. (1985). Stimulation of granulation tissue formation by platelet-derived growth factor in normal and diabetic rats, *J. Clin. Invest.*, 76,2323–9.
154. Schmidt, M.B., Chen, E.H. and Lynch, S.E.(2006). A review of the effects of insulin-like growth factor and platelet derived growth factor on in vivo cartilage healing and repair, *Osteoarthritis Cartilage*, 14,403–12.
155. Hsu, C. and Chang, J. (2004). Clinical implications of growth factors in flexor tendon wound healing, *J. Hand Surg. Am.*, 29,551–63.
156. Pierce, G.F., Mustoe, T.A., Altmann, B.W., Deuel, T.F. and Thomason, A. (1991). Therapeutic application of growth factors, *J. Cell. Biochem.*, 45,319–65.
157. Green, D.M. and Klink, B. (1998). Platelet gel as an intraoperatively procured platelet-based alternative to fibrin glue, *Plast. Reconstr. Surg.*, 101,1161–2.
158. Vikjaer, D., Blom, S., Hjørting-Hansen, E. And Pinholt, E.M. (1997). Effect of platelet-derived growth factor-BB on bone formation in calvarial defects: an experimental study in rabbits, *Eur. J. Oral Sci.*, 105,59–66.
159. Celeste, A.J., Iannazzi, J.A. and Taylor, R.C., et al. (1990). Identification of transforming growth factor beta family members present in bone-inductive protein purified from bovine bone, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 87,9843–7.
160. Roberts, A.B. and Sporn, M.B. (1993). Physiological actions and clinical applications of transforming growth factor-beta (TGF-beta), *Growth Factors*, 8,1–9.
161. Linkhart, T.A., Mohan, S. and Baylink, D.J. (1996). Growth factors for bone growth and repair: IGF, TGF beta and BMP, *Bone*, 19,1–12.
162. Mochizuki, H., Hakeda, Y. and Wakatsuki, N., et al. (1992). Insulin-like growth factor-I supports formation and activation of osteoclasts, *Endocrinology*, 131,1075–80.

163. Brown, G.L., Curtsinger, L.J. and White, M., et al. (1988). Acceleration of tensile strength of incisions treated with EGF and TGF-beta, *Ann. Surg.*, 208,788–94.
164. Brown, G.L., Curtsinger, L., Jurkiewicz, M.J., Nahai, F. and Schultz, G. (1991). Stimulation of healing of chronic wounds by epidermal growth factor, *Plast. Reconstr. Surg.*, 88,189–94; discussion 195–6.
165. Nakamura, K., Koshino, T. and Saito, T. (1998). Osteogenic response of the rabbit femur to a hydroxyapatite thermal decomposition product-fibrin glue mixture, *Biomaterials*, 19,1901–7.
166. Petersen, W., Pufe, T., Zantop, T., Tillmann, B. and Mentlein, R. (2003). Hypoxia and PDGF have a synergistic effect that increases the expression of the angiogenic peptide vascular endothelial growth factor in Achilles tendon fibroblasts, *Arch. Orthop. Trauma Surg.*, 123,485–8.
167. Zhang, F., Oswald, T. and Lin, S., et al. (2003). Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and the effect of exogenous VEGF on survival of a random flap in the rat, *Br. J. Plast. Surg.*, 56,653–9.
168. Freymiller, E.G. and Aghaloo, T.L. (2004). Platelet-rich plasma: ready or not?, *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 62,484–8.
169. Çakılcı, B. (2007). Kemik içi defektlerin tedavisinde trombosit zengin plazma uygulama sonuçlarının karşılaştırılması, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
170. Aukhil, I. (2000). Biology of wound healing, *Periodontol.*, 22,44–50.
171. Lind, M. (1996). Growth factors: possible new clinical tools. A review, *Acta Orthop. Scand.*, 67,407–17.
172. Anitua, E. (1999). Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants, *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.*, 14,529–35.
173. Dugrillon, A., Eichler, H., Kern, S. and Klüter, H. (2002). Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration, *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 31,615–9.
174. Weibrich, G., Kleis, W.K.G., Hafner, G. and Hitzler, W.E. (2002). Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count, *J. Craniomaxillofac. Surg.*, 30,97–102.

175. Whitman, D.H., Berry, R.L. and Green, D.M. (1997). Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery, *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 55,1294–9.
176. Camargo, P.M., Lekovic, V., Weinlaender, M., Vasilic, N., Madzarevic, M. and Kenney, E.B. (2002). Platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans, *J. Periodontal Res.*, 37,300–6.
177. Kutlu, H.B. (2011). Trombositten zengin plazma emdirilmiş kitosan temelli taşıyıcıdan pdgf, tgf- $\beta$  ve ıgf-1 büyüme faktörlerinin salım kinetiklerinin saptanması ve kitosan taşıyıcı jel ile uygulanan trombositten zengin plazmanın periodontal ligament hücreleri ve sementoblastlar üzerindeki etkilerinin belirlenmesi: in vitro, Doktora Tezi, H.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
178. Foster, T.E., Puskas, B.L., Mandelbaum, B.R., Gerhardt, M.B. and Rodeo, S.A. (2009). Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications, *Am. J. Sports Med.*, 37,2259–72.
179. Kocazeybek, B., Arabaci, U., Akdur, H., Sezgiç, M. and Erentürk, S. (2002). Prospective evaluation of platelets prepared by single and random methods during 5 days of storage: aspects related to quality and quantity, *Transfus. Apher. Sci.*, 26,29–34.
180. Kassolis, J.D., Rosen, P.S. and Reynolds, M.A. (2000). Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series, *J. Periodontol.*, 71,1654–61.
181. Sanjeev, S. (2011). MDApplications P. Enhancement of Bone Formation During Distraction Osteogenesis, *J Am Acad Orthop Surg.*, 19,101-111.
182. Luengo Gimeno, F., Gatto, S., Ferro, J., Croxatto, J.O. and Gallo, J.E. (2006). Preparation of platelet-rich plasma as a tissue adhesive for experimental transplantation in rabbits. *Thromb. J.*, 4,18.
183. Hibi, H., Yamada, Y., Ueda, M. and Endo, Y. (2006). Alveolar cleft osteoplasty using tissue-engineered osteogenic material, *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 35,551–5.
184. Wiltfang, J., Schlegel, K.A., Schultze-Mosgau, S., Nkenke, E., Zimmermann, R. and Kessler, P. (2003). Sinus floor augmentation with beta-tricalciumphosphate (beta-TCP): does platelet-rich plasma promote its osseous integration and degradation?, *Clin. Oral Implants Res.*, 14,213–8.



185. Monov, G., Fuerst, G., Tepper, G., Watzak, G., Zechner, W. and Watzek, G. (2005). The effect of platelet-rich plasma upon implant stability measured by resonance frequency analysis in the lower anterior mandibles, *Clin. Oral Implants Res.*, 16,461–5.
186. Vardimon, A.D., Brosh, T., Spiegler, A., Lieberman, M. and Pitaru, S. (1998). Rapid palatal expansion: Part 1. Mineralization pattern of the midpalatal suture in cats, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 113,371–8.
187. Takahashi, I., Mizoguchi, I. and Nakamura, M., et al. (1996). Effects of expansive force on the differentiation of midpalatal suture cartilage in rats, *Bone*, 18,341–8.
188. Kobayashi, E.T, Hashimoto, F. and Kobayashi, Y., et al. (1999). Force-induced rapid changes in cell fate at midpalatal suture cartilage of growing rats, *J. Dent. Res.*, 78,1495–504.
189. Uysal, T., Ustidal, A., Sonmez, M.F. and Ozturk, F. (2009). Stimulation of Bone Formation by Dietary Boron in an Orthopedically Expanded Suture in Rabbits, *Angle Orthod.*, 79,984-90.
190. Kalogirou, K., Ahlgren, J. and Klinge, B. (1996). Effects of buccal shields on the maxillary dentoalveolar structures and the midpalatal suture--histologic and biometric studies in rabbits, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 109,521–30.
191. Parr, J.A., Garetto, L.P., Wohlford, M.E., Arbuckle, G.R. and Roberts, W.E. (1997). Sutural expansion using rigidly integrated endosseous implants: an experimental study in rabbits, *Angle Orthod.*, 67,283–90.
192. Lee, K., Sugiyama, H., Imoto, S. and Tanne, K. (2001). Effects of bisphosphonate on the remodeling of rat sagittal suture after rapid expansion, *Angle Orthod.*, 71,265–73.
193. Zahrowski, J.J. and Turley, P.K. (1992). Force magnitude effects upon osteoprogenitor cells during premaxillary expansion in rats, *Angle Orthod.*, 62,197–202.
194. Tanaka, E., Miyawaki, Y., del Pozo, R. and Tanne, K. (2000). Changes in the biomechanical properties of the rat interparietal suture incident to continuous tensile force application, *Arch. Oral Biol.*, 45,1059–64.
195. Zutphen, L.F.M., Baumans, V. and Beynen, A.C. (2003). Laboratuvar Hayvanları Biliminin Temel İlkeleri, Medipres Yayınları-Ozkan Matbaacılık, (Çeviri: İde, T.), Ankara.

196. Durgut, R. ve Yarsan, E. (2007). Laboratuvar Hayvanları Hastalıkları ve Sağaltımı, Medisan Yayınları, Ankara.
197. İssi, M. (2008). Derleme/review laboratuvar hayvanlarında kan alma teknikleri, Bornova veteriner kontrol ve araştırma enstitüsü dergisi, 30,43-49.
198. Pryor, M.E., Yang, J. and Polimeni, G., et al. (2005). Analysis of rat calvaria defects implanted with a platelet-rich plasma preparation: radiographic observations, J. Periodontol. 76,1287-92.
199. Marx, R.E. (2004). Platelet-rich plasma: evidence to support its use, J. Oral Maxillofac. Surg., 62,489-96.
200. Butterfield, K.J., Bennett, J., Gronowicz, G. and Adams, D. (2005). Effect of platelet-rich plasma with autogenous bone graft for maxillary sinus augmentation in a rabbit model, J. Oral Maxillofac. Surg., 63,370-6.
201. Revelo, B. and Fishman, L.S. (1994). Maturational evaluation of ossification of the midpalatal suture, Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop., 105,288-92.
202. Linge, L. (1972). Tissue reactions incident to widening of facial sutures, Trans. Eur. Orthod. Soc., 487-97.
203. Walters, R.D. (1975). Facial changes in the Macaca mulatta monkey by orthopedic opening of the midpalatal suture, Angle Orthod., 45,169-79.
204. Kiki A. (2006). Tavşanlarda üst çene genişletmesi sonrası kalsitonin uygulamasının remodeling üzerine etkisinin histolojik olarak incelenmesi, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
205. Göçtürk, C. (2013). Ratlarda üst çene genişletmesi sonrası teriparatid, kalsiyum ve d vitamini uygulamalarının süturda yeni kemik yapımı üzerine etkilerinin histolojik ve histomorfometrik olarak incelenmesi, Doktora Tezi, C.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas.
206. Altan, B.A., Kara, I.M. and Nalcaci, R., et al. (2013). Systemic propolis stimulates new bone formation at the expanded suture: a histomorphometric study, Angle Orthod., 83,286-91.
207. Morndal, O. (1987). The importance of force magnitude on the initial response to mechanical stimulation of osteogenic and soft tissue, Eur. J. Orthod., 9,288-94.
208. Ünal, D. (2008). Tipta kullanılan görüntüleme teknikleri, Doktora Tezi, G.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- 209.** Kutsal, Y.G. (2000). Osteoporoz, in Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon, 2.cilt, Eds. Beyazova, M., Kutsal, Y.G., Güneş Kitabevi, Ankara.
- 210.** Sarıdoğan, M.E. (2004): Metabolik kemik hastalıkları. Alınmıştır: Oğuz, H., Dursun, E., Dursun, N. (ed), Tıbbi Rehabilitasyon, Nobel, İstanbul.
- 211.** Oztürk, F., Babacan, H. and Gümüş, C. (2012). Effects of zoledronic acid on sutural bone formation: a computed tomography study, *Eur. J. Orthod.*, 34,141–6.
- 212.** Heikel, H.V. (1960). On ossification and growth of certain bones of the rabbit; with a comparison of the skeletal age in the rabbit and in man, *Acta orthop. Scand.*, 29,171–84
- 213.** Erdoğan, M.Ş. (2012). Capparıs Spinosa Ekstresinin Hızlı Üst Çene Genişletme Sonrasında Sutural Kemikleşmeye Etkisi, Doktora Tezi, C.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas.
- 214.** Nagata, M.J.H., Messori, M.R. and Furlaneto F.A.C., et al. (2010). Effectiveness of two methods for preparation of autologous platelet-rich plasma: an experimental study in rabbits, *Eur. J. Dent.*, 4,395–402.
- 215.** Kim, S.G., Kim, W.K., Park, J.C. and Kim, H.J. (2002). A comparative study of osseointegration of Avana implants in a demineralized freeze-dried bone alone or with platelet-rich plasma, *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 60,1018–25.
- 216.** Eby, B.W. (2002). Platelet-rich plasma: harvesting with a single-spin centrifuge, *J. Oral Implantol.*, 28,297–301..
- 217.** Yıldız, M. (2006). Kemik iyileşmesinde trombositten zengin plazmanın (platelet rich plasma – prp) etkisinin deneysel olarak değerlendirilmesi, Doktora Tezi, A.Ü., Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- 218.** Çakır, M. (2009). Maksillofasiyal bölgedeki kemik içi defektlerin tedavisinde plateletten zengin plazma'nınhidroksi apatit kemik greftleri ile birlikte kullanımının etkinliğinin klinik ve radyolojik olarak incelenmesi, Doktora Tezi, G.Ü., Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- 219.** Thorwarth, M., Rupprecht, S., Falk, S., Felszeghy, E., Wiltfang, J. and Schlegel, K.A. (2005). Expression of bone matrix proteins during de novo bone formation using a bovine collagen and platelet-rich plasma (prp)--an immunohistochemical analysis, *Biomaterials* 26,2575–84.
- 220.** Grageda, E. (2004). Platelet-rich plasma and bone graft materials: a review and a standardized research protocol, *Implant Dent.*, 13,301–9.

- 221.** Gonshor, A. (2002). Technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate: background and process, *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, 22,547–57.
- 222.** Aghaloo, T.L., Moy, P.K. and Freymiller, E.G. (2002). Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A pilot study, *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 60,1176–81.
- 223.** Fontana, S., Olmedo, D.G., Linares, J.A., Guglielmotti, M.B. and Crosa, M.E. (2004). Effect of platelet-rich plasma on the peri-implant bone response: an experimental study, *Implant Dent.*, 13,73–8.
- 224.** Mancuso, J.D., Bennion, J.W. and Hull, M.J. (2003). Effect of platelet rich plasma: a preliminary report in routine impacted mandibular third molar surgery and the prevention of alveolar osteitis, *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 61,40.
- 225.** Swennen, G.R.J., Schutyser, F., Mueller, M.C., Kramer, F.J., Eulzer, C. and Schliephake, H. (2005). Effect of platelet-rich-plasma on cranial distraction osteogenesis in sheep: preliminary clinical and radiographic results, *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 34,294–304.
- 226.** Latalski, M., Elbatrawy, Y. A., Thabet, A.M., Gregosiewicz, A., Raganowicz, T. and Fatyga, M. (2011). Enhancing bone healing during distraction osteogenesis with platelet-rich plasma, *Injury*, 42,821–4.
- 227.** Sanchez, M., Anitua, E. and Cugat, R., et al. (2009). Nonunions treated with autologous preparation rich in growth factors, *J. Orthop. Trauma*, 23,52–9.
- 228.** Özeç, D.İ. (2000). Distraksiyon osteogenezisi, *Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi.*, 3,47–51.
- 229.** Fang, T.D., Nacamuli, R.P. and Song, H.M., et al. (2004). Creation and characterization of a mouse model of mandibular distraction osteogenesis, *Bone*, 34,1004–12.
- 230.** Isefuku, S., Joyner, C. and Simpson, A.H.R. (2000). A murine model of distraction osteogenesis, *Bone*, 27,661–5.
- 231.** Hwang, Y.J. and Choi, J.Y. (2010). Addition of mesenchymal stem cells to the scaffold of platelet-rich plasma is beneficial for the reduction of the consolidation period in mandibular distraction osteogenesis, *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 68,1112–24

- 232.** Hakimi, M., Jungbluth, P. and Sager, M., et al. (2010). Combined use of platelet-rich plasma and autologous bone grafts in the treatment of long bone defects in mini-pigs, *Injury*, 41,717–23.
- 233.** Mooren, R.E.C.M, Dankers, A.C.A., Merckx, M.A.W., Bronkhorst, E.M., Jansen, J.A. and Stoelinga, P.J.W. (2010). The effect of platelet-rich plasma on early and late bone healing using a mixture of particulate autogenous cancellous bone and Bio-Oss: an experimental study in goats, *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 39,371–8.
- 234.** Kitoh, H., Kitakoji, T., Tsuchiya, H., Katoh, M. and Ishiguro, N. (2007). Transplantation of culture expanded bone marrow cells and platelet rich plasma in distraction osteogenesis of the long bones, *Bone*, 40,522–8.
- 235.** Pu, L.Q., Sniderman, A.D. and Brassard, R., et al. (1993). Enhanced revascularization of the ischemic limb by angiogenic therapy, *Circulation*, 88,208–15.
- 236.** Kitoh, H., Kitakoji, T. and Tsuchiya, H., et al. (2004). Transplantation of marrow-derived mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma during distraction osteogenesis--a preliminary result of three cases, *Bone*, 35,892–8.
- 237.** Kitoh, H., Kitakoji, T., Tsuchiya, H., Katoh, M. and Ishiguro, N. (2007). Distraction osteogenesis of the lower extremity in patients with achondroplasia/hypochondroplasia treated with transplantation of culture-expanded bone marrow cells and platelet-rich plasma, *J. Pediatr. Orthop.*, 27,629–34.
- 238.** Kinoshita, K., Hibi, H., Yamada, Y. and Ueda, M. (2008). Promoted new bone formation in maxillary distraction osteogenesis using a tissue-engineered osteogenic material. *J. Craniofac. Surg.* 19,80-7.
- 239.** Crovetti, G., Martinelli, G. and Issi, M., et al. (2004). Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds, *Transfus. Apher. Sci.*, 30,145–51.
- 240.** Raghoobar, G.M., Schortinghuis, J., Liem, R.S.B., Ruben, J.L., van der Wal, J.E. and Vissink, A. (2005). Does platelet-rich plasma promote remodeling of autologous bone grafts used for augmentation of the maxillary sinus floor?, *Clin. Oral Implants Res.*, 16,349–56.
- 241.** Glass, G.E., Chan, J.K., Freidin, A., Feldmann, M., Horwood, N.J. and Nanchahal, J. (2011). TNF-alpha promotes fracture repair by augmenting the

recruitment and differentiation of muscle-derived stromal cells, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 108,1585–90.

242. Creeper, F., Lichanska, A., Marshall, R., Seymour, G. And Ivanovski, S. (2009). The effect of platelet-rich plasma on osteoblast and periodontal ligament cell migration, proliferation and differentiation. J Periodontal Res, 44, 258-265.
243. Gruber, R., Karreth, F., Fischer, M. and Watzek, G. (2002). Platelet-released supernatants stimulate formation of osteoclast-like cells through a prostaglandin/RANKL-dependent mechanism, Bone, 30,726–32.
244. Ün, E.C. (2013). Lokal olarak uygulanan rifamisin'in bone morfogenetik protein salınımı ve yeni kemik oluşumu üzerine etkilerinin deneysel olarak incelenmesi, Doktora Tezi, C.Ü., Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas.

## 8 ÖZGEÇMİŞ

### **Kişisel bilgiler**

Adı Soyadı	Hasan İlhan MUTAF
Doğum Yeri ve Tarihi	Trabzon, 15/10/1984
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti AD 58140-Sivas
E-posta Adresi	<a href="mailto:dtmutaf@hotmail.com">dtmutaf@hotmail.com</a>

### **Eğitim ve Akademik Durumu**

Lise	Isparta Anadolu Lisesi, 2003
Lisans/ Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, 2008