



T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN KEMİK DEFEKTLERİNE
UYGULANAN SENTETİK KEMİK GREFTİ VE BAZİK FİBROBLAST
BÜYÜME FAKTÖRÜNÜN YENİ KEMİK OLUŞUMUNA ETKİSİNİN
HİSTOMORFOMETRİK OLARAK İNCELENMESİ

MURAT UĞUR GÜRER

DOKTORA TEZİ

AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

SİVAS
2011

T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN KEMİK DEFEKTLERİNE
UYGULANAN SENTETİK KEMİK GREFTİ VE BAZİK FİBROBLAST
BÜYÜME FAKTÖRÜNÜN YENİ KEMİK OLUŞUMUNA ETKİSİNİN
HİSTOMORFOMETRİK OLARAK İNCELENMESİ

MURAT UĞUR GÜRER





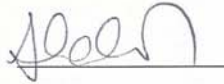
DOKTORA TEZİ

AĞIZ DIŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
DOÇ.DR. HASAN YELER

SİVAS
2011

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan	Prof. Dr. Melahat ÖĞÜTCEN TOLLER	
Üye	Prof. Dr. Ömer Fahrettin GÖZE	
Üye	Prof. Dr. Mustafa Cihat AVUNDUK	
Üye	Doç. Dr. Serkan POLAT	
Üye (Danışman)	Doç. Dr. Hasan YELER	

ONAY

Bu tez çalışması, 22/02/2011 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Tijen KAYA TEMİZ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

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

Çalışmam sırasında bana destek olan sevgili eşim ve canım kızıma...

ÖZET

DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN KEMİK DEFEKTLERİNE UYGULANAN SENTETİK KEMİK GREFTİ VE BAZİK FİBROBLAST BÜYÜME FAKTÖRÜNÜN YENİ KEMİK OLUŞUMUNA ETKİSİNİN HİSTOMORFOMETRİK OLARAK İNCELENMESİ

Murat Uğur GÜRER

Doktora Tezi, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Danışman:Doç. Dr. Hasan YELER

2011, 66 sayfa

Son yıllarda, biyoteknoloji alanındaki gelişmeler sayesinde “kemik dokusu mühendisliği” başlığı altında incelenen, yeni ve gelecek vaadeden tedavi yaklaşımları ortaya atılmaya başlanmıştır. Kemik doku mühendisliğinin temeli, kemiğin istenen anatomik bölgesinde kemik iyileşmesi için yanıt oluşturmaktır. Klinik başarı, oluşan kemiğin yeniden şekillenmesi sonucu çevre kemik dokusu ile yapısal olarak bütünleşmesi ve oluşan kemiğin fonksiyon görmek için yeterli mekanik dayanıklılığa sahip olması ile belirlenir. Kemik dokusu mühendisliği, poröz yapıda ve emici özellikteki çeşitli matriksler üzerine ekilen hücrelerden doku kültürü elde edilmesi işlemini açıklar. Klinikte ise kemik rejenerasyonunu arttırmak ve hızlandırmak amacıyla, poröz matriksler ile çeşitli hücrelerin ve/veya büyüme faktörlerinin kombine edilerek implante edilmesi anlamına gelir. Bu nedenle günümüzde osteoindüktif etkili büyüme faktörü içeren veya içermeyen taşıyıcı matriksler üzerine yoğunlaşmıştır.

Bu çalışmada, FGF-2 ve β -trikalsiyumfosfat kombinasyonunun muhtemel osteoindüktif potansiyelini, kritik büyüklükteki kemik defekti modelinde yeni kemik oluşumundaki etkinliğini araştırmak amaçlandı.

Çalışmada, 48 adet wistar cinsi rat (sıçan) kullanılmıştır. Herbir ratın sağ mandibulasında 5 mm’lik defekt oluşturulmuştur. 48 adet rat her grupta 16 adet olacak şekilde kemik grefti(KG) ve kemik grefti + FGF-2(FGF), kontrol(K) olacak şekilde 3

gruba ayrıldı. Bu gruplarda kendi aralarında 7. gün ve 28. gün olmak üzere 2 alt gruba ayrılmıştır. Ratlar 7. ve 28. günlerde sakrifiye edilmiştir. Alınan doku örnekleri histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada yapılan histomorfometrik değerlendirmelerin sonuçları, FGF-2'nin kemik iyileşmesinin erken fazında ve iyileşme dönemindeki damarlanmada önemli rol oynayan molekül olabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Kemik rejenerasyonu, greft materyalleri, büyüme faktörleri.

ABSTRACT

HISTOMORPHOMETRIC STUDY OF EXPERIMENTALLY FORMED AND APPLIED TO THE BONE DEFECTS SYNTETIC BONE GRAFT AND BASIC FIBROBLAST GROWTH FACTOR'S EFFECT TO THE NEW BONE FORMATION.

Murat Uğur GÜNER

Doctorate Thesis, Department of Oral and Maxillofacial Surgery

Supervisor: Doç.Dr. Hasan YELER

2011, 66 pages

In recent years thanks to developments in biotechnology field new and promising treatment approaches studied under the title of “ bone tissue engineering” have been put forward. The basis of the bone tissue engineering is to create a response in the required anatomic field of the bone. Clinical success is determined by the remodelling of the bone and its structural integration with surrounding bone tissue. It is also determined by having enough mechanical resistance whether formed bone is functional. Bone tissue engineering explains the process of obtaining tissue culture planted on porous and various adsorptive cells. Clinically, in order to increase and accelerate the bone regeneration, it refers to having porous matrices and various cells and/or growth factors combined and implanted. Therefore, nowadays, conveyor matrices including or not including osteoinductive effective growth factor have been concentrated.

The aim of our study is to evaluate possible osteoinductive potential of FGF-2 and β -tricalciumphospate combination in the critical size of bone defect model histomorphically

In this study 48 wistar rats were used. There 5 mm defect get occurred on the right mandibula of each rat. 48 rats were seperated into three groups where each group consisted of 16, namely the bone graft and bone graft + FGF-2 , and control. These groups were also divided into 2 sub groups which were 7 days and 28 days in themselves. The rats were sacrificed on the 7th and 28th days. Tissue samples were evaluated histomorphometricaly.

After histomorphometric assessments this study reveals that FGF-2 might be a molecule playing an important role during the early phase of the bone recovery and vascularization during the recovery period.

Key words: Bone regeneration, graft materials, growth factors.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen ve beni yönlendiren danışmanım Sayın Doç. Dr. Hasan YELER'e sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Laboratuvar çalışmalarındaki yardımlarından dolayı Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Mustafa Cihat AVUNDUK ve Yrd. Doç. Dr. Hasan ESEN'e teşekkür ederim.

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesine katkıda bulunan Yrd. Doç. Dr. Ziyet ÇINAR'a teşekkür ederim.

Tüm desteklerinden ve teze katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Turgay Peyami HOCAOĞLU ve Dt. Ufuk TAŞDEMİR'e teşekkür ederim.

Her konuda sabırla yardımlarını esirgemeyen sevgili eşim Eda GÜRER'e ve benim bu günlere gelmemi sağlayan tüm aileme sonsuz şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	v
ABSTRACT.....	vii
TEŞEKKÜR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
SİMGELER DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Kemiğin temel yapısı	3
2.3 Kemik dokusunun morfolojik özellikleri.....	4
2.4 Kemik tipleri	5
2.4.1 Primer kemik dokusu	5
2.4.2 Sekonder kemik dokusu	5
2.5 Kemik hücreleri	6
2.5.1 Osteoprojenitör hücreler.....	6
2.5.2 Osteoblastlar.....	6
2.5.3 Osteositler	7
2.5.4 Osteoklastlar.....	7
2.6 Kemik oluşumu.....	7
2.6.1 İntramembranöz kemik oluşumu.....	7
2.6.2 Endokondral kemik oluşumu	8
2.7 Kemik onarımı	9
2.8 Kemik defektlerinin augmentasyonunda kullanılan materyaller	11
2.9 Kemik greftlerinin işlevleri.....	11
2.9.1 Osteogenezis	11
2.9.2 Osteoindüksiyon.....	12
2.9.3 Osteokondüksiyon.....	12
2.10 İdeal bir greft materyalinde olması gereken özellikler	12
2.11 Greft materyallerinin içinde buldukları doku yada organ ile ilişkileri:	13
2.11.1 Biyokompatibilite:.....	13
2.11.2 Biyofonksiyonalite:	13
2.12. Greft çeşitleri	13
2.12.1 Otogreftler	13
2.12.2. Allogreftler	14
2.12.3 Heterogreftler	14
2.12.4 Alloplastik materyaller (kemik yedek materyalleri)	15
2.12.4.1 Biyoseramikler	15
2.12.4.1.1 β -trikalsiyumfosfat.....	15
2.12.4.1.2 Hidroksilapatit (HA)	16

2.12.4.1.2.1 Rezorbe olmayan HA.....	16
2.12.4.1.2.2 Rezorbe olabilen HA.....	16
2.12.4.2 Biyoaktif camlar	16
2.12.4.3 Polimerler	17
2.12.4.3.1 “ <i>Hard Tissue Replacement</i> ” polimerleri (HTR polimerleri)	17
2.12.4.3.2 Polilaktik asit (PLA), Poliglikolik asit (PGA) ve Bunların kopolimerleri (Polilaktik / Poliglikolik asit [PLA / PGA]).....	17
2.12.5 Kompozit greftler	18
2.13 Membranlar.....	18
2.13.1 Rezorbe Olmayan membranlar.....	18
2.13.2 Rezorbe Olabilen membranlar	18
2.14 Bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF, FGF-2).....	19
2.15 Osteogenezde fibroblast büyüme faktörleri ve reseptörleri	19
2.15.1 Osteogenez ve fibroblast büyüme faktörleri	19
2.15.2 Osteogenez ve fibroblast büyüme faktör reseptörleri (FGFR).....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1.Etik kurul	22
3.2. Kullanılan araç ve gereçler	22
3.2.1 Deney hayvanları	22
3.2.2 Kullanılan laboratuvar gereçleri.....	22
3.2.3 Kullanılan kimyasal maddeler.....	22
3.3 Solüsyonun hazırlanışı.....	23
3.3.1 FGF-2'nin hazırlanması	23
3.4. Yöntemler	23
3.4.1 Deney hayvanlarının hazırlanması.....	23
3.4.2 Deney hayvanlarının gruplandırılması	23
3.4.3 Cerrahi teknik.....	24
3.4.4 Gruplara göre çalışma teknikleri	27
3.4.5 Ratların bakımı	28
3.4.6 Deneyin sonlandırılması.....	28
3.5 Histomorfometrik değerlendirme	28
3.6 İstatistiksel değerlendirmeler	29
4. BULGULAR.....	30
4.1 Histopatolojik sonuçlar	30
4.1.1 Osteoblastların değerlendirilmesi.....	33
4.1.2 Osteoklastların değerlendirilmesi.....	36
4.1.3 Kemik Alanı değerlendirilmesi	38
4.1.4 Damar Sayısının değerlendirilmesi	40
4.1.5 Fibroblastların değerlendirilmesi	42
4.1.6 Kollajenin değerlendirilmesi	44
5. TARTIŞMA	48
6.SONUÇLAR.....	56
KAYNAKLAR	57
ÖZGEÇMİŞ	67

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Fibroblast büyüme faktörü.....	25
Şekil 3.2 Ostrix-B kemik grefti.....	25
Şekil 3.3 Defek oluşturulan bölgenin şematik olarak gösterilmesi.....	26
Şekil 3.4 Operasyon bölgesindeki deri ve deri altı insizyonu.....	26
Şekil 3.5 5 mm çapındaki trefin frezle kemik osteotomisi.....	26
Şekil 3.6 5mm'lik defektin görüntüsü.....	27
Şekil 3.7 Defektin FGF ve greft karışımı ile doldurulması.....	27
Şekil 3.8 Clemex PE 3.5 görüntü analiz programı ile yeni oluşan kemik bölgeleri mavi renk ile gösterilmesi.....	29
Şekil 4.1 Hematoksilen boyama ile hücrelerin gösterilmesi.....	30
Şekil 4.2 Kontrol grubuna ait 7. gündeki histolojik görüntü.....	30
Şekil 4.3 Kemik grefti uygulanan gruba ait 7. gündeki histolojik görüntü.....	31
Şekil 4.4 FGF-2 ve Kemik greftinin birlikte uygulandığı gruba ait 7. gündeki histolojik görüntü.....	31
Şekil 4.5 Kontrol grubuna ait 28. gündeki histolojik görüntü.....	32
Şekil 4.6 Kemik grefti uygulanan gruba ait 28. gündeki histolojik görüntü.....	32
Şekil 4.7 FGF-2 ve Kemik greftinin birlikte uygulandığı gruba ait 28. gündeki histolojik görüntü.....	33
Şekil 4.8 Von gieson boyama ile hücrelerin gösterilmesi.....	33
Şekil 4.9 Gruplara ait 7.ve 28.gün osteoblast değerlerinin dağılımı.....	35
Şekil 4.10 Gruplar arası 7. ve 28.gün osteoblast değerlerinin dağılımı.....	35
Şekil 4.11 Gruplara ait 7.ve 28.gün osteoklast değerlerinin dağılımı.....	37
Şekil 4.12 Gruplar arası 7. ve 28.gün osteoklast değerlerinin dağılımı.....	37
Şekil 4.13 Gruplara ait 7.ve 28.gün kemik alanı değerlerinin dağılımı.....	39
Şekil 4.14 Gruplar arası 7. ve 28.gün kemik alanı değerlerinin dağılımı.....	39
Şekil 4.15 Gruplara ait 7.ve 28.gün damar değerlerinin dağılımı.....	41
Şekil 4.16 Gruplar arası 7. ve 28.gün damar değerlerinin dağılımı.....	41
Şekil 4.17 Gruplara ait 7.ve 28.gün fibroblast değerlerinin dağılımı.....	43
Şekil 4.18 Gruplar arası 7. ve 28.gün fibroblast değerlerinin dağılımı.....	43
Şekil 4.19 Gruplara ait 7.ve 28.gün kollajen değerlerinin dağılımı.....	45
Şekil 4.20 Gruplar arası 7. ve 28.gün kollajen değerlerinin dağılımı.....	45

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Deney hayvanlarının gruplandırılması.....	24
Çizelge 4.1 Her üç grupta 7. güne ait ölçümlerin karşılaştırılması.....	46
Çizelge 4.2 Her üç grupta 28.gün osteoblast değerlerinin karşılaştırılması.....	46
Çizelge 4.3 K grubundaki ölçümlerin karşılaştırılması.....	47
Çizelge 4.4 KG grubundaki ölçümlerin karşılaştırılması.....	47
Çizelge 4.5 FGF grubundaki ölçümlerin karşılaştırılması.....	48

KISALTMALAR DİZİNİ

β -TCP	: Beta Tricalcium Phosphate
BMP	: Bone Morphogenic Protein
cAMP	: Cyclic Adenosine Monophosphate
CJD	: Creutzfeldt-jakob hastalığı
VEGF	: Vascular Endotelial Growth Factor
DBM	: Demineralize Bone Matriks
FGF	: Fibroblast Growth Factor
FGFR	: Fibroblast Growth Factor Receptors
HA	: Hidroksiapatit
H-E	: Hematoksilen -Eozin
HBV	: Hepatit B virusü
HCV	: Hepatit C virusü
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
HTR	: Hard Tissue Replacement
IGF	: İnsülin Growth Factor
PDGF	: Platelet Derived Growth Factor
PHEMA	: PoliHidroksiMetilMetakrilat
PGA	: PoliGlikolik Asit
PLA	: PoliLaktik Asit
PLA / PGA	: PoliLaktik / PoliGlikolik Asit
PMMA	: PoliMetilMetakrilat
PMN	: Polimorf nüveli lökositler
PTFE	: PoliTetraFlorEtilen
TGF- β	: Transforming Growth Factor beta
TZP	: Trombositten Zengin Plazma

SİMGELER DİZİNİ

CaO ₂	: Kalsiyum Hidroksit
CO ₂	: Karbondioksit
H ₂ O	: Su
mm	: Milimetre
Na ₂ O	: Sodyum Oksit
SiO ₂	: Silisyum Oksit
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre

1. GİRİŞ

Günümüz ağız, diş ve çene cerrahisi uygulamalarında, operasyonlardan sonra oluşan kemik defeklerinin tedavisine defektin büyüklüğüne göre karar verilmektedir. Bu konuda genel görüş 2 cm'den küçük kemik defeklerinin primer olarak kapatılması, 2 cm'den daha büyük olanların ise ölü boşlukların ortadan kaldırılması, enfeksiyon oluşmaması ve yara iyileşmesinin sorunsuz tamamlanması için greftlenmesi gerektiğidir (Artzi, 2008; Ellis, 1998).

Maksillofasiyal deformitelerinin tedavisinde doğal kontürün devamlılığının sağlanması, ve iskeletsel yapının yeniden şekillenmesi için kemik greftleri kullanılmaktadır. Kaburgadan, iliak ve tibial kemikten alınan otojen kemik her zaman ilk tercih edilen greft tipidir. Ancak her zaman alınacak uygun bölgenin olmaması ve kontrol edilemeyen rezorbsiyon süresi, elde edilen otojen kemik miktarının bebek ve çocuklarda çok sınırlı olması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Bu sebeplerle otojen kemik grefti yerine çeşitli allojen ve heterojen kemik greftleri kullanılmaktadır (Bauter, 2000; Jensen, 2007; Khan, 2000).

Sentetik kemik greftleri osteokondüktif özellik gösterirler. Bu tip materyaller, otojen kemiğin üzerlerine ve içine doğru birikmesine izin verecek iskelet oluşturarak kemikle bütünleşen, inert, dolgu malzemelerdir. Ayrıca sentetik kemik greftlerinde otojen kemiklerde görülebilen hastalık bulaştırma riski bulunmamaktadır (Horowitz, 1989; Moore, 2001; Schwarz, 2007).

β -trikalsiyumfosfatın (β -TCP) poröz, osteokondüktif, biyo-uyumlu, rezorbe olabilen ve kemik apozisyonu için ağ teşkil eden bir yapısı olduğu bilinmektedir. Doku içindeki rezorbsiyonu, yeni kemik apozisyonuna izin verecek bir hızda gerçekleşir. Ancak tek başına uygulandığında, osteokondüksiyon yalnızca defekte komşu kemik yüzeylerinin yakınında görülür. Bu nedenle otojen kemik iliği veya büyüme faktörlerinin ilavesiyle greftin etkinliği artırılabilir (Beck, 1991; Erbe, 2001; Whitman, 1997).

Fibroblast büyüme faktörü (*Fibroblast Growth Factor: FGF*) polipeptit büyüme faktörlerinin büyük bir ailesini oluşturmaktadır. Bunlardan bFGF (basic fibroblast growth factor: FGF-2) 20' den fazla farklı FGF proteinin içinde bulunduğu heparin bağlayıcı büyüme faktörleri ailesinde yer alan endoderm, mezoderm ve ektoderm

kökenli birçok hücrenin proliferasyonu ve farklılaşmasını etkileyen bir büyüme faktörüdür (Lin, 2007; Marie, 2003).

FGF-2 kemik matriks bileşenlerinden birisidir ve hücre kültürü ortamında osteoblastlardan salındığı gösterilmiştir. FGF-2, yeni damar oluşumunu, hücre çoğalmasını ve kollajen dışı protein sentezini artırarak yara iyileşmesini etkiler. Ayrıca bFGF, osteoprogenitör hücrelerin çoğalmasını ve farklılaşmasını sağlayarak fonksiyonel osteoblastların sayısını artırır. FGF-2 kemik dokusunun gelişiminde, büyümesinde, yeniden şekillenmesinde ve tamirinde rol oynar (Alan, 2007).

Çalışmamızın amacı, FGF-2 ve (β -TCP) kombinasyonunun muhtemel osteoindüktif potansiyelini, rat mandibulası için tanımlanmış olan kritik büyüklükteki kemik defekti modelinde histomorfometrik olarak değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kemiğin temel yapısı

Kemikler, insan vücuduna yapısal destek sağlayıp iç organları koruyan, kalsiyum depolayan, içerisinde kemik iliği bulunduran, vücut hareketlerini sağlayan kasların yapıştığı kompleks organlar sistemleridir (Bancroft, 1996; Gartner, 2001).

Eklem yüzeyleri dışında, tüm kemikler periost ile çevrelenmiştir. Periost kemiğe Sharpey lifleri aracılığıyla yapışır. Periostun üst tabakası yoğun ve fibröz bağ dokusundan, kemiğe bakan alt tabakası ise kemik yapıcı öncü hücrelerden oluşur. Kemik iliği boşlukları tek tabakalı kemik yapıcı öncü hücrelerden ve osteoblastlardan oluşan endosteum ile döşenmiştir (Bancroft, 1996; Gartner, 2001).

Normal bir erişkin iskeletinde iki tür kemik görülür. Kortikal veya kompakt kemik uzun kemiklerin aksı boyunca ve yassı kemiklerin dış yüzeyinde bulunur. Trabeküler kemik, ekstremitelerin ve uzun kemiklerin kemik iliği odaklarında, vertebralarda ve yassı kemiklerin merkezinde bulunur. Trabeküler kemik ağ şeklinde organize olmuş, her biri yaklaşık 1mm. kalınlığındaki kemik trabeküllerinden oluşur. Kortikal kemiğe göre daha az sert olmasına rağmen, özellikle femur başında ve vertebralarda trabeküllerin özel dizilimi sayesinde yük taşınması yönünden ideal bir yapı oluşturur. (Bancroft, 1996; Fawcett, 2002; Gartner, 2001).

Kemiğin üç temel ögesi olan kollajen, mineraller ve hücreler durağan olmayıp sürekli olarak yenilenirler. Bu yenilenme kemik üzerine etki eden kuvvetlerle bağlantılı olup, basınç altındaki kemikte rezorbsiyon, gerilim kuvvetleri etkisi altında ise apozisyon görülür. Ölen hücrelerin yerine yenileri geçerken, kollajen ve mineraller devamlı olarak rezorbe edilip yeniden oluşturulur. Remodelasyon adı verilen, rezorbsiyon ve depozisyon işlemleri arasındaki denge sayesinde kemiğin şekli ve hacmi neredeyse değişmeden kalır. Depozisyon, rezorbsiyon kadar hızlı devam edemediğinde kemiğin porozitesi ve kırılabilirliği artar (Bancroft, 1996; Gartner, 2001).

2.2 Kemik dokusunun kimyasal yapısı

Kemiğin % 65'i minerallerden (inorganik matriks), %35'i ise organik matriks, hücreler ve sudan oluşmaktadır. İnorganik matriks büyük oranda saf olmayan hidroksiapatitten oluşur.

Karbonat, sitrat, magnezyum, florid ve stronsiyum iyonları ise bu yapının içinde kristaller halinde tutulur. Yaşlanma ile birlikte kalsiyum ve karbonat oranı artar, fosfat

ve magnezyum oranı ise azalır (Duthie, 1989). Organik matris %90 oranında Tip I kollajenden, %10 oranında proteinlerden oluşur (Jee, 2001; Gorski, 1998). Kollajen kemiğin lifli yapısını meydana getirir. Kollajen yapıda olmayan osteokalsin, osteopontin, ve kemik sialoproteinlerinin mineraliazzyonda rol oynadıkları düşünülmektedir. (Jee, 2001; Gorski, 1998).

2.3 Kemik dokusunun morfolojik özellikleri

Femur, tibia, humerus gibi uzun kemikler, kemiğin makroskobik yapısının incelenmesi için klasik bir modeldir. Tipik bir erişkin uzun kemiği, merkezi silindir olan diyafiz ile, uçlarda geniş yuvarlak olan epifizden oluşur. Epifiz ile diyafizi birleştiren konik kısımlara ise metafiz denilmektedir. Çoğu kemiklerin uçları ortasından kalındır çünkü, uçları artiküler kartilajla çevrilidir ve aynı yükü taşımak için kemikten daha fazla kartilaj dokuya ihtiyaç duyulmaktadır. Artiküler kartilajı destekleyen epifizal ve diafizal kemik yapıları bu nedenle daha kalındır (Jee, 1998).

Kemiklerin dış yüzeyini örten dokuya periost adı verilir. Bu doku kortikal kemik ile onu çevreleyen yumuşak dokular ya da kaslar arasındaki bağlantıyı sağlar. Eklem yüzeylerinde tendon bağlantılarında ve sesamoid kemikte periost bulunmaz (Erimoğlu, 1990; Hollinshead, 1985; Young, 2000). Periost iki katmandan oluşur. Fibröz olan dış kısım Sharpey liflerini içerir. Sharpey lifleri periostun iç kısmından ilerleyerek çevresel lamellerin içine ilerlerler. Periostun iç katmanı olan kambiyum ise kemik hücreleri, kemik öncü hücreleri ve mikrovasküler yapıdan zengindir. Burada erişkin mezenkimal ön hücreleri, farklılaşmış osteojenik ön hücreler, osteoblastlar, fibroblastlar, kılcal damarlar ve sempatik sinirler bulunur. Sempatik sinirler endosteum tabakasına göre bu kısımda daha yoğundur. Ancak bu farklılığın sebebi henüz bilinmemektedir (Jee, 2001; Meade, 1984). Damarsal içerik bakımından zengin olan periost dokusunda çok miktarda endotelial perisit hücresi bulunur. Kılcal damarların endotel hücreleri ile doğrudan temas halinde olan perisitler osteoblastlara farklılaşabilirler. Bu hücreler osteoprogenitör hücre kaynağı olarak periostal kemik oluşumuna katkıda bulunurlar. Perisitlerin kültür ortamında mineralize olarak alkalin fosfat, osteokalsin, osteopontin ve kemik sialoproteini sentezlerini gerçekleştirebildikleri bildirilmiştir (Jee, 2001; Erimoğlu, 1990; Hussar, 2001).

2.4 Kemik tipleri

Mikroskopik olarak yapılan incelemeler sonucunda yapısal olarak iki farklı kemik bulunduğu ortaya çıkmıştır: Bunlar primer (olgunlaşmamış) ve sekonder (olgun kemik) olmak üzere 2 kısımda incelenir (Revell, 1986).

2.4.1 Primer kemik dokusu

Primer kemik, kan damarlarının yakınındaki osteoprojenitor hücreler tarafından prenatal gelişme, büyüme ve kemik iyileşmesi sırasında üretilir. Geçici bir kemik yapısı olup yetişkinlerde, kafatasındaki yassı kemik eklemlerinde, diş alveollerinde ve tendonların kemiğe tutunduğu bölgeler gibi birkaç yer dışında yerini 3 yaşından sonra lameller kemiğe bırakır (Junguera, 1998). Primer kemik oldukça az mineral içerir ve mekanik direnci azdır. Lameller kemiğe oranla daha kısa ömürlüdür (Martin, 1989). Lamel içermez ve sekonder kemik dokusundan daha fazla osteosit içerir (Martin, 1989).

2.4.2 Sekonder Kemik Dokusu

Sekonder kemik, genellikle yetişkinlerde bulunan kemik dokusudur. Kortikal ve kansellöz olmak üzere iki farklı yapıdadır.

Kortikal kemik, uzun kemiklerin diafizlerini ve metafizlerinin dış tabakasını kaplayan, solid, kompakt bir dokudur. Erişkin insan iskeletinin yaklaşık %80'i kortikal kemikten oluşur. Lamel adı verilen ve ancak mikroskopik olarak görülebilen matriks tabakaları içerir. İç içe geçmiş halkalar gibi konumlanan bu lameller, kemiğin uzun eksenine paralel olarak dizilen Havers kanallarının etrafında bulunurlar. Belirli bir bölgedeki kanallar ile onu çevreleyen lamellere 'Havers Sistemi' yada 'osteon' adı verilir. Bu kanalların içinde damar ve sinir paketi vardır. Kemik yüzeyine dik olarak konumlanan diğer kanal sistemine ise 'Volkmann kanalları' adı verilir. Bu kanallar kemiğin iç ve dış yüzeylerinin birbiriyle iletişimini sağlarlar. Volkmann kanalları içindeki damarlar havers kanallarının içindikilerle bağlantılıdır (Duthie, 1989; Hollinshead, 1985).

Kansellöz kemik yassı kemiklerin kortikal tabakaları arasında ve uzun kemiklerin metafizinde bulunur. Vücut kemiklerinin hacimsel olarak %20'sini teşkil eder. kansellöz kemik, kompakt kemikten mikroskopik olarak farklılıklar gösterir. kansellöz kemikte osteon bulunmaz. Makroskopik olarak trabekül adı verilen plaklar ve gözeneklerden oluşur. Bunların içinde kan damarları ve kemik iliği bulunur ve kemik iliğinde bol olarak bulunan kan damarlarından, sitoplazma uzantıları aracılığıyla besin

maddelerini alırlar. Trabeküllerin dizilimi rastgele ve düzensiz değildir. Kemik trabekülleri gelen streslere, uygulanan yüklere ve kemiğin yapısına göre adaptasyon gösterirler (Duthie, 1989; Jee, 2001; Gorski, 1998; Gehron-Robey, 1996).

2.5 Kemik hücreleri

Kemik dokusunda, hematopoetik sisteme ait olan kemik iliği hücrelerinden başka dört tür kemik hücresi vardır. Bunlar osteoprojenitör hücreler, osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlardır (Bancroft, 1996; Gartner, 2001).

2.5.1 Osteoprojenitör Hücreler

Mitozla çoğalabilen kemik yapıcı öncü hücreler olup, periostun iç tabakasında, havers kanallarında ve endosteumda bulunurlar. Embriyonik mezenkimden köken alan bu hücreler osteoblastlara farklılaşabilirler. Düşük oksijen konsantrasyonlarında kondrojenik hücrelere de dönüşebilirler. Osteoprojenitor hücreler şekilleri itibariyle fibroblastlara benzerler, soluk boyanan bir sitoplazmaları ve yine soluk boyanan tek bir çekirdekleri vardır. Kemikte büyümenin yoğun olduğu dönemlerde daha aktiftirler (Duthie, 1989; Fawcett, 2002; Gartner, 2001).

2.5.2 Osteoblastlar

Osteoblastlar kemiğin organik komponentlerinin sentezinden sorumludur ve kemik oluşumunun devam ettiği yüzeylerde görülür. Bazofilik sitoplazmalı ve kemik yüzeyinin distaline doğru eksentrik konumlu çekirdekleri tipik özellikleridir. Osteoblastlar kemik yapıcı hücreler olup, osteoid dokuyu, kemik matriksini oluşturan Tip I kollajeni, glikoproteinleri, proteoglikanları, osteokalsin, osteonektin, osteopontin, osteoprotegerin gibi bazı proteinleri salgırlar. Kemik yapıcı görevleri sona erdiğinde oluşturdukları matriks içerisinde osteositlere dönüşürler. Ayrıca kemik rejenerasyonundaki görevleri nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekmeye devam eden, *bone morphogenetic proteins* (BMP), *transforming growth factor* (TGF), *insülin growth factor* (IGF-I) ve IGF-II, *interleukin-1* (IL-1), *platelet derived growth factor* (PDGF) gibi sinyal proteinlerini salgırlar. Osteoblastların yüzeyinde çeşitli hormonlar, vitaminler ve sitokinler için reseptörler de bulunur (Bancroft, 1996; Cormack, 1993; Fawcett, 2002; Gartner, 2001; Lynch, 1999b).

2.5.3 Osteositler

Osteositler kalsifiye kemik matriksi içindeki lakün denilen küçük boşluklarda yer alırlar. Lakünler birbirlerine ve kan damarlarına hücrelerin metabolizma faaliyetlerinin devamlılığını sağlayan kanalikül adı verilen küçük kanalcıklar ile bağlıdır. Osteositler içinde buldukları lakün ile aynı şekilde olup, çekirdekleri yassılaştırılmıştır. Kemiğe etki eden kuvvetler karşısında osteositler *siklik adenosine monofosfat* (cAMP), osteokalsin ve IGF salgırlar. Bu faktörlerin salgılanmasını takiben pre-osteoblastların sayısı artarak kemikte remodelasyon ve yeni kemik apozisyonu görülür (Bancroft, 1996; Gartner, 2001).

2.5.4 Osteoklastlar

Osteoklastlar kemik yıkıcı hücreler olup, 4 ile 40 arasında değişen sayıda çekirdekleri ve sitoplazmalarında da bir kaç adet mitokondrileri bulunur. Çekirdekleri hücrenin düzgün konturlu üst yüzeyine yakın konumlanmıştır. Düzensiz sınırları ve osteoid dokunun olmayışı karakteristik özelliğidir. Rezorbe olan kemik yüzeylerinde, tek olarak veya gruplar halinde görülürler. Osteoklastları kendi oluşturduğu *Howship* lakünü denilen kavitelerde görmek mümkündür. *İnterlökin* (1, 3, 6 ve 11), *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) ve *transforming growth factor- α* (TGF- α)'nın osteoklast oluşumunu düzenleyen faktörler olduğu düşünülmektedir (Bancroft, 1996; Cormack, 1993; Gartner, 2001; Lynch, 1999b).

2.6 Kemik oluşumu

Kemik oluşumu 2 farklı şekilde gerçekleşir.

- 1-İntramembranöz kemik oluşumu (doğrudan kemikleşme)
- 2-Endokondral kemik oluşumu (dolaylı kemikleşme)

2.6.1 İntramembranöz kemik oluşumu

İntramembranöz kemik oluşumunda, bağ dokusu bir kalıp oluşturarak yeni kemik birikimine yardımcı olmaktadır. Mezenkim hücreleri çevrelerindeki membranda damarlanmanın artmasıyla osteid madde sentezini gerçekleştiren osteoblastlara farklılaşırlar. Bunu osteoid maddenin kalsifikasyonu izler (Erbe, 2001; Klinge, 1992). Küçük adacıklar şeklinde başlayan kalsifikasyon odakları zamanla birleşerek trabekülleri yani olgunlaşmasını tamamlamamış olan primer kemiği veya örgü kemiği

oluştururlar ve böylece ağsı trabeküler yapı sağlanmış olur. Periferde yeni trabeküller oluştuğça kemiğin boyutları artar. İleride kompakt kemiği oluşturacak olan kısımlarda trabeküller kalınlaşmaya devam eder ve örgü kemik kompakt kemikle yer değiştirir. Kalınlaşan trabeküllerin aralarında kalan vasküler yapılar da volkmann kanallarını oluşturur. Kalsifiye olmadan kalan mezenkimal dokular gelişen kemiğin periostunu ve endosteumunu oluştururlar. (Bancroft, 1996; Fawcett, 2002; Gartner, 2001; Lynch, 1999b). İskelet sistemindeki kafa kemiklerinin kalvaryumu yapan kısımları yüz kemiklerinde, mandibulanın processus coronoideus ve simfizis dışındaki bölgelerinde görülür (Erbe, 2001; Klinge, 1992).

2.6.2 Endokondral kemik oluşumu

Uzun kemiklerin gövdesini oluşturan kısmına diyafiz, eklem uçlarına da epifiz adı verilir. Uzun kemiklerin gelişiminde önce bu kemiğin mezenkim dokudan hyalin kıkırdak yapıda küçük bir taslağı oluşur. Daha sonra bu kıkırdak taslak apozisyonel büyüme yoluyla daha uzun bir şekil alır. Bu modelde hem apozisyonla büyüme hem de interstisyel büyüme görülür. Kıkırdak modelin dış yüzeyine yeni kıkırdak ilavesi şeklindeki apozisyonel büyüme, daha çok kalınlığın artmasından sorumludur. Kıkırdak modelin içindeki hücrelerin bölünmesiyle gerçekleşen interstisyel büyüme ise daha çok ekstremitelere doğru gerçekleşir ve dolayısıyla uzunluğun artmasından sorumludur (Bancroft, 1996; Gartner, 2001; Lynch, 1999b).

Kemiğin iç kısmını oluşturacak olan kıkırdak modelin ortasındaki kondrositler hipertrofik olmaya başlayarak ölürlür. Bunun sonucunda, kıkırdak doku merkezden başlayarak kemiğin her iki ucuna doğru kalsifiye olmaya başlar. Dış yüzeyde perikondriyal hücrelerin osteoblastlara başkalaşması ile kemikleşme başlar. Aynı zamanda kapiller damarlar hipertrofiye olduktan sonra dejenere olan kondrositlerin arasına doğru proliferasyon olarak, kıkırdak modelin merkezindeki kalsifiye alana kadar ilerlerler. Yüzeyden içeri doğru ilerleyen osteoblastlar da kısa bir süre sonra kalsifiye olacak olan osteoid dokuyu oluştururlar (Bancroft, 1996; Gartner, 2001; Lynch, 1999b). Kondrosit hücreleri dejenere olduktan sonra geniş boşluklar meydana gelir. Periost kıkırdak taslağın üzerinde ince yeni bir tabaka kemik dokusu oluşturur. Aynı anda ilkel mezenkim dokusu ve kan damarları kıkırdak taslağın içindeki boşlukları istila eder. Bu mezenkim dokusu daha sonra osteoblastlara ve kemik iliği hücrelerine dönüşür. Osteoblastlar kıkırdak matriksin kalıntılarının yüzeyinde bir hücre tabakası meydana getirerek ağsı kemiği oluşturmaya başlar (Erimoğlu, 1990; Meade, 1984).

Köprücük kemiği dışında kalan uzun kemiklerin, leğen kemiklerinin, omurganın ve kafa tabanının kemikleşmesi bu yolla gerçekleşir (Erimoğlu, 1989; Meade, 1984).

2.7 Kemik onarımı

Kemik kırılmasından sonra, yaralı bölgede genel doku tepkimeleri görülür. Bunlar kanama ve granülasyon dokusunun olduğu pıhtılaşma olaylardır. Granülasyon dokusu, vücudun bir yabancı cisme, harabiyete, yaralanmaya veya enfeksiyonlara karşı savunması sırasında oluşan özellikle histiyosit ve lenfositlerden meydana gelen bir doku çeşididir. Pıhtılaşma sürerken granülasyon dokusu daha yoğun bağ dokusu haline dönüşür. Bu dönüşüm sırasında, yapısında bol miktarda kollajen fibrilleri bulunduran fibrilli kırık ve kırık dokusu gelişmeye başlar. Böylece kırık parçalar arasındaki boşluk, bağ ve kırık dokusundan oluşan ve kanamayı sağlayan bir doku ile doldurulur. Kırık parçalar arasındaki yeni öncül kemik dokusu, periostum ve endosteumun dipteki tabakalarında bulunan osteoprogenitör hücrelerin aktivasyonu ile oluşturulmaya başlanır. Böylece periostun altındaki trabeküllerin ağısı yapısı oluşur. Endosteumdan kaynaklanan yeni kemik oluşumu da kemik iliği boşluğunda yer alan taze kırık dokusu etrafında oluşur. Endokondral kemik oluşumunda olduğu gibi, fibrilli kırık dokusunun kemikleşmesi, kemiğin derece derece bu dokuyla yer değiştirmesiyle tanımlanır. Kırık bölgedeki kemik oluşumu, iki kırık uçta yeni süngerimsi kemik meydana gelince hemen hemen tamamlanmış olur (Gartner, 2001; Lynch, 1999b).

Kemik rezeksiyonu ve küretaj gibi kemik kaybına yol açan cerrahi girişimler ve travma kemik dokusunun zarar görmesine, kemik hücrelerinin ölümüne, periostun devamlılığının bozulmasına yol açar. Yaralanma sonucu oluşan enflamatuvar yanıtı kompleman aktivasyonu, hücrelerin sinyal alış verişi izler. Operasyonun amacına ve patolojinin niteliğine göre, kemiğin küretajı ya da rezeksiyonu sırasında yumuşak dokuların ve vasküler yapıların gördüğü zararlar da farklıdır. Kemiğin opere edilen bölgesini besleyen kan damarlarında, zarar gördükleri yerden başlayarak en yakın anastomoz yerine kadar olan kısmında dolaşım durur. Bunun sonucunda etkilenen kısımda osteositler ölür ve kemikteki zedelenme bölgesi genişler. Periost ve kemik iliği vasküler yönden zengin olduğundan zedelenme bölgesinde kemikte olduğu gibi genişleme gözlenmez. Zarar gören dokuların proteolitik yıkımı sonucu ortaya çıkan kemotaktik faktörler monositleri ve makrofajları bölgeye çeker. Aktive olan makrofajlardan FGF salgılanır ki, bu da endotel hücrelerinden plasminojen aktivatörü

ve prokollajenaz ekspresyonuna yol açar. Degranüle olan trombositlerden salınan büyüme faktörleri, polimorf kökenli lökositler (PMN), lenfositler, monositler ve makrofajlar için sinyal niteliğini taşır. Trombositler, kan pıhtılaşması yanında, mediyatör görevi yapan PDGF, TGF- β ve FGF gibi büyüme faktörlerini de salgırlar (Gartner, 2001; Lynch, 1999b).

Yaralanmanın olduğu alanda, oksijen konsantrasyonu ve pH azalınca, debris ve mikroorganizmaları ortamdandan uzaklaştıracak olan PMN'ler ve makrofajlar için uygun bir ortam oluşur. Buna ek olarak makrofajlar, yara tamiri devam ederken hücresele aktiviteyi arttırıp, hücrelerin ihtiyaca uygun olarak başkalaşmasını, çoğalmasını ve kemotaksi göstermesini sağlayan büyüme faktörlerini üretirler. (Lynch, 1999b).

Bağ dokusundan kaynaklı kapiller damarlar ve fibroblastlar, operasyon bölgesinde oluşan kan pıhtısının içine doğru, proliferasyon olarak granülasyon dokusunu oluştururlar. Granülasyon dokusunda kan damarları, hücreler ve çeşitli kollajen tipleri bulunur. Kollajenin en az 18 ayrı tipi olup, Tip I kemikte, Tip II kırıkta, Tip III ve V granülasyon dokusunda, Tip IV ve VI endotelyumda ve Tip X hipertrofik kırıkta bulunur. Büyüme faktörleri kollajen tiplerine seçici olarak bağlanırlar. Bu seçiciliğin, büyüme faktörlerinin korunarak hedef hücrelere ulaşmasında ve hücre ile büyüme faktörü ilişkisinin düzenlenmesinde rol oynayabileceği öne sürülmüştür. (Lynch, 1999b).

Periosttan, kemik iliğinden ve endosteumdan kaynaklanan osteoprojenitor hücreler, büyüme faktörlerinin kemotaktik etkisi ile osteoblastlara ve kondroblastlara farklılaşarak, geçici matriks görevi yapan granülasyon dokusunda tamir işlemine başlarlar (Gartner, 2001; Lynch, 1999b). Hücrelerin farklılaşması ve hücreler arası matriksin olgunlaşması sonucu birkaç hafta içerisinde kallus oluşur. Kallus, damarlardan, stromaya ait ürünlerden, kırık dokusundan oluşur. Kırık zamanla örgü kemiğe, örgü kemikte kompakt kemiğe dönüşür. Kallus kırığın stabilizasyonunu sağlar. Stabilizasyon yeterli değilse kırık yerinde kırık oluşumu artar, stabilizasyon yeterli ise kemik rejenerasyonu ile kemik eski formu ve fonksiyonu kazandırır. Kırık redükte edilip fiksasyon sağlandığında kırık oluşumu gözlenmeksizin intramembranöz yolla kemikleşme gerçekleşir (Lynch, 1999b).

BMP'lerin ve kallusun kırık iyileşmesi sürecindeki rolleri henüz tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Ancak BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-6 ve BMP-7'nin kırık iyileşmesi sırasında anjiyogenez ve hücrelerin farklılaşması ile ilgili proteinler olduğu

bilinmektedir. Hücre grupları ve büyüme faktörlerinin karşılıklı etkileşimi sonucunda 6-8 hafta içerisinde kırığın fonksiyonel iyileşmesi sağlanmış olur (Lynch, 1999b).

Fonksiyonel iyileşmeyi takiben remodelasyon gözlenir. Remodelasyonda, kemiğin belli bir bölgesindeki osteoblastlar, paratiroid hormon gibi çeşitli sinyal proteinlerinin etkisi altında yerlerini terkederek osteoklastlara bırakırlar. Ancak osteoklastların terkedilen yerlere tutunarak rezorbsiyona başlamalarını ve zamanı gelince rezorbsiyonu durdurmalarını sağlayan sinyaller henüz belirlenememiştir (Lynch, 1999b).

2.8 Kemik Defektlerinin Onarımında Kullanılan Materyaller

Genellikle rekonstrüktif amaçla biyolojik ortama yerleştirilen ve çevre dokularla uyum içinde olacak şekilde hazırlanan gelişmiş materyallere biyomateryal denir. Bunlar, çeşitli nedenlerle kaybedilmiş ya da deforme olmuş organ veya dokuların onarımında ve fonksiyonların yerine konmasında kullanılan doğal veya yapay materyallerdir (MacNeill, 1999; Manjubala, 2001; Marinak, 1989; Tadjoeidin, 2003; Tuksan, 1999; Urist, 1970; Walters, 2003). Oral ve maksillofasiyal bölgede atrofik maksilla ve mandibulanın rekonstrüksiyonunda, konjenital, travmatik, dejeneratif, enflamatuar, enfeksiyöz, kistik ve neoplastik orjinli deformitelerin giderilmesi gibi durumlarda kemik greftlerine gereksinim duyulmaktadır. Günümüzde bu amaçla otojenik, allojenik ve alloplastik kemik greft materyalleri kullanılmaktadır (Begley, 1993; Bifano, 1998; Gomi, 1993; Jee, 2001; Yukna, 2002).

2.9 Kemik greftlerinin işlevleri

2.9.1 Osteogenezis

Bir materyalin doğrudan osteoblastlar ile yeni kemik yapabilme kabiliyetine osteogenezis denir. Osteogenezde kemik greft materyalleri, direkt olarak osteoblast hücrelerinden kemik oluşturma kapasitesine sahip organik materyaller içerirler. Osteogenezisi yapan kemik grefti materyalleri canlı kemik hücrelerinin bir bileşimidir. Bu nedenle osteogenetik karaktere sahip tek greft otojen kemiktir. Dokuda farklılaşmamış mezenkim hücrelerinin olmadığı ortamlarda bile, bu tür organik maddeler osteogenez kabiliyetine sahiptir (Akal, 1995; Den Boer, 2003; Güven, 2000; Pompili, 1998; Tuksan, 1999).

2.9.2 Osteoindüksiyon

Greft uygulanan dokuda kemik büyümesinin stimülasyonu, farklılaşmamış mezenkimal kök hücrelerinin osteoblast veya kondroblastlara dönüşümü ile gerçekleşir. Kemik allogrefti değişik genetik yapıya sahip, farklı insanlardan alınan kemik dokularından elde edilir (Akal, 1995; Gomi, 1993; Kirschner, 2001; Pompili, 1998; Tuksan, 1999).

2.9.3 Osteokondüksiyon

Komşu kemik bölgesinden kemik apozisyonu ve hücre göçü ile kemik oluşumunun sağlanmasıdır. Osteokondüktif materyaller ektojik bölgelerde kemik oluşumunu gerçekleştiremezler. Bu yüzden; osteokondüksiyon, kemik veya farklılaşmamış mezenkimal hücre varlığında meydana gelir (Akal, 1995; Pompili, 1998; Tuksan, 1999).

2.10 İdeal bir greft materyalinde olması gereken özellikler

- 1) Biyolojik olarak uyumlu olmalıdır.
- 2) Biyoinert, biyokompatibl olmalıdır.
- 3) Osteojenik veya osteokondüktif olmalıdır.
- 4) Yüzey porözitesi olmalıdır.
- 5) Kolay sterilize edilebilmelidir.
- 6) Enfeksiyona dirençli olmalıdır.
- 7) Çevre dokuları etkileyebilecek renk özellikleri olmamalıdır.
- 8) Toksik ya da antijenik etkiye sahip olmamalıdır.
- 9) Karsinojenik olmamalıdır.
- 10) Kolay şekillendirilebilmelidir.
- 11) Kırılmaya ve bükülmeye karşı dirençli olmalıdır.
- 12) Rezorbsiyona dirençli olmalıdır.
- 13) Uygulama hasta tarafından kabul edilebilir olmalıdır.
- 14) Operatif ve postoperatif komplikasyonu minimal olmalıdır.
- 15) Başarısızlık durumunda kolaylıkla çıkarılabilmeli veya kesilebilmelidir.
- 16) Saklanması ve depolanması kolay olmalıdır.
- 17) Pahalı olmamalı ve kolay elde edilebilmelidir.

2.11 Greft materyallerinin içinde buldukları doku ya da organ ile ilişkileri:

2.11.1 Biyokompatibilite: Biyokompatibilite greftin girdiği ortamdaki biyolojik uyumluluğunu ve ilgili organa ait kesintiye uğramış fonksiyonları yeniden sağkalayabilme özelliğidir. Kullanılan materyalin alıcı bölgede çevre dokularına uyumlu olması gereklidir (Güven, 2000; Haug, 1999; Özyuvacı, 2001; Tuksan, 1999).

2.11.2 Biyofonksiyonalite: Yerleştirilen ortamda fonksiyon sırasında, materyalin etkisinde kaldığı kuvvetler karşısında değişime uğramamasıdır. Aksi takdirde materyalin biyofonksiyonalite yönünden yetersiz olduğu düşünülebilir (Güven, 2000; Haug, 1999; Özyuvacı, 2001; Tuksan, 1999).

2.12. Greft çeşitleri

Oral ve maksillofasiyal cerrahide, travmaları ve çeşitli patolojileri tedavi etmek amacıyla yapılan müdahaleler sonucu oluşan kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda, kaybedilen fonksiyon ve estetiğin tamirinde kullanılan materyaller ve stratejiler aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir.

2.12.1 Otogreftler

Bireyin bir bölgesinden alınıp başka bir bölgesine yerleştirilen ve osteogenezis için gerekli olan hücresel elemanları taşıyan, vaskülarize veya non-vaskülarize greft materyallerine otogreft denir. Ağız dışı verici alanlar olarak; anterior veya posterior superior iliak kemiğin ilium kısmından operatif olarak veya ponksiyon biyopsisi ile alınan otojen hematopoetik ilik / süngerimsi kemik, tibia, fibula, kafatası ve kostalardan alınan greftler büyük defektlerin rekonstrüksiyonunda kullanılabilir. Ağız içi verici alanlar ise; simfiz, tüber maksilla, mental bölge, dişsiz kret veya retromolar bölgelerdir. Bu greftlerin osteokondüktif ve osteoindüktif olmalarının yanında, verici sahada oluşan ikinci bir yaranın varlığı, işlemlerin zaman alıcı olması, hasta için oldukça travmatik olması ve greftin alındığı bölgeye göre değişen komplikasyonların ortaya çıkabilmesi gibi dezavantajları da vardır (Kenley, 1993; Lynch, 1999d ; Marchena, 2002; Oikarinen, 1997; Raghoobar, 2001).

2.12.2. Allogreftler

Allogreft aynı türden fakat genetik olarak alıcıyla hiçbir benzerliği olmayan canlılardan alınan dokulara denir. Kemik allogreftleri, değişik genetik tipte farklı insanlardan, kadavralardan veya kalça kırıkları gibi insanlardan çıkarılan kemiklerden elde edilirler. Daha sonra bir seri işlemlere tabi tutularak kemik bankalarında muhafaza edilirler. Bunlar osteokondüktif olup ayrıca otogreftlerle kıyaslanabilir düzeyde osteoindüktif kapasiteye sahiptirler. Dondurulmuş kemik, dondurulmuş-kurutulmuş kemik, demineralize dondurulmuş-kurutulmuş kemik olmak üzere üç tiptir. Kemik dokusunun, alıcıya nakledilmeden önce herhangi bir aktarılabılır patolojik özelliği kalmayacak şekilde aseptik bir doku haline getirilmesi konusunda çok titiz olunmalıdır. Aksi takdirde insan bağışıklık yetmezliği virusu (HIV) , Hepatit B virusu (HBV), Hepatit C virusu (HCV); Creutzfeldt-jakob hastalığı (CJD), Treponema pallidum, Mycobacterium tuberculosis kolayca alıcılara bulaşabilir. Alınan tüm önlemlere rağmen, henüz teşhis edilmemiş HIV + bir donörden allogreft alınması olasılığı yaklaşık olarak 1:1,600,000 olarak bildirilmiştir. Ayrıca bu greftler alıcı tarafından reddedilme, aşırı rezorbsiyon gibi dezavantajlara da sahiptirler (Boyan, 1999)

- Fenestrasyonların kapatılması
- Minör kret augmentasyonu
- Diş çekimi sonrası alveol soketlerinin doldurulması
- Sinüs yükseltme operasyonları
- Dehissenslerin ve implant çevresi defektlerin kapatılması

2.12.3 Heterogreftler

Bunlar allojen kemik greftlerinin elde edilmesine benzer metodlarla üretilen farklı türlerin verici olarak kullanıldığı greftlerdir. Sığır veya tavşanlardan elde edilmiş spongios kemik greftleri ile mercan kökenli kalsiyum karbonat bunlara örnek olabilir. Bu materyallerin en önemli özelliği, doğal kemik minerallerini taşımaları ancak organik komponentlerinin olmamasıdır. Bu greft materyallerinde de enfeksiyöz hastalıkların

bulaşması ve greftin reddi gibi olasılıklar mevcuttur (Aichelmann-Reidy, 1998; Kenley, 1993).

2.12.4 Alloplastik Materyaller (Kemik Yedek Materyalleri)

Bir kemik yedek materyalinin kemik rejenerasyonunu kolaylaştırabilmesi için, normal hücre büyümesi ve fonksiyonuna izin verecek fiziksel, kimyasal ve mekanik özellikleri olmalıdır. Bu özelliklerin tümüne sahip bir alloplastik materyal henüz elde edilememiş olup, herbirinin diğerine üstün ve/veya zayıf yönleri bulunmaktadır. Mercan ve sığır kökenli hidroksilapatit dışındaki tüm alloplastik materyaller sentetik olarak elde edilirler. Osteokondüktifdirler ve kalsiyum içeren implantların yüzeyine vücuda girdikten kısa bir süre sonra apatit depozisyonunun başladığı, birçok *in vitro* ve hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Yüzeydeki apatit tabakası, muhtemelen proteinleri absorbe ederek ve kemik hücrelerinin tutunmasına yardımcı olarak implante edilen materyalin alıcı kemiğiyle birleşmesini sağlar (Lynch, 1999a).

Porozitelerine göre yoğun, makroporöz veya mikroporöz olarak sınıflandırılabilen alloplastik materyaller kristal veya amorf yapıda olurlar. Granüller halinde veya istenilen bir şekilde kalıplara dökülerek kullanılabilirler. Alloplastik materyaller, biyoseramikler, biyoaktif camlar ve polimerler olarak gruplandırılabilir. (Lynch, 1999d).

2.12.4.1 Biyoseramikler

Hidroksilapatit ve trikalsiyum fosfat güvenilir ve tolere edilebilirliği yüksek materyallerdir.

2.12.4.1.1 β -trikalsiyumfosfat

Poröz yapıdadır ve rezorbe olabilir. Genel olarak ağırlıkça yaklaşık %39 kalsiyum ve %20 fosfor içerir. Kalsiyum ve fosfat oranı kemiktekine benzerlik göstermektedir. Kemik apozisyonu için bir ağ teşkil eder ve greft rezorbe oldukça oluşan yeni kemik ile yer değiştirir. Rezorbsiyon hızı materyalin kimyasal yapısına, pörözitesine ve partikül büyüklüğüne bağlıdır. Osteokondüktif olup yeni kemik apozisyonu için fiziksel bir matriks görevi görür. Materyalin birbiriyle bağlantılı porlardan oluşan, bir yapısı vardır. İmplant edilmeden önce veya implante edildiği yerde, kan ve doku sıvılarını kapiller etki ile bünyesine alarak hücreler, sinyal proteinleri ve metabolizma faaliyetleri için uygun bir ortam oluşturur. Trikalsiyumfosfat osteojenik veya osteoindüktif

materyallerle birlikte kullanılabilir (Beck, 1991; Erbe, 2001; Laffargue, 2000; Lynch, 1999d).

β -trikalsiyumfosfat pöröz, düşük yoğunluğa sahip olup, ortalama 1-2 μ m büyüklüğündeki partiküllerinin “*lightly fusion*” olarak isimlendirilen hafif füzyonuyla elde edilmiştir. Materyalin elde edilmesinde kullanılan primer partiküllerin boyutlarının küçük olması pöröziteyi arttıran bir etkidir. Bu sayede elde edilen matriksdeki porların %90’ı birbiriyle bağlantılı olup, por genişliği 1 μ m ile 1000 μ m arasında değişmektedir (Erbe, 2001).

2.12.4.1.2 Hidroksilapatit (HA)

Kemiğin primer inorganik komponenti olup, sentetik yolla elde edilebildiği gibi organik kökenli olarak da elde edilebilir. Organik kökenli olan HA 250-500 milimikron çapında porlar içerirken, sentetik yollarla elde edilenler ise por içermeyen solid bir yapıya sahiptir. Temel yapısında yer alan kalsiyum fosfat karışımının, işlemlere tabi tutulduğuna bağlı olarak özellikleri farklılaşır. Rezorbe olabilmesi hidroksilapatitin olduğu sıcaklığa bağlıdır. Organik içeriği kimyasal yollarla ekstrakte edilmiş olan anorganik sığır kemiği de, HA yapısında olup rezorbsiyonunda HA’dan farklı olarak osteoklast benzeri hücreler rol oynar (Aichelmann-Reidy, 1998; Kenley, 1993; Lynch, 1999d).

2.12.4.1.2.1 Rezorbe Olmayan HA

Sinterizasyonla (partiküllerin eriyerek birleşmesi olayı) yüksek sıcaklıklarda hazırlandığında, HA rezorbsiyona ve biodegradasyona dayalıdır. Nonporöz, yoğun ve büyük kristalli yapıdadır. Yoğun HA greftler osteofilik ve osteokondüktif özellikte olup, öncelikle inert ve biyouyumlu yer dolduruculardır (Aichelmann-Reidy, 1998).

2.12.4.1.2.2 Rezorbe Olan HA

Düşük sıcaklıkta işlem görmüştür. Sinterize edilmemiş ve amorf yapıda olduğundan, rezorbsiyonu devam ederken osteokondüksiyon yoluyla kemik yapımını sağlar ve kemik için bir mineral deposu vazifesini görür (Aichelmann-Reidy, 1998).

2.12.4.2 Biyoaktif Camlar

Kemikteki benzer oranlarda kalsiyum tuzlarından, fosfattan, kemik mineralizasyonu için gerekli olan sodyum tuzlarından ve silikondan oluşur. Amorf yapıda olup, kristal

yapı içermez. Poröz yapıda olmadığından dokuların ve kan damarlarının materyal içine büyümesi engellenmiş olur. Bu materyalle ilgili çalışmalar devam etmekte olup, konak hücreleriyle hızla reaksiyona girmesi, bağ dokusu ve kemik kollajenine kimyasal olarak bağlanması önemli özelliklerindedir. SiO_2 , CaO_2 , Na_2O , P_2O_5 içerir ve greft yüzeyinde oluşan karbonat ile reaksiyona girmiş HA katmanı sayesinde kemiğe bağlanır. Biyoaktivitesi yüksek olduğundan implante edildikten birkaç dakika sonra dokularla reaksiyona girmeye başlar. Sonuç olarak, kemik yapıcı hücreler partiküllerin yüzeyinde koloniler oluşturup burada kollajen yapımına başlayabilirler. Oluşturulan kollajen yüzeydeki partiküllere yapışarak yumuşak doku içindeki stabilizasyonlarını sağlar (Aichelmann-Reidy, 1998; Lynch, 1999d).

2.12.4.3 Polimerler

Polimerler mineral kökenli materyallere alternatif olarak geliştirilmiştir. Aranan klinik özelliğe göre polimerlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirmek mümkündür. Belirli bir klinik uygulamaya yönelik olarak arzu edilen şekilde ve büyüklükte üretilbilirler (Boyan, 1999).

2.12.4.3.1 “Hard Tissue Replacement” Polimerleri (HTR Polimerleri)

Biyouyumlu, mikroporöz yapıda kompozit bir polimerdir. Polimetilmetakrilat (PMMA), polihidroksimetilmetakrilat (PHEMA) ve kalsiyum hidroksit içerir. Polimer yavaş rezorbe olur ve 4-5 yıl içinde yerini kemiğe bırakır. Kemik içi cep ve furkasyon defektlerinin tedavisinde, kret augmentasyonunda ve çekim sonrası alveol kemiğinin korunmasında da başarılı olduğu bildirilmiştir (Aichelmann-Reidy, 1998; Lynch, 1999d).

2.12.4.3.2 Polilaktik Asit (PLA), Poliglolik Asit (PGA) ve Bunların Kopolimerleri (Polilaktik / Poliglolik Asit [PLA / PGA])

Bu materyaller tamamen rezorbe olabilirler. Vücutta hidrolize olarak CO_2 ve H_2O açığa çıkarırlar. Ancak rezorbsiyon sırasında klinik olarak farkedilebilecek düzeyde enflamasyona yol açtıklarından PLA / PGA oranları değiştirilerek daha düzenli bir rezorbsiyon şekli gösteren ve daha az enflamasyon yaratan tipleri piyasaya sürülmektedir. Genellikle kemik büyüme faktörleriyle kombine edilerek kullanıldıklarından taşıyıcı matris niteliğindedirler (Boyan, 1999; Isaksson, 1993).

2.12.5 Kompozit Greftler

Birden fazla greft ve/veya kemik yedek materyalinin kombinasyonundan oluşurlar. Genellikle otojen greft materyali ile bir alloplast veya bir allogreft karışımından oluşabileceği gibi bunların çeşitli büyüme faktörleriyle kombinasyonları da kullanılmaya başlanmıştır. Kompozit greft kullanımında amaç implante edilecek materyal miktarını arttırırken verici sahada oluşan travmayı sınırlamaktır. Ayrıca osteoindüktif veya osteojenik materyallerden en iyi sonuçları alabilmek için çeşitli taşıyıcı matrislerle kombine edilerek kullanılırlar (Kenley, 1993).

2.13 Membranlar

Oral cerrahide ve periodontolojide, yönlendirilmiş doku rejenerasyonu uygulamalarında kullanılırlar. Yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda amaç, hücrelerin geçişine izin vermeyen bir membranla kemik defektini kapatarak, defektin içine fibröz doku proliferasyonunu önlemek ve böylece kemiğin rejenere olmasına izin vermektir. Yönlendirilmiş doku rejenerasyonunu düzenleyen hücresel ve biyolojik olaylar tam olarak açıklanamamıştır. Membranlar, kemik grefti uygulamalarından sonra veya sadece kanla dolması sağlanmış kemik defektlerinde kullanılabilir (Lynch, 1999c).

2.13.1 Rezorbe Olmayan Membranlar

Doku içerisinde çözünmezler. Bunlar Politetrafloretillen (PTFE), poliasetal ve silikon yapısında olabilirler. İkinci bir operasyonla buldukları yerden çıkarılmaları gerekir. Günümüzde, yeni nesil rezorbe olan membranların rezorbsiyon süreleri, yeni kemik oluşumuna izin verecek kadar uzatılmış ve rezorbsiyonları sırasında oluşan enflamasyon minimuma indirilmiştir (Dupoirieux, 2001).

2.13.2 Rezorbe Olan Membranlar

Yerleştirildikleri bölgede zaman içerisinde kimyasal olarak çözünme özelliğine sahiptirler. Bunlar, kollajen, poliüretan, PLA, PGA ve PLA/PGA kombinasyonlarıdır (Nielsen, 1992).

2.14 Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü (bFGF, FGF-2)

bFGF(FGF-2), 20 den fazla farklı proteinin içinde bulunduğu heparin bağlayıcı büyüme faktörleri ailesinde yer alır ve 16.5 Kda molekül ağırlığına sahiptir (Tang, 1996; Marie, 2003). FGF-2, hücre düzeyinde etkisini, fibroblast büyüme faktörü reseptörlerine (FGFR) bağlanarak gerçekleştirir. Büyüme faktörü ve reseptörünün bağlanmasından sonra reseptörde otofosforilasyon olayı ile aktivasyon gerçekleşerek transkripsiyonu düzenleyici proteinler uyarılır (Tang, 1996). FGF-2; endoderm, mezoderm ve ektoderm kökenli birçok hücrenin proliferasyonu ve farklılaşmasını etkiler (Marie, 2003; Akita, 2004). bFGF ;yeni damar oluşumunu, hücre çoğalmasını ve kollajen dışı protein sentezini artırarak yara iyileşmesini etkiler. Ayrıca FGF-2 ;osteoprojenitör hücrelerin çoğalmasını ve farklılaşmasını sağlayarak fonksiyonel osteoblastların sayısını artırır (Akita, 2004). FGF-2 kemik dokusunun gelişiminde, büyümesinde,yeniden şekillenmesinde ve tamirinde rol oynar (Tang, 1996). FGF-2 ayrıca;TGF-beta, VEGF, IGF gibi büyüme faktörlerinin salınımını artırarak indirekt olarak da etki gösterir (Farhadi, 2005). FGF-2'nin osteoblastik hücreler üzerinde farklılaşmayı ve mineralizasyonu artırıcı etkilerinin yanı sıra inhibe edici etkisi de bildirilmiştir (Marie, 2003; Debais, 2004).

2.15 Osteogenezde Fibroblast Büyüme Faktörleri ve Reseptörleri

2.15.1 Osteogenez ve Fibroblast Büyüme Faktörleri

Kemik oluşumu, dokuların onarımı gibi olaylar, hücre-hücre ve hücre-ekstrasellüler matris etkileşimlerini kapsayan son derece dinamik süreçlerdir. Büyüme faktörleri bu dinamik ve karmaşık süreçleri düzenleyen biyolojik moleküllerdir (Hakkı, 2000). Bu biyolojik moleküller arasında FGF'ler mezoderm ve nöroektodermden köken alan fibroblast,osteoblast, düz kas hücreleri, endotel hücreleri, kondrositler, melanositler gibi çeşitli hücrelerde kuvvetli mitojenik aktiviteleri, nörotropik özellikleri ve heparin bağlama özellikleri olan moleküllerdir (Çetin, 2004). FGF'lerin birbirleriyle yapısal olarak yakın benzerlik gösteren, büyüme ve gelişimin önemli basamaklarında rol oynadıkları bilinen 23 üyesi bulunmaktadır.

FGF'ler osteogenez sürecinde önemli düzenleyici rollere sahiptirler (Ornitz, 2002). İnvitro çalışmalarda, FGF-2,4,9,18'in oluşan kemik dokusundaki hücrelerin proliferasyonunda düzenleyici rol üstlendiği bildirilmiştir (Iseki, 1999; Shimoaka, 2002; Walsh, 2003). Bu düzenleyici rollerinin yanında FGF'lerin, osteoblast hücrelei

üzerinde mitojenik etkilerinin de olduğu dikkati gözlemlenmektedir (Fakhry, 2005). FGF'ler hücre proliferasyonundaki etkilerine ek olarak, osteoblast farklılaşmasının çeşitli aşamalarında da etki gösterirler.

Erken dönemde osteoblast farklılaşmasında bir markır olarak kullanılan alkalin fosfatazın rat kemik iliği prekürsör hücrelerindeki salınımının FGF-2 tarafından artırıldığı çeşitli çalışmalarda ortaya konulmuştur (Noff, 1989; Pitaru, 1993; Zhang, 2002). Runx2, Runt Transkripsiyon Faktörü ailesinin bir üyesi olan, kemik, kırıkta formasyonunda aktivatör olarak görev alır (Ducy, 1997; Komori, 1997). Runx2 yoksun farelerin doğumdan hemen sonra, şekillenmemiş bir iskelet kemikleşmesi ile öldükleri izlenmiştir (Komori, 1997; Otto, 1997). Runx2 salınımı FGF-2,4 ve 8 tarafından uyarılır (Zhang, 2002). Runx2'nin DNA'ya bağlanma kapasitesini ve transkripsiyon aktivitesini FGF-2 ve FGF-4'ün artırdığı ileri sürülmektedir (Xiao, 2000; Kim, 2003). FGF-2 matriks minerilazasyonunda da önemli görevler aldığı bilinmektedir (Noff, 1989). FGF-2'den yoksun farelerde yapılan deneylerde trabeküler yapının oluşumunda belirgin bir düşüş, trabeküler kemik dokuda haciminde kayıp, mineral birikimi ve kemik oluşum oranında da azalma olduğu görülmüştür (Montero, 2000). Olgunlaşmamış osteoblastların FGF-2'ye maruz bırakılmaları hücre proliferasyonunda, olgun osteoblastların maruz bırakılmaları ise osteokalsin ve matriks minerilazasyonunda artışlara neden olduğu (Debiasis ve ark., 2004) yaptıkları bir çalışmada ortaya konmuştur.

FGF-2'nin aynı zamanda insülin benzeri büyüme faktörü salınımını hem in vivo hem de invitro olarak arttırdığı bazı çalışmalarda tespit edilmiştir (Zhang, 2002; Power, 2002). Öte yandan fetal kalvarial hücrelerde TGF-BETA ailesi üyelerinin, FGF-1 ve FGF-2'nin mitojenik aktivitesini arttırdığı, paralel olarak FGF-1'in de hem olgun hem de proliferatif osteoblast hücrelerinden TGF-beta salınımını arttırabileceği gösterilmiştir (Globus, 1988; Tang, 1996). Serum alınmadan hemen önce FGF-2'ye 24 ve 48 saat maruz bırakılan hücrelerin kaspas-2 ve kaspas-3 aktivitesinin inhibisyonu sonucu osteoblastların apoptotik sürece girmeleri engellenmiştir (Debiasis, 2004). Hipoksik kültür ortamında FGF-2 ye bırakılan mezenşimal hücreler rat miyokardial enfarkt bölgesine transplante edilmiş, FGF-2'ye maruz bırakılmamış mezenşimal kök hücrelere nazaran yaşama şanslarının 3 kat daha fazla olduğu ve antiapoptotik Bcl-2 salınımının artmasıyla da apoptozun azaldığı ortaya konulmuştur (Song, 2005).

2.15.2 Osteogenez ve fibroblast büyüme faktör reseptörleri (FGFR)

FGF'ler parakrin ve otokrin faktörlerin çok önemli gruplarından birisidir. FGF'lerin reseptöre bağlanması ile reseptörler dimerize olmakta ve bunun sonucunda trozin kinaz aktivitesi gerçekleşmektedir. Bu kinazlar birbirlerini fosforilleyerek sinyal iletimini başlatmaktadır (Çetin, 2004). Daha önceden, FGFR-1 salınımının daha çok osteoblast farklılaşması sırasında olduğu gösterilmişken, (Zhou, 2005; Yu, 2003) FGFR-2'nin ise osteoblast proliferasyonunda yer aldığı bildirilmiştir (Zhou, 2005; Yu, 2003). Aksine FGFR-3'ün osteogenezin düzenlenmesi üzerine negatif etkisi vardır; primer fonksiyonunun endokondral kemik oluşumu sırasında kondrosit proliferasyonu üzerine olduğu savunulmaktadır (Deng, 1996; Murakami, 2004). Ancak FGFR-3 ekspresyonunun inhibe edilmesi osteoprogenitör hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasını engellemesi FGFR-3'ün aktif olarak osteoblast farklılaşmasında da rol alabileceğini ortaya koymaktadır (Funato, 2001).

Çalışmalar aynı zamanda FGFR-3'ü olmayan genç farelerin osteopenik olduklarını, diğer osteoblast farklılaşma markırlarının ve FGFR-3'ün olmamasının bir sonucu olarak ciddi osteomalazi tablosunun şekillendiğini ortaya koymuştur (Valverde-franco, 2003). Bununla birlikte, Gly369 Cys mutasyonunun neden olduğu FGFR-3 aktivasyonu, trabeküler kemik ve hipertrofik kıkırdak arasında osteoklast aktivitesinin yükselmesine, d,z eklemde büyüme plağında kemik manşet oluşumunun ve uzun kemik trabeküllerinde osteopontin, osteokalsin ve osteonektin salınım düzeyinin artışına neden olduğu savunulmaktadır (Chen, 1999). Diğer FGFR'lerin aksine FGFR-4'ün kemik gelişimindeki etkisi ile ilgili olarak herhangi bir bilgi bulunmamakta olup, rudimenter kemikte ve intramembranöz kemik odaklarında yüksek seviyelerde olduğu bildirilmektedir (Cool, 2002).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (CÜBAP) tarafından desteklenen DİŞ-077 kodlu bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda ve Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1.Etik Kurul

Çalışmaya başlamadan önce, 07/05/2009 tarih ve 50/318 sayılı Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul onayı alınmış ve çalışma sırasında Cumhuriyet Üniversitesi Etik Kurulu yönergelerinin 13. maddesinde belirtilen “Etik kurallara uygunluk esası” kararına uyulmuştur.

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

3.2.1 Deney Hayvanları

Bu çalışmada Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan sağlanan yaklaşık 180-230 gr ağırlığındaki Wistar cinsi, albino ratlar (sıçan) kullanılmıştır.

3.2.2 Kullanılan Laboratuvar Gereçleri

Hassas terazi (Sartorius, Almanya)
pH metre (Jenco 672, Tayvan)
Mikropipetler
2cc ve 20cc enjektör (Hayat, Türkiye)
Polilizinli lam

3.2.3 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Serum Fizyolojik (Eczacıbaşı, Türkiye)
Steril dH₂O (Eczacıbaşı, Türkiye)
NaCl (Sigma, ABD)

Tris (Sigma, ABD)

3.3 Solüsyonun Hazırlanışı

3.3.1 FGF-2'nin Hazırlanması

Çalışmamızda *Escherichia coli* den üretilen liyofilize human rhbFGF(>97% purity; product no. F0291; Sigma) kullanıldı (şekil 3.1). RhbFGF-2'nin kullanıma hazır hale getirilebilmesi için, liyofilize olarak 25µg rhbFGF, her mikrogramında 50µg bovine serum albumin içerecek şekilde 1M NaCl içeren 2.5 ml 20mM tris çözeltisi içerisinde çözüldü. Solüsyonun mikrolitresinde 10µg rhbFGF konsantrasyonu elde edildi. Her deneğe özel steril uçlu pipetler ile defekt bölgelerine 100µl verildi

3.4. Yöntemler

3.4.1 Deney Hayvanlarının Hazırlanması

Bu çalışma için kullanılacak olan ratlar, Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

Bu çalışmada ağırlıkları yaklaşık 180-230 gr olan 48 adet Wistar cinsi albino ratlar kullanıldı. Denekler, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık siklusu sağlanacak şekilde tutularak, serbest diyet ve içme suyu ile beslenmeleri sağlandı. Oda ısısı 22 ± 2 °C' de sabit tutuldu. Odanın havası filtre edilerek, kontaminasyon riski önlendi. Ratlar tek tek yerleştirilip altlarında talaş olacak şekilde barındırıldı. Kafesler her gün temizlenerek kuru altlıklar konuldu.

3.4.2 Deney Hayvanlarının Gruplandırılması

Kemik defekti oluşturulan ratlarda, kemik grefti ve bFGF uygulanmasının kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerinin araştırıldığı deney 4 haftalık dönem için planlandı. 48 adet rat her grupta 16 adet olacak şekilde kemik grefti (KG) ve kemik grefti + Bfgf (FGF), kontrol (K) olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Bu gruplar da kendi aralarında 7. gün ve 28. gün olmak üzere 2 alt gruba ayrıldı. Bu gruplar çizelge 3.1 gösterilmektedir.

Çizelge 3.1 Deney Hayvanlarının Gruplandırılması

	K (n=16)	KG(n=16)	FGF(n=16)
7.Gün	K7 (n=8)	KG7 (n=8)	FGF7 (n=8)
28.gün	K28 (n=8)	KG28 (n=8)	FGF28 (n=8)

3.4.3 Cerrahi Teknik

Deneklerin tümüne intramuskuler (i.m.) yolla 90mg/kg Ketamin Hidroklorür (Ketalar-Eczacıbaşı) ve 3mg/kg Xylazine (Rompun-Bayer) enjeksiyonu yapılarak anestezi sağlandı. Anestezi sonrası hayvanların mandibula bölgesindeki tüyler traş edildi. Asepsi ve antisepsi kurallarına dikkat etmek kaydıyla bölge povidon-iyod (Batticon-adeka) ile temizlenip steril örtüler ile operasyon sahası açıkta kalacak şekilde örtüldü.

Ratların angulus mandibulasında, basis mandibulaya yakın bölgeye 1 cm'lik insizyon yapıp deri altı dokular geçilerek kemik yüzeyi açığa çıkarıldı (Şekil 3.4, 3.5). 5 mm çapındaki terefin frezle mandibular kemikte kritik boyutta kemik defekti oluşturuldu (Şekil 3.6). Kemik defekti oluşturulurken serum fizyolojik ile irrigasyon yapılarak ısının oluşup dokulara zarar vermesi engellendi. Defektler oluşturulduktan sonra, Grup KG'de defekte kemik grefti (Ostrix-B-şekil 3.2), serum fizyolojik ile, Grup FGF'de ise kemik grefti bFGF ile karıştırılarak yerleştirildi (Şekil 3.7). Kontrol grubunda ise sadece defekt oluşturuldu (Şekil 3.6). Son olarak mandibula derisi 4-0 katgüt (Doğsan, Türkiye) ile suture edildi.



Şekil 3.1 Fibroblast büyüme faktörü.



Şekil 3.2 Ostrix-B kemik grefti.



Şekil 3.3 Defekt oluşturulan bölgenin şematik olarak gösterilmesi.



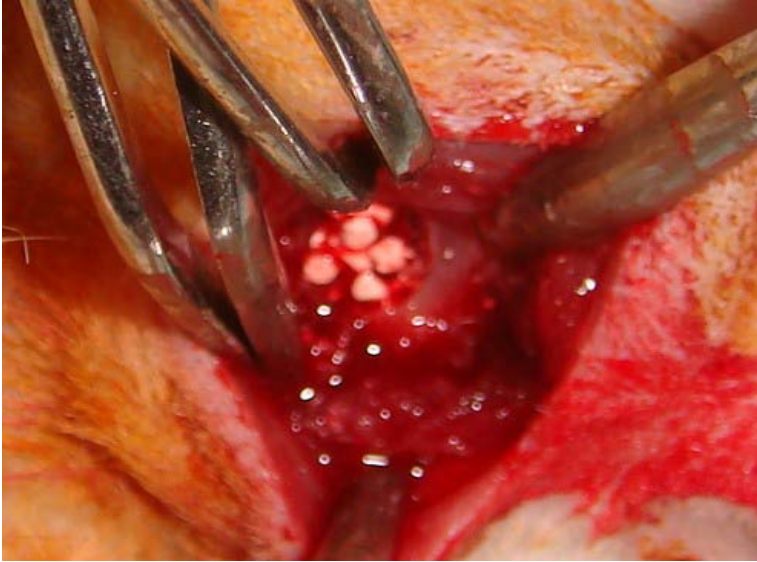
Şekil 3.4 Operasyon bölgesindeki deri ve deri altı insizyonu



Şekil 3.5 5mm çapındaki trefin frezle kemik osteotomisi



Şekil 3.6 5mm'lik defektin görüntüsü



Şekil 3.7 Defektin FGF ve greft karışımı ile doldurulması

3.4.4 Gruplara Göre Çalışma Teknikleri

7. gün kontrol(K)grubu: 8 adet ratın sağ angulus mandibulasında defekt oluşturulduktan 7 gün sonra ratlar sakrifiye edildi. Operasyon bölgesi, etrafında sağlam sınırlar kalacak şekilde rezeke edildi.

7. gün kemik grefti(KG)grubu: 8 adet ratın sağ angulus mandibulasında defekt oluşturulup kemik grefti yerleştirildikten 7 gün sonra ratlar sakrifiye edildi. Operasyon bölgesi, etrafında sağlam sınırlar kalacak şekilde rezeke edildi.

7. gün kemik grefti-fibroblast büyüme faktörü(FGF)grubu: 8 adet ratın sağ angulus mandibulasında defekt oluşturulup kemik grefti+ bFGF yerleştirildikten 7 gün

sonra ratlar sakrifiye edildi. Operasyon bölgesi, etrafında sağlam sınırlar kalacak şekilde rezeke edildi.

28. gün kontrol(K) grubu: 8 adet ratın sağ angulus mandibulasında defekt oluşturulduktan 28 gün sonra ratlar sakrifiye edildi. Operasyon bölgesi, etrafında sağlam sınırlar kalacak şekilde rezeke edildi.

28. gün kemik grefti(KG) grubu: 8 adet ratın sağ angulus mandibulasında defekt oluşturulup kemik grefti yerleştirildikten 28 gün sonra ratlar sakrifiye edildi. Operasyon bölgesi, etrafında sağlam sınırlar kalacak şekilde rezeke edildi.

28. gün kemik grefti-fibroblast büyüme faktörü(FGF) grubu: 8 adet ratın sağ angulus mandibulasında defekt oluşturulup kemik grefti+ bFGF yerleştirildikten 28 gün sonra ratlar sakrifiye edildi. Operasyon bölgesi, etrafında sağlam sınırlar kalacak şekilde rezeke edildi.

3.4.5 Ratların Bakımı

Ratlara operasyon sonrası analjezik olarak sübkütan yolla 4 mg/kg Carprofen(Rimadyl, Pfizer) ve antibakteriyel olarak Ceftriaxon 25 mg/kg (Rocephin, Roche) i.m. yolla 5 gün boyunca uygulandı.

3.4.6 Deneyin sonlandırılması

Protokolde verilen günler tamamlandıktan sonra ratlara ötanazi uygulandı. Tüm gruptaki ratlar 200mg/kg sodyum pentobarbital (Pentothal, Abbot, ABD) ile sakrifiye edildi. Ratların mandibulaları alınarak %10'luk formol içine konuldu ve Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı'na gönderildi. Geriye kalan hayvan atıkları plastik torba içinde toplandı ve Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi tıbbi atık bölümüne gönderildi.

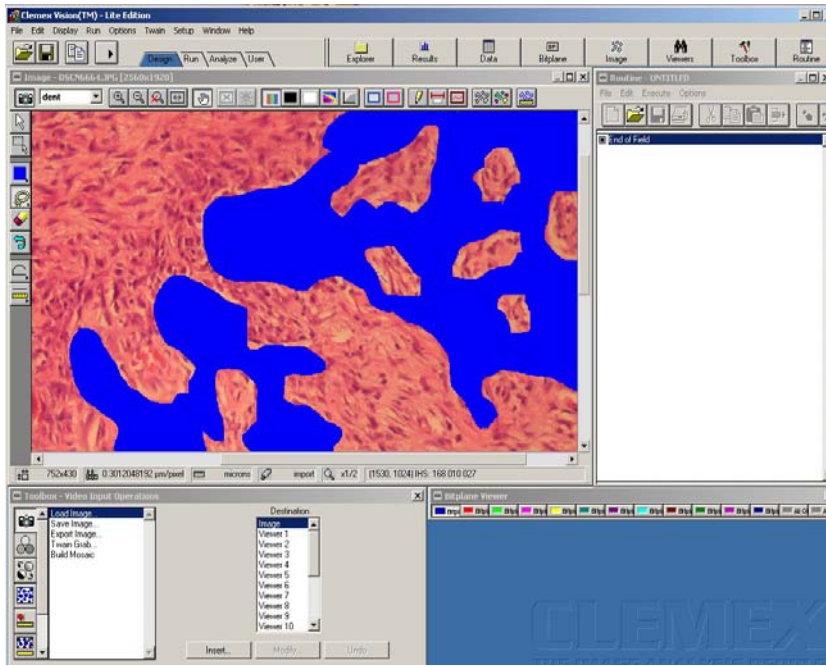
3.5 Histomorfometrik Değerlendirme

Doku örnekleri %10'luk formik asit kullanılarak dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyon sonrasında defekt bölgesine komşu kemik fragmanlarını içine alacak şekilde defekt bölgesinin uzun aksına paralel parçalara ayrılarak ototeknikon takibine alındı. Ototeknikon takibi sonrası parafine gömülen doku örneklerinden mikrotom yardımı ile 5µm lik kesitler lama alınarak Hematoksilen Eozin(H-E) ve van Gieson ile boyandı. Boyanan preparatlar Nikon Eclipse E400 ışık mikroskopu ile değerlendirildi.

H-E ve van Gieson ile boyalı preparatlarda mümkün olduğunca aynı bölgelerin seçimine dikkat edilerek ışık mikroskopuna bağlı Nikon Coolpix 5000 dijital fotoğraf makinesi ile her olgu aynı mikroskopik büyütme ile fotoğraflandırdı. Fotoğraflama esnasında kalibrasyon amacı ile Nikon Stage Micrometer görüntüsü de aynı mikroskopik büyütme alını. Tüm görüntüler PC ortamına aktarıldı ve Clemex PE 3,5 görüntü analizi programı ile değerlendirildi.(Şekil 3.8)

Görüntü analiz programı ile her olguda 0,45 mm²'lik alanlar belirlendi ve bu belirlenen alanlardaki osteoblastlar, osteoklastlar, damar yapıları Hematoksilen Eozin ile boyalı preparatların dijital fotoğraflarına işaretlenerek otomatik olarak saydırıldı. Ayrıca 0,45mm² alandaki kemik oluşum alanları H-E ile boyalı preparatların dijital fotoğraflarından aynı görüntü analizi programı yardımı ile hesaplandı.

Van Gieson ile boyalı preparatlarda görüntü analiz programı ile 0,45 mm²'lik alanlardaki fibroblastlar ve kollajen lifleri ok işaretlenerek otomatik olarak saydırıldı.



Şekil 3.8 Clemex PE 3.5 görüntü analiz programı ile yeni oluşan kemik bölgeleri mavi renkte gösterilmesi.

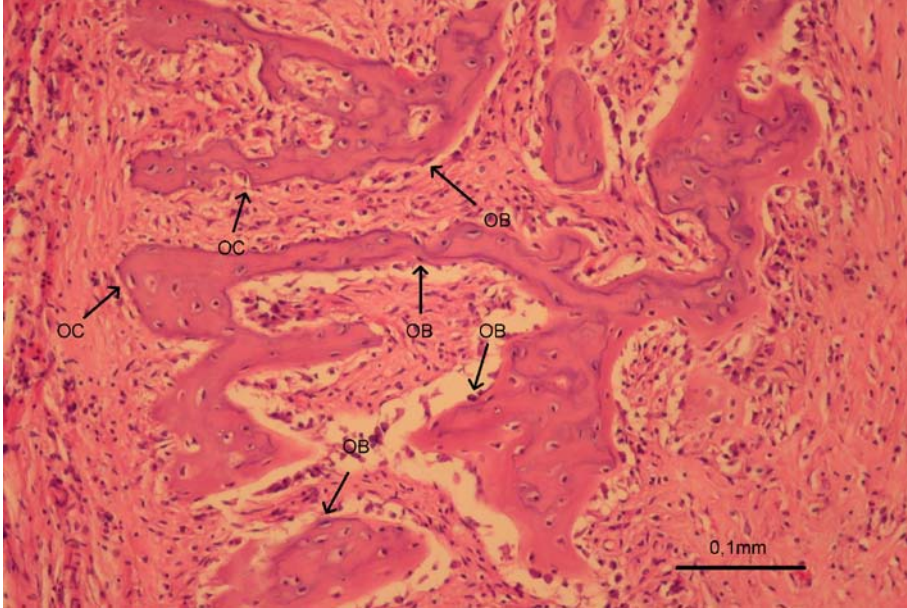
3.6 İstatistiksel Değerlendirmeler

Çalışmanın verileri SPSS(Ver;14.0 for Windows) programına yüklenerek verilerin değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis testi, Tukey testi, Wilcoxon testi kullanılmıştır. Veriler tablolarda aritmetik ortalama ± standart sapma şeklinde belirtilip yanılma düzeyi 0.05 olarak alınmıştır.

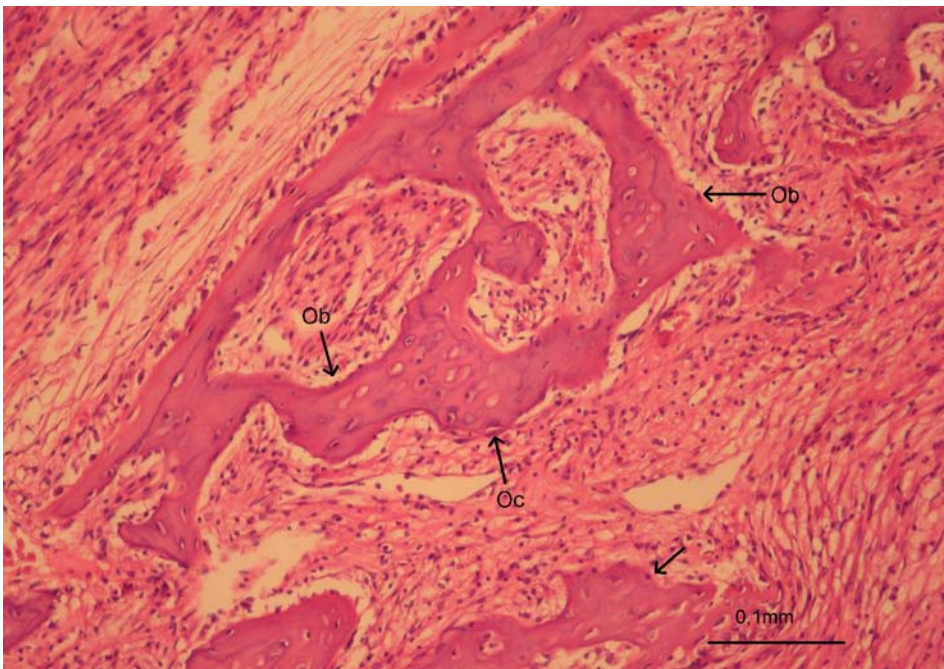
4. BULGULAR

4.1 Histopatolojik sonuçlar

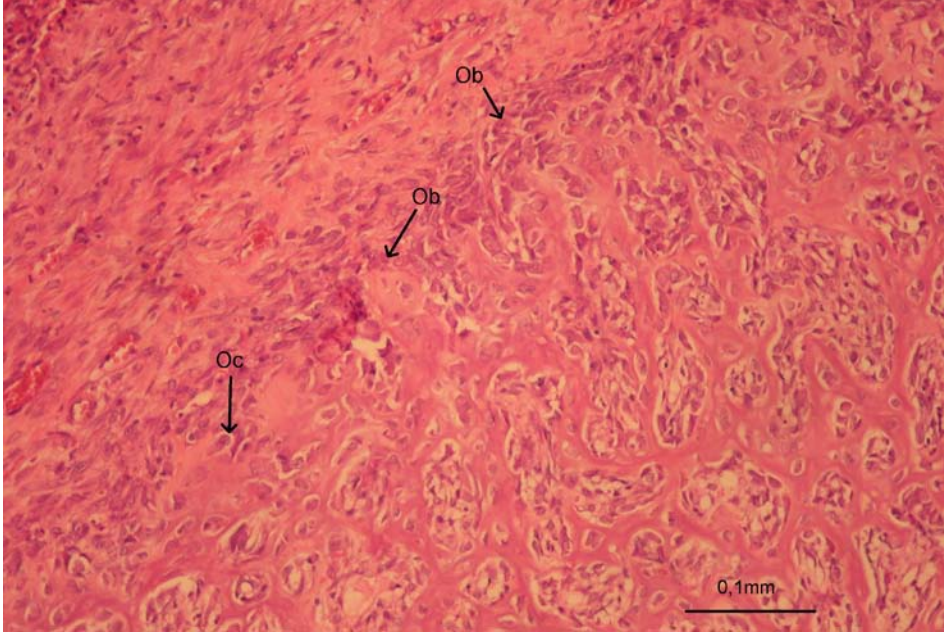
Olgularda görüntü analiz sistemi de kullanılarak birim alandaki osteoblast, osteoklast, damar, fibroblast ve kollajen lif sayısı ile aynı birim alandaki yeni kemik oluşumu alanı hesaplanmıştır (Şekil 4.1-8).



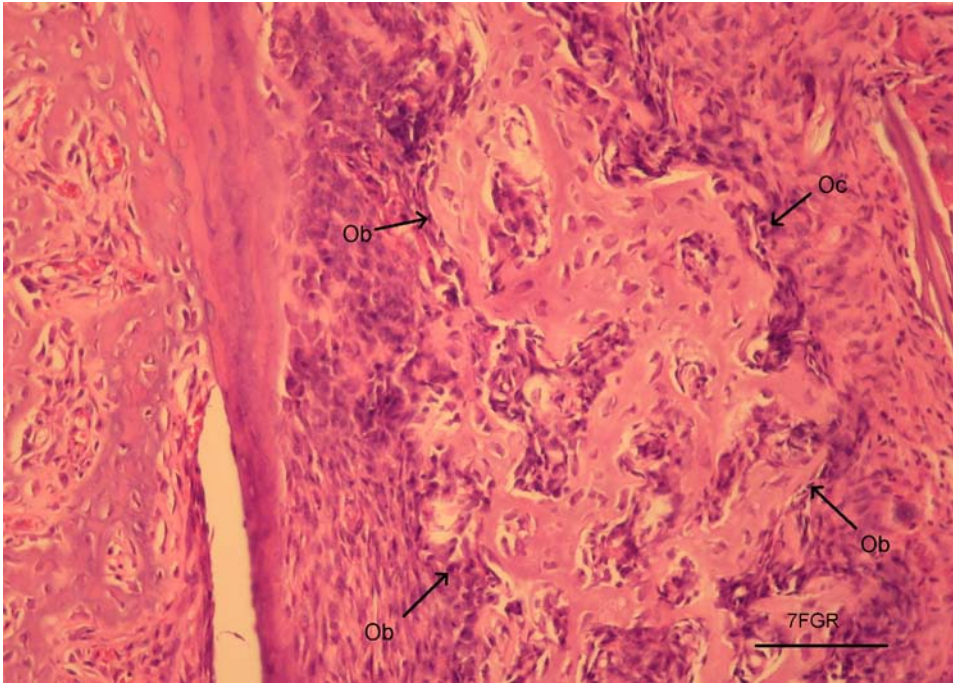
Şekil 4.1 Hematoksilen boyama ile hücrelerin gösterilmesi. Ob:Osteoblast Oc:Osteoklast



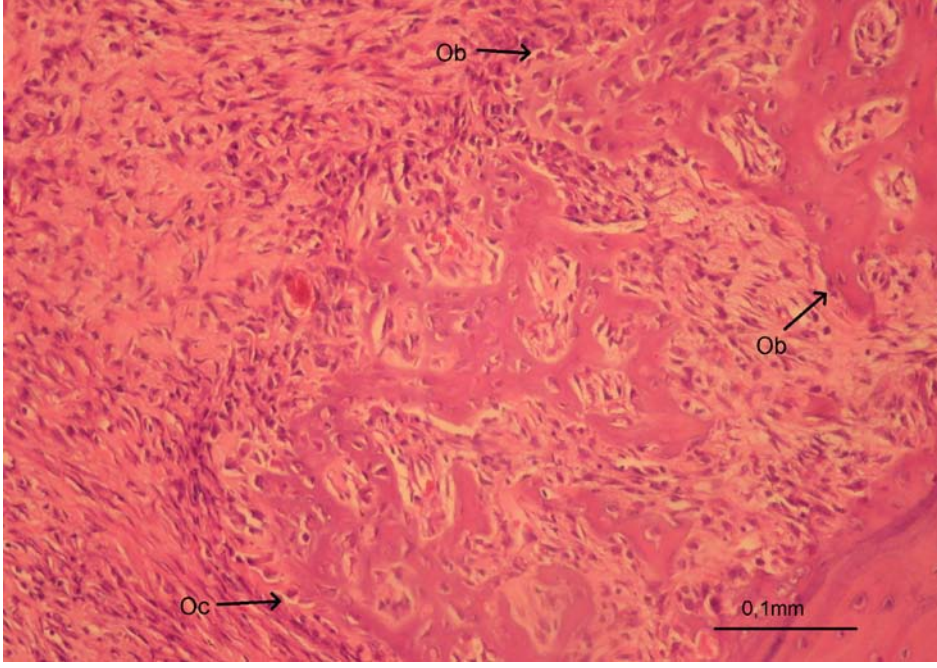
Şekil 4.2 Kontrol grubuna ait 7. gündeki histolojik görüntü. Ob:Osteoblast Oc:Osteoklast



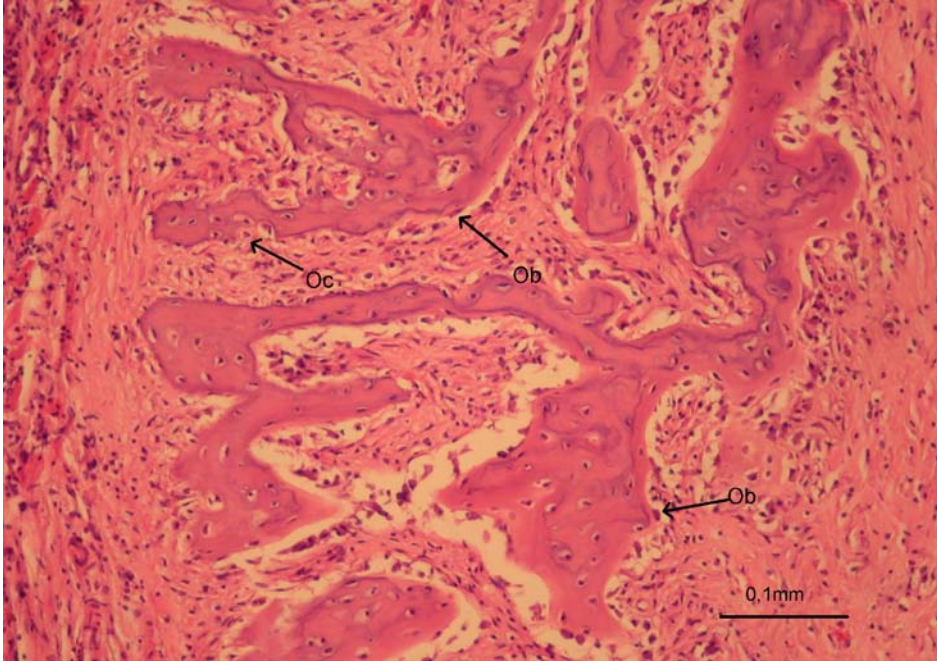
Şekil 4.3 Kemik grefti uygulanan gruba ait 7. gündeki histolojik görüntü. Ob:Osteoblast
Oc:Osteoklast



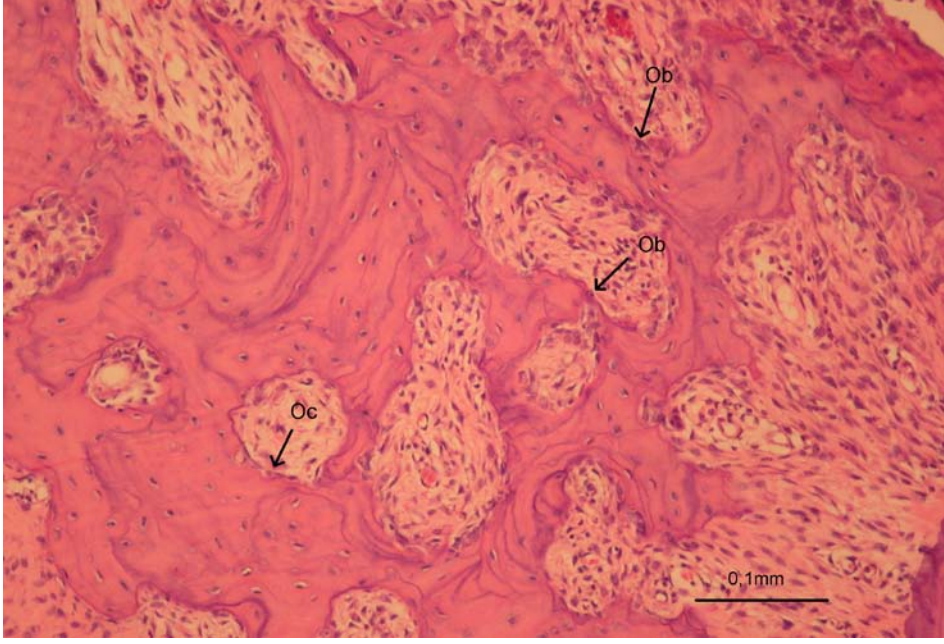
Şekil 4.4 FGF-2 ve Kemik greftinin beraber uygulandığı gruba ait 7. gündeki histolojik
görüntü. Ob:Osteoblast Oc:Osteoklast



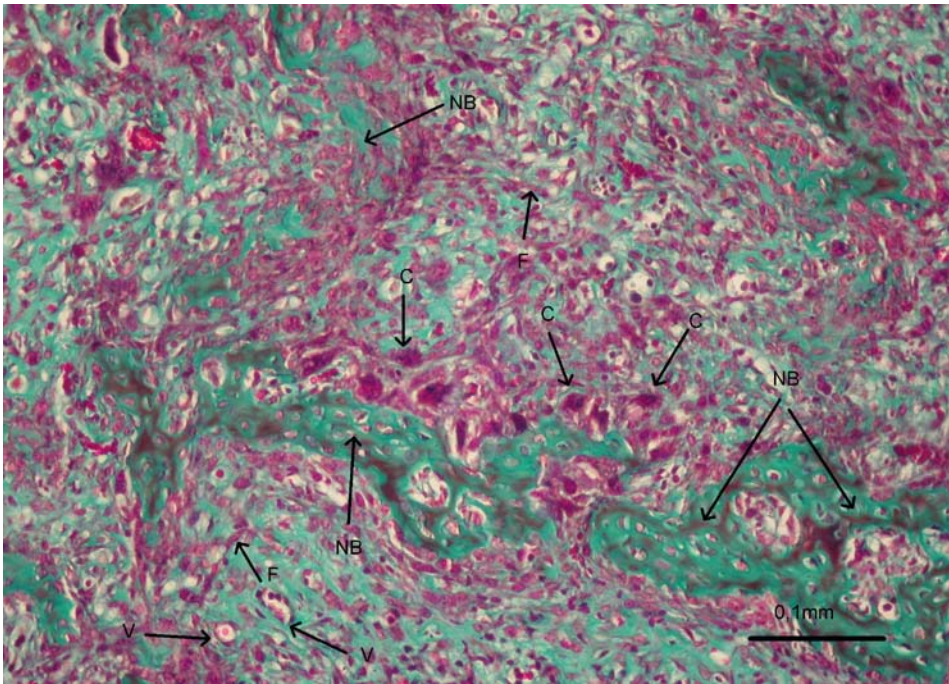
Şekil 4.5 Kontrol grubuna ait 28. gündeki histolojik görüntü. Ob:Osteoblast Oc:Osteoklast



Şekil 4.6 Kemik grefti uygulanan gruba ait 28. gündeki histolojik görüntü. Ob:Osteoblast
Oc:Osteoklast



Şekil 4.7 FGF-2 ve Kemik greftinin beraber uygulandığı gruba ait 28. gündeki histolojik görüntü. Ob:osteoblast Oc:Osteoklast



Şekil 4.8 Von Gierson boyama ile hücrelerin gösterilmesi.V:Damar, F:Fibroblast, C: Kollajen, NB: Yeni oluşan kemik

4.1.1 Osteoblastların Değerlendirilmesi

Gruplara ait 7. gündeki osteoblast sayıları, görüntü analiz programı kullanılarak saydırıldı. Elde edilen sayılar karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Osteoblast sayıları ikişerli karşılaştırıldığında K-KG, K-FGF,

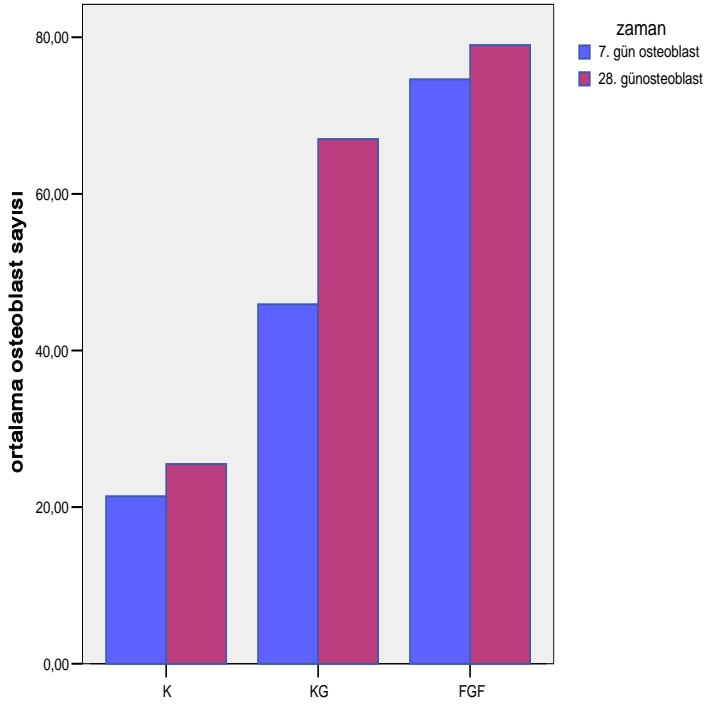
KG-FGF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.005$). KG grubu K grubu ile karşılaştırıldığında K grubuna göre, KG grubunda osteoblast sayısındaki artışın daha fazla olduğu görülmüştür. FGF grubu K grubu ile karşılaştırıldığında K grubuna göre, FGF grubunda osteoblast sayısının arttığı görülmüştür. FGF grubu KG grubu ile karşılaştırıldığında KG grubuna göre, FGF grubunda osteoblast sayısının arttığı görülmüştür (çizelge 4.1) (şekil 4.9).

Gruplara ait 28. günde elde edilen osteoblast sayıları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.005$). Gruplara ait değerler ikişerli karşılaştırıldığında K-KG, K-FGF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken ($p < 0.005$), KG-FGF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0.005$). KG grubu K grubu ile karşılaştırıldığında K grubuna göre, KG grubunda osteoblast sayısının arttığı görülmüştür. FGF grubu K grubu ile karşılaştırıldığında K grubuna göre, FGF grubunda osteoblast sayısının arttığı görülmüştür (çizelge 4.2) (şekil 4.9)

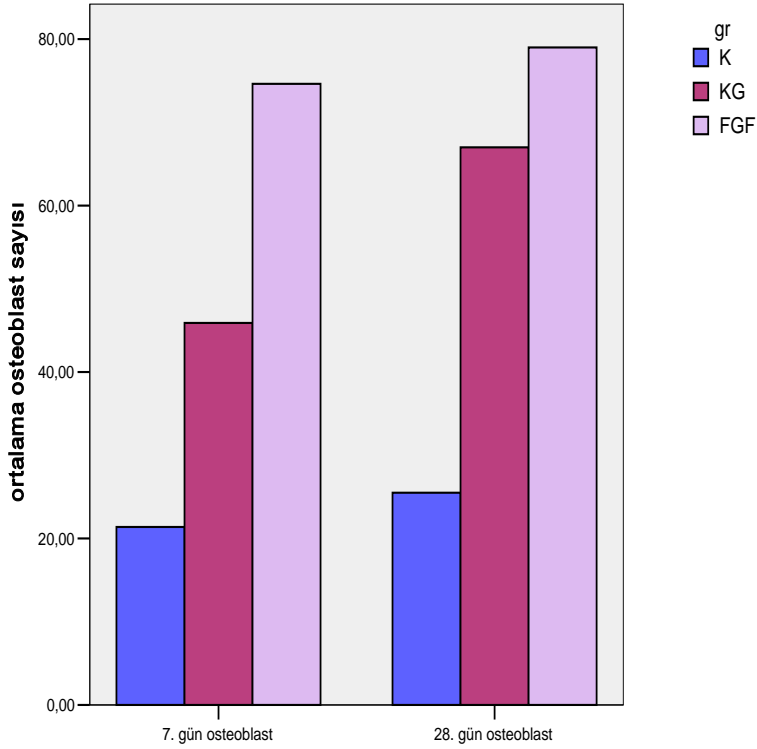
K grubunda 7. ve 28. günlere ait ölçümler karşılaştırıldığında osteoblast sayısı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0.05$) (çizelge 4.3) (şekil 4.10).

KG grubunda 7. ve 28. günlere ait ölçümler karşılaştırıldığında osteoblast sayısı yönünden yapılan ölçümlerde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.05$). KG grubunda osteoblast sayısı 28. günde, 7. güne göre daha fazla olduğu görülmüştür (çizelge 4.4) (şekil 4.10).

FGF grubunda 7. ve 28. günlere ait ölçümler karşılıklı olarak karşılaştırıldığında osteoblast sayısı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0.05$) (çizelge 4.5) (şekil 4.10).



Şekil 4.9 Gruplara ait 7. ve 28. günlerdeki osteoblast değerlerinin dağılımı.



Şekil 4.10 Gruplar arası 7. ve 28. gün osteoblast değerlerinin dağılımı.

4.1.2 Osteoklastların Değerlendirilmesi

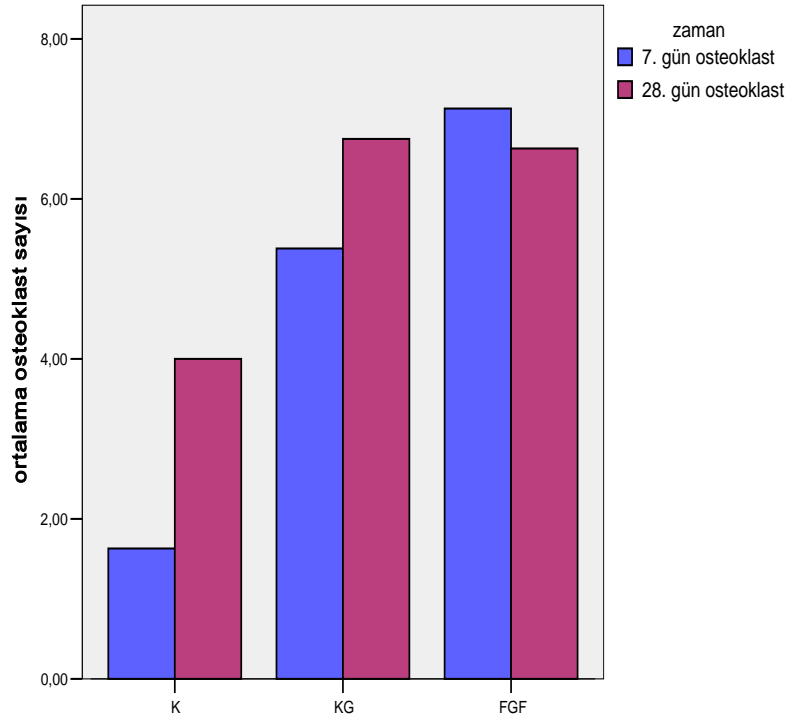
Gruplardaki 7. gün osteoklast sayıları, görüntü analiz programı kullanılarak ölçülmüştür. Elde edilen sayılar karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.005$). Osteoklast ölçümleri ikişerli karşılaştırıldığında K-KG, K-FGF arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p < 0.005$), KG-FGF arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz olunmuştur ($p > 0.005$). KG grubu K grubu ile karşılaştırıldığında K grubuna göre, KG grubunda osteoklast sayısındaki artışın daha fazla olduğu görülmüştür. FGF grubu K grubu ile karşılaştırıldığında K grubuna göre, FGF grubunda osteoklast sayısının arttığı görülmüştür (çizelge 4.1) (şekil 4.11).

Gruplara ait 28. günde elde edilen osteoklast sayıları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.005$). Gruplara ait osteoklast sayıları ikişerli karşılaştırıldığında K-KG arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p < 0.005$), KG-FGF ve K-FGF grupları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p > 0.005$). KG grubu K grubu ile karşılaştırıldığında K grubuna göre, KG grubunda osteoklast sayısının arttığı görülmüştür (çizelge 4.2) (şekil 4.11).

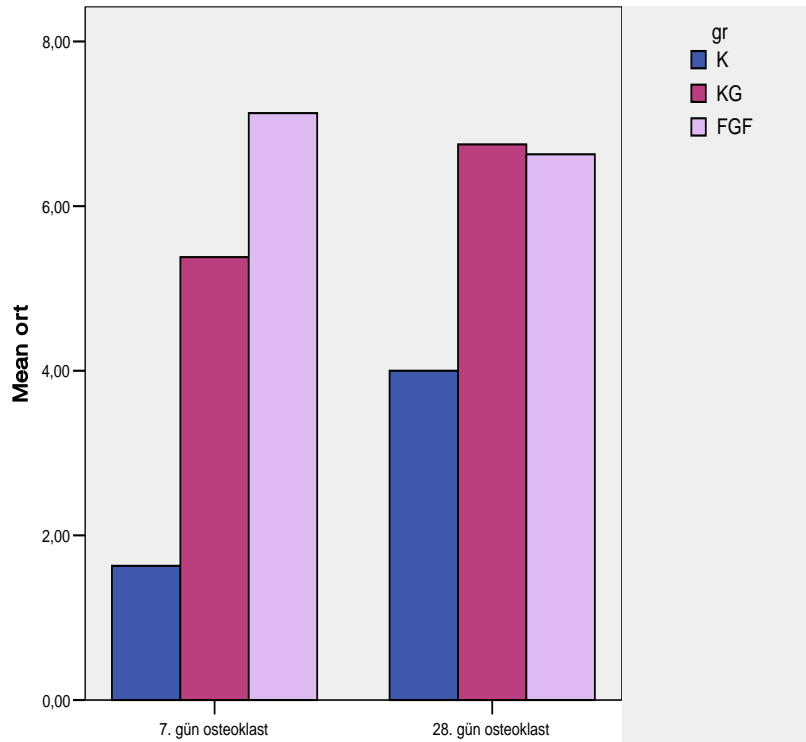
K grubunda 7. ve 28. günler ait ölçümler karşılaştırıldığında osteoklast sayısı yönünden istatistiksel olarak farklılık önemli bulunmuştur ($p < 0.005$). Osteoklast sayısındaki artışın 28. günde 7. güne göre daha fazla olduğu görülmüştür (çizelge 4.3) (şekil 4.12).

KG grubunda 7. ve 28. günlere ait ölçümler karşılaştırıldığında osteoklast sayısı yönünden istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0.005$) (çizelge 4.4) (şekil 4.12).

FGF grubunda 7. ve 28. günlere ait ölçümler karşılaştırıldığında osteoklast sayısı yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0.005$) (çizelge 4.5) (şekil 4.12).



Şekil 4.11 Gruplara ait 7. ve 28. günlerdeki osteoklast değerlerinin dağılımı.



Şekil 4.12 Gruplar arası 7. ve 28. gün osteoklast değerlerinin dağılımı.

4.1.3 Yeni Kemik Alanı Oluşumunun Değerlendirilmesi

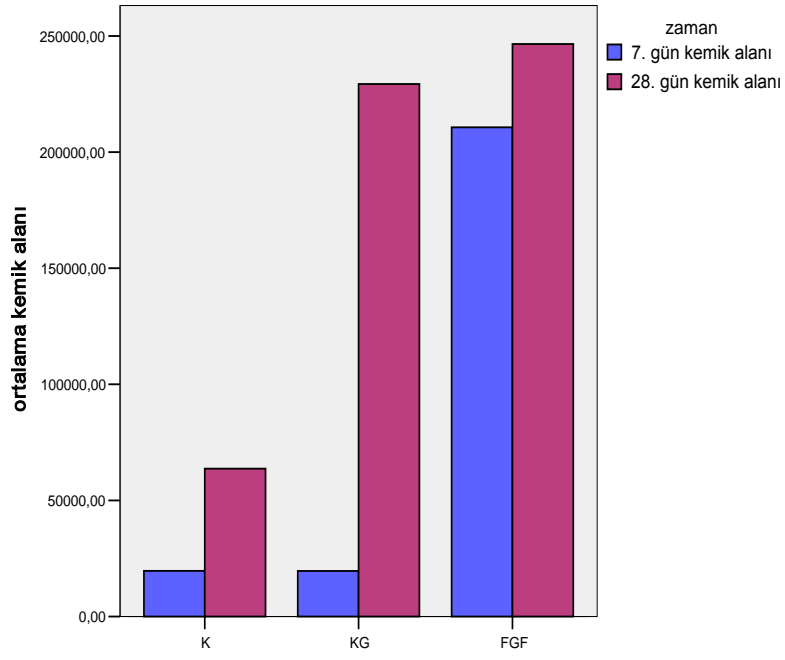
Gruplara ait 7. gündeki kemik alanı sayıları, görüntü analiz programı kullanılarak ölçülmüştür. Elde edilen değerler karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.005$). Bu ölçümler ikişerli karşılaştırıldığında, KG-FGF ve K-FGF arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken ($p < 0.005$), K-KG arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0.005$) (çizelge 4.1). FGF grubu K ve KG grubu ile karşılaştırıldığında, FGF grubunda kemik alanı değerinin diğer gruplara göre daha fazla arttığı görülmüştür (Şekil 4.13).

Gruplara ait 28. günde elde edilen değerler karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.005$). Bu ölçümler ikişerli yapıldığında K-KG ve K-FGF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken ($p < 0.005$), KG-FGF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0.005$) (çizelge 4.2). KG grubu K grubu ile karşılaştırıldığında K grubuna göre, KG grubunda kemik alanı daha fazla bulunmuştur. FGF grubu ile K grubu karşılaştırıldığında K grubuna göre, FGF grubunda daha fazla kemik alanı bulunmuştur (şekil 4.13).

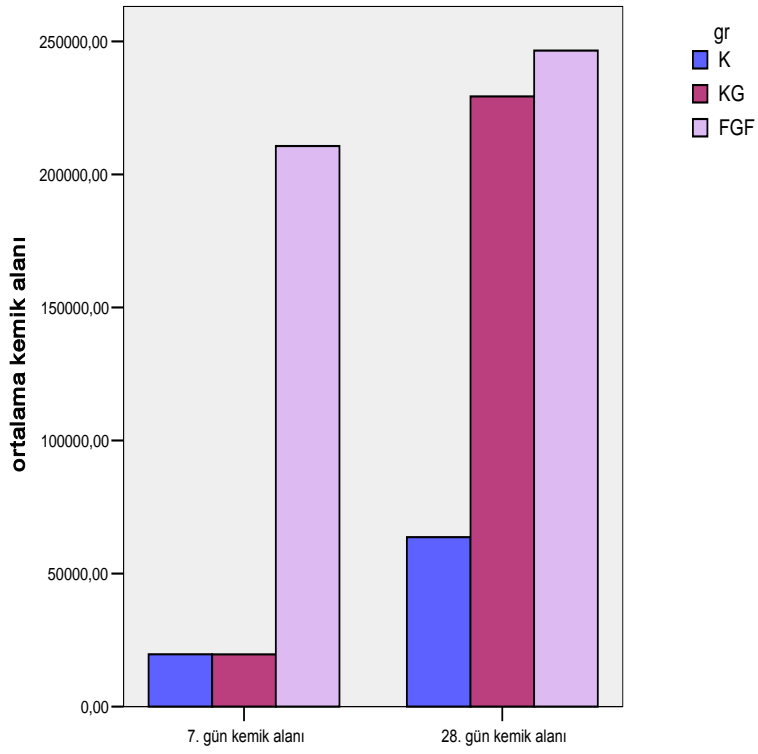
K grubunda 7. ve 28. günlere ait ölçümler karşılaştırıldığında kemik alanı değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.005$) (çizelge 4.3). Kemik alanı 28. günde 7.güne göre daha fazla oluştuğu görülmüştür (şekil 4.14).

KG grubunda 7. ve 28. günlere ait ölçümler karşılaştırıldığında kemik alanı değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. ($p < 0.005$) (şekil 4.14). Kemik alanı 28. günde 7.güne göre daha fazla oluştuğu görülmüştür.

FGF grubunda 7. ve 28. günlere ait ölçümler karşılaştırıldığında kemik alanı değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0.005$) (şekil 4.14).



Şekil 4.13 Gruplara ait 7. ve 28. gün kemik alanı değerlerinin dağılımı.



Şekil 4.14 Gruplar arası 7. ve 28. gün kemik alanı değerlerinin dağılımı.

4.1.4 Yeni Oluşan Damar Sayısının Değerlendirilmesi

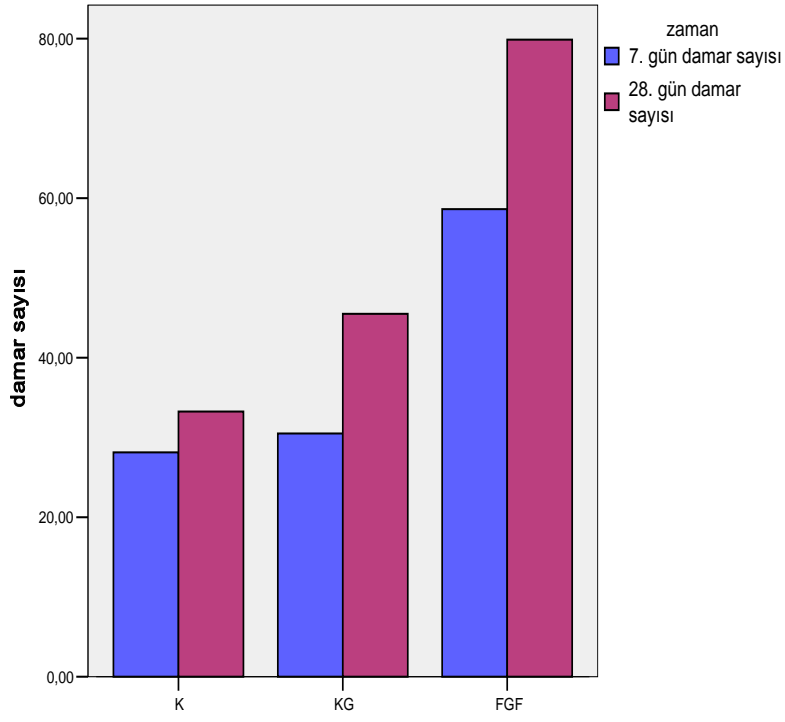
Gruplara ait 7. gündeki damar sayıları, görüntü analiz programı kullanılarak hesaplanmıştır. Elde edilen damar sayıları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.005$). Damar sayıları ikişerli karşılaştırıldığında K-KG grupları arasında istatistiksel olarak fark anlamlı bulunmazken ($p > 0.005$), K-FGF ve KG-FGF grupları arasında istatistiksel olarak fark anlamlı bulunmuştur ($p < 0.005$) (çizelge 4.1). FGF grubu K ve KG grupları ile karşılaştırıldığında, K ve KG grubuna göre FGF grubunda damar sayısı artmıştır (şekil 4.15).

Gruplara ait 28. günde elde edilen damar sayıları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.005$). Damar sayıları ikişerli karşılaştırıldığında K-KG grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken ($p > 0.005$), K-FGF ve KG-FGF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.005$) (çizelge 4.2). FGF grubu K ve KG grubu ile karşılaştırıldığında, K ve KG grubuna göre FGF grubunda damar sayısı artmıştır (şekil 4.15).

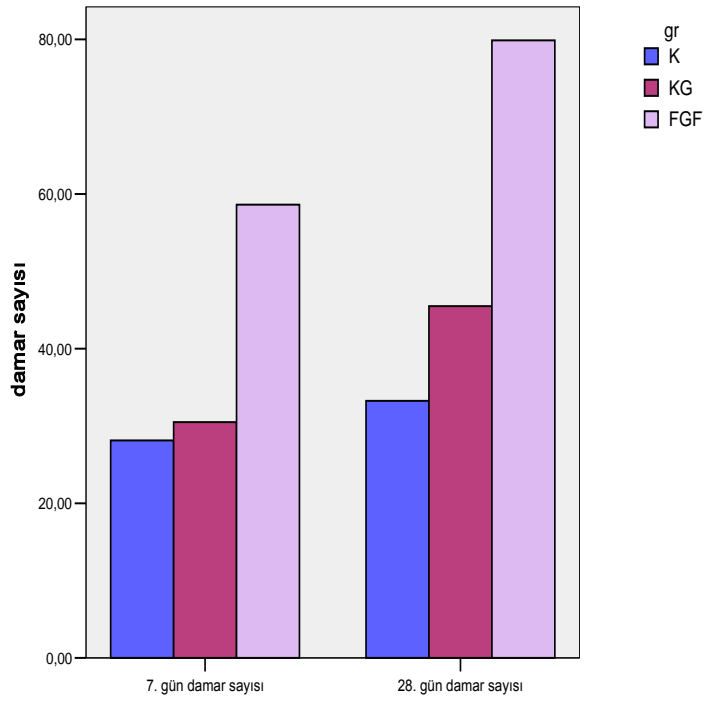
K grubunda 7. ve 28. günlere ait ölçümler karşılaştırıldığında damar sayısı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0.005$) (çizelge 4.3) (şekil 4.16).

KG grubunda 7. ve 28. günlere ait ölçümler karşılaştırıldığında damar sayısı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.005$) (çizelge 4.4). 28.gündeki damar sayısının 7. göre daha fazla olduğu görülmüştür (şekil 4.16).

FGF grubunda 7. ve 28. günlere ait ölçümler karşılaştırıldığında damar sayısı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.005$) (çizelge 4.5). 28.gündeki damar sayısının 7. güne göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir (şekil 4.16).



Şekil 4.15 Gruplara ait 7. ve 28. günlerdeki damar sayısı değerlerinin dağılımı



Şekil 4.16 Gruplar arası 7. ve 28. günlere ait damar sayısı değerlerinin dağılımı

4.1.5 Fibroblastların Değerlendirilmesi

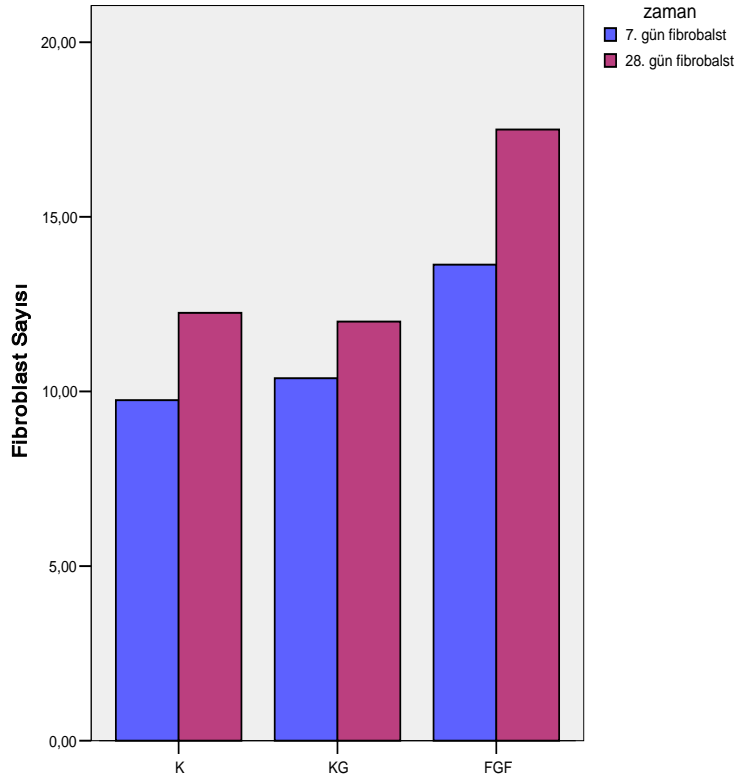
Gruplara ait 7. gündeki fibroblast sayıları, görüntü analiz programı kullanılarak ölçülmüştür. Elde edilen veriler karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.005$) (çizelge 4.1) (şekil 4.17).

Gruplara ait 28. günde elde edilen fibroblast sayıları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.005$). Fibroblast sayıları ikişerli karşılaştırıldığında K-KG grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken ($p>0.005$), K-FGF ve KG-FGF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.005$) (çizelge 4.2). FGF grubu K ve KG grubu ile karşılaştırıldığında K ve KG gruplarına göre, FGF grubunda fibroblast sayısında artış bulunmuştur (şekil 4.17).

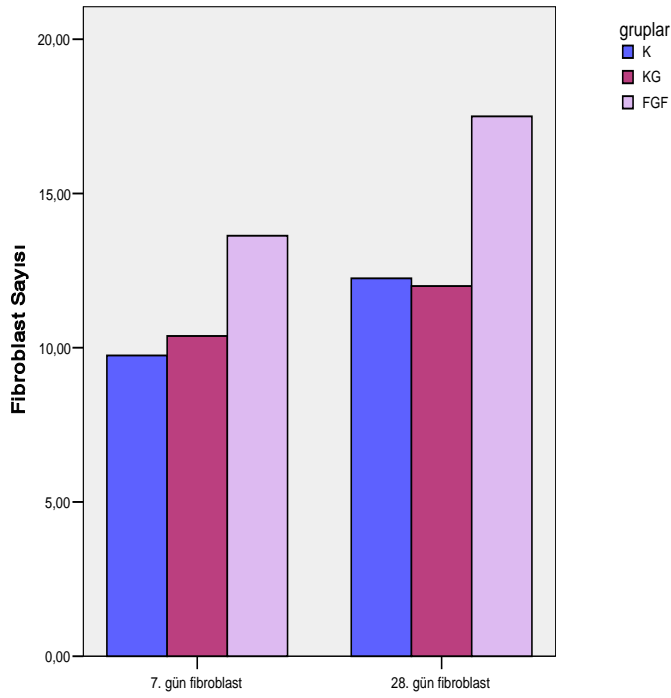
K grubunda 7. ve 28. günlere ait ölçümler karşılaştırıldığında fibroblast sayısı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.005$) (çizelge 4.3) (şekil 4.18).

KG grubunda 7. ve 28. günlere ait ölçümler karşılaştırıldığında fibroblast sayısı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.005$) (çizelge 4.4) (şekil 4.18).

FGF grubunda 7. ve 28. günlere ait ölçümler karşılaştırıldığında fibroblast sayısı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.005$) (çizelge 4.5) (şekil 4.18).



Şekil 4.17 Gruplara ait 7.gün ve 28. gündeki fibroblast değerlerinin dağılımı.



Şekil 4.18 Gruplar arası 7. ve 28. gün fibroblast değerlerinin dağılımı

4.1.6 Kollajen Liflerinin Değerlendirilmesi

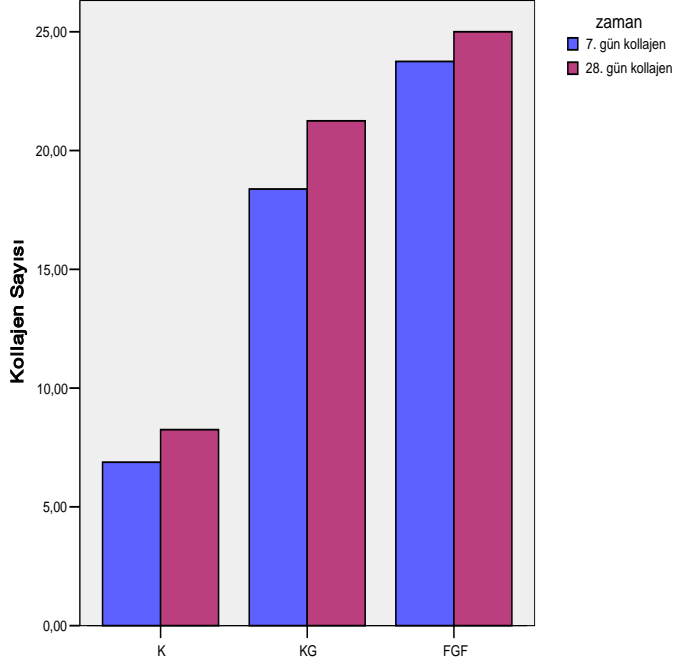
Gruplara ait 7. gündeki kollajen lif sayıları, görüntü analiz programı kullanılarak ölçülmüştür. Elde edilen kollajen lif sayıları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.005$). Kollajen lif sayıları ikişerli karşılaştırıldığında K-KG ve K-FGF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken ($p<0.005$), KG-FGF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.005$) (çizelge 4.1). K grubu KG grubu ile karşılaştırıldığında K grubuna göre KG grubunda kollajen lif sayısında artış bulunmuştur. FGF grubu K grubu ile karşılaştırıldığında K grubuna göre FGF grubunda kollajen lif sayısında artış bulunmuştur (şekil 4.19).

Gruplara ait 28. günde elde edilen kollajen lif sayıları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.005$). Kollajen lif sayıları ikişerli karşılaştırıldığında K-KG ve K-FGF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken ($p<0.005$), KG-FGF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.005$) (çizelge 4.2). KG grubu K grubu ile karşılaştırıldığında K grubuna göre KG grubunda kollajen lif sayısında artış bulunmuştur. FGF grubu K grubu ile karşılaştırıldığında K grubuna göre, FGF grubunda kollajen lif sayısında artış bulunmuştur (şekil 4.19).

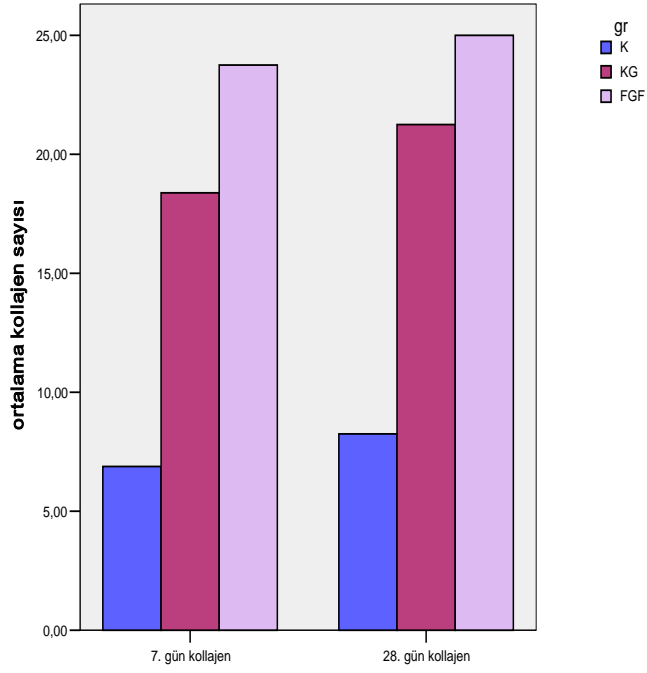
K grubunda 7. ve 28. günlere ait ölçümler karşılaştırıldığında kollajen lif sayısı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.005$) (çizelge 4.3) (şekil 4.20).

KG grubunda 7. ve 28. günlere ait ölçümler karşılaştırıldığında kollajen lif sayısı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.005$) (çizelge 4.4) (şekil 4.20).

FGF grubunda 7. ve 28. günlere ait ölçümler karşılaştırıldığında kollajen lif sayısı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.005$) (çizelge 4.5) (şekil 4.20).



Şekil 4.19 Gruplara ait 7. ve 28. gün kollajen lif sayılarının dağılımı



Şekil 4.20 Gruplar arası 7. ve 28. gün kollajen lif sayılarının dağılımı

Çizelge 4.1 Her üç grupta 7. güne ait ölçümlerin karşılaştırılması

Gruplar	Osteoblast sayısı 7.gün $\bar{X} \pm Ss$	Osteoklast sayısı 7.gün $\bar{X} \pm Ss$	Yeni oluşan kemik alanı 7.gün $\bar{X} \pm Ss$	Yeni oluşan damar sayısı 7.gün $\bar{X} \pm Ss$	Fibroblast Sayısı 7.gün $\bar{X} \pm Ss$	Kollajen lif sayısı 7.gün $\bar{X} \pm Ss$
K	21.38±14.56	1.63±1.40	19639.91±20438.11	28.13±7.08	9,75±4,89	6,88±1.25
KG	45.50±9.94	5.38±2.26	19626.30±78095.64	30.50±7.48	10,38±3,82	18,38±6,14
FGF	74.63±10.09	7.13±1.45	210680.3±78716.53	58.63±5.23	13,63±3,92	23,75±4.98
	KW:8.06 P:0.005*	KW:8.14 P:0.831	KW:11.31 P:0.001*	KW:0.33 P:0.562	KW:2,68 P:0,261	KW:16,82 P:0*

\bar{X} : Ortalama değer, Ss: Standart sapma, KW: Kruskal–Wallis ve Wilcoxon testi
p=0,005 (p<0,05)

Çizelge 4.2 Her üç grupta 28.güne ait değerlerinin karşılaştırılması

Gruplar	Osteoblast sayısı 28.gün $\bar{X} \pm Ss$	Osteoklast sayısı 28.gün $\bar{X} \pm Ss$	Yeni oluşan kemik alanı 28.gün $\bar{X} \pm Ss$	Yeni oluşan damar sayısı 28.gün $\bar{X} \pm Ss$	Fibroblast Sayısı 28.gün $\bar{X} \pm Ss$	Kollajen lif Sayısı 28.gün $\bar{X} \pm Ss$
K	25.50±13.13	4.00±1.51	63685.34±33323.87	33.25±4.92	12,25±3,11	8,25±1,67
KG	67.00±10.46	6.75±2.25	229337.7±85907.29	43.50±6.39	12,00±2,83	21,25±4,13
FGF	79.00±17.77	6.63±5.15	246562.60±47285.32	79.88±17.43	17,50±4,78	25,00±6,00
	KW:11.31 P:0.001*	KW:5.42 P:0.02*	KW:11.32 P:0.001*	KW:7.50 P:0.006*	KW:7,38 P:0.025*	KW:16,06 P:0*

\bar{X} : Ortalama değer, Ss: Standart sapma, KW: Kruskal–Wallis ve Wilcoxon testi
p=0,005 (p<0,05)

Çizelge 4.3 Kontrol grubundaki ölçümlerin karşılaştırılması

	7.gün $\bar{X} \pm Ss$	28.gün $\bar{X} \pm Ss$	Sonuç
Osteoblast	21.38±14.56	25.50 ± 13.13	P:0.440
Osteoklast	1.63±1.40	4.00 ± 1.51	P:0.011*
Yeni oluşan kemik alanı	19639.91± 20438.11	63685.34 ± 33323.87	P:0.012*
Yeni oluşan damar	28.13 ± 7.08	33.25 ± 14.9	P:0.183
Fibroblast	9,75 ± 4,89	12,25 ± 3,11	P:0.183
Kollajen lif	6,88 ± 1,25	8,25 ± 1,67	P:0,105

\bar{X} : Ortalama değer, Ss: Standart sapma, KW: Kruskal–Wallis ve Wilcoxon testi

p=0,005 (p<0,05)

Çizelge 4.4 Greft grubundaki ölçümlerin karşılaştırılması

	7.gün $\bar{X} \pm Ss$	28.gün $\bar{X} \pm Ss$	Sonuç
Osteoblast	45.50 ± 9.94	67.00 ± 10.46	P:0.012*
Osteoklast	5.38 ± 2.26	6.75 ± 2.25	P:0.143
Yeni oluşan kemik alanı	19626.30 ± 78095.64	229337.7 ± 85907.29	P:0.032*
Yeni oluşan damar	30.50 ± 7.48	45.50 ± 6.39	P:0.025*
Fibroblast	10,38 ± 3,82	12,00 ± 2,83	P:0,40
Kollajen lif	18,38 ± 6,14	21,25 ± 4,13	P:0,401

\bar{X} : Ortalama değer, Ss: Standart sapma, KW: Kruskal–Wallis ve Wilcoxon testi

p=0,005 (p<0,05)

Çizelge 4.5:Greft+FGF grubundaki ölçümlerin karşılaştırılması

	7.gün $\bar{X} \pm Ss$	28.gün $\bar{X} \pm Ss$	Sonuç
Osteoblast	74.63 ± 10.09	79.00 ± 17.77	P:0.400
Osteoklast	7.13 ± 1.45	6.63 ± 5.15	P:0.231
Yeni oluşan kemik alanı	210680.3 ± 78716.53	246562.60 ± 47285.32	P:0.263
Yeni oluşan damar	58.63 ± 5.23	79.88 ± 17.43	P:0.025
Fibroblast	13,63 ± 3,92	17,50 ± 4,78	P:0,080
Kollajen lif	23,75 ± 4,98	25 ± 6	P:0,344

\bar{X} : Ortalama değer, Ss: Standart sapma, KW: Kruskal–Wallis ve Wilcoxon testi

p=0,005 (p<0,05)

5.TARTIŞMA

Kemik dokusu, özel bir yapı gösteren, mineralize olmuş yoğun bağ dokusudur. Vücudun en sert dokularından biri olup diğer yapıları destekler ve pek çok hayati organı korur. Kemik dokusunun %30'u kollajen ve esas maddeden meydana gelen organik kısımdan, %70'i ise kalsiyum ve fosfat tuzlarından meydana gelen inorganik kısımdan oluşur. Kemik dokusunda kortikal ve spongiöz olmak üzere iki tabaka mevcuttur. Kortikal kemik çok serttir ve dış kuvvetlere dayanıklıdır. Spongiöz kemik ise daha yumuşaktır, strese kortikal kemiğe göre daha az dayanıklıdır ve içinde kemik iliği bulundurur (Janquerira, 2005; Tekelioğlu, 1993).

Kemik hücreleri; osteoblast, osteoklast, osteosit ve osteoprojenitör hücrelerden oluşmaktadır. Osteoblastlar, kemik iliğinin mezenkimal kök hücrelerinden köken alır ve ekstrasellüler organik matriks sentezi yaparlar (Strewler, 2001). Osteoklastlar kalsifiye kemik matriksinin rezorbsiyonundan sorumlu olan hematopoetik hücrelerdir (Janquerira, 2005). Osteoblastlar ve osteoklastlar sürekli etkileşim halindedir. Kemikte osteoklastların yıkıma uğrattığı bölgelere, sinyaller aracılığıyla osteoblastlar gelir ve yeniden kemik oluştururlar (Manolagas, 2000). Osteoblast ve osteoklastların birbirleriyle olan bu etkileşimleri pek çok çalışmaya konu olmuştur. Sakano ve ark. (2002), ratlarda yaptıkları çalışmada osteoblast ve osteoklast hücrelerini değerlendirmişlerdir. Kamo ve ark. (2009), tavşanlarda oluşturdukları defekte uyguladıkları FGF-2'nin kemik iyileşmesi üzerine etkilerine karar vermek için osteoblast hücrelerini değerlendirmişlerdir. Çalışmamızda da rat mandibulasında oluşturulan kemik defeklerinden 7. ve 28. günlerde alınan örneklerde osteoblast ve osteoklastlar incelendi ve bu hücrelerin yoğunluğu değerlendirildi. Sonuç olarak FGF'nin osteoblast sayısını artırdığı tespit edildi.

Kemik hücrelerinin, aktivitelerini ve kemik matriksini in situ olarak yoğun laboratuvar işlemlerine gerek kalmadan değerlendirilebilen tek yöntem histomorfometri olduğu için, kemik dokusu üzerinde yapılan çalışmalarda altın standart olarak kabul edilir (Iwaniec ve ark., 2008; Humadi ve ark., 2010). Bu çalışmada da, hücresel bazda oluşan değişiklikleri incelemek amacıyla örnekler histomorfometrik olarak değerlendirildi.

Seçilecek olan deney hayvanının yapılacak olan çalışmaya uygun olması gerekmektedir. Deney hayvanlarından domuz, köpek ve ratların immünitesi ile insan immünitesi çok benzerlik göstermektedir. Etik olarak ülkemizde köpekler üzerinde son

3 yıldır çalışma yapılmamaktadır. Domuzların hem bakımı hem de opere edilmesi zordur. Bu nedenle ülkemizde domuzlarda da çalışma yapılmamaktadır. Çalışmamızda da kolay bulunmasının yanı sıra üretiminin ve bakımının kolay yapılabilmesi, maliyetlerinin düşük olmasından dolayı ratlar üzerinde yapılmasına karar verildi.

Hayvan modellerinde, yeni kemik oluşumu ve anjiogenezin gözlemlenmesi için 4 haftalık bir sürenin yeterli bir zaman dilimi olduğu görüşü hakimdir (Schmid ve ark., 1997; Boo ve ark., 2002; Herron ve ark., 2003). Neidhart ve ark. (2001), ratların femurlarında oluşturdukları defekten 1. ve 3. haftada aldıkları doku örneklerinde kemik iyileşmesini incelemiştir. Frota ve ark. (2010), ratların parietal kemiğinde oluşturdukları defekte β -TCP'nin etkilerini inceledikleri çalışmada 7., 15. ve 30. günlerde aldıkları doku örneklerini incelemiştir. Takechi ve ark. (2008), ratların tibialarına yerleştirdikleri implantların osteointegrasyonu üzerine melatonin ve FGF-2'nin etkilerini inceledikleri çalışmalarında 4. haftada aldıkları doku örneklerini incelemiştir. Bu çalışmada da kemik iyileşmesini değerlendirmek için ratların mandibulalarından 1. ve 4. haftada alınan doku örnekleri incelendi.

Çene kemiğinde oluşan yaralanma sonrası kemik dokunun onarımı 4 aşamada meydana gelir. Bu aşamalar, kan pıhtısının oluşumu, yaranın temizlenmesi, kemik oluşumu ve kemik dokunun yeniden şekillenmesidir. Kan pıhtısı bazı aşamalardan geçtikten sonra yerini granülasyon dokusuna bırakır. Granülasyon dokusu erken ve geç olmak üzere 2 dönemde değerlendirilebilir. Erken granülasyon dokusunda çok sayıda makrofaj, az sayıda mezenkimal hücre ve kollajen lifler bulunurken geç granülasyon dokusunda az sayıda makrofaj, çok miktarda fibroblast benzeri hücreler ve yeni kan damarları, bağ dokusu matriksinde bulunmaktadır. Oluşan bağ dokusu osteoprojenitör hücrelerin migrasyonu ve farklılaşması ile yerini kemik dokusuna bırakmaya başlar (Linde, 2003). Bu çalışmada kemik onarımındaki etkilerinden dolayı kollajen, fibroblast ve yeni oluşan kan damarları değerlendirildi.

Travma, kemik enfeksiyonları, implant cerrahisi, maksiler sinüs yükseltmelerinde kemik yerini tutabilecek kemik greftleri gibi materyaller sıklıkla kullanılmaktadır (Greenwald, 2001). Kemik greftlerinin biyolojisini anlamak için osteogenez, osteoindüksiyon, osteokondüksiyon kavramlarının iyi bilinmesi gerekir. Kemik dokusu oluşturma kapasitesine sahip hücrelerin kemik yapımını gerçekleştirmesine osteogenez denir. Osteogenetik karaktere sahip tek greft materyali otojen kemiktir (Younger, 1989).

Osteoindüksiyon doku içerisindeki farklılaşmamış mezenşimal hücrelerin kemik yapıcı osteoblastik hücrelere dönüştürülmesiyle meydana gelen bir tür kemik oluşturma

mekanizmasıdır. Osteokondüksiyon ise greft materyalinin bir çatı oluşturması ve bu çatının yer tutucu olarak etrafındaki kemik yapıcı hücreler ile kemik büyümesine olanak sağlaması olarak tanımlanır. Sentetik kaynaklı greft materyalleri osteokondüktif özelliğe sahiptir (Sandallı, 1995).

Otojen kemik içerdiği tüm kemik yapıcı özelliklerinden dolayı en kullanışlı greft materyali olarak kabul edilir. Fakat sınırlı olarak bulunabilmesi, hasta için travmatik olması ve ikincil bir cerrahi bölgenin oluşması gibi dezavantajları mevcuttur (Arrington, 1996). Bu nedenlerle alternatif kemik materyalleri için araştırmalar yapılmaktadır.

Allogreftler, otojen greftlere alternatif olarak kullanılacak greft materyallerinden biridir. Allogreftler spongiöz, kortikal ya da bunların kombinasyonu halinde bulunabilirler. Uzun süredir kullanılmalarına rağmen hastalık bulaşma riski, immün reaksiyona neden olma ihtimali ve maliyetleri bu materyallerin kullanım alanlarını kısıtlamaktadır (Parikh, 2002).

Otojen ve allojen kemik greftlerinin dezavantajlarından dolayı sentetik kemik greftleri günümüzde popüler hale gelmiştir. Bu gruptaki kemik greftleri osteokondüktif özellik gösterir. Bu materyaller inert doldurma materyalleridir ve kemikle bütünleşme gösterirler. Kemığın üzerlerine ve içlerine doğru birikmesine izin vererek iskelet yapı oluştururlar (Nasr ve ark., 1999).

Çok çeşitli sentetik greft materyalleri içinde en önemli yeri kalsiyum fosfatlar almaktadır. Kalsiyum fosfat esaslı greft materyallerinin en önemli özelliği kemik dokusuyla olan biyolojik ortamdaki uyumdur (Carlsson, 1986). Kalsiyum fosfat biyomateriyalleri direkt olarak kemik üzerine fiske edildiğinde kemik ile greft arasında fibröz dokunun oluşmadığı materyallerdir. Bu materyallerin osteogenezisi stimüle edebileceğinin düşünülmüş olmasına rağmen, bu konuda yapılan araştırmalar bu materyallerin kemik oluşumunu indüklemediği, ancak sert doku gelişimine uygun olduklarını göstermektedir (Fonseca, 1991).

Kalsiyum fosfat materyallerinden birisi β -TCP'dir. β -TCP'nin porözlü, osteokondüktif, biyo-uyumlu, rezorbe olabilen ve kemik apozisyonu için ağ teşkil eden bir yapısının olduğu bilinmektedir. Doku içindeki rezorbsiyonu, yeni kemik apozisyonuna izin verecek bir hızda gerçekleşir. Ancak tek başına uygulandığında, osteokondüksiyon yalnızca defekte komşu kemik yüzeylerinin yakınında görülür. Bu nedenle kemik iliği veya kemik büyüme hormonları ile kombine edildiklerinde osteoindüksiyon için bir ağ teşkil ederler (Aichelmann-Reidy, 1998; Beck, 1991; Erbe, 2001; Laffargue, 2000; Whitman, 1997).

Kondo ve ark. (2005), ratların femurlarında oluşturdukları defekte uyguladıkları β -TCP'in mükemmel osteokondüksiyon ve rezorbe olabilme yeteneğine sahip olduklarını belirtmişlerdir.

Bloemers ve ark. (2003), travma sonucu oluşan kemik defeklerinde kalsiyum fosfat içerikli greftlerin kullanımını araştırdıkları çalışmalarında, bir çok greft materyalinin bu amaçla kullanıldığını vurgularken, kalsiyum fosfatın yüksek biyouyumluluğu ve başarılı osteogenezisi ile tercih edilen en önemli greft grubu olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, bu tip greft kullanımının otogreft komplikasyonlarını tamamen ortadan kaldırdığı ve bu greft materyallerine büyüme faktörü eklenmesi durumunda ise, daha başarılı osteogenez sağlanabileceği rapor edilmiştir.

Büyüme faktörleri, doku tamirindeki hücrelerin proliferasyonu, kemotaksisi, farklılaşması ve matris sentezi gibi anahtar hücrel olayları, spesifik hücre reseptörlerine bağlanarak düzenleyen, doğal biyolojik mediyatörlerdir (Position Paper, 1996). Kemik onarımında BMP, FGF-2, PDGF, TGF- β , VEGF ve IGF gibi büyüme faktörlerinin önemli görevleri vardır (Devescovi, 2008). FGF-2 osteoblast ve fibroblast gibi kemik hücreleri için kuvvetli bir mitojen olan ve angiogenezi uyaran büyüme faktörlerinden birisidir (Higuchi, 2010).

Kemik rejenerasyonundaki problemleri çözmek için biyomateryallerin büyüme faktörleri ile birlikte kullanılması olumlu sonuçlar vermektedir (Draenert, 2009). Günümüzde bu işlem çoğunlukla BMP ve FGF-2 gibi büyüme faktörü ile yapılmaktadır (Draenert, 2009). Neidhart ve ark. (2002), ratların femurlarında oluşturdukları defektlere TCP ve BMP'yi beraber uygulamışlar; bu uygulamanın kemik iyileşmesini ilerlettiklerini göstermiş ve otojen kemik greftine alternatif olabileceğine bildirmişlerdir.

Laffargue ve ark. (2000), tavşanların femurlarında defekt oluşturup, IGF-I emdirilmiş β -TCP'yi defekte uygulamışlardır. IGF-1 ve β -TCP karışımının 4. hafta incelemelerinde kemik defektlerinde kemik rejenerasyonunu indüklediğini gösterip; diğer büyüme faktörlerine de β -TCP ilave edilmesi halinde, greft etkinliğinin artabileceğini bildirmişlerdir.

Kovacs ve ark. (2005), köpeklerde oluşturulan mandibular defeklerde β -TCP esaslı kemik greft materyalinin TZP (Trombositten Zengin Plazma) ile birlikte ya da yalnız başına uygulanmasının değerlendirildiği çalışmalarında, TZP'nin etkileri ve yeni oluşan kemiğin kalitesi histolojik ve histomorfometrik metodlarla incelenmiş ve TZP'nin 6. ve 12. hafta incelemelerinde sadece β -TCP uygulanan bölgelere kıyasla daha hızlı kemik formasyonu sağladığını bildirmişlerdir.

Lu ve ark. (2002), tavşanların mandibulalarında oluşturdukları defektlerde demineralize kemik matriks tozu ile karıştırılmış FGF-2 ve taze dondurulmuş allojenik kemik matriksinin karışımının etkilerini incelemişlerdir. Bu karışımın defekt bölgesindeki yeni kemik miktarını artıran, iyi bir greft materyali olabileceğini bildirmişlerdir.

Hosokawa ve ark. (2000), köpeklerin mandibulalarında oluşturdukları defekte içerisinde FGF-2 içeren kollajen minipellet yerleştirip yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunda FGF-2'nin etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak FGF-2 içeren defekt bölgesinde kontrol grubuna göre daha fazla kemik rejenerasyonu olduğunu bildirmişlerdir.

Kato ve ark. (1998), FGF-2'nin tek doz lokal enjeksiyonunun rat tibialarındaki segmental kemik defeklerinin iyileşmesini uyardığını bildirmişlerdir

Komaki ve ark. (2006), tavşanların tibialarında segmental kemik defekti oluşturmuşlar ve bu defekte β -TCP, Tip I kollajen, FGF-2 karışımını uygulamışlardır. Sonuç olarak hem radyolojik hem de mekanik olarak kemik iyileşmesini gözlemlemişlerdir

Keiichi ve ark. (2008), ratlarda oluşturulan femur defeklerine poröz karbonat apatitin tek başına ve bFGF ile birlikte uygulanmasını değerlendirdikleri çalışmada, FGF-2 yüklü karbonat apatitin, tek başına uygulanana göre kemik gelişimini daha fazla artırdığını göstermişlerdir.

Kemik greftlerine FGF-2'nin ilave edilmesinin, enflamatuvar cevabı düzenleyerek ve iyileşme mekanizmalarına erken etki ederek osteoblast aktivitesi uyardığını, kemik gelişimini artırdığını bildirmişlerdir (Nakamura ve ark., 1998; Thoren ve ark., 1993). İnuı ve ark. (1998), tavşanların femurlarında oluşturdukları defekte FGF-2 uygulamışlardır. 2., 3. ve 6. hafta sonunda alınan doku örnekleri incelendiklerinde kemik iyileşmesinin erken döneminde FGF-2'nin önemli bir role sahip olduğunu belirtmişlerdir. Chen ve ark. (2004), tavşanların tibialarında oluşturdukları metafizal kırık iyileşmesinde FGF-2'nin etkilerini incelemişler, FGF-2'nin erken kemik iyileşmesinde önemli katkıları olduğunu bildirmişlerdir. Kawaguchi ve ark. (1994), ratların femurlarında kırık oluşturmuşlar ve kırık bölgesine FGF-2 enjekte etmişlerdir. Kırık sonrası 1. ve 3. haftada alınan doku örneklerini incelediklerinde FGF-2'nin kırık iyileşmesinin erken aşamalarında önemli görevler aldığını belirtmişlerdir.

Bu çalışmada, yabancı cisim reaksiyonu oluşturmayan, osteokondüktif ve osteoindüktif özellikler taşıyan, hızlı bir şekilde osteogenez gerçekleştiren,

yerleştirildiği bölgeye yapısal destek verebilen ve görevinin bitiminde rezorbe olabilme özelliği taşıyan ideal kemik greftini elde etmek amaçlanmıştır. Rat mandibulasında oluşturulan kemik defektine osteokondüktif özellik gösteren β -TCP kemik grefti ve osteoindüktif özellik gösteren, kemik iyileşmesi üzerinde önemli roller üstlendiğini düşündüğümüz FGF-2 büyüme faktörü birlikte uygulandı. Sonuç olarak kontrol grubuna göre FGF-2 ve β -TCP karışımının uygulandığı grupta, özellikle kemik iyileşmesinin erken dönemlerinde kemik oluşumunun arttığı görüldü.

Anjiyogenez damarların oluşmasından önceki evrede endotel hücrelerinin kümelenmesi ile oluşan kapillerin dallanması, genişlemesi ve küçük damarların büyüüp gelişmesidir. Kısaca anjiyogenez, yeni damar gelişimi olarak tanımlanabilir (Fayette, 2005). Anjiyogenezisi uyaran en önemli sitokinler; VEGF ve FGF-2'dir (Fayette, 2005).

Chow ve Rabie (2000), yaptıkları çalışmada kemik greftlerinin uygulandığı bölgede yeni oluşan damarlanmanın kemik iyileşmesine olumlu etkisini bildirmişlerdir.

Yeni oluşan damar sayısı ve FGF-2'nin ilişkisini incelemek için Gong ve ark. (2003), yapmış oldukları bir çalışmada, tavşanlardaki mandibuler kemik iyileşmesinde kullandıkları FGF'nin özellikle mikrovasküler formasyonu uyardığını belirtmişlerdir. Higuchi ve ark. (2010), FGF-2'nin osteoblastlar ve fibroblastlar gibi kemik hücreleri için güçlü bir mitojen olduğunu ve anjiyogenezisi stimüle edebileceğini bildirmişlerdir. Eppley ve ark. (1988), FGF-2'nin tavşan mandibulasındaki kemik greftlerinin iyileşmesinin erken dönemindeki damarlanmasında önemli olduğunu belirtmişlerdir. Lu ve ark. (2002), yaptıkları çalışmada FGF-2'nin in vitro ve in vivo çalışmalarda hem osteojenik hem de anjiyogenik özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada FGF-2'nin kemik iyileşmesindeki etkisinin yanı sıra anjiyogenez ile olan ilişkisi de incelendi. Ratların mandibulasında defekt oluşturulduktan sonra 7. ve 28. günlerde yeni oluşan damar sayısı incelendiğinde FGF-2 uyguladığımız grupta hem 7. hem de 28.günde damar sayısının arttığı bulundu.

FGF-2'nin etkinliği kullanılan konsantrasyona ve hedef hücre maturasyonuna göre farklıdır. Düşük konsantrasyonlarda, karşı olgun hücrelerde ve hedeflenen genç osteoblastlarda FGF-2 kemiksi formasyonu daha fazla uyarır (Tanaka, 2006). Literatürde kullanılan FGF dozları karşılaştırıldığında çok farklı sonuçlar ortaya çıkmıştır. Çünkü defekt modelleri, defekt modellerinin ebatı ve farklı taşıyıcılardan salınma kinetikleri uygulanan FGF dozlarını farklı kılmıştır.

Draenert ve ark. (2009), tavşanlarda oluşturdukları defekte HA ve 10µg ve 100µg FGF-2 karışımını uygulamışlardır. 10µg FGF-2 uyguladıkları grupta diğer gruplara göre daha fazla kemik oluştuğunu belirtmişlerdir. Hayashi ve ark. (2007), köpeklerin mandibulalarına yerleştirdikleri implantların boyun kısmında oluşan defeklere 0.1, 1, 10, 100 µg FGF-2 uygulamışlar ve 10 µg FGF uygulana grupta kemik oluşumu gözlemişlerdir. Bu çalışmada literatüre benzer olarak 10 µg FGF-2 kullanılması uygun görülmüştür.

FGF-2 ve büyüme faktörleri stabil olmayan proteinlerdir ve solüsyon olarak kullanıldığı zaman ortamdan hızlı bir şekilde uzaklaşmaktadır. Bundan dolayı kısa yarılanma ömrüne sahiptir. Başarılı olarak kemik indüksiyonunun yapılabilmesi, FGF'nin biyolojik aktivitesinin devamlılığı için taşıyıcı bir materyalin FGF'nin yavaş salınmasına yardımcı olması gerekmektedir. Bu problemi çözmek için FGF-2'yi bir taşıyıcı materyal ile beraber kullanmak gerekmektedir. Karboksimetil selüloz jel, fibrin jel, kollajen, β-TCP ve hiyaluronik asit taşıyıcı materyal olarak kullanılmıştır (Hayashi, 2007). Higuchi ve ark. (2010), tavşanlarda yaptıkları çalışmada FGF-2 taşıyıcı materyal olarak β-TCP kullanmışlardır. Neidhart ve ark. (2001), ratlarda yaptıkları çalışmada BMP-2 taşıyıcı materyali olarak TCP kullanmışlardır. Bu çalışmada da FGF-2'nin yavaş salınıp etkisini devam ettirerek kemik iyileşmesine katkı sağlaması amacıyla taşıyıcı materyal olarak β-TCP kullanıldı.

Bütün bu sonuçları birlikte değerlendirdiğimizde FGF-2/β-TCP kombinasyonunun yeni kemik oluşumunun özellikle erken dönemlerine olumlu bir etkisinin olabileceği görüldü.

6.SONUÇLAR

Ratların mandibularında deneysel olarak oluşturulan kemik defeklerine uygulanan β -TCP ve FGF-2'nin 7.ve 28.günlerde osteoblast sayısı, osteoklast sayısı, yeni oluşan kemik alanı, yeni oluşan damar sayısı, fibroblast sayısı ve kollajen liflerini incelemek ve bu bileşiklerin kemik iyileşmesindeki etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan bu çalışmada histomorfometrik incelemeler sonucunda;

- Ratlarda oluşturulan 5 mm'lik defektin kritik büyüklükte defekt için uygun olduğu
- Kullanılan FGF-2 dozunun kemik oluşumu için yeterli olabileceği
- FGF-2'nin kemik iyileşmesine olumlu etkisinin olduğu
- FGF-2'nin yeni oluşan damar sayısını artırdığını
- β -TCP'in büyüme faktörleri için taşıyıcı materyal olabileceği görüldü.

Bu çalışmanın sonuçları doğrultusunda, FGF-2'nin kemik iyileşmesini düzenleyecek ve hızlandıracak ajan olarak gelecekte tedavi amaçlı kullanılıp kullanılmayacaklarını araştıran, daha kapsamlı ileri çalışmalarla değerlendirilmesine ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Aichelmann-Reidy, M.E., Yukna, R.A. (1998). Bone Replacement Grafts, The Bone Substitutes. *Dental Clinics of North America*, 42;3:491-503
- Akal, Ü.K., Cambazoğlu, M.(1995). Kistektomi, kronik enfeksiyon bölgelerinin küretajı ve apikal rezeksiyon operasyonları sonucunda oluşan kemik defektlerinde solventlerle dehidrate edilmiş spongioz kemik çipslerinin kullanılması. *A.Ü Diş Hek.Fak.Derg* 22(2):103-108.
- Akita, S., Fukui, M., Nakagawa, H., Fujii, T., Akino, K. (2004). Cranial bone defect healing is accelerated by mesenchymal stem cell induced by coadministration of bone morphogenetic protein-2 and basic fibroblast factor. *Wound Repair Regeneration*, 12, 252-9
- Alan S,Ueki K,Marukawa K,Ohara T,Hase T,Takazakura D,Nakagawa K.Expression of bone morphogenetic protein 2 and fibroblast growth factor 2 during bone regeneration using different implant materials as an onlay bone graft in rabbit mandibles.*Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*2007 Jan;103(1):16-26.
- Arrington, E.D., Resnick, L., Shan, S.M., Malinin, T.I. (1990). Human immunodeficiency virus cultured from bone. Implications for transplantation. *Clin Orthop Rel Res* 251;249-253.
- Artzi, Z., Weinred, M., Carmeli, G., Lev-Dor, R., Dard, M., Nemcovsky, C.E.(2008). Histomorphometric assessment of bone formation in sinus augmentation utilizing a combination of autogenous and hydroxyapatite/biphasic tricalcium phosphate graft materials: at 6 and 9 months in humans. *Clin Oral Impl Res* 19; 686–692.
- Bancroft, J.D., Stevens, A. (1996). *Theory And Practice Of Histological Techniques*. Fourth edition, Churchill Livingstone, New York, Chapter 15, Bone, p.309-339
- Bauter, T.W, Muschler, G.F. (2000). Bone graft materials. An overview of the basic science. *Clin Orthop* 371:10-27
- Beck, L.S., Deguzman, L., Lee, W.P. (1991). Rapid publication, TGF- β_1 induces bone closure of skull defects. *Journal of Bone and Mineral Research*, 6;11:1257-1265
- Begley, C.T., Doherty, M.J., Hankey, D.P., Wilson, D.J. (1993). The culture of human osteoblast upon bone graft substitutes. *Bone* 14(4):661-6
- Bifano, C.A., Edgin, W.A., Colleton, C., Bifano, S.L., Constantino, P.D. (1998). Preliminary evaluation of hydroxyapatite cement as an augmentation device in the edentulous atrophic canine mandible. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 85(5):512-6
- Bloemers, F.W., Blokhuis, T.J., Patka, P., Bakker, F.C., Wippermann, B.W., Haarman, HJ. (2003). Autologous bone versus calcium-phosphate ceramics in treatment of experimental bone defects. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 66(2):526-31.
- Boo, J. S., Yamada, Y., Okazaki, Y., Hibino, Y., Okada, K., Hata, K., Yoshikawa, T., Sugiura, Y. and Ueda, M. (2002). Tissue-Engineered Bone Using Mesenchymal Stem Cells and a Biodegradable Scaffold, *J. Craniofac. Surg.*, 13, 231–239.

- Boyan, B.D., Lohmann, C.H., Romero, J., Schwartz, Z. (1999). Bone And Cartilage Tissue Engineering. *Tissue Engineering*, 26:4;629-645
- Chen, W.J., Jingushi, S., Aoyama, I., Anzai, J., Hirata, G., Tamura, M., Iwamoto, Y. (2004). Effects of FGF-2 on metaphyseal fracture repair in rabbit tibiae. *J Bone Miner Metab* 22:303-309.
- Chow, K.M., Rabie A.B. (2000). Vaskuler endothelial growth pattern of endochondral bone graft in the presence of demineralized intramembranous bone matrix-quantitative analysis. *Cleft Palate Craniofac J.* 37(4):385-94.
- Cool, S., Jackson, R., Pincus, P., et.al. (2002). Fibroblast growth factor receptor 4 (FGFR4)expression in newborn murine calvaria and primary osteoblast cultures. *Int J dev Biol* 46:519-23.
- Cormack, D.H. (1993). *Essential Histology*. J.B. Lippincott Company, Philadelphia, Chapter 8, Dense Connective Tissue, Cartilage, Bone, and Joints, p.159-190
- Cornell, C.N. (1999). Osteoconductive materials and their role as substitutes for autogenous bone grafts. *Orthop Clin North Am.* 30:591-8.
- Çetin, M., Tapan, Y. (2004). b-FGF(Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü) ve formülasyonlarında yeni yaklaşımlar. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi* 24;2:107-24.
- Debiasis, F., Lefevre, G., et.al. (2004). Fibroblast growth factor-2 induces osteoblast survival through a phosphatidylinositol 3 kinase –dependent, beta-catenin-independent signaling pathway. *Exp Cell Res* 297:235-46.
- Den Boer, F.C., Wippermann, B.W., Blokhuis, T.J., Patha, P., Bakker, F.C., Haarman, H.J. (2003). Healing of segmental bone defect with granuler porous hidroxyapatite augmented with recombinant human osteogenic protein-1 or otologous bone marrow. *J Orthopaedic Res* 21(3):521-8.
- Deng, C., Wynshaw-Boris, A., Zhou F., et.al.(1996). Fibroblast Growth factor receptor 3 is a negative regulator of bone growth. *Cell* 84:911-21
- Devescovi, V., Leonardi, E., Ciapetti, G., Cenni, E. (2008) Growth factor in bone repair. *Chir Organi Mov* 92;161-168
- Draenert, G.F., Draenert, K., Tischer, T. (2009). Dose-dependent osteoinductive effects of bFGF in rabbits. *Growth Factors*, December 27(6): 419-424.
- Ducy, P., Zhang, R., Geoffroy, V., et.al. (1997). *Osf2/Cbfa1*:a transcriptional activator of osteoblast differentiation. 89:747-54.
- Dupoirieux, L., Pourquier, D., Picot, M.C., Neves, M. (2001). Comparative Study Of Three Different Membranes For Guided Bone Regeneration Of Rat Cranial Defects. *Int J Oral Maxillofac, Surg.* 30:58-62
- Duthie, R.B. Bone and Joint Tissues. In :Kyle J, Karey LC (eds). (1989). *Scientific Foundations of Surgery* 4.ed. Heinemann Medikal Books,Londra, p. 150-166.
- Ellis, III E. (1998). Surgical reconstructions of defects of the jaws.In Peterson LJ,eds.*Contemporary oral and maxillofacial Surgery*.St.Louis:CV Mosby,1998:680-684
- Erbe, E.M., Marx, J.G., Clineff, T.D., Bellincampi, L.D. (2001). Potential Of An Ultraporous β -tricalciumphosphate Synthetic Cancellous Bone Void Filler And Bone Marrow Aspirate Composite Graft. *Eur Spine J.*, 10:S141-S146
- Eppley, B.L., Doucet, M., Connolly, D.T., Feder, J. (1988). Enhancement of angiogenesis by bFGF in mandibular bone graft healing in the rabbit. *J Oral Maxillofac Surg.* 46,(5),391-398.
- Erimoğlu, C. (1990). İnsan anatomisi.LU.Basımevi ve film merkezi.İstanbul, p. 6,7
- Fakhry, A., Ratisoontrorn, C., Vedhachalam, C., et.al. (2005). Effects of FGF-2/9 in calvarial bone cell cultures:differentiation stage-dependent mitogenic effect,

- inverse regulation of KMP-2 and noggin and enhancement of osteogenic potential. *Bone* 36:254-66.
- Farhadi, J., Jaquier, C., Barbero, A., Jakob, M., Schaeren, S., Pierer, G., ve diğ. (2005). Differentiation-dependent up-regulation of BMP-2, TGF- β 1 and VEGF expression by FGF-2 in human bone marrow stromal cells. *Plastic Reconstructive Surgery*, 116, 1379-86.
- Fawcett, D.W., Jensch, R.P. (2002). *Bloom & Fawcett's Concise Histology*. Second Edition, Arnold, a member of the Hodder Headline Group, London, Chapter 6, Bone, p.87-99
- Fayette, J., Soria, J.C., Armand, J.P. (2005). Use of angiogenesis inhibitors in tumour treatment, *Eur J Cancer*, 11:517-524.
- Funato, N., Ohtani, K., Ohshima, K., et al. (2001). Common regulation of growth arrest and differentiation of osteoblast by helix-loop-helix factors. *Mol Cell Biol* 21:7416-28.
- Fonseca, R.J., Walker, R.V. (1991). *Oral and Maxillofacial Trauma Vol II*. W B Saunders Company. 87:243-273.
- Frota, R., Silva-Junior, V.A., Teixeira, M., Sobral, A.P., Oliveira e Silva, E.D., Da Silveira M.M., Aragao-Neto, A.C. (2010). Histological evaluation of bone repair using β -Tricalcium phosphate. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*.
- Gartner, L.P., Hiatt, J.L. (2001). *Color Textbook Of Histology*. Second edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia, Chapter 7, Cartilage and Bone, p.129-153
- Gehron-Robey, P. And Boskey, A.L. (1996). The biochemistry of bone, in *Osteoporosis*, Marcus, E, Feldman D and Kelsey J, Eds, Academic Press, San Diego, chap 4.
- Globus, R.K., Patterson-Buckendahl, P., Gospodarowicz D. (1988). Regulation of bovine bone cell proliferation by fibroblast growth factor and transforming growth factor beta. *Endocrinology* 123:98-105.
- Gomi, K., Lowenberg, B., Shapiro, G., Davies, J.E. (1993). Resorption of sintered synthetic hydroxyapatite by osteoclasts in vitro. *Biomaterials* 14(2):91-6
- Gong, Z.Y., Zhou, S.X., Gu, X.M., Li, D.C., Sun, M.L. (2003). Effect of recombinant human basic fibroblast growth factor on angiogenesis during mandible fracture healing in rabbits. *Chin J Traumatol Aug*; 6(4): 242-4.
- Gorski, J.P. (1998). Is all bone the same. Distinctive distributions and properties of non collagenous matrix proteins in lamellar v.s woven bone imply the existence of different underlying osteogenic mechanisms. *Crit Rev Oral Biol Med* 9:201-223
- Greenwald, A.S., Boden, S.D., Goldberg, V.M., Khan, Y., Laurencin, C.T., Roiser, R.N. (2001). Bone-graft substitutes: fact, fictions, and applications. *J Bone Joint Surg Am*, 83-A(Suppl 2, Pt2):98-103.
- Güven, O., Saraçoğlu, U. (2000). Bir santral odontojenik fibroma vakasında otojen kemik grefti ve implant uygulanması: Vaka raporu. *T Klin Diş Hek Bil* 6;158-162.
- Hakkı, S.S., Hakkı, E.E., Akkaya, M.S. (2000). The effects of basic-fibroblast growth factor (b-FGF) on periodontal ligament cells. *J Dent Res* 79:2065.
- Haug, R.H., Nuvonn, E., Bredbenner, T. (1999). An evaluation of the support provided by common internal orbital reconstruction materials. *J Oral Maxillofac surg* 57:564-570.
- Hayashi, K., Kubo, T., Doi, K., Tabata, Y., Akagawa, Y. (2007). Development of new drug delivery system for implant bone augmentation using a basic fibroblast growth factor-gelatin hydrogel complex. *Dental Materials Journal* 26(2):170-177.

- Herron, S., Thordarson, D. B., Winet, H., Luk, A. and Bao, J. Y. (2003). Ingrowth of Bone into Absorbable Bone Cement: An in vivo Microscopic Evaluation, *Am. J. Orthop.* (Belle Mead NJ), 32, 581–584.
- Higuchi, Y., Kabasawa, Y., Sato, M., Kikuchi, T., Aoki, K., Ohya, K., Maruoka, Y., Omura, K. (2010). Effect of recombinant human fibroblast growth factor-2 on bone formation in rabbit mandibular distraction models using Beta-tricalcium phosphate. *Congenital Anomalies* 50,95-104.
- Hollinshead, H.W., Rosse C. (1985). *Textbook of anatomy*. 4ed. Harper & Row Publishing, Philadelphia, p.24-30
- Horowitz, I., Bodner, L. (1989). Use of xenograft bone with aspirated bone marrow for treatment of cystic defect of the jaws. *Head&Neck* 11:516-523
- Hosokawa, R., Kikuzaki, K., Matsuura, T., Chiba, D., Wadamoto, M., Sato, Y., Maeda, M., Sano, A., Akagawa Y. (2000). Controlled local application of basic fibroblast growth factor (FGF-2) accelerates the healing of GBR. An experimental study in beagle dogs. *Clin Oral Impl Res* 11:345-353.
- Humadi, A., Alhadithi, R.H. and Alkudiyari, S.I. (2010). Validity of the DEXA Diagnosis of Involuntional Osteoporosis in Patients with Femoral Neck Fractures, *Indian J. Orthop.*, 44, 73–78.
- Hussar, P., Piiirsoo, A., Marton, A., Toom, A., Haviko, T., Hussar, U. (2001). Bone healing models in rat tibia after different injuries. *Ann Chir Gynaecol* 90:p.271-279.
- İnui, K., Maeda, M., Sano, A., Fujioka, K., Yutani, Y., Sakawa, A., Yamano, Y., Kato, Y., Koike, T. (1998). Local application of basic fibroblast growth factor minipellet induces the healing of segmental bony defects in rabbits. *Calcif Tissue Int.* 63(6):490-5.
- Isaksson, S., Alberius, P., Klinge, B. (1993). Influence Of Three Alloplastic Materials On Calvarial Bone Healing. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 22: 375-81
- Iseki, S., Wilkie, A.O., Morriss-Kay. (1999). FGFr1 and FGFr2 have distinct differentiation and proliferation-related roles in the developing Mouse skull vault. *Development* 126:5611-620.
- Iwaniec, U.T., Wronski, T.J. and Turner, R.T. (2008). Histological Analysis of Bone, *Methods Mol. Biol.*, 447, 325–341.
- Janquerira, L.C., Carnerio, J. *Basic Histology*. (2005). Barış Kitabevi. İstanbul. 170-195.
- Jee, W.S.S. (1998). The skeletal tissues in *Cell and tissue Biology, A textbook of Histology*, Weiss L. Ed. Urban and Schwarzenberg, Baltimore,
- Jee W.S.S. (2001). *Integrated Bone Tissue Physiology: Anatomy and Physiology*. In: Cowin SC (ed). *Bone Mechanics Handbook*. 2. Ed. CRC Press, Florida, p.1-68
- Jensen, S.S., Yeo, A., Dard, M., Hunziker, E., Schenk, R., Buser, D. (2007). Evaluation of a novel biphasic calcium phosphate in standardized bone defects. A histologic and histomorphometric study in the mandibles of minipigs. *Clin Oral Impl Res* 18,; 752–760
- Kamo, K., Miyakoshi, N., Kasukawa, Y., Sasaki, H., Shimada, Y. (2009). Effects of single and cyclical local injections of basic fibroblast growth factor on cancellous bone defects in rabbits. *J Orthop Sci* 14:811-819.
- Kawaguchi, H., Kurokawa, T., Hanada, K., Hiyama, Y., Tamura, M., Ogata, E., Matsumoto, T. (1994). Stimulation of fracture repair by recombinant human basic fibroblast growth factor in normal and streptozotocin-diabetic rats. *Endocrinology* 135, 774

- Kato, T., Kawaguchi, H., Hanada, K., Aoyama, I., Hiyama, Y., Kuzutani, T., Tamura, M., Kurokawa, T., Nakamura, K.J. (1998). *Orthop Res* 16,654
- Kenley, A.R., Yim, K., Abrams, J. (1993). *Biotechnology And Bone Graft Substitutes. Pharmaceutical Research*, 10;10: 1393-1401
- Keiichi, K., Mitsunobu, K., Masafumi, S., Yutaka, D., Toshiaki, S. (2009). Induction of new bone by basic FGF loaded porous carbonate apatite implants in femur defects in rats. *Clin Oral Impl Res.* 20, 560-565.
- Khan, S.N., Tomin, E., and Lane, J.M. (2000). Clinical applications of bone graft substitutes. *Orthop Clin North Am* ;31:389-398
- Kim, H.J., Lee, M.H., Park, H.S., et.al. (2003). Erk pathway and activator protein 1 play crucial roles in FGF2-stimulated premature cranial suture closure. *Dev dyn* 227:335-46.
- Klinge, B., Alberius, P., Isaksson, S., Jönsson, J. (1992). Osseous Response To Implanted Natural Bone Mineral And Synthetic Hydroxylapatite Ceramic In The Repair Of Experimental Skull Bone Defects. *J Oral Maxillofac Surg.*, 50:241-249
- Komaki, H., Tanaka, T., Chazonu, M., Kikuchi, T. (2006). Repair of segmental bone defects in rabbit tibiae using a complex of Beta-TCP, type I collagen, and fibroblast growth factor-2. *Biomaterials* 27:5118-5126.
- Komori, T., Yagi, H., Nomura, S., et.al. (1997). Targeted disruption of *Cbfa1* results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell* 89:755-64.
- Kondo, N., Ogose, A., Tokunaga, K., Ito, T., Arai, K., Kudo, N. (2005). Bone formation and resorption of highly purified beta-TCP in the rat femoral condyle. *Biomaterials* 26:5600-8.
- Kovacs, K., Velich, N., Huszar, T., Fenyves, B., Suba, Z., Szabo, G. (2005). Histomorphometric and densitometric evaluation of the effects of platelet-rich plasma on the remodelling of beta-tricalciumphosphate in beagle dogs. *J Craniofac Surg* 16:150-154.
- Laffargue, P., Fialdes, P., Frayssinet, P. (2000). Adsorption And Release Of Insulin-Like Growth Factor-I On Porous Tricalcium Phosphate Implant. *J Biomed Mater Res*, 5;49(3):415-421
- Lin, X.P., Jin, B., Ba, Z.Q., Liu, Y., Tan, L.S. (2007). Combination use of rh-bFGF and Bio-Oss collagen to enhance periodontal regeneration: an experimental study in dogs. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue* ; 16 (2) : 196-7.
- Linde, J., Karring, T., Lang, N.P. (2003) *Clinical Periodontology and implant Dentistry. Fourth Edition.* 2003;866-876.
- Lu, M., Bakr, A., Rabie, M. (2002). The effect of demineralized intramembranous bone matrix and basic fibroblast growth factor on the healing of allogeneic intramembranous bone grafts in the rabbit. *Archives of Oral Biology* 47 831-841.
- Lynch, S.E., Genco, R.J., Marx, R.E. (1999a). *Tissue Engineering, Applications In Maxillofacial Surgery And Periodontics.* Quintessence Publishing Co, Carol Stream, Illionis, Chapter 1, Basic Principles of Tissue Engineering, p.3-17
- Lynch, S.E., Genco, R.J., Marx, R.E. (1999b). *Tissue Engineering, Applications In Maxillofacial Surgery And Periodontics.* Quintessence Publishing Co, Carol Stream, Illionis, Chapter 2, Biology of Bone Healing: Its Impact on Clinical Therapy, p.17-55
- Lynch, S.E., Genco, R.J., Marx, R.E. (1999c). *Tissue Engineering, Applications In Maxillofacial Surgery And Periodontics.* Quintessence Publishing Co, Carol Stream, Illionis, Chapter 6, Biology and Clinical Applications of rhBMP-2, p.103-125

- Lynch, S.E., Genco, R.J., Marx, R.E. (1999d). Tissue Engineering, Applications In Maxillofacial Surgery And Periodontics. Quintessence Publishing Co, Carol Stream, Illionis, Chapter 5, Grafting Materials in Repair and Restoration, p.83-103
- MacNeill, S.R., Cobb, C.M., Rapley, J.W., Glaros, A.G., Spencer P. (1999). In vivo comparison of synthetic osseous graft materials. *J Clin Periodontol* 26:239-245
- Manjubala, I., R.V. Suresh, Kumar and T.P. Sastry. (2001). Biocompatibility Evaluation of Bisphasic Calcium Phosphate Ceryamics: An in vivo Study. *Trends in Biomaterials&Artificial Organs* Volume 14, number 2, pages 27-29
- Manolagas, S.C. (2000). Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanism and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev* 21: 115-37.
- Marchena, J.M., Block, M.S., Stover, J.D. (2002). Tibial Bone Harvesting Under Intravenous Sedation: Morbidity And Patient Experiences. *J Oral Maxillofacial Surg*, 60:1151-1154
- Marie, PJ. (2003). Fibroblast growth factor signaling controlling osteoblast differentiation. *Gene*, 316, 23-32.
- Marinak, K.W., Mellonig, J.T., Towle, H.J. (1989). The osteogenic potential of two human demineralised bone preparations using a xenogenetic model. *J Periodontol Jan*; 60(1): 12-8.
- Martin, R.B. and Burr, D.B. (1989). Mechanical adaptation, in structure, Function and Adaption of compact bone, Raven Press. New York, chaps 2, 4, 7 and 8.
- Meade, J.B., Cowin S.C., Kiawitter, J.J., Van Buskirk, W.C., Skinner, H.B. (1984). Bone remodelling due to continuously applied loads. *Calcif.Tissue mt* 36, 25-30
- Montero, A., Okada, Y., Tomita, M., et.al. (2000). Disruption of the fibroblast growth factor-2 gene results in decreased bone mass and bone formation. *J Clin Invest* 105: 1085-93.
- Moore, W.R., Graves, S.E., Bain, G.I. (2001). Synthetic bone graft substitutes. *ANZ J Surg* 2001, 71(6):354-61.
- Murakami, S., Balmes, G., McKinney, S., et.al. (2004). Constitutive activation of MEK1 in chondrocytes causes Stat1, independent achondroplasia –like dwarfism and rescues the FGFR3 –deficient mouse phenotype. *Genes Dev* 18: 290-5.
- Nakamura, K., Kurokawa, T., Aoyama, I., Hanada, K., Tamura, M., Kawaguchi, H. (1998). Stimulation of bone formation by intraosseous injection of basic fibroblast growth factor in overiectomised rats. *Int Orthop* 22: 49-59.
- Nasr, H.F., Aichelmann-reidy, M.E., Yukna, R.A. Bone and bone substitutes. *Periodontology* 2000 1999; 19: 74-86.
- Neidhart, C., Maus, U., Redmann, E., Benhard, S.C., Neidhart, U.F., Siebert, C.H.(2003). Stimulation of bone formation with an in situ setting tricalcium phosphate/rhBMP-2 composite in rats. *J Biomed Mater Res* 65A: 17-23.
- Nielsen, F.F., Karring, T., Gogolewski, S. (1992). Biodegradable Guide For Bone Regeneration Polyurethane Membranes Tested In Rabbit Radius Defects. *Acta Orthop Scand*, 63:1; 66-69
- Noff, D., Pitaru, S., Savion N. (1989). Basic fibroblast growth factor enhances the capacity of bone marrow cells to form bone-like nodules in vitro. *FEBS Lett* 250: 619-21
- Oikarinen, K., Kainulainen, V., Kainulainen, T. (1997). A Method of Harvesting Corticocancellous Bone Chips for Reconstructive Maxillofacial Surgery. *Int. J. Oral Maxillofac Surg*, 26: 103-105

- Ornitz, D.M., Marie, P.J. (2002). FGF signaling pathways in endochondral and intramembranous bone development and human genetic disease. *Genes Dev* 16: 144-65.
- Otto, F., Thornell, A.P., Crompton, T., et.al. (1997). *Cbfa1*, a candidate gene for cleidocranial dysplasia syndrome, is essential for osteoblast differentiation and bone development. *Cell* 89: 765-71.
- Özyuvacı, H. (2001). Yetersiz kemik desteği olan maksiller posterior bölgede alloplastik kemik greftleri ve silindirik implant uygulamaları. *Akademik Dental Dişhekimliği Derg* 3 (2): 4-9.
- Parikh, S.N. (2002). Bone graft substitutes: past, present, future. *Journal of Postgraduate Medicine* 48: 142-148.
- Pitaru, S., Kotev-Emeth. S., Noff, D., et.al. (1993). Effect of basic fibroblast growth factor on the growth and differentiation of adult stromal bone marrow cells: enhanced development of mineralized bone-like tissue in culture. *J Bone Miner Res* 8: 919-29.
- Pompili, A., Caroli, F., Carpanese, L., Caterino, M., Raus, L., Sestili, G., Occhipinti, E. (1998). Cranioplasty performed with a new osteoconductive, Osteoinducing hydroxyapatite-derived material. *J Neurosurg.* 89: 236-242.
- Position, Paper. (1996). The potential role of growth factor and differentiation factors in periodontal regeneration. *Journal of Periodontology* 67: 545-553.
- Power, R.A., Iwaniec, U.T., Wronski T.J. (2002). Changes in gene expression associated with the bone anabolic effects of basic fibroblast growth factor in aged ovariectomized rats. *Bone* 31: 143-8.
- Raghoobar, G.M., Louwse, C., Kalk, W.W.I., Vissing, A. (2001). Morbidity Of Chin Bone Harvesting. *Clin Oral Impl Res*, 12: 503-507
- Revell, PA. (1986). Pathology of bone. Great Britain:Springer-Verlag. Berlin Heidelberg: 1-30, p.203-231.
- Sakano, S., Hasegawa, Y., Murata, Y., Ito, T., Genda, E., Iwata, H., Ishiguro, N., Seo, H. (2002). Inhibitory effect of bFGF on endochondral heterotopic ossification. *Biochem Biophys Res Commun* 293: 680-5.
- Sandallı, P., Karabuda, C. (1995). Oral implantolojide kemik grefti materyalleri ve kullanımları *Oral İmplantoloji Dergisi* 2: 9-16
- Schmid, J., Wallkamm, B., Hammerle, C. H., Gogolewski, S. and Lang, N. P. (1997). The Significance of Angiogenesis in Guided Bone Regeneration. A Case Report of a Rabbit Experiment, *Clin. Oral Implants Res.*, 8, 244–248.
- Schwarz, F., Herten, M., Ferrari, D., Wieland, M., Schmitz, L., Engelhardt, E., Becker, J. (2007). Guided bone regeneration at dehiscence-type defects using biphasic hydroxyapatite + beta tricalcium phosphate (Bone Ceramic1) or a collagen-coated natural bone mineral (BioOss Collagen1): an immunohisto-chemical study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Surg* ; 36: 1198–1206.
- Shimoaka, T., Ogasawara, T., Yonamine, A., et.al. (2002). Regulation of osteoblast, chondrocyte, and osteoclast functions by fibroblast growth factor(fgf)-18 in comparison with FGF-2 and FGF-10 *J Biol Chem* 277: 7493-500.
- Song, H., Kwon, K., Lim, S., et.al. (2005). Transfection of mesenchymal stem cell with the FGF-2 gene improves their survival under hypoxic conditions. *Mol Cells* 19: 402-7.
- Strewler, G.J. (2001). Local and systemic control of the osteoblast. *J Clin Invest* 107: 271-272.

- Tadjoedin, E.S., Lange, G.L., Bronckers, A.L.J., Lyrauu, D.M., Burger, E.H. (2003). Deproteinized cancellous bovine bone (bio-Oss) as bone substitute for sinus floor elevation. *J Clin Periodontol* 30: 261-270.
- Takechi, M., Tatehara, S., Satomura, K., Fujisawa, K., Nagayama, M. (2008). Effect of FGF-2 and melatonin on implant bone healing: a histomorphometric study. *J Mater Sci: Mater Med* 19: 2949-2952.
- Tanaka, E., Ishino, Y., Sasaki, A., Hasegawa, T., Watanabe, M., Dalla-Bona, D.A., Yamano, E., Van Eijden, T.M.G.J., Tanne, K. (2006). Fibroblast Growth Factor-2 Augments Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 Induced Osteoinductive Activity. *Annals of Biomedical Engineering*. Vol. 34 no.5, pp: 717-725.
- Tang, K.T., Capparelli, C., et.al. (1996). Acidic fibroblast growth factor inhibits osteoblast differentiation in vitro: altered expression of collagenase, cell growth related, and mineralization-associated genes. *J Cell Biochem* 61: 152-66.
- Tekelioğlu, M. Genel Tıp Histolojisi. (1993). Güneş Kitabevi, Ankara. 138-147.
- Thoren, K., Aspenberg, P. (1993). Effects of basic fibroblast growth factor on bone allografts: a study using bone harvest chambers in rabbits. *Ann Chir Gynaecol Suppl* : 129-35.
- Tuksan, C., Yaltırık, M. (1999). Oral ve maksillofasiyal cerrahide kemik defektlerinde kullanılan kemik greftleri ve biyomateryaller. *C.Ü. Dişhekimliği fakültesi dergisi* 2 (2) : 134-140.
- Urist, M.R., Jurist, J.M. Jr, Dubuc, F.L., Strates, B.S. (1970). Quantitation of new bone formation in intramuscular implants of bone matrix in rabbits. *Clin Orthop Relat Res* Jan-Feb;(68): 279-93.
- Valverde-franco, G., Liu, H., et.al. (2004). Defective bone mineralization and osteopenia in young adult FGFR3 MICE. *Hum Mol Genet* 13: 271-84
- Young, B., Health, J.W. (2000). Wheather's Functional Histology 4 ed. Churchill Livingstone, Edinburg, p. 142-151
- Younger, E.M., Chapman, M.W. (1989). Morbidity at bone graft donor sites. *J Orthop Trauma* 3: 192-195
- Yu, K., Xu, J., Liu, Z., et.al. (2003). Conditional inactivation of fgf receptor 2 reveals an essential role for FGF signaling in the regulation of osteoblast function and bone growth. *Development* 130: 3063-74.
- Yukna, R.A., Salinas, T.J., Carr, R.F. (2002). Periodontal regeneration of following use of ABM/P-15: A case report. *Int J Peodontics Restorative Dent*. 22: 146-155.
- Walsh, S., Jefferiss, C.M., Stewart, K., et.al. (2003). IGF-I does not affect the proliferation or early osteogenic differentiation of human marrow stromal cells. *Bone* 33: 80-9.
- Walters, S.P., Greenwell, H., Hill, M., Connie, D., Pickman, K., Scheetz, J.P. (2003). Comparison of porous and non-porous Teflon membranes plus a xenograft in the treatment of vertical osseous defects: A clinical re-entry study. *J Periodontol*. 74 (8): 1161-1165.
- Whitman, D.H., Ronald, L.B., Green, D.M. (1997). Platelet Gel: An Autologous Alternative To Fibrin Glue With applications in Oral and Maxillofacial Surgery. *J Oral Maxillofac Surg*. 55: 1294-1299.
- Xiao, G., Jiang, D., Thomas, P., et.al. (2000). MAPK pathways activate and phosphorylate the osteoblast specific transcription factor, Cbfa1. *J Biol Chem* 275:4453-59.

- Zhang, X., Sobue, T., Hurley, M.M. (2002). FGF-2 increases colony formation, PTH receptor, and IGF-1 Mrna in mouse stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 290: 526-31.
- Zhou, Y.X., Xu, X., Chen, L., et.al. (2005). Arg substitution in mouse FGFR1 causes increased expression of Cbfa1 and premature fusion of calvarial sutures. *Hum Mol Gene* 2000; 9: 2001-8.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Murat Uğur GÜRER
Doğum Yeri ve Tarihi	Sivas, 20/04/1978
Medeni Hali	Evli
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, 58140–Sivas.
E-posta Adresi	umgurur@yahoo.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Trabzon Yomra Fen Lisesi, 1992–1995
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, 1996–2001
Doktora	Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, 2006–2011

İş Tecrübesi

Sivas Kızılay Tıp Merkezi	2001-2004
GATA Ankara	2005

