

T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DİŞ ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ ANABİLİMDALI



FARKLI PORÖZİTELERDEKİ Ni-Ti GREFT MATERYALLERİNİN
KEMİK İYİLEŞMESİNE ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ

Doktora Tezi
Dt. B. Bertan ARPAK

ANKARA 2009

T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DİŞ ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ ANABİLİMDALI



FARKLI PORÖZİTELERDEKİ Ni-Ti GREFT MATERYALLERİNİN
KEMİK İYİLEŞMESİNE ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ

Doktora Tezi

Dt. B. Bertan ARPAK

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Kenan ARAZ

ANKARA 2009

T.C
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Dalında Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 25/01/2010

“Farklı Porözitelerdeki Ni-Ti Greft Materyallerinin Kemik İyileşmesine Etkilerinin Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi”

TEZ DANIŞMANI: PROF.DR.KENAN ARAZ

TEZ JÜRİSİ ÜYELERİ

Prof.Dr. Kenan Araz



Prof.Dr. Sina Uçkan



Prof.Dr.Nuray Er



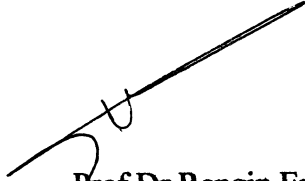
Doç.Dr. Özgür Pektaş



Yrd.Doç.Dr. Firdevs Veziroğlu



ONAY:Bu tez Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Yönetim Kurulu'nun 03/02/2010 tarih, 023 sayılı kararıyla kabul edilmiştir.


Prof.Dr.Rengin Erdal
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Çalıőmamda bana her türlü destek ve yardımlarını esirgemeyen tez danışmanın Prof. Dr. Kenan ARAZ başta olmak üzere Başkent Üniversitesi Diş Hekimliği Fakóltesi Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisindeki tüm değerli öğretim üye ve yardımcılarına teőkekkürü bir borç bilirim. Tezimde kullanılan Ni-Ti greft materyallerinin üretilmesini sağlayan ve materyali geliőtiren Prof. Dr. Şakir Bor ve ODTÜ metalurji anabilim dalının tüm üyelerine, histopatolojik preparatların hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen Hamburg Üniversitesi Diş Hekimliği Fakóltesi öğretim üyesi Prof. Dr. İbrahim NERGİZ'e ve histopatolojik preparatların değerlendirilmesinde emeği geçen Gülhane Askeri Tıp Akademisi öğretim üyesi Prof. Dr. Ömer GÜNHAN'a da ayrıca teőkekkür ederim.

Tezimin hazırlanması sırasında benden desteğini esirgemeyen sevgili eőim Sinem ARPAK'a; hayatlarını çocuklarına adayan annem Füsün ve babam Nejat ARPAK'a ve hayatımızın neőesi biricik oğlum Arda ARPAK'a sonsuz Őükranlarımı sunuyorum.

ÖZET

Farklı Porözitelerdeki Ni-Ti Greft Materyallerinin Kemik İyileşmesine Etkilerinin Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi,

Çalışmamızın amacı; farklı porözitelerdeki Ni-Ti greft materyallerinin kemik iyileşmesine etkilerini incelemek, aralarındaki farkları belirlemek ve olumlu etkileri olması durumunda bu materyalleri mevcut greftleme yöntemleri arasına koymaktır. Materyallerin mevcut yöntemlere alternatif, kemik elastisitesine yakın, biyouyumlu ve daha ucuz bir uygulama olduğu düşünülmektedir.

Araştırmamızda 30 adet erkek sıçan, deney hayvanı olarak kullanılmıştır. 3 farklı porözitedeki greftlerin yerleştirilmesi için, 3 gruba ayrılan deneklerin sağ femur kemiklerinde bir adet suni defekt oluşturulmuştur. Defektlere yerleştirilen greft materyalleri 12 hafta sonunda hayvanlar sakrifiye edilerek çıkartılmış ve histolojik inceleme için kesme-inceltme yöntemi kullanılarak preparatlar hazırlanmıştır.

Histopatolojik değerlendirmede elde edilen veriler, kemik iyileşmesinin her üç grupta da , kemik içinde kalan olgularda başarılı olduğu; gruplar arasında belirgin bir fark bulunmadığı, yeni oluşan kemik ile greft materyali arasında osseoentegrasyonun sağlandığını göstermiştir.

Ni-Ti greft materyalinin alternatif bir greft materyali olduğu, istenilen porözite ve elastisitenin uygulanan bölgeye göre seçilip kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Öte yandan materyalin başarısının daha iyi değerlendirilebilmesi için uzun dönem kemik iyileşmesi, mekanik direnç, büyüme faktörleri ve kök hücreler ile birlikte uygulanması gibi çalışmalar gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler

**:Nikel-Titanyum, Sert Doku Kesme-
İnceltme tekniği , Porözite,Kemik
iyileşmesi, Osseoentegrasyon.**

SUMMARY

Histopathologic evaluation of Ni-Ti graft materials with different porosities on bone healing process

The aim of this study is to research; the effects of nickel-Titanium graft materials with different porosities to bone healing process; determine the differences between them; and if their effects are positive, add this grafting technique between the existing ones. It is considered that these materials are an alternative to the present ones, similar to the elasticity of bone, bio-compatible and cheap.

In our research 30 male rats are used as experimental animals. For insertion of the grafts with three different porosities; defects had been made in the right femur bone of the experimental animals which are separated into three different groups. Graft materials inserted into defects removed at the end of 12 weeks and histological samples are prepared using cutting-grinding technique.

Histological findings showed that, bone healing is successful with the grafts which are inside bone in three groups; no significant differences between groups and osseointegration occurred between newly formed bone and graft material.

It is concluded that Ni-Ti graft materials are an alternative graft materials and usage is possible with the desired porosity and elasticity. However, research on the subjects like mechanical strength, long term bone healing, application with growth factors and stem cells are needed.

Key Words

**: Nickel-Titanium, Hard Tissue
Cutting- Grinding Technique,
Porosity, Bone Healing,
Osseointegration.**

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
İNGİLİZCE ÖZET.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 Kemik.....	4
2.2 Greft Uygulamaları.....	7
GEREÇ VE YÖNTEM.....	15
3.1 Toz Metalurjisi Yöntemi ile Poröz Nikel-Titanyum Alaşımının Üretilmesi.....	15
3.2 Üretilen Greft Materyallerinin Uygulamaya Hazırlanması.....	17
3.3 Cerrahi İşlemler.....	17
3.4 Histopatolojik Preparatların Hazırlanması.....	22
BULGULAR.....	26
4.1 Histopatolojik Bulgular.....	27
TARTIŞMA.....	41
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	48
KAYNAKLAR.....	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

µm	: Mikron
BMP	: Bone morphogenic protein
CaP	: Calcium Phosphate
FGF	: Fibroblast growth factor
GMA	: Glikolmetakrilat
GPa	: Giga Pascal
HA	: Hidroksi Apatit
IGF-I	: Insulin like growth factor - I
IGF-II	: Insulin like growth factor – II
Ni-Ti	: Nikel-Titanyum
ODTÜ	: Ortadoğu Teknik Üniversitesi
PRP	: Platelet rich plasma
YDR	: Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
1 Titanyum alaşımların elastik modül tablosu (GPa).....	13
2 Ni-Ti disklerin elde edilme işlemleri.....	16
3 Cerrahi aşamalar.....	18
A) operasyon bölgesinin izolasyonu	
B) Femur kemiğinin proksimal kısmının belirlenmesi	
C) Cilt insizyonu	
D) Yumuşak dokuların diseksiyonu	
4 Cerrahi aşamalar	19
A) kemiğin açığa çıkarılması ve ekartasyonu	
B) 3 mm. çapında defekt oluşturulması	
C) Oluşturulan defekt	
D) Greftin yerleştirilmesi	
5 Cerrahi aşamalar.....	20
A) Periost ve kas dokularının suture edilmesi	
B) Cilt insizyonunun primer olarak suture edilmesi	

- 6** Doku örneklerinin alınması.....21
- A) %10 formalin içeren saklama kapları
 - B) Doku örneklerinin çıkartılması
 - C) Yumuşak dokulara hareket etmiş greft materyali
 - D) Kemik içerisinde iyileşmesini tamamlamış greft materyali
- 7** Çalışmanın yapıma şeklini gösteren topoğrafik histolojik kesit görülüyor. Ratlarda standart kemik defekti içine konulan değişik poröziteler içeren greft materyali ile içersine doğru ilerleyen yeni kemik oluşumu izlenmektedir. Porözitelerin bazıları ise bağ dokusu ile dolu görülmektedir. HEx40.....28
- 8** Farklı porözitelere sahip greft materyalleri kesitleri görülmektedir. A: %50, B: %60, C: %70 poröziteye sahip örneklerdir. Yüzde oranı arttıkça poröz boşluklar sayıca artmaktadır. HEX100.....29
- 9** Porözite değeri %50 olan ilk grup olgularda iki örnekte greft materyali ve kemik ilişkisi görülmektedir. Greft materyali siyah renkte granüler madde görünümündedir.

Trikrom boyası ile yeşil renge boyanan ise kemik dokusudur. Kemik dokusunun greftin alt kısmından başlayarak kemik içersine ilerlediği görülmektedir. HEx40.....32

10 Porözite değeri %50 olan ilk grup olgularda iki örnekte greft materyali ve kemik ilişkisi büyük büyütme görüntüsü ile izlenmektedir. Kemik dokusunun greft içersine ilerlediği ve kemik-greft arasında, arada mesafe olmadan direkt temasın bulunduğu görülmektedir. HEx10.....33

11 Porozite değeri %60 olan ikinci grup olgulardaki bir örnekte greft materyali ve kemik ilişkisi küçük büyütme görüntüsü ile izlenmektedir. Kemik dokusunun greftin 1/3' lük dış kısmını geçtiği ve içeriğe ilerlediği izlenmektedir. Kemik dokusu yeşil renkte, greft materyali siyah renkte görülmektedir. Kemik olmayan alanlarda ise porözite alanlarında bağ dokusu bulunmaktadır.HEx40.....35

- 12** Porözite değeri %60 olan olgularda kemik dokusunun greft materyalini hemen tümüyle çevrelediği ve içersine ilerlediği görülmektedir. Yandaki küçük resimde ise lameller yapıdaki kemiğin prozite alanlarından içeri doğru ilerlediği ve kemik-greft ilişkisinin düzenli olduğu seçilmektedir. HEx40 ve HEx100.....36
- 13** Porözite değeri %60 olan iki olguda büyük büyütmede lameller yapıdaki kemiğin prozite alanları içini doldurduğu ve kemik ile greft materyalinin direkt kontağı görülmektedir. Sağdaki resimde greft çevresinde periodontal lif benzeri bağ dokusu liflerinin bulunduğu da izlenmektedir . HEx100.....37
- 14** Porözite değeri %70 olan üçüncü grup olgulardaki bir örnekte greft materyali ve kemik ilişkisi küçük büyütme görüntüsü ile izlenmektedir. Kemik dokusunun greftin çevresini sardığı ve içeriğe ilerlediği izlenmektedir. Greftin orta kısımlarında yeşil renkte kemik trabekülleri görülebilmektedir .

Greft materyali siyah renkte görülmektedir

Kemik olmayan alanlarda ise porözite

alanlarında sarı-kahve renkte boyanan

bağ dokusu bulunmaktadır HEx40.....38

15 Kemik defekti tam oluşturulamamış

bir olguda kemik yüzeyine yerleşen

greft materyali alt kısmında yeni kemik yapımı

görülmemektedir. Bu olguda greft materyali

kenar kısımlarında kemik seviyesinde sınırlı

bir yükselme oluşmuştur. Ancak greft içinde

kemik yapımı izlenmemiştir. HEx40.....39

16 Üçüncü grupta, değişik örneklerde, büyük

büyütme ile greft materyali çevresinde örgü,

kısmen lameller kemik yapısında yeni kemik

trabekülleri izlenmektedir. Kemik dokusu ile greft

materyalinin arada bir doku bulunmadan direkt

teması büyük büyütme ile belirgin şekilde

görülebilmektedir. HEx400.....40

GİRİŞ

Kemik, vücudun iskeletini oluşturan , son derece karışık ve yüksek oranda özelleşmiş bir bağ dokusudur. Kemik sadece mekanik bir destek sağlamakla kalmaz, özellikle kalsiyum ve fosfor gibi birtakım mineraller için depo vazifesi de görür. Yaşam boyunca, herhangi bir skar dokusu oluşturmadan kendi kendine özel bir rejenerasyon veya remodeling gösterme kapasitesinden dolayı güzel bir dinamik doku örneği olabilir. Kemik dokusunun geniş bir rejenerasyon kapasitesi vardır ve orijinal yapısını ve fonksiyonunu tamamen eski haline getirebilir. Ancak bazen travma, enfeksiyon, kistler ve tümörler gibi nedenlerden ötürü oluşan kemik defektleri , kemik dokusu ile iyileşemeyebilir. Böyle durumlarda iyileşmeyi kolaylaştırmak veya başlatmak için kemik defektlerinin kemik greft materyalleri ile doldurulması gerekebilir.

Kemik defektlerinin tedavisi ve restorasyonu uzun bir geçmişe sahiptir. Modern tıpta Dr Philip von Walter Kemik defektlerinin tedavisinde greft uygulamalarını yapan ilk cerrah olarak kabul edilir (1821). 1920 lerden sonra kemik grefti uygulamaları sık uygulanan bir cerrahi işlem halini almıştır ve günümüzde de sıklıkla uygulanmaktadır.

Kemik grefti uygulamaları iki amaca hizmet eder.Bunlar kaybolan bir kemiğin yerine koyulması veya kemik formasyonun düzeltilerek yapısal bütünlük ve fonksiyonun yeniden sağlanmasıdır.

Günümüzde kemik defektlerinin doldurulması amacıyla çeşitli greft materyalleri kullanılmaktadır. Bu kemik greftleri otogreft, allogreft (homogreft), heterogreft (ksenogreft) ve alloplastik materyaller olmak üzere dört ana grupta değerlendirilmektedir.

Kemik greftleri içerisinde otogreftler, yüksek osteojenik özelliklerinden ve reddedilme risklerinin çok düşük olmasından dolayı halen altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak otojen greftlerin ikinci bir cerrahi saha gerektirmeleri, elde edilen kemik miktarının sınırlı olması ve greftin alındığı bölgede de defekt oluşma ihtimali bulunması bilim adamlarını insan vücudu ile uyumlu alternatif greft materyalleri aramaya itmiştir. Bu arayış içerisinde pek çok materyal greft olarak denenmiş ve araştırma sonuçları rapor edilmiştir.

Başka bireylerden (homograft) veya canlılardan (heterograft) alınan greftler antijenik özellikler gösterdiğinden çok başarılı sonuçlar elde edilememiştir. Bu greftlerin antijenik özelliklerini ortadan kaldırmak için çeşitli işlemler uygulanmış ve bu yöntemler sonucunda başarılarında bir miktar artış sağlanmıştır.(Ör: Dondurulmuş-Kurutulmuş Kemik Grefti). Ancak canlılardan alınan greftlerin bu işlemlere rağmen risk taşıyabilmeleri greft uygulamalarında araştırmacıları sentetik greftlere (allograft) yöneltmiştir.

Günümüzde diş hekimliği cerrahi alanında en çok kullanılan sentetik materyaller HA (hidroksiapatit) ve TCP (Tricalciumphosphate) dir. CaP esaslı greft materyelleri yüksek düzeyde biyoyumluluk gösterirler. Ayrıca bu materyeller iyi birer taşıyıcıdırlar. (Tetrasiklin gibi ilaçların greft uygulanan bölgeye greft ile birlikte yerleştirilmesi) Ancak bu avantajlarının yanında özellikle partikül halinde uygulandıklarında kuvvetlere yeterli direnç gösteremeyebilirler. Blok halinde uygulandıklarında ise kemik elastisitesi ile eşdeğer olmadıklarından dolayı uygulanan bölgeye göre kırılmalar görülebilir.

İnsanlarda kullanılması amacı ile geliştirilmiş ilk metal alaşım 1900' lerin başında üretilen vanadium-çelik alaşımıdır. Bu alaşımın zayıf biyoyumluluk, mekanik yetersizlikler ve korozyon gibi pek çok dezavantajı görülmüş ve kullanım alanı kısıtlanmıştır. Daha sonraları cobalt-chrome, paslanmaz çelik ve titanyum alaşımları gibi pek çok alaşım greft olarak denenmiş ve sonuçları rapor edilmiştir. Titanyum alaşımları özellikle biyoyumluluk ve korozyona direnç açısından önplana çıkmış ve araştırmaları daha çok titanyum ve alaşımları üzerine yöneltmiştir.

Metal-alaşım greftler içerisinde Ni-Ti greftler yüklemede mekanik direnç, süperelastisite ve diğer materyellerin hepsinden fazla kemiğe yakın elastik modüle sahip olma özelliğinden, dolay ı son zamanlarda önplana çıkmıştır. Ni-Ti greftlerin yapılan araştırmalar sonucu iyi biyoyumluluk gösterdiği de rapor edilmiştir. Ni-Ti greftlerin geliştirilmesi, avantajlarının arttırılması ve üretimlerinin kolaylaştırılması için literatürde şitli çalışmalar yapılmıştır.

Bu çalışmaların ana amacı Ni-Ti greftlerin eksik olan özellikleri olan ideal matriks yapısını (poröz yapı) sağlamak ve bu yapı içerisinde kemik iyileşmesi arttırmak üzerine yoğunlaşmıştır.

Bizim alışmamızda üretim tekniği literatürde rapor edilen araştırmalardan farklı olarak ODTÜ Metalurji anabilim dalında geliştirilen farklı porözitelerdeki Ni-Ti greft materyellerinin kemik iyileşmesine etkileri histopatolojik olarak değerlendirilecektir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda biyoyumlu, kolay steril edilebilen ve üretim maliyeti ucuz olan bu greftleri günümüzde kullanılan kemik greft materyelleri arasına koymak hedeflenmiştir.

GENEL BİLGİLER

2.1. KEMİK

Kemik, vücudu oluşturan dokular arasında en sert olanıdır. Organizmada gerçek anlamda destek görevi yapan dokudur. Ayrıca organizmanın kalsiyum depolarıdır. Kalsiyum bakımından doymuş olduklarından serttir. Sert olmalarına rağmen kırıldak dokusundan farkları damar içermeleridir. Bu doku yapısında çeşitli tipte hücreler (osteosit, osteoblast, osteoklast) ve hücrelerarası madde (matrix) bulunmaktadır. Kemikğin enine kesiti incelendiğinde dış ve iç yüzeyleri bir zarla örtülüdür. Bunlardan dıştakine; periosteum, iç yüzeydekine; endosteum denir. Bu zarlar düzensiz sıkı bağ dokusundan yapılmışlardır. Periosteumun hemen altında dış halkasal sistem yer alır. Endosteumun hemen üstünde ise iç halkasal sistem bulunur.

2.1.1. Kemik Yapısı:

Kemik, organik (%35) ve inorganik (%65) maddelerden oluşur. Organik kısımda Tip I kollagen (%90-95), inorganik kısımda başlıca kalsiyum hidroksiapatit $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ bulunur. Vücuttaki kalsiyumun hemen tümü; fosfor, sodyum ve magnezyumun da büyük kısmı buradadır. Kemikleşme, temel olarak, kalsiyum hidroksiapatitin kemik matriksi üzerine çökmesidir. Kemiklerin mineralizasyonunda D vitamininin önemli rolü vardır. Organik kısım, hücrelerden ve proteinlerden oluşur. Başlıca hücreler osteoblastlar, osteositler, osteoklastlar ve osteoprogenitör hücrelerdir. Organik bölümdeki proteinlerin büyük çoğunluğunu oluşturan Tip I kollagen, osteoidin de ana maddesidir. Kemikte; osteokalsin, osteopontin ve osteonektin gibi maddeler de bulunur. Osteokalsinin serum düzeyi, osteoblastik-osteoklastik aktivitenin derecesini yansıtır.

Kemiklerin genetik olarak kodlanmış olan biçimlerini alma sürecine modelizasyon, erişkinlik boyunca görülen ve birbirini izleyen yapım/yıkım sürecine de remodelizasyon denir. Osteoklastik aktivite rezorpsiyonu (yıkımı); rezorpsiyon, osteoblastik aktiviteyi (yapımı) uyarır. Bu ilişki coupling olarak adlandırılır. Yapım-yıkım süreci normal kortikal kemikte ortalama 100 gün, trabeküler kemikte 200 gün sürer. Bu sürece trabeküler kemiğin katılımı çok daha yüksek düzeydedir.(1)

2.1.2. Kemik Oluşumu:

Uzun kemikler endokondral kemikleşme ile (kıkırdak taslağın kalsifiye olmasıyla); yassı kemikler ise membranöz kemikleşme ile (kıkırdak aşaması olmadan, doğrudan osteoide kalsiyum çökmesi ile) büyürler. Uzun kemiklerde büyüme, puberteye kadar büyüme plakları çevresinde daha çok olmak üzere devam eder. (Embriyo döneminde, tüm uzun kemiklerin önce kıkırdak taslakları oluşur daha sonra kemikleşecek olan bu taslaklar "primer kemikleşme merkezleri" olarak adlandırılırlar). (1)

2.1.3. Hücresel Bileşenler:

Oluşum ve remodeling sırasında üç temel kemik hücresi görev alır. Bunlar: Osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlardır. (1,2)

2.1.3.1. Osteoblastlar:

Osteoblastlar kemik iliğindeki hücrelerden, periostun kambiyum tabakasından veya komşu dokulardaki osteoprogenitör hücrelerin farklılaşmasından meydana gelir. Osteoblastlar bölünme yeteneğine sahip olmayan hücrelerdir.

Osteoblastlar öncelikli olarak matriks protein üretiminden ve osteoklastik fonksiyon dönüşümünden sorumludur. Büyüme , remodeling ve tamir işlevlerinde de görev alırlar. Matriks proteinleri sentezlenirken TGF- β , IGF-I, IGF-II, FGF, PDGF ve BMP'ler gibi osteoblastlar tarafından üretilen büyüme

faktörleri yapısal matriks proteinlerine katılırlar. Bu büyüme faktörleri, kemik rezorpsiyonu sırasında matriksten salınırlar ve osteoklastik rezorpsiyonla matriks oluşumunun entegrasyonunu sağlayan bir mekanizma oluştururlar. (1,2)

2.1.3.2. Osteositler:

Osteoblastlardan geliştiği düşünülen osteositler, mineralize kemik matriksinin derinlerinde gömülü olarak bulunurlar. Birbirleriyle ve kemik yüzeyindeki osteoblastlarla, hücresel uzantıları veya kanaliküller aracılığı ile bağlantı kurarlar. Bu hücrelerin, kan dolaşımı ile aralarındaki gelişmiş kanaliküler sistemleri sayesinde oksijen ve kalsiyum transferini sağlayarak kemiğin beslenmesinde etkin bir rol oynadığı düşünülmektedir. (1,2)

2.1.3.3. Osteoklastlar:

Osteoklastlar çok çekirdekli hücrelerdir.(2-100 çekirdek). Genellikle diğer kemik hücrelerinden daha büyüktürler. Osteoklastların üç kaynaktan geldiği düşünülmektedir.(3)

1-Osteoprogenitör hücreler

2-Mononükleer fagosit sistemi

3-Dolaşımdaki farklılaşmamış mononükleer hücreler

Osteoklastların rezorpsiyon sürecindeki rolü hem in vitro çalışmalarda hem de osteopetrozis gibi osteoklast fonksiyonunun bozulduğu kemik hastalıklarında yapılan incelemelerde gösterilmiştir.(3)

2.1.4. Kemik İyileşmesi:

Yaralanan bir dokunun yerine sıklıkla şekil ve işlev olarak orijinal dokudan daha farklı bir doku oluşur. Bu tür iyileşmeye tamir denilmektedir. Ancak doku rejenerasyonu, şekil ve işlevin bütün olarak yenilendiği iyileşmeyi tarif etmektedir.

Kemik dokusundaki iyileşme, yaralanmanın karakterine göre rejenerasyon ve tamir olgularını içermektedir. İyi stabilize edilmiş kırıklarda rejenerasyon ile iyileşme görülürken, geniş defektlerde tamir ile iyileşme görülmektedir. (4,5)

2.2. GREFT UYGULAMALARI

Günümüze kadar kemik fizyolojisi, histolojisi ve patolojisi hakkında edindiğimiz bilgiler ışığında, çeşitli nedenler ile kaybolan kemiğin rejenerasyon ile iyileşmesi ideal iyileşme olarak kabul edilmektedir. Greft uygulamalarında normal şartlarda tamir iyileşmesi gösterecek olan kemik dokusunun, rejenerasyon iyileşmesi göstermesini sağlamak, hem doku bütünlüğü hem de fonksiyonuna en fazla katkıyı sağlayacaktır. Ancak tam anlamıyla bir rejenerasyon otojen kemik greftleri kullanıldığında bile sağlanamamakta, belirli bir miktar rezorbsiyon görülebilmektedir. Otojen kemik greftlerinin membran ile yerleştirilmesi, vaskülerize kemik grefti kullanımı ve büyüme faktörleri ile beraber uygulanması gibi yöntemlerle halen rejeneratif özellikleri arttırılmaya çalışılmaktadır.(6,7)

2.2.1 Greft Materyalleri

Greft materyallerinin kemikle bağlanması üç mekanizma ile olur.

- 1-Osteojenez
- 2-Osteokondüksiyon
- 3-Osteoindüksiyon

Osteojenez, osteoblastların ve prekürsör hücrelerin greft materyali ile birlikte defekt bölgesine transplante edildiği durumlarda gerçekleşir.

Osteokondüksiyon, greft materyalinin prekürsör hücreler ve osteoblastların içerisine doğru büyümesi için bir çatı görevi gördüğü durumlarda gerçekleşir. Eğer kullanılan materyal dereceli olarak rezorbe oluyorsa yerini

kemik dokusuna bırakır. Rezorbe olmayan materyaller remodeling sırasında yer değiştirmez ve içerisine kemik apozisyonu ile sınırlıdır.

Osteoindüksiyon, bir veya daha fazla ajanın etkisi ile farklılaşmamış lokal bağ dokusu hücrelerinin farklılaşması sonucunda yeni kemik oluşumunu başlatır. Elde edilme yöntemine göre ise kemik materyalleri otojen, homojen, heterojen, ve alloplastik olmak üzere dört ana grupta incelenir. (8,9)

2.2.1.1 Otojen Greftler:

Bireyin bir bölgesinden alınıp gerekli bölgeye nakil edilen, canlı osteoblast ve osteoprogenitör hücreleri içeren grefttir. Halen greft materyallerin altın standardı olarak kabul edilir. Otojen kemik greftlerinde kemik iyileşmesi osteojenez, osteokondüksiyon ve osteoindüksiyon yoluyla olur. (8)

Otojen kemik greftlerinin avantajları:

1. Yüksek biyouyumluk
2. Yüksek Osteojenik etki
3. Antijenik özellik göstermemesi
4. -Ek maliyet getirmemesidir.

Otojen kemik greftlerinin dezavantajları ise:

1. İkinci bir cerrahi alan oluşması
2. Alınabilecek greft miktarının sınırlı olması
3. Donör sahada oluşabilecek komplikasyonlar olarak sayılabilir.

2.2.1.2 Homojen greftler:

Aynı türün genetik olarak benzer bireyleri arasında taşınan greftlere denir. İki alt grupta incelenebilir.

2.2.1.2.1 Allogreftler:

Genetik olarak farklı aynı canlı türünden elde edilen greft tipidir. Antijenik özelliklerinin fazla olması en büyük dezavantajlarıdır. Bu nedenle Liyofilizasyon (dondurup-kurutma), Radyasyon uygulanması, demineralizasyon, deproteinizasyon gibi işlemler uygulanarak antijenik özellikleri azaltılmaya çalışılmıştır. Bu çalışmalar bir miktar başarılı olmuş ancak greftlerin reddedilme ve hastalık taşıma risklerini tamamen ortadan kaldırmamıştır.

2.2.1.2.2 İzogreftler:

Genetik olarak aynı özelliklere sahip (ikizler) bireyler arasında taşınan greft türüdür.

2.2.1.3 Heterojen Greftler:

Farklı türde canlı dokularından elde edilen greftlerdir. Günümüzde sıklıkla doğal mercan ve sığır kemiğinden elde edilen greftler kullanılmaktadır. Biyolojik olarak uyumlu ve osteokondiktif greftlerdir.

2.2.1.4 Sentetik Greftlerler (Alloplastik Materyaller):

Canlı doku içerisinde yerleştirilen sentetik inert yapıda materyallerdir. Günümüzde kullanılan çok sayıda sentetik greft materyali mevcuttur. Diş hekimliği alanında en çok kullanılan materyaller HA(hidroksiapatit), TCP (Tricalciumphosphate), Biyoaktif cam seramikler, Titanyum ve alaşımlarıdır. (10,11).

İdeal bir sentetik greft materyalinde bulunması gereken özellikler aşağıdaki gibi sıralanabilir.

1. Yüksek Biyouyumluluk
2. Mekanik basınçlara direnç
3. Kemiğe eşdeğer elastisite
4. Korozyona direnç
5. İdeal Matriks Yapısı
6. Kolay şekillendirilebilme (kişiye özel üretim)
7. Kolay uygulanabilirlik
8. Kolay üretim
9. Düşük maliyet

Günümüzde sentetik greft materyalleri üzerinde yapılan çalışmaların ana amacı bu özellikleri en üst seviyeye çıkartmaktır.

2.2.1.4.1 CaP Bileşikleri:

CaP esaslı greft materyalleri yüksek düzeyde biyo-uyumluluk gösterirler. Bu bileşiklerden en sık kullanılanları HA ve TCP dir. Çeşitli derecelerde rezorbe olabilirler. Ayrıca bu materyeller iyi birer taşıyıcıdırlar. (Tetrasiklin gibi ilaçların greft uygulanan bölgeye greft ile birlikte yerleştirilmesi).

Ancak bu avantajlarının yanında özellikle partikül halinde uygulandıklarında kuvvetlere yeterli direnç gösteremeyebilirler. Blok halinde uygulandıklarında ise kemik elastisitesi ile eşdeğer olmadıklarından uygulanan bölgeye göre kırılmalar görülebilir.

2.2.1.4.2 Biyoaktif Cam Seramikler:

Dr. Larry Hach tarafından ilk kez 1970 yılında geliştirilmiştir. Yapılarında Ca tuzları, Na tuzları, fosfat ve silikon bulunmaktadır. Yüksek derecede biyoaktif özelliğe sahiptirler; yalnızca kemikle değil yumuşak dokularla da bağ oluştururlar. Ancak içeriğindeki silikon nedeniyle greft içerisine damarlanmaya az miktarda ve geç izin verirler. Yapılan son çalışmalarla antibakteriyel etkinlikleri gösterilmiştir.

2.2.1.4.3 Metaller:

İnsanlarda kullanılması amacı ile geliştirilmiş ilk metal alaşım 1900' lerin başında üretilen vanadium-çelik alaşımıdır. Bu alaşımın zayıf biyouyumluluk, mekanik yetersizlikler ve korozyon gibi pek çok dezavantajı görülmüş ve kullanım alanı kısıtlanmıştır. Daha sonraları cobalt-chrome, paslanmaz çelik ve titanyum alaşımları gibi metaller greft olarak denenmiş ve sonuçları rapor edilmiştir.

Cobalt-chrome alaşımları üzerinde yapılan çalışmalarda Cobalt varlığına bağlı karsinojenite gösterilmiştir. Cobalt-chrome ve Paslanmaz çelik (316LLS) alaşımlarının her ikisinde yüksek elastik modül ve fazla miktarda korozyona uğradıklarından günümüzde tercih edilmemektedir.

Diş Hekimliği alanında bugün en sık kullanılan metal Titanyum ve alaşımlarıdır. Pek çok çeşidi olan Titanyum alaşımları içerisinde Saf Titanyum ve Ti-6AL-4V alaşımı en sık kullanılanlardır.

Kemik içi dental implantlarda, fiksasyon/rekonstrüksiyon vida ve plaklarında ve yönlendirilmiş doku rejenerasyonu için üretilen membranlarda Ti-6AL-4V veya saf titanyum tercih edilmektedir. Bu uygulamalardaki başarı titanyum ve alaşımlarının kemik grefti olarak kullanımına yönelik çalışmaları da beraberinde getirmiştir.

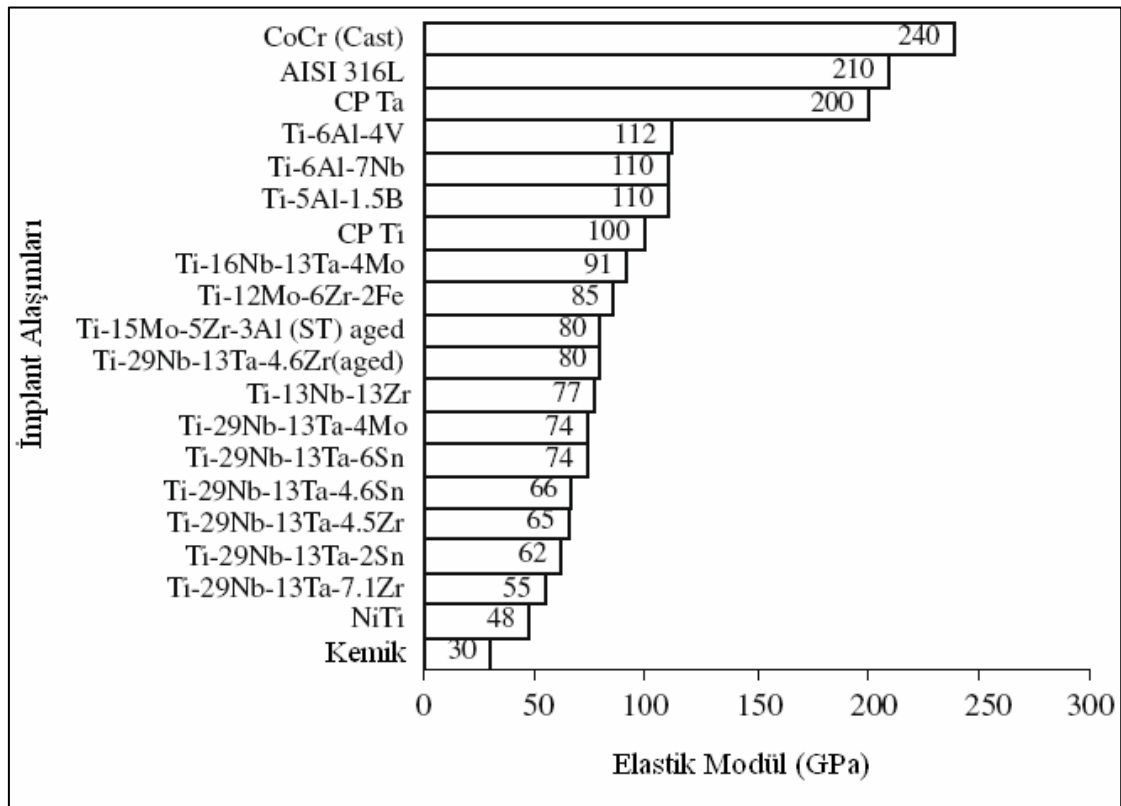
2.2.1.4.3.1 Nikel-Titanyum Alaşımlar:

Nikel-titanyum (Ni-ti), 40 yıl önce Buehler ve arkadaşları tarafından Naval Ordnance laboratuvarında (NOL) (Maryland) geliştirilmiştir. Metallerin sembolleri geliştirildiği yer ile birleştirilerek NİTİNOL ismi verilmiştir. Tüm Nİ-Tİ metalleri, paslanmaz çelikten daha yumuşaktır. Sıcağa dayanamazlar ve düşük elastik modülüne sahiptir, fakat daha dayanıklı, daha elastiktirler. Şekil hafızası ve süperelastikiyet gösterirler. NİTİ metallerin endodoti ve diğer dental ürünlerde başarılı olmasının sebebi bu iki özelliğidir ve bunları sağlayan kristal yapıdaki değişimlerdir. Kalıcı deformasyon olmadan strese dayanabilme yeteneğine (ilk kafes formuna geri dönmesine) süperelastiklik adı verilir. Bu özellik sadece NİTİ da bulunmaz. Cu₂Ni, CuAl, AuCd ve NiNb metallerinde de bu özellik vardır. Fakat bu metaller daha az biyokompatibilite gösterirler.

Ni-Ti metallerine sterilizasyon yöntemlerinin etkileri farklı bulunmuştur. Viana AC ve ark. yaptıkları çalışmada 5 defa basınçlı buhar otoklavında steril edilen Ni-Ti kanal aletlerinin, süperelastiklik özellikleri, reziliensi ve yüzeyinde anlamlı bir değişiklik saptamamışlardır..(12) Valois CR ve ark. ise yaptıkları çalışmada Ni-Ti kanal aletlerinin yüzeylerinde 10 defa sterilizasyonun ardından topografik değişiklikler gözlemişlerdir.(13)

Yapılan çalışmalara bakılarak, greft materyali olarak kullanıldığında Ni-Ti alaşımların birden fazla sterilizasyon işlemi gerektirmeyeceği; bu nedenle özelliklerinde değişiklik olmayacağı öngörülebilir.

Ni-Ti yüklemde mekanik direnç, süperelastisite ve diğer materyellerin hepsinden fazla kemiğe yakın elastik modüle sahip olma özelliğinden, dolayı son zamanlarda greft materyali olarak önplana çıkmıştır.(Şekil 1) Ni-Ti greftlerin yapılan araştırmalar sonucu iyi biyoyumluluk gösterdiği de rapor edilmiştir.(14-16) Ni-Ti greftlerin geliştirilmesi, avantajlarının artırılması ve üretimlerinin kolaylaştırılması için literatürde çeşitli çalışmalar yapılmıştır. (17-20)



Şekil 1 : Titanyum alaşımların Elastik Modül Tablosu (GPa)

Bu çalışmaların ana amacı Ni-Ti greftlerin eksik olan özellikleri olan ideal matriks yapısını (poröz yapı) sağlamak ve bu yapı içerisinde kemik iyileşmesi arttırmak üzerine yoğunlaşmıştır.

Bizim alışmamızda üretim tekniği literatürde rapor edilen araştırmalardan farklı olarak ODTÜ Metalurji anabilim dalında geliştirilen farklı porözitelerdeki Ni-Ti greft metaryellerinin kemik iyileşmesine etkileri histopatolojik olarak değerlendirilecektir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda biyoyumlu, kolay steril edilebilen ve üretim maliyeti ucuz olan bu greftleri günümüzde kullanılan kemik greft materyalleri arasına koymak hedeflenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Yapılan ön çalışmalar sonucu deney hayvanı olarak Sprague Dawley türü erkek sıçanlar secilmiştir. ODTU Metalurji Anabilim dalında Toz Metalurjisi yöntemiyle üretilen greftlerin yerleştirilmesi için en uygun bölgenin femur kemiği olduğu belirlenmiştir. Sıçan femurunda 3mm. çapında ve 2mm. derinliğinde üretilen greftlerin yerleştirilmesi ve doku bütünlüğünü bozmadan kemik iyileşmesinin takip edilebilmesi için yeterli kemik genişliği saptanmıştır.. 30 adet deney sıçanı 3 gruba ayrılarak her sıçanda 1 adet greft yerleştirilmesi planlanmıştır. Deneklerin 12 hafta sonunda sakrifikasyonunu takiben femur kemiklerinin çıkartılması ve histolojik inceleme için hazırlanması planlanmıştır. Grupların dağılımı aşağıdaki gibidir.

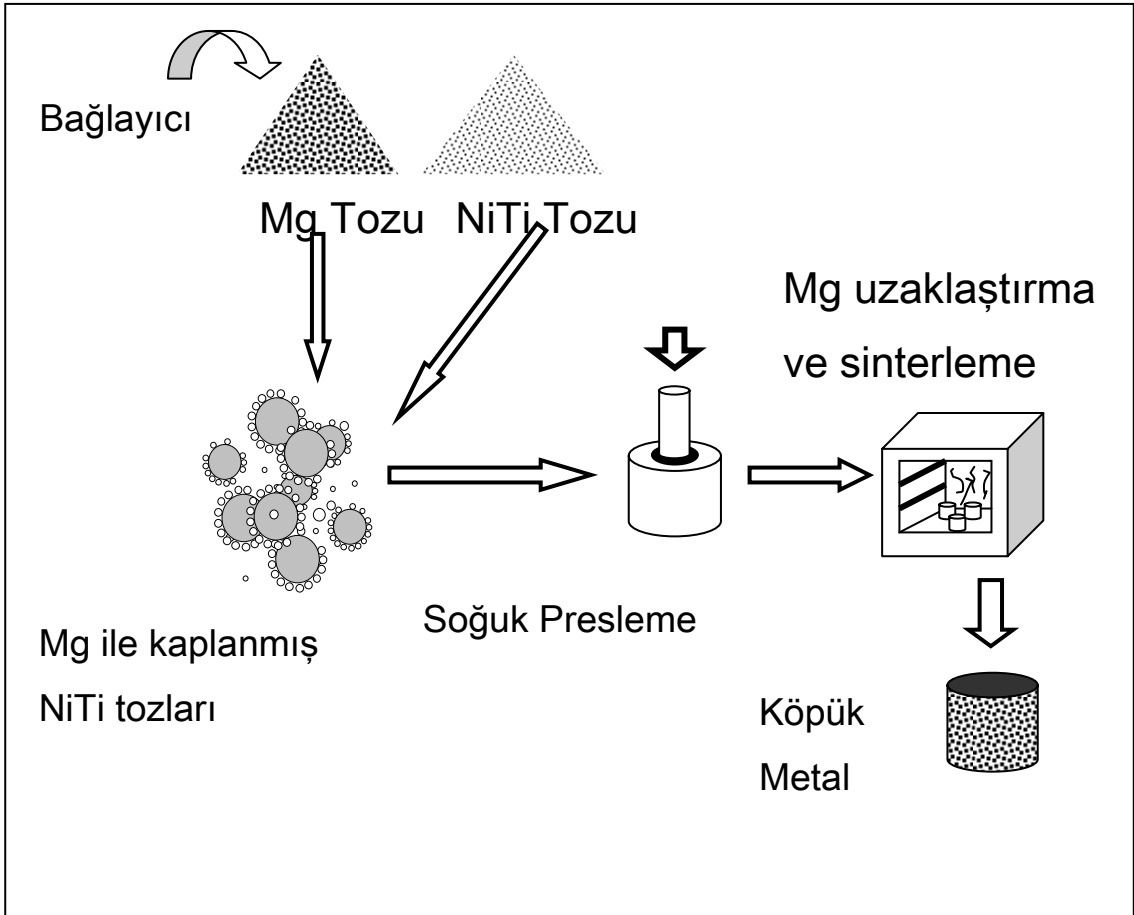
1. Grup: %50 Mg eklenen ----- %59 porozite
2. Grup: %60 Mg eklenen ----- %66 porozite
3. Grup: %70 Mg eklenen ----- %74 porozite

3.1 Toz Metalurjisi Yöntemi ile Poröz Nikel Titanyum Alaşımların Üretilmesi:

Poröz Ni-Ti şekil bellekli alaşımların üretiminde boşluk oluşturucu olarak magnezyum kullanılmıştır. Eşit atomiğe yakın, hafif nikelce zengin alaşım tozları (Ti50,6 Ni; <45 micron), hacimce % 50, 60 ve 70 oranında magnezyum(250-600 mikron arasına elenmiş) tozları ile, polivinilalkol yardımıyla karıştırılarak homojen bir şekilde, magnezyum tozları NiTi tozlarıyla kaplanmıştır. Toz karışımı sertleştirilmiş takım çeliğinden yapılmış silindirik kalıplarda 400 Mpa basınç altında basılarak 10mm çapında ve uzunluğunda numuneler üretilmiştir. Daha sonra bu numuneler 1100 santigrat derecede 1 saat süreyle sinterlenmiştir.

Üretim yöntemi olarak toz metalurjisi tekniğinin seçilmesindeki etkenler: NiTi ve magnezyumun özellikle sıvı fazda son derece reaktif olmaları, titanyum nikelin ergime sıcaklığının yüksek olması, tozların boyut ve şekillerinin

ayarlanarak gözenek yapısı ve mekanik özelliklerin kontrol edilebilmesi, dönüşüm sıcaklıklarının kompozisyona olan yüksek duyarlılığı nedeniyle bileşimin bu yöntemle çok daha kolay ayarlanabilmesi olarak sıralanabilir. Aşağıdaki şekilde işlemin genel akış şeması verilmiştir. (Şekil 2)



Şekil 2: Ni-Ti disklerin elde edilme işlemleri

Elde edilen alaşımların yoğunlukları ve poröziteleri Arşimed kanununun Sartorius hassas denklemine uyarlanması ve yoğunluk belirleme setiyle hesaplanmıştır.

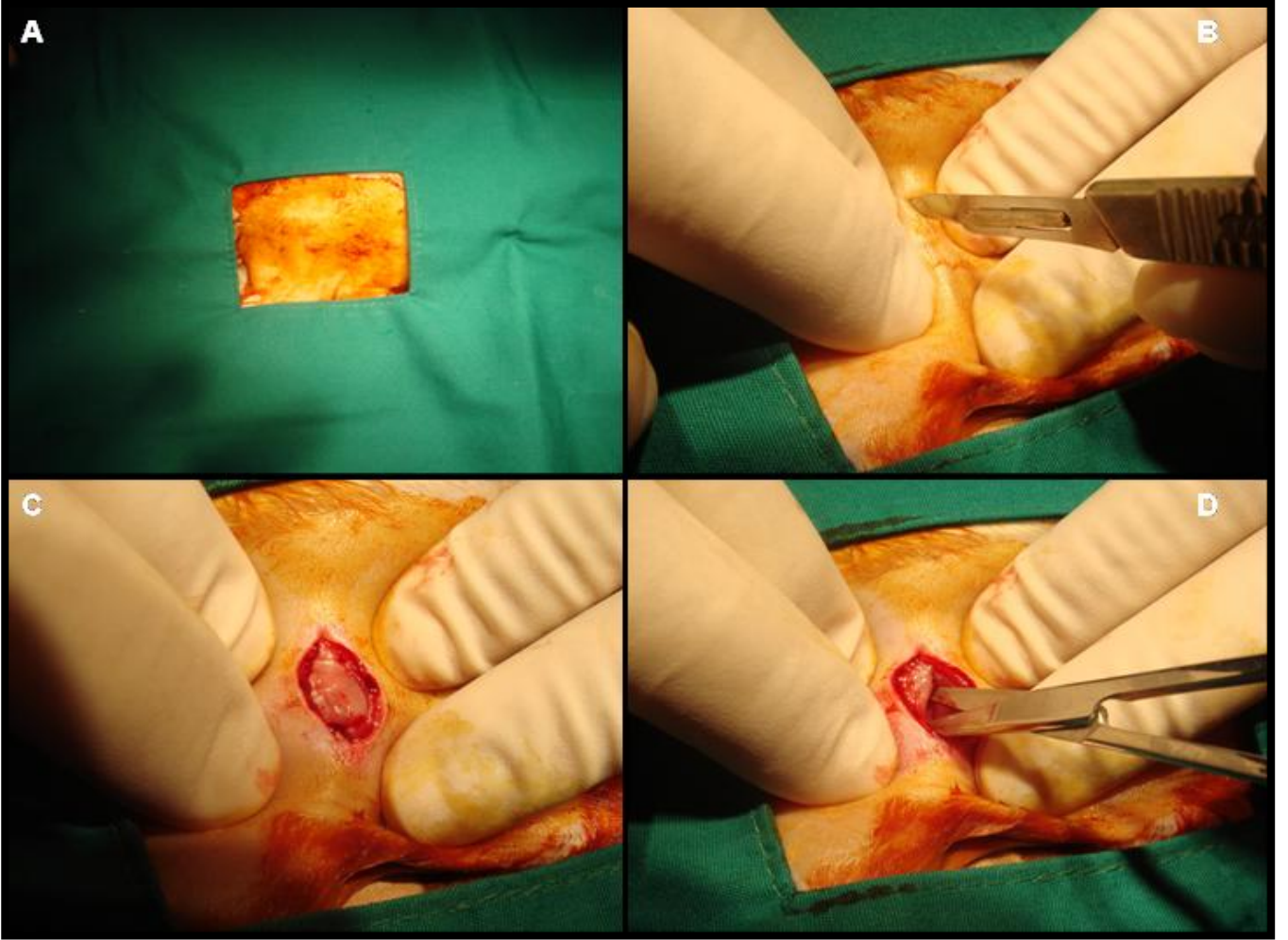
3.2 Üretilen Greft Materyallerinin Uygulamaya Hazırlanması:

NiTi greftler yüzey özelliklerini geliştirmek için nitrik ve hidroklorik asit ile asitlenmiş daha sonra 24 saat NaOH solüsyonunda nötralize edilmiştir. Ayrıca greftler içerisinde artık yapıların kalmaması için ultrasonik banyoda deiyonize su ile yıkanmış ve 70% etanol ile yağlarından arındırılmıştır. En son olarak greftler deney hayvanlarına yerleştirilmeden önce 30 dk. 121 C de otoklave edilerek ile uygulamaya hazır hale getirilmiştir.

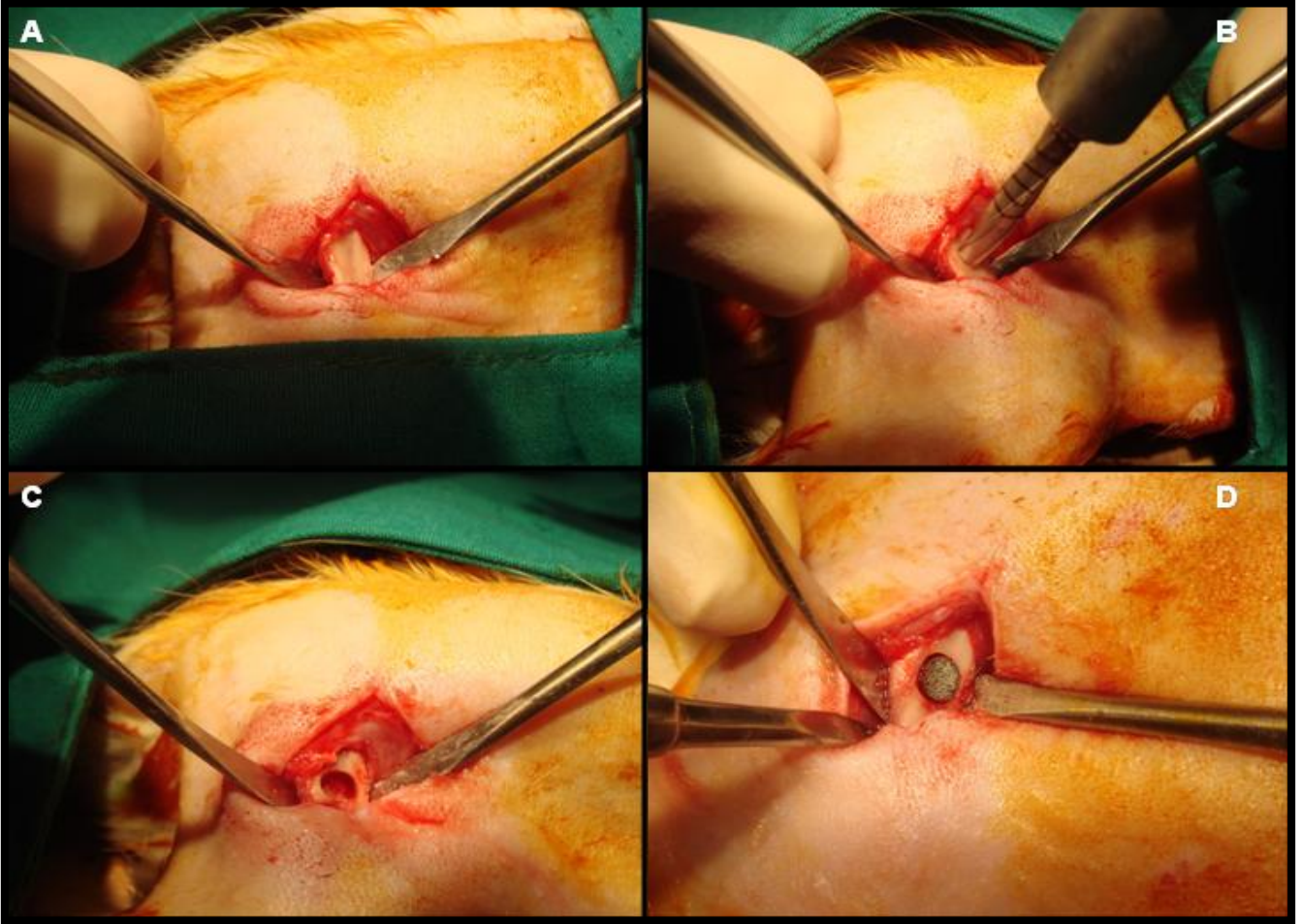
3.3 Cerrahi İşlemler:

Cerrahi işlemlere başlanmadan önce deneklere premedikasyon amacı ile intramusküler 8mg/kg xylazine uygulandı. Anestezi sağlanması amacı ile 50 mg/kg Ketamin intramusküler olarak enjekte edildi.

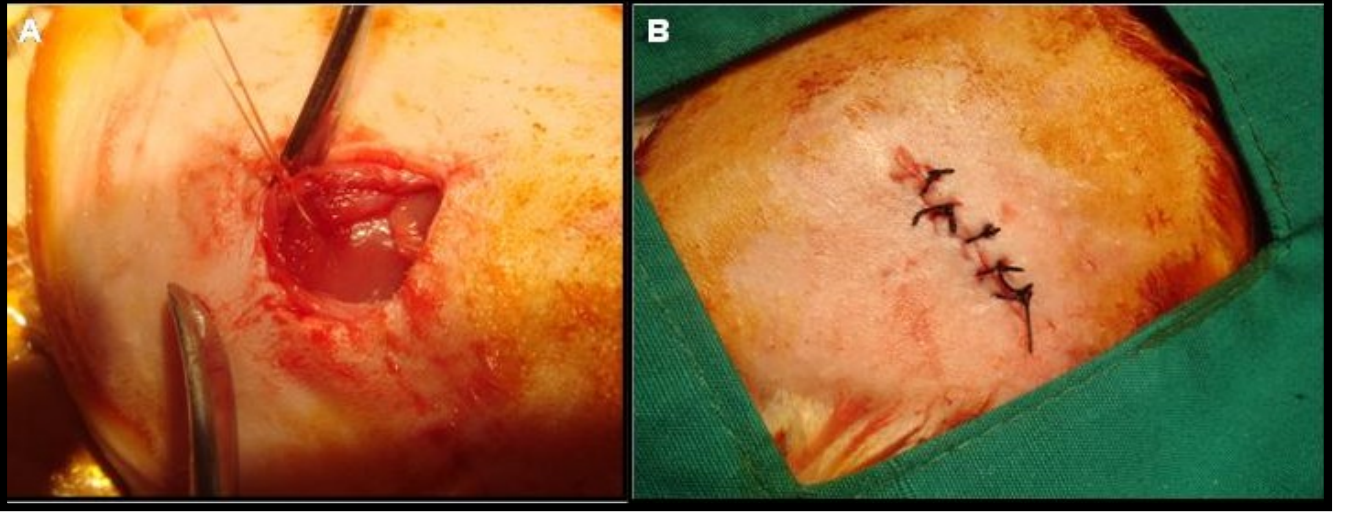
Derin anestezi sağlandıktan sonra femur bölgesindeki deri traş edildi ve cilt dezenfektanı ile temizlendi. Ayrıca operasyon bölgesi steril cerrahi örtüler ile izole edildi.(Şekil 3-A) Femur'un distal yüzeyine uzunlamasına yaklaşık 1.5 cm'lik cilt insizyonu yapıldı. (Şekil 3-B) Sırası ile bağ dokusu, yağ dokusu, kas dokusu ve periost diseke edilerek kemik açığa çıkarıldı.(Şekil 3-C,D) Kemik yüzeyinde çalışma yapılacak alan ekartörler ile açıldı.(Şekil 4-A) 3 mm. çapındaki bir trephine frez ile serum fizyolojik irigasyonu altında femurun proksimalinde bir kavite açıldı. (Şekil 4-B,C) Kavitenin derinliği yaklaşık 2 mm. olarak ölçüldü. Açılan kaviteye üretilen greft materyali yerleştirildi. (Şekil 4-D) Sırası ile periost ve kas dokuları karşılıklı yaklaştırılarak 3/0 Vicryl (poliglaktin 910) (Ethicon, Johnson & Johnson Intl., Brussels, Belgium) ile suture edildi. (Şekil 5-A) Son olarak cilt 3/0 İpek (Doğsan, Trabzon, Türkiye) suture ile primer kapatıldı. (Şekil 5-B) Ağrı kontrolü amacıyla tüm deneklere 3 gün süreyle günde 2 defa Subkutan 0.02mg Fentanil uygulandı.



Şekil-3 Cerrahi aşamalar: A) operasyon bölgesinin izolasyonu, B) Femur kemiğinin proksimal kısmının belirlenmesi, C) Cilt insizyonu, D) Yumuşak dokuların diseksiyonu.



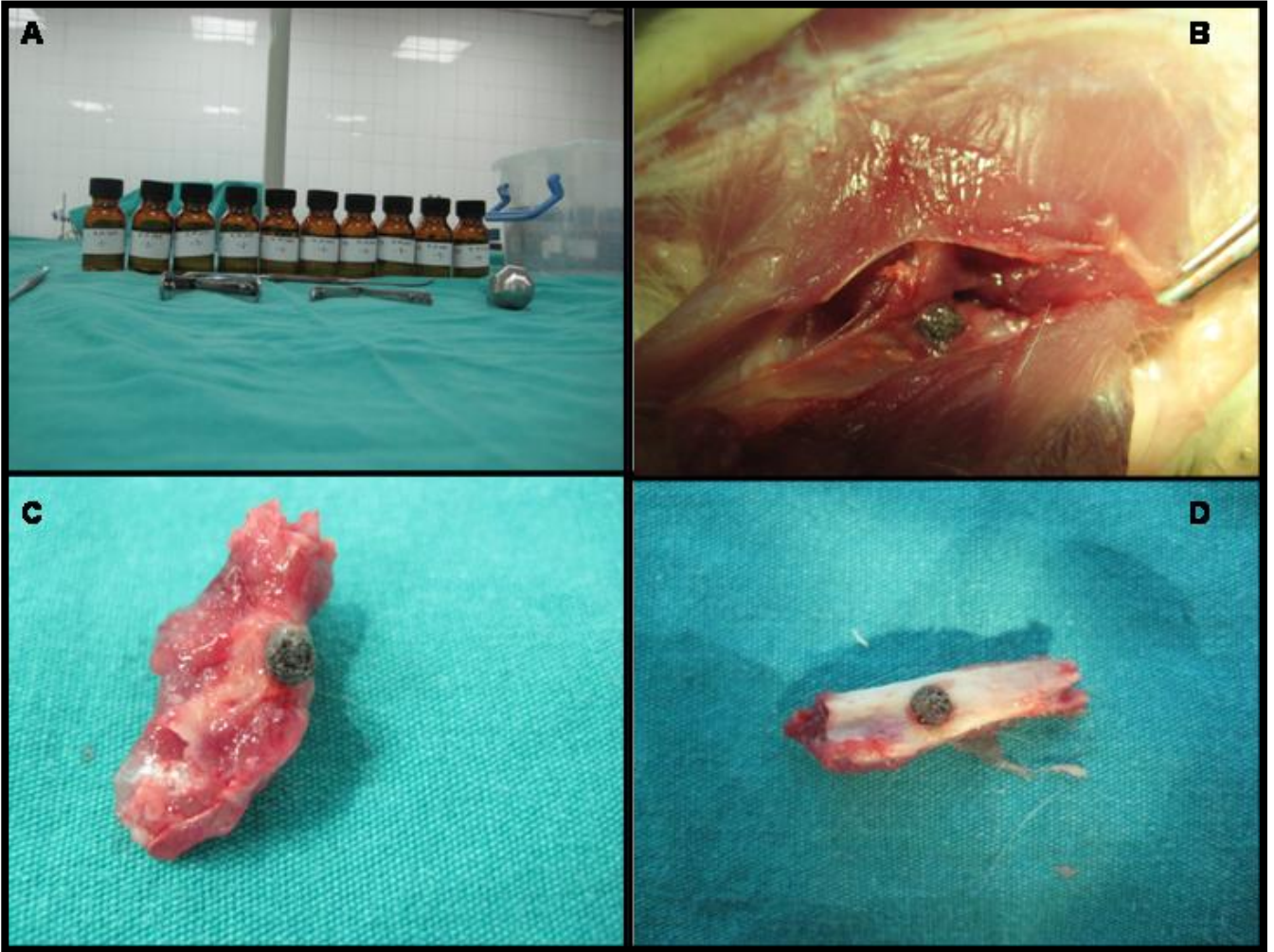
Şekil-4 Cerrahi aşamalar: A) kemiğin açığa çıkarılması ve ekartasyonu, B) 3 mm. çapında defekt oluşturulması, C) Oluşturulan defekt, D) Greftin yerleştirilmesi.



Şekil-5 Cerrahi aşamalar: A) Periost ve kas dokularının suture edilmesi, B) Cilt insizyonunun primer olarak suture edilmesi.

Hayvanların bakımları ve beslenmeleri Başkent Üniversitesi Üretim ve Araştırma Merkezinde Bakım sorumluları tarafından veteriner hekim kontrolünde sağlandı.

Denekler operasyondan 120 gün sonra sakrifiye edildiler. Sakrifikasyon amacı ile aşırı doz anestezi (150mg/kg pentotal overdoz Ketamin) uygulandı. Sakrifiye edilen deneklerin femurları ampute edilerek %10 tampon formalin solüsyonuna yerleştirildi. (Şekil 6-ABCD) Histopatolojik preparatların hazırlanması Almanya, Hamburg Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Sert Doku Bileme laboratuvarında gerçekleştirildi.



Şekil-6 Doku örneklerinin alınması: A) %10 formalin içeren saklama kapları, B) Doku örneklerinin çıkartılması, C) Yumuşak dokulara hareket etmiş greft materyali, D) Kemik içerisinde iyileşmesini tamamlamış greft materyali.

3.4 Histopatolojik Preparatların Hazırlanması:

Kemik dokusunun Histopatolojik incelenmesi için dekalsifiye edilmesi gerekir. Ancak bu işlem sırasında kemiğin inorganik içeriğinin yanı sıra organik içeriği de zarar görebilir. Dekalsifikasyon işlemi ile kemik matriksinde meydana gelen hasarı önlemek, sert ve yumuşak dokuların bir arada izlenmesini sağlamak amacı ile farklı ve özel bir yöntem uygulandı. Cutting-Grinding denilen bu yöntem; fiksasyon, dehidratasyon, plastik infiltrasyon, gömme ve polimerizasyon, blokların hazırlanması, yüzey hazırlığı, paralel slay yapıştırması, ayırma kesisi, son ince kesitin hazırlanması ve boyama olmak üzere 10 aşamadan oluşmaktadır.

3.4.1 Fiksasyon:

Doku örnekleri %10 tamponlu nötral formalin solüsyonunda 72 saat bekletilerek fiske edilirler. Bu işlem sonrasında dehidratasyona geçilmeden önce akarsuyun altında 30 dakika boyunca yıkanılırlar.

3.4.2 Dehidratasyon:

Formalin solüsyonu içinde fiske edilen örnekler dehidratasyon amacı ile Exakt 510 (Exakt Apparatebau GmbH & Co., Kg of Norderstedt, Germany) dehidratasyon infiltrasyon sistemi içine yerleştirilerek alkol çözeltileri ile muamele edilirler. Bu işlemde kademeli olarak artan derişimlerdeki (%50 , %70 , %80 , %86 , %90 , %95 , %100) etil alkol solüsyonları kullanıldı. Örnekler her bir çözelti içinde 1,5 saat bekletildi.

3.4.3 Plastik İnfiltasyon:

Alkol solüsyonundan çıkartılan örnekler her greft materyali için ayrı kaplar içinde bulunan Technovit 7200 VLC rezin içine (Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Germany) yerleştirildiler. Örnekler 24 saat boyunca +4 derecede ve karanlık ortamda inkübatörde bekletildi. Daha sonra rezinin derin dokulara ulaşmasını sağlamak amacıyla Exakt 530 (Exakt Apparatebau GmbH & Co., Kg of Norderstedt, Germany) re-infiltasyon cihazına yerleştirildi.

3.4.4 Gömme ve Polimerizasyon:

Plastik infiltasyonu tamamlanan örnekler gömme kalıplarına yerleştirildiler. Bu kalıplar rezin ile doldurulduktan sonra tekrar vakumlandılar ve polimerizasyon işlemine başlandı. Polimerizasyon işleminde Exakt 520 (Exakt Apparatebau GmbH & Co., Kg of Norderstedt, Germany) ışık polimerizasyon ünitesi kullanıldı. Polimerizasyon işleminde öncelikle 4 saat boyunca 580 nm dalga boylu düşük yoğunluklu mavi ışık 10 saat süre ile uygulandı. Polimerizasyon işlemi ekzotermik bir tepkime olduğundan sıcaklığın 40 °C 'nin altında tutulması sağlandı.

3.4.5 Blokların Hazırlanması:

Polimerize olan doku bloğu gömme kalıbından çıkartıldı. Plastik bloğun düzgün yüzeyi benzin ile silindikten sonra üzerine bir damla Technovit 7210 yapıştırıcı (Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Germany) damlatıldı. Exakt 402 vakumlu yapıştırma sistemine (Exakt Apparatebau GmbH & Co., Kg of Norderstedt, Germany) pleksiglas yerleştirildikten sonra blok ile pleksiglas yapıştırıldı. Yapıştırıcının homojen olarak dağılması için 30 saniye beklendi. Polimerizasyonu için adeziv presin ışığı açıldı ve 15 dakika boyunca mavi ışık uygulandı.

3.4.6 Yüzey Hazırlığı:

Pleksiglasa yapıştırılan bloklar defekt alanları kesi hattının ortasında kalacak şekilde Exakt Cutting-Grinding sistemi (Exakt Apparatebau GmbH & Co., Kg of Norderstedt, Germany) ile kesildi. Daha sonra 1.200 gridlik su zımparası yerleştirilmiş olan Exakt mikro-grinding sistemine (Exakt Apparatebau GmbH & Co., Kg of Norderstedt, Germany) yerleştirildiler. İşlem sonunda bloğun açığındaki yüzeyi pleksiglas yüzeyine paralel hale geldi. Paralellik sağlandıktan sonra 2.500 gridlik su zımparası ile yüzeyi parlatıldı.

3.4.7 Paralel Pleksiglas Yapıştırılması:

Paralel yapıştırma öncesinde blokların yüzeyleri benzin ile silindi. Yapıştırma ünitesindeki vakumlu bölgeye pleksiglas yerleştirildikten sonra örneğin bulunduğu pleksiglas ünitenin alt tabakasına yerleştirildi. Aralarına ışık ile polimerize olan yapışkan rezin damlatıldıktan sonra aralarında plastik blok bulunan paralel pleksiglaslar yapıştırıldı.

3.4.8 Ayırma Kesisi:

Paralel pleksiglas , Exakt Cutting-Grinding sistemi (Exakt Apparatebau GmbH & Co., Kg of Norderstedt, Germany) içinde bulunan vakum aparatına tutturuldu. Elmas testere pleksiglas yüzeyinde sıfırlandıktan sonra mikrometreli ayar kolu ile testere-pleksiglas arası mesafe 100 µm olacak şekilde ayarlandı. Sistemin soğutma suyu açılarak motor çalıştırıldı. Kesme işlemi tamamlandıktan sonra paralel pleksiglaslar ayrıldı. Çalışılacak örneğin bulunduğu pleksiglas vakum aparatından ayrıldı.

3.4.9 Son İnce Kesitin Hazırlanması:

Kesitin kalınlığının ölçülmesi için pleksiglas kalınlığı kompas ile ölçüldü. Sıfırlandıktan sonra toplam kalınlık ölçüldü. Yapıştırıcı kalınlığı ortalama 5-10 µm olarak tespit edildi. Toplam kalınlıktan pleksiglas ve yapıştırıcı kalınlığı çıkartılarak preparatın kalınlığı belirlendi. Bu değerden son istenilen değer çıkartılarak mikro-grinding sistemi için referans değer elde edildi. Bu değer sistem kontrol bilgisayarına girilerek inceltme işlemine başlandı. İşlem tamamlandıktan sonra 40 µm kalınlığında kesitler elde edildi.

3.4.10 Boyama:

Hazırlanan preparatlar %10 hidrojen peroksit solüsyonu ile yıkandıktan sonra Mason-Trichon Goldner Boyama tekniği kullanılarak boyandı. Artık boyalar temizlendikten ve kurutulduktan sonra lamel ile kapatılan preparatlar, mikroskopik incelemeye hazır hale geldi.

BULGULAR

Denek olarak kullanılan hayvanlar operasyon sonrasında ödem ve enfeksiyon açısından bir hafta süre ile takip edildi. Bu süre içerisinde herhangi bir komplikasyon görülmedi. Sakrifikasyona kadar geçen 120 gün boyunca deneklerin genel durumunda olumsuz bir değişiklik, yeme bozukluğu ve kilo kaybı görülmedi.

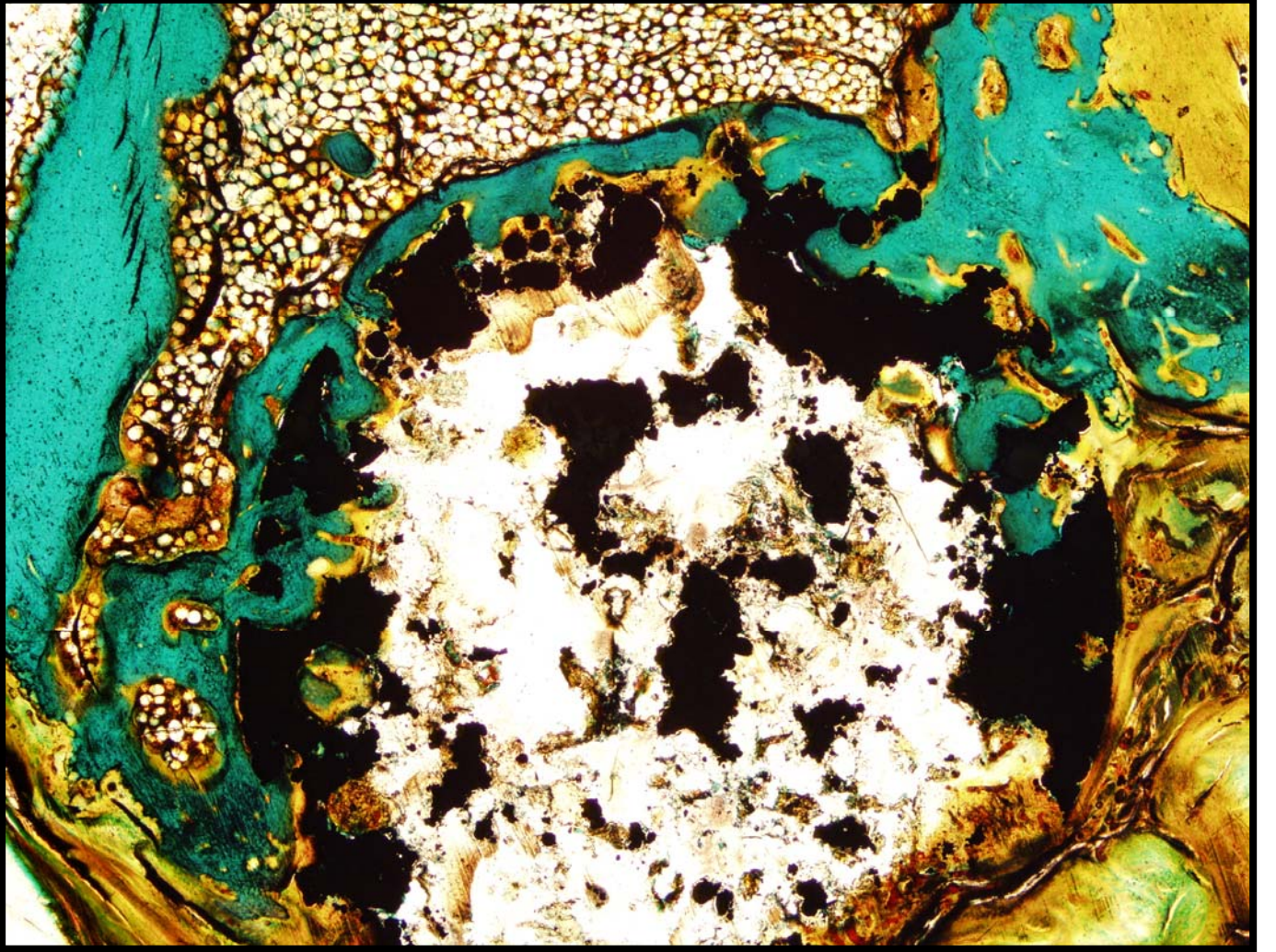
120 gün sonunda hayvanlar sakrifiye edilerek femur kemikleri çıkartıldı. Femur kemiklerinin çıkartılması sırasında A grubundan 4 , B grubundan 3 ve C grubundan 3 greftin yumuşak doku içerisine hareket ettiği gözlemlendi. Yumuşak doku içerisinde bulunan greftleri daha iyi değerlendirmek amacı ile %10'luk formalin solüsyonunda 72. saat bekletilen preparatlardan radyografi alındı.

Alınan radyografiler A grubundan 4, B grubundan 5 ve C grubundan 5 greftin yumuşak dokular içerisinde olabileceğini düşündürdü. Kemik içerisinde olan greftler ve yumuşak dokulardaki greftler çevre dokularla birlikte mikroskopik preparatların hazırlanması için Almanya, Hamburg Üniversitesi Patoloji Departmanına gönderildi.

Hazırlanan preparatların histopatolojik değerlendirmeleri yapıldı.

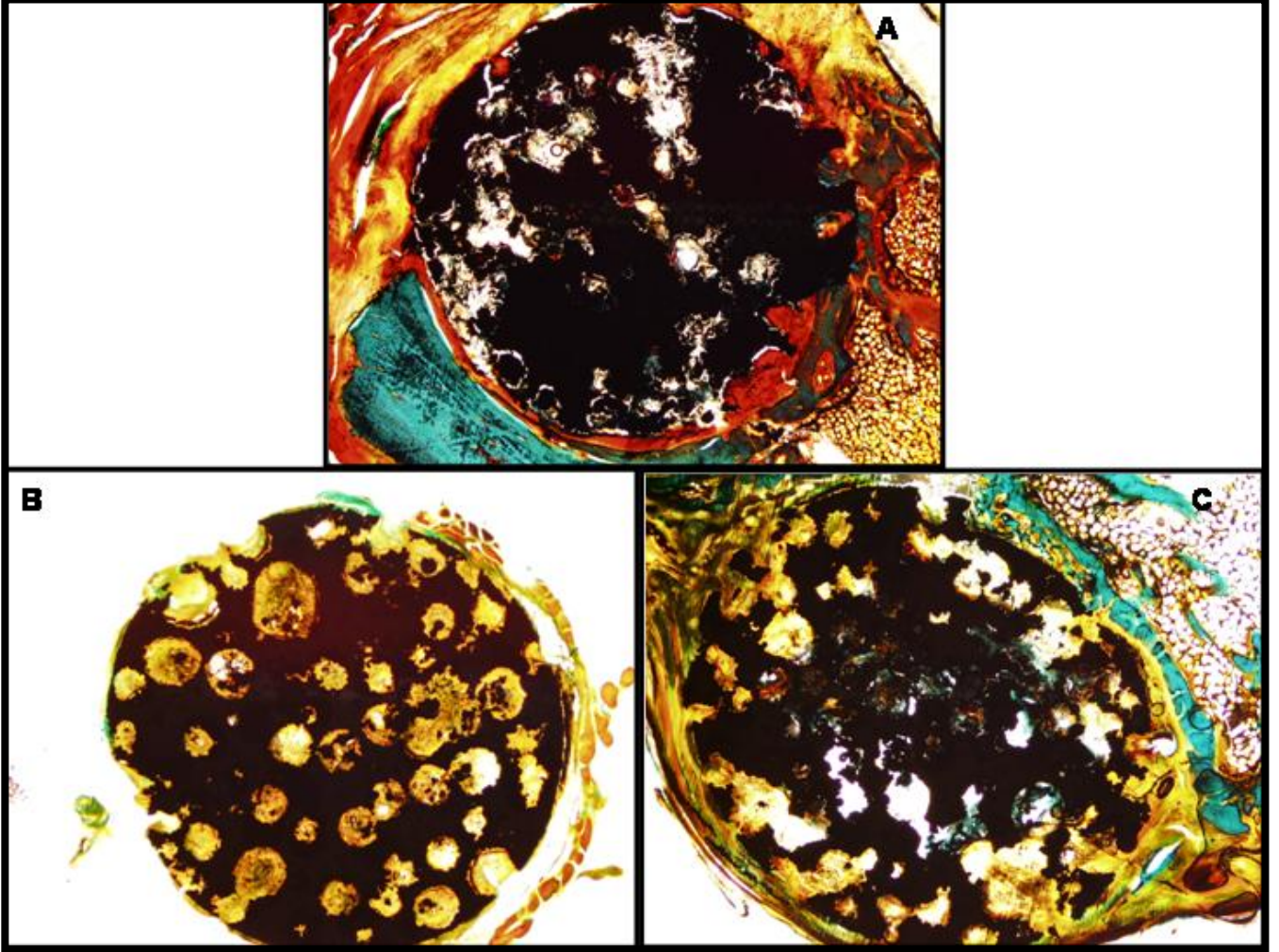
4.1 Histopatolojik Bulgular:

A, B ve C grup olarak değerlendirmeye alınan greft materyali ve evre kemik- yumuşak dokulardan hazırlanan bileme preparatları histopatolojik olarak incelenmiştir. Olguların tümünde yeterli miktarlarda greft materyali ve evre doku ilişkisi görülebilmektedir. (şekil 7)



Şekil 7: Çalışmanın yapıma şeklini gösteren topoğrafik histolojik kesit görülüyor. Ratlarda standart kemik defekti içine konulan değişik poröziteler içeren greft materyali ile içersine doğru ilerleyen yeni kemik oluşumu izlenmektedir. Porözitelerin bazıları ise bağ dokusu ile dolu görülmektedir. HEx40

Poroziteleri farklı olan üç grupta alınan topoğrafik küçük büyütme resimlerde porozitelerin farklılık gösterdiği izlenebilmektedir. C grup olgularda porozite boşlukları daha küçük yuvarlak alanlar halinde iken A grupta porozite alanları büyük ancak az sayıda boşluklar şeklinde görülmektedir.(Şekil 8)



Şekil 8: Farklı porözitelere sahip greft materyalleri kesitleri görülmektedir. A: %50, B: %60, C:%70 poröziteye sahip örneklerdir. Yüzde oranı arttıkça poröz boşluklar sayıca artmaktadır. HEX100

Greft materyali kemik ilişkisi değerlendirmesinde; çevre reaktif kemik dokusunun greft materyali ile tam temas ettiği, arada bir zonun bulunmadığı görülmektedir. Kemik- greft inkorporasyonu, greft içersine ilerleyen kemik dokusu ile de anlaşılmaktadır. Bu alanlarda, çevre kemik ile devamlılık gösteren, kısmen lamellasyonu bulunan kemik dokusu izlenmektedir. Greft materyali çevresinde kemik izlenmeyen alanlarda, periodontal lif görünümü veren bağ dokusu lifleri greft ile devamlılık göstermektedir. Kemik dokusuna yakın alanlarda bağ dokusunun greft materyali ile teması daha belirgin olarak görülmektedir.

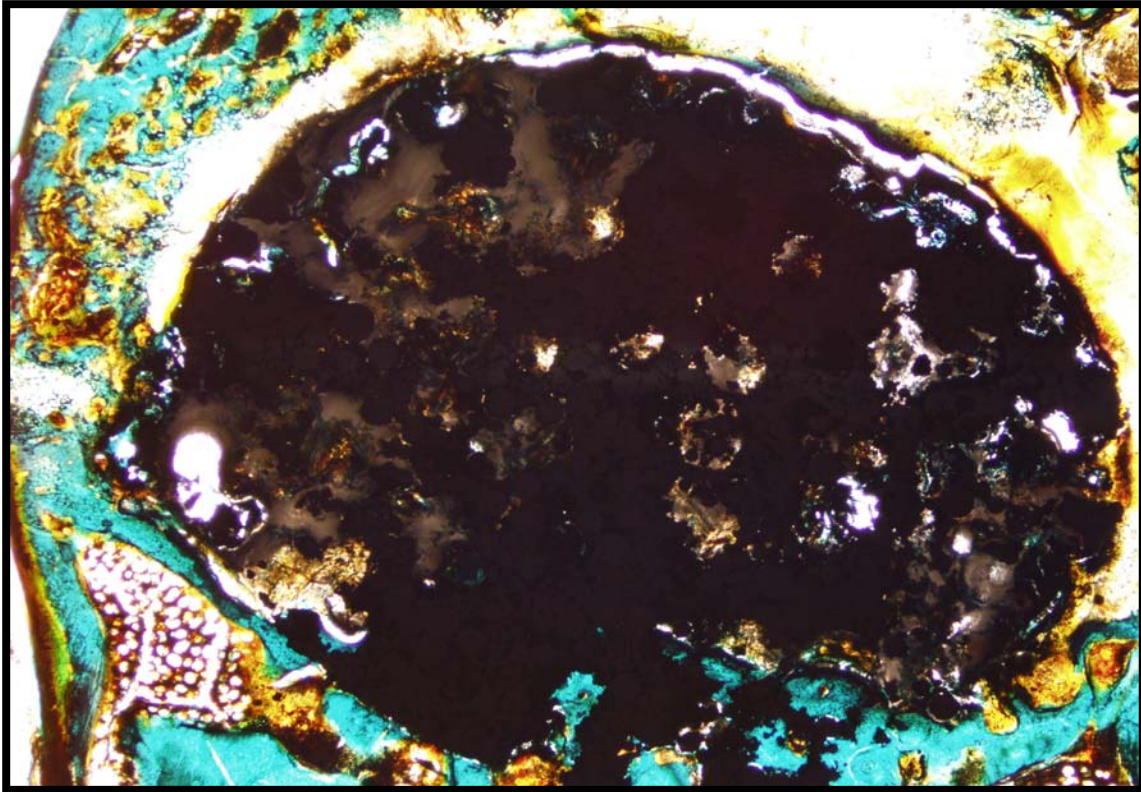
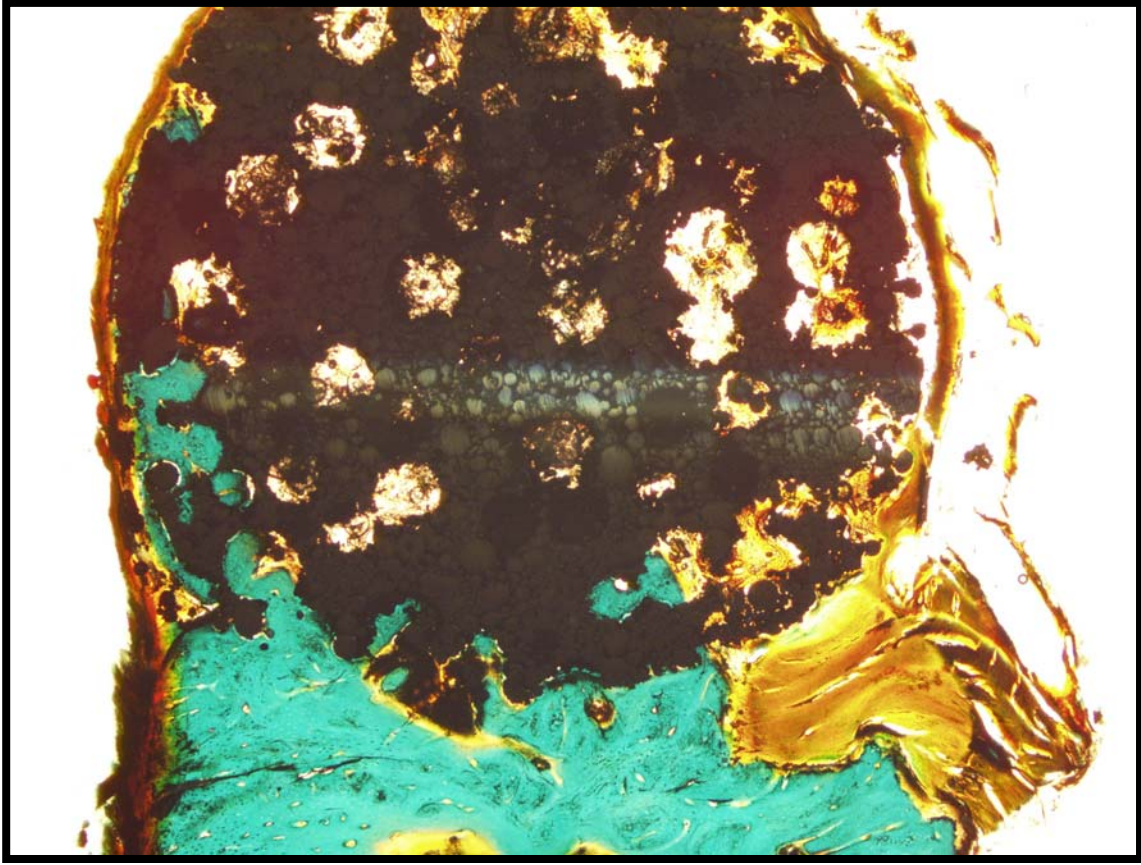
Olguların büyük kısmında, greft materyali çevresinde yabancı cisim reaksiyonu şeklinde bir reaksiyon veya anlamlı bir inflamatuvar reaksiyon saptanmamıştır. Olgulara ait çekilen demonstratif topoğrafik küçük ve büyük büyütme figürler de kemik ile greft materyali ilişkisi ve kaynaşmasını göstermektedir.

Süreç ile ilişkili olarak poroziteleri tümüyle kemik ile dolu olgu saptanmamıştır. Kemik dış kısımlardan greft içersine ilerlemektedir. Kemik dokusu bazı olgularda greftin 1/3 dış kısmının içine kadar ilerlemiştir. Bileme preparatlar olduğu için greft materyali siyah renkte, granüler materyal olarak görülmektedir.

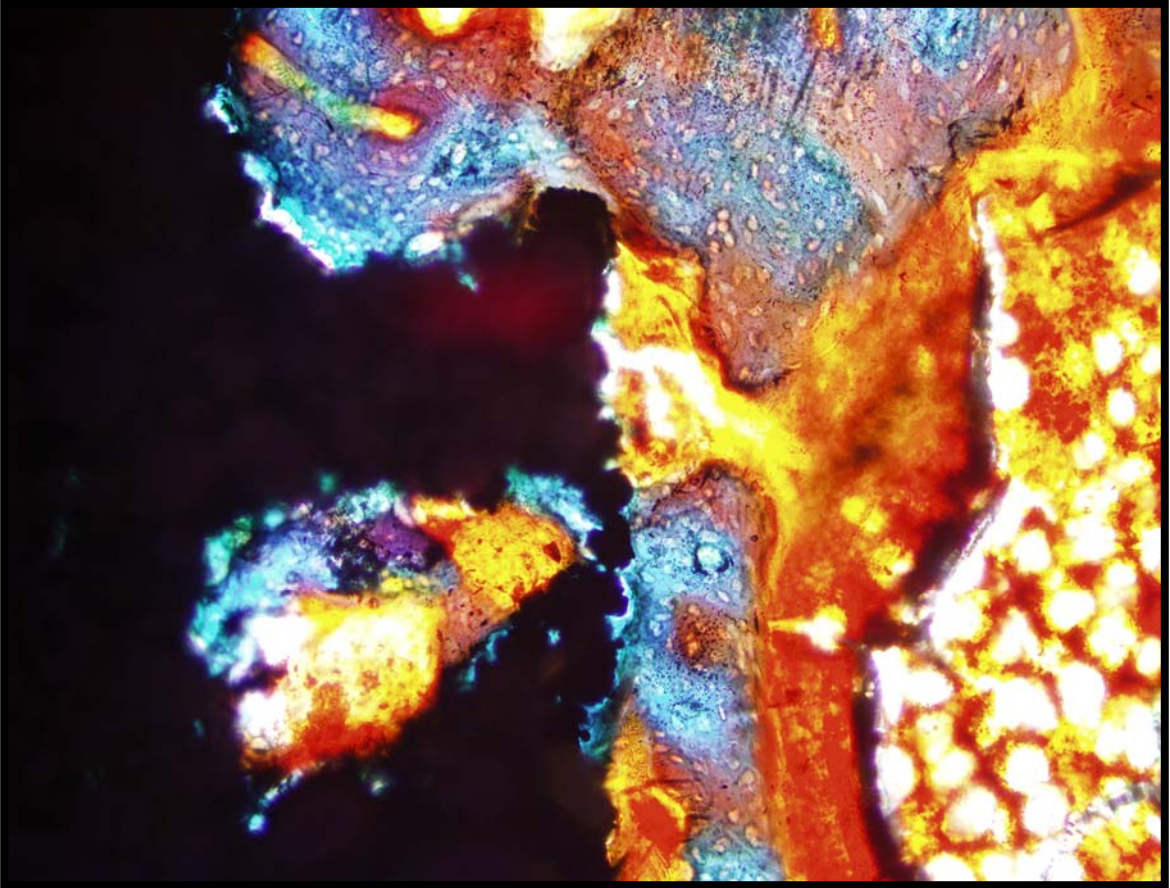
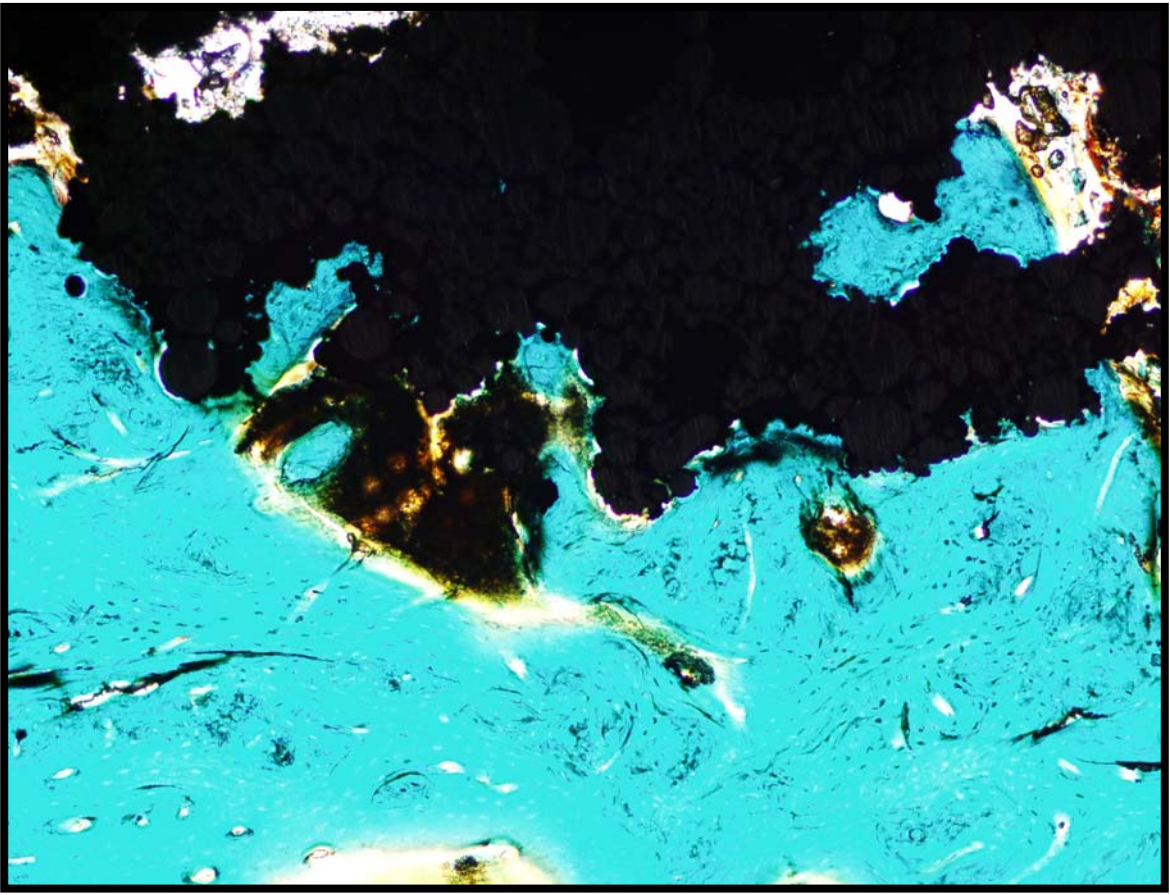
Greft içersine ilerleyen kemik dokusu hücreden zengin, lamelasyonu bazı alanlarda izlenen, bazı alanlarda ise yeni örgü kemik yapısındadır. İçinde osteositler, periferde osteoblastik dizi bulunmaktadır. Yeni oluşan kemik dokusu dens, kortikal nitelikteki kemik dokusu yapısındadır. Greft çevresindeki ve içindeki bağ dokusu, vasküler yapılardan zengin, lif yapısı gelişmiş fibröz bağ dokusu niteliğindedir.

4.1.1 A grubu:

A grup olgularda: poröz yapıya sahip yuvarlak şekilli greft materyali ile çevresinde kemik ve yumuşak doku görülmektedir. Kemiğin tümüyle içinde kalan olgularda greft içersine ilerleyen ve kemik ile direkt temas gösteren kemik dokusu bulunmaktadır. İlik dokusunun bol ve yağlı ilik olduğu alandaki kemik içinde greft çevresinde içinde daha az yoğun kemik yapımı izlenmektedir. Tümüyle kemik içinde ve kortikal kemik yapısındaki kemik dokusu ile çevrili greft içinde kaynaşmanın daha yoğun olduğu izlenmektedir. (Şekil 9,10)



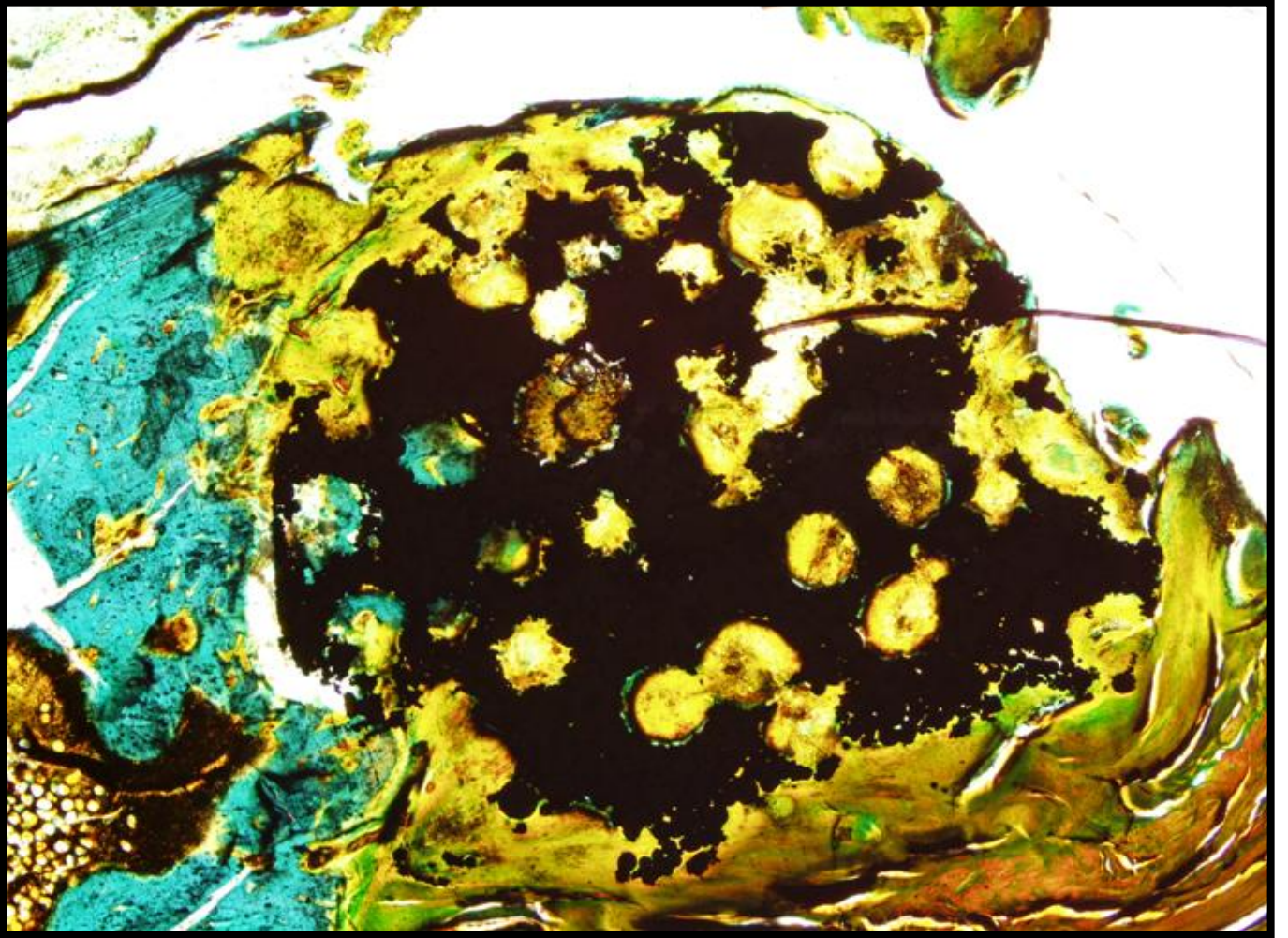
Şekil 9: Porözite değeri %50 olan ilk grup olgularda iki örnekte greft materyali ve kemik ilişkisi görülmektedir. Greft materyali siyah renkte granüler madde görünümündedir. Trikrom boyası ile yeşil renge boyanan ise kemik dokusudur. Kemik dokusunun greftin alt kısmından başlayarak kemik içersine ilerlediği görülmektedir. HEx40



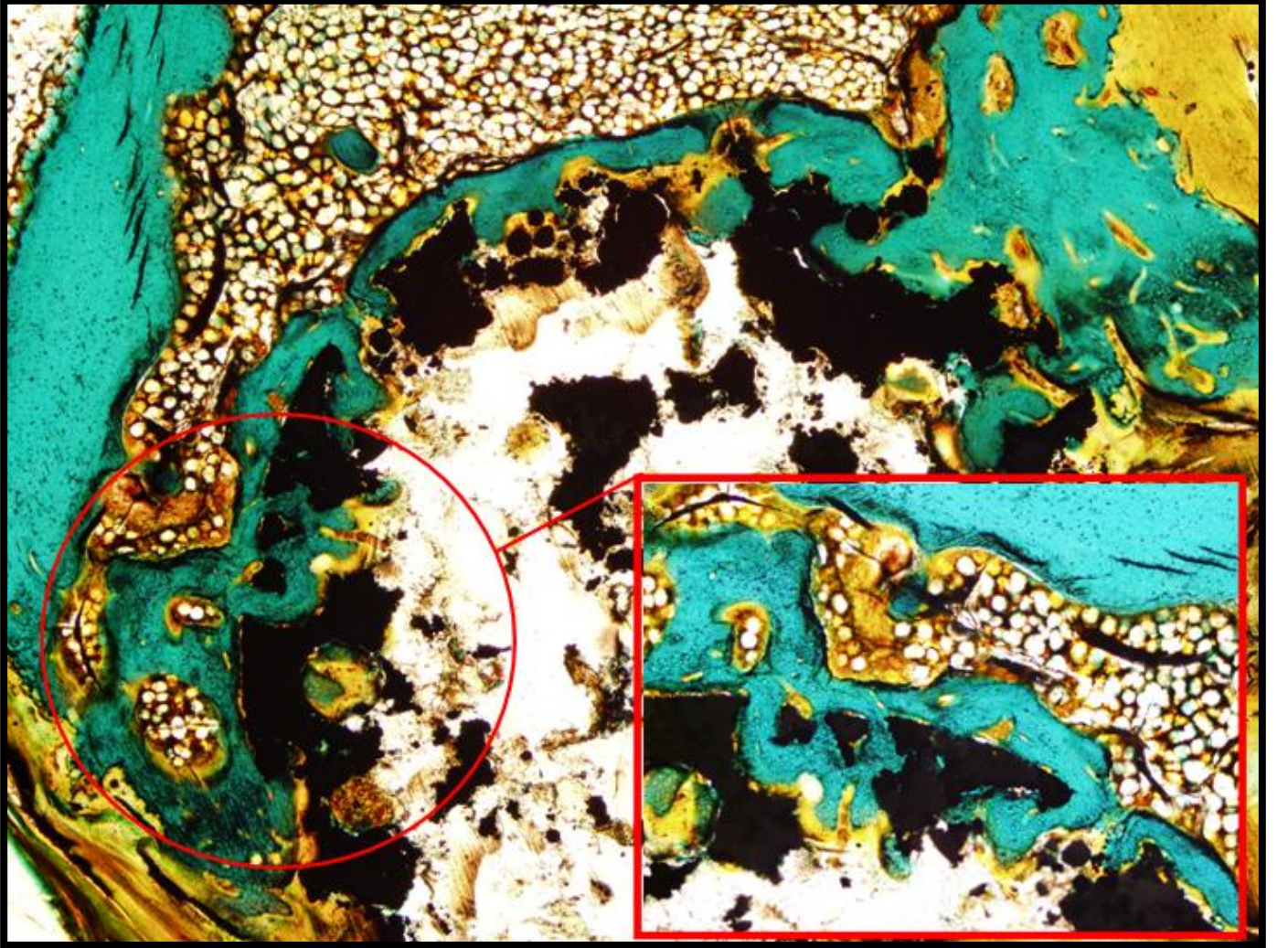
Şekil 10: Porözite değeri %50 olan ilk grup olgularda iki örnekte greft materyali ve kemik ilişkisi büyük büyütme görüntüsü ile izlenmektedir. Kemik dokusunun greft içersine ilerlediği ve kemik-greft arasında, arada mesafe olmadan direkt temasın bulunduğu görülmektedir. HEx10

4.1.2 B grubu:

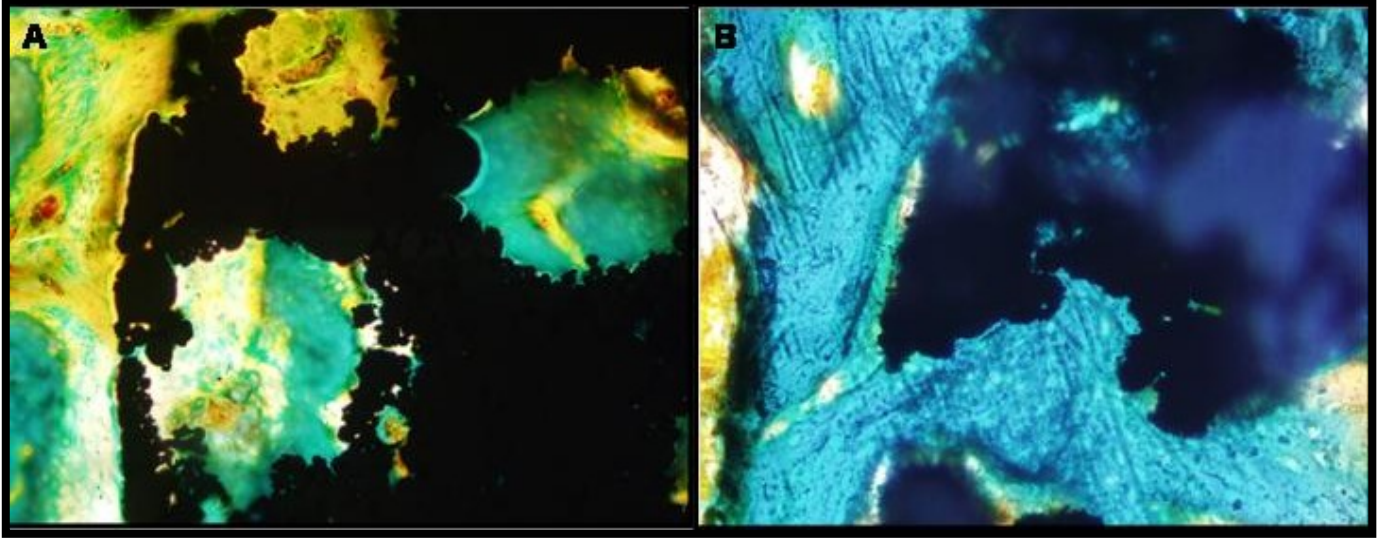
B grup olgularda, yukarda tariflenen kemik-greft teması elde edilen olgular izlenmektedir. Süreç ile ilişkili olarak yeni kemik dokusu greft materyallerinin dış kısmında greft içersine ilerlemektedir. Kemik dokusunun bulunmadığı alanlarda ise ince bağ dokusundan oluşan grefti saran ve içine giren tamir dokusu bulunmaktadır. Yumuşak doku içinde kalan kısımlarda greft içine yumuşak doku tümüyle girmektedir. Bu alanlarda kollagen lifler ve vasküler yapılar bulunan bağ dokusu izlenmektedir. Olgular arasında, porozite farklılığı ile ilişkili, kemik yapım miktarı ve inkorporasyon seviyeleri arasında ayırım yapmak mümkün olmamaktadır.(Şekil 11-13)



Şekil 11: Porozite değeri %60 olan ikinci grup olgulardaki bir örnekte greft materyali ve kemik ilişkisi küçük büyütme görüntüsü ile izlenmektedir. Kemik dokusunun greftin 1/3' lük dış kısmını geçtiği ve içeriğe ilerlediği izlenmektedir. Kemik dokusu yeşil renkte, greft materyali siyah renkte görülmektedir. Kemik olmayan alanlarda ise porözite alanlarında bağ dokusu bulunmaktadır.HEx40



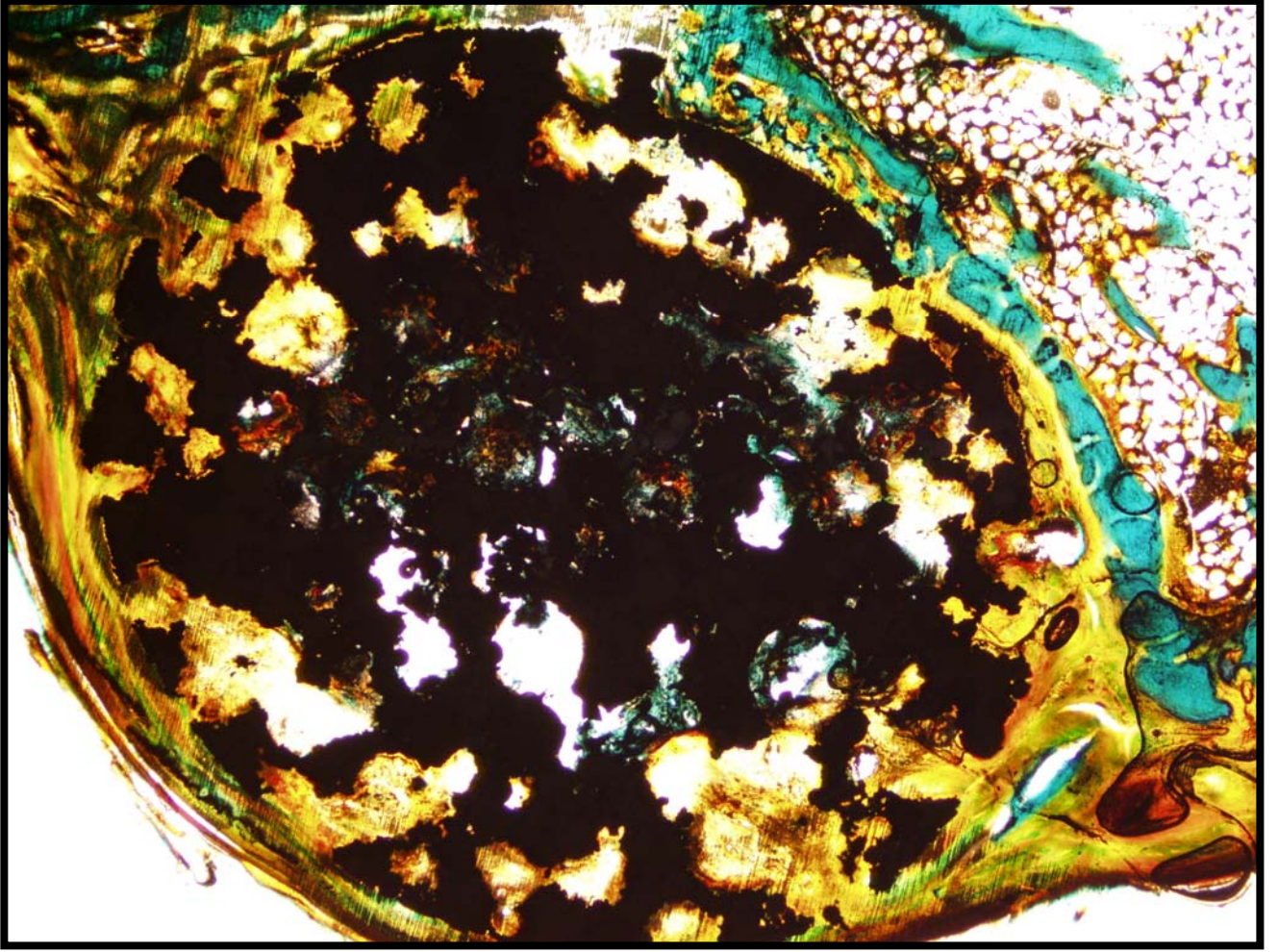
Şekil 12: Porözite değeri %60 olan olgularda kemik dokusunun greft materyalini hemen tümüyle çevrelediği ve içersine ilerlediği görülmektedir. Yandaki küçük resimde ise lameller yapıdaki kemiğin porzite alanlarından içeri doğru ilerlediği ve kemik-greft ilişkisinin düzenli olduğu seçilmektedir. HEx40 ve HEx100



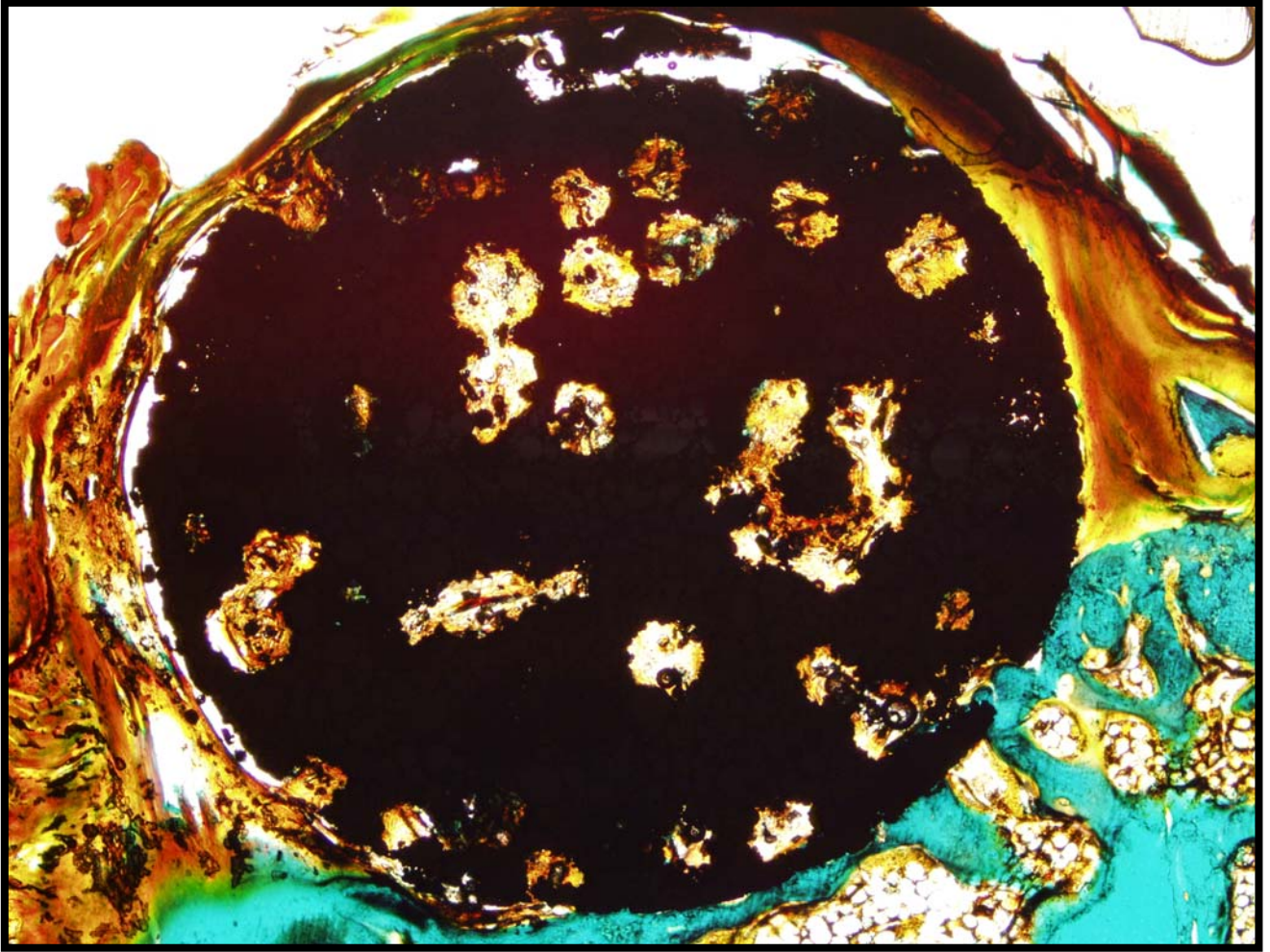
Şekil 13: Porözite değeri %60 olan iki olguda büyük büyütmede lameller yapıdaki kemiğin prozite alanları içini doldurduğu ve kemik ile greft materyalinin direkt kontağı görülmektedir. Sağdaki resimde greft çevresinde periodontal lif benzeri bağ dokusu liflerinin bulunduğu da izlenmektedir . HEx100

4.1.3 C Grubu:

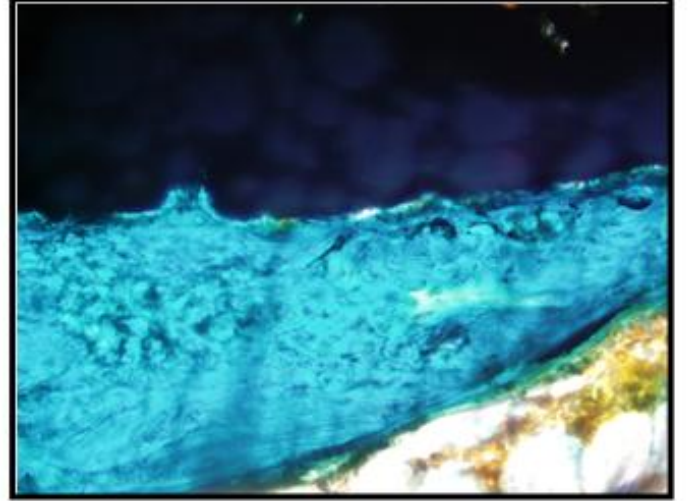
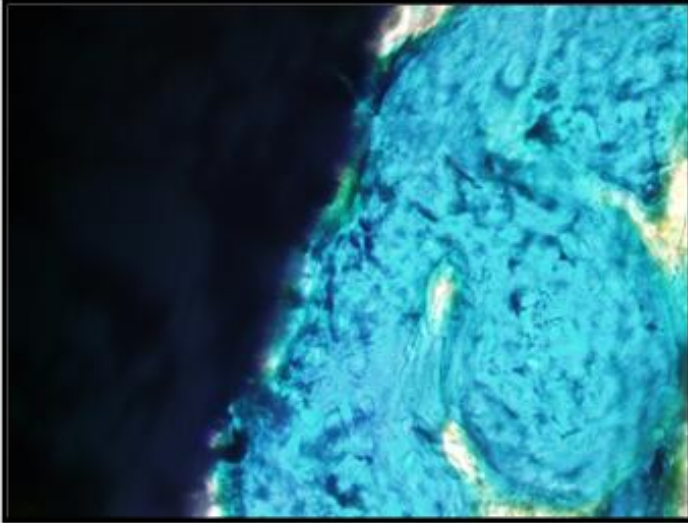
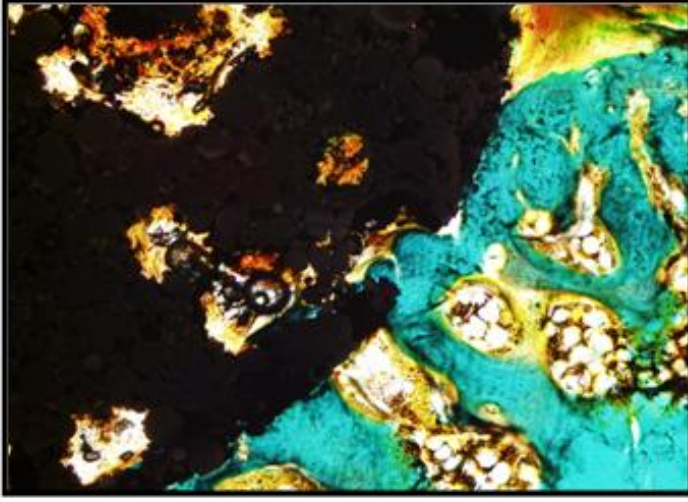
C grup olgularda, Benzer kemik dokusu greft teması sağlanmıştır. Bir olguda, kemik yüzeyine yakın yerleşmiş greft içine ilerleyen ve vertikal kemik kazanım elde edildiği görülmektedir. Büyük büyütme görünümünde greftin lobule pürüzlü yapıdaki dış yüzü ile teması izlenebilmektedir. Kemiğin olmadığı alanlarda kemik üzerinden çıkan lifler, greft içine uzanmaktadır. Olgulara ait resimler üzerinde de histopatolojik değişiklikler detaylı olarak açıklanmaktadır. (Şekil 14-16)



Şekil 14: Porözite değeri %70 olan üçüncü grup olgulardaki bir örnekte greft materyali ve kemik ilişkisi küçük büyütme görüntüsü ile izlenmektedir. Kemik dokusunun greftin çevresini sardığı ve içeriğe ilerlediği izlenmektedir. Greftin orta kısımlarında yeşil renkte kemik trabekülleri görülebilmektedir. Greft materyali siyah renkte görülmektedir. Kemik olmayan alanlarda ise porözite alanlarında sarı-kahve renkte boyanan bağ dokusu bulunmaktadır HEx40



Şekil 15: Kemik defekti tam oluşturulamamış bir olguda kemik yüzeyine yerleşen greft materyali alt kısmında yeni kemik yapımı görülmektedir. Bu olguda greft materyali kenar kısımlarında kemik seviyesinde sınırlı bir yükselme oluşmuştur. Ancak greft içinde kemik yapımı izlenmemiştir. HEx40



Şekil 16: Üçüncü grupta, değişik örneklerde, büyük büyütme ile greft materyali çevresinde örgü, kısmen lameller kemik yapısında yeni kemik trabekülleri izlenmektedir. Kemik dokusu ile greft materyalinin arada bir doku bulunmadan direkt teması büyük büyütme ile belirgin şekilde görülebilmektedir. HEx400

TARTIŞMA

Yüksek oranda özelleşmiş bir bağ dokusu olan kemik, herhangi bir skar dokusu oluşturmadan kendi özel rejenerasyon veya remodeling gösterme kapasitesine sahiptir. Kemik hasara uğraması durumunda, orijinal yapısını ve fonksiyonunu tamamen eski haline getirebilir. Travma, enfeksiyon, kistler ve tümörler gibi bazı patolojik durumların varlığında oluşan kemik defektleri, kemik dokusu ile iyileşemeyebilir. Böyle durumlarda iyileşmeyi başlatmak, kolaylaştırmak veya hızlandırmak için iyileşme sürecine müdahale etmek gerekebilir.(21)

Kemik iyileşmesini hızlandıran geleneksel tedavi yöntemleri, öncelikli olarak defekt alanının kemik greftleri veya sentetik meteryaller ile doldurulması ve yapısal destek sağlanmasını içerir. Kemik otogreftleri, düşük immün cevap oluşturma riskinden dolayı kemik defektlerinin tedavisinde altın standart olarak değerlendirilmektedir.(22,23) Bunun dışında allogreftler ve ksenogreftler de kemik grefti olarak kullanılmaktadır. İnsan veya hayvan kaynaklardan elde edilen kemik dezavantajlı veya yetersiz olduğunda sentetik kemik greftleri (alloplastlar) kullanılır. Ayrıca donör sahadaki morbiditeyi önlemek amacı ile de alloplastlar kullanılabilir. (24) Geçmişte alloplastik meteryaller olarak titanyum veya alüminyum alaşımları ve polietilen polimerleri gibi biyo inert meteryaller kullanılmaktaydı. Bu materyaller basit olarak mekanik destek sağlamaktaydı. Ancak bu sentetik meteryallerin , etraflarını çevreleyen doku ile yetersiz entegrasyonu ve ileri safhalarda değişim gereksinimleri kullanımlarını kısıtlamaktaydı. Bu nedenle çalışmalar daha çok yönlendirilmiş doku rejenerasyonu tekniklerine ve bu amaçla kullanılan materyallere yöneldi.

YDR yaklaşımı, doğal kemik oluşum sürecini desteklemek amacı ile hidroksi apatit, kalsiyum fosfat, biyoaktif cam, kollojen ve rezorbe olabilen polimerler gibi materyallerin kullanımını sağlamıştır.(25) YDR yaklaşımını her zaman öngörülebilir sonuçlar vermemektedir. Uygulaması pratik olmasına karşın kemik oluşumuna pasif bir yaklaşımdır. (26,27)

Kemik doku mühendisliği kemik iyileşmesini hızlandırmak için uygulanan yeni tedavi yaklaşımlarından biridir. Bu yaklaşım, polimer çatıları, hücreler ve indüktif faktörlerin çeşitli kombinasyonlarını kullanarak doku oluşumunu aktif olarak stimüle etmeyi ve sonucunda kemik dokusunu rejenere ve tamir etmeyi amaçlar. Doku mühendisliği, fonksiyonel yaşayan dokular oluşturmak için vücudun doğal doku oluşum sürecini taklit etmeye çalışmaktadır. (22,28) Osteokondüktif ve osteoindüktif çatılar sıklıkla doğal kemiği taklit etmek için tasarlanırlar. Bunlar temel olarak kollojen matriksi içinde hidroksi apatit gibi poröz bir kompozit materyalden oluşmaktadır.(29) Bu çatı materyalleri osteoblastları harekete geçirirler ve osteoprogenitör ataşmanın ve farklılaşmasını sağlayarak kemik doku oluşumunu artırırılar. (30)

Son yıllarda yapılan çalışmalar kemik iyileşme sürecine aktif olarak müdahale etmeye çalışan doku mühendisliği üzerinedir. YDR tekniğinde kullanılan materyaller geliştirilerek veya yeni materyaller kullanılarak yapılan çalışmalar da başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

Klinik çalışmalar, kemik greft materyallerinin sitokinler gibi büyüme faktörleri ile PRP (platelet-rich-plasma) içerisinde kombine edilmelerinin kemik yoğunluğunu arttırdığını göstermektedir.(31,32) Fennis ve ark keçilerde yapmış oldukları deneysel çalışmada bir poly (D,L lactide) bir çatı kullanarak, bir mandibular rekonstrüksiyon yöntemi uygulamışlardır. (33) Bu çalışmada otojen kemik partikülleri ve PRP kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda PRP'nin kemik iyileşmesini belirgin bir şekilde arttırdığını göstermişlerdir. Lind M. Ve ark. Köpekler üzerinde yaptıkları çalışmada TGF-beta büyüme faktörlerinin osteoblast proliferasyonu ve farklılaşmasını az miktarda da olsa arttırdığını göstermişlerdir.

İçerdiği teknik güçlüklerden dolayı kemik dokusunun histopatolojik olarak değerlendirilmesi uzun yıllar boyunca kısıtlı olarak yapılabiliştir. Özellikle 1960'tan önce dekalsifikasyon işlemine tabi tutulan örnekler parafine gömülerek mikrotom ile kesitler alınmaktaydı. Ancak bu uygulamanın bir takım dezavantajları vardı:(34)

- Mineralize olan ve olmayan kemiğin ayırt edilmesi mümkün değildi. Dolayısı ile osteosidler ölçülemez veya matür ve immatür kemik birbirinden ayırt edilemezdi.

- Vakaların çoğunluğunda, mineralize kemik-kemik iliği ara yüzündeki küçülme fenomeninden dolayı remodeling hadisesine katılan hücrelerin değerlendirilmesi ve histomorfometrik ölçüm yapılamazdı.

- Florokorom etiketlemesi ile kemik dinamiği çalışmalarının yapılması imkansızdı, çünkü amorf matriksteki kemik kalsiyum depolanması bozulmuş olurdu.

Katı gömme ortamlarının (plastik monomerler), mikrotomların ve özel kesme sistemlerinin geliştirilmesi ile dekalsifiye edilemeyen kemiğin kesilmesi ve dolayısı ile yeni çalışmaların yapılması mümkün olmuştur. Metal içeren örneklerin kesilmesi için ilk defa Donath ve Breuner (35) tarafından tanımlanan kesme-inceltme sistemi ve gömme ortamı olarak da glikolmetakrilat (GMA) kullanılmıştır.

Gömme öncesinde örneklerin artan derişimlerindeki alkol solüsyonlarında dehydrate edilmelerinin sebebi, örneklerdeki su ve yağın tamamen elimine edilmesi, dolayısı ile plastik penetrasyonun mümkün olmasının sağlanmasıdır. (36)

Metakrilat içine gömülen kemik örneklerinin kesilmesi için farklı sistemler kullanılmasına karşın bunların hiçbirisi ile metalleri kesmek mümkün değildir.(37) Kesme-inceltme sisteminde elmas kaplı testere bandı olduğundan metal içeren örneklerin rahatlıkla kesilmesini sağlamaktadır.

Dekalsifiye örneklerde immatür paralel lifli kemiğin ve lamellar kemiğin birbirinden ayırt edilmesi oldukça güçtür.(38) Bu yöntemle, yeni oluşan immatür kemiğin ayırt edilmesi de mümkündür.(39) Örnekler üzerinde kronolojik olarak kemiğin oluşumu ve matürasyonunun değerlendirilmesi yapılabilir. (40)

Botti ve ark. kesme inceltme sisteminde kullanılan akrilik ortamlar üzerinde yapmış oldukları çalışmada epoksi rezin ve Technovit 7200 VLC rezini

(Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Germany) karşılaştırmışlardır. (41) Sonuç olarak bu rezinin hem ışık hem de elektron mikroskopik incelemeler için rahatlıkla kullanılabilceğine karar vermişlerdir.

Daimon ve ark. da Technovit 7200 VLC rezinin ışık mikroskobu ile organik histokimya ve elektro mikroskobu ile X-ışını mikroanalizi için mükemmel bir gömme ortamı olduğunu tespit etmişlerdir.(42)

Schou ve ark. sağlıklı ve iltahabi peri-implant dokularını inceledikleri araştırmalarında kesme-inceltme sistemini ve Technovit 7200 VLC rezini kullanmışlardır. Çalışmalarında histolojik karşılaştırma için son derece başarılı örnekler elde etmişlerdir.(43)

Bizim çalışmamızda da Ni-Ti disklerin kemikle olan ilişkisini en iyi şekilde inceleyebilmek için kesme-inceltme tekniği ve ortam olarak ta Technovit 7200 VLC rezin kullanılmıştır.Örnekler Mason-Trichon Goldner boyama tekniği kullanılarak boyandığında farklı yeni oluşan kemik, farklı hücre tipleri ve greft materyali net bir şekilde izlenmekteydi.

Doku mühendisliğinin diğer tarafını oluşturan greft materyalleri, üzerine de pek çok çalışma yapılmıştır. (33,44) Günümüzde greft materyalleri tek başlarına kullanılmaktan çok, büyüme faktörleri ve kök hücreleri taşıyan bir çatı rolü oynamaktadır. Woźniak P. ve ark. Yaptıkları in vivo çalışmada resorbe olabilen poliüretan bir çatı içerisine yerleştirilen insan kemik hücreleri değerlendirilmiş ve kemik grefti adayı olarak başarılı bir şekilde üretilmiştir.(45) Liu X ve ark. yaptıkları çalışmada borat biyoaktif cam seramik greftlerini , kemik enfeksiyonlarında bölgeye ilaç taşınması için denemişlerdir.(46) Tavşanların enfekte sağ tibialarına yerleştirilen, antibiyotik (vankomisin) içeren greft meteryalinin mikrobiyolojik ve histolojik değerlendirilmesi sonucunda, materyalin başarılı ilaç taşıma özelliği gösterilmiştir.

Günümüzde Titanyum ve alaşımlarının biyo-uyumluluğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir(14,47-49) Acero ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada

vakaların çoğunluğunda (%81.8) materyalin osseoentegre olduğunu tespit etmişlerdir. (50)

Slaets ve ark. çalışmalarında titanyum implantları etrafındaki kemik iyileşmesini incelemişlerdir. (51) Deneylerinde öncelikle hematoma oluştuğunu, daha sonra ise kemikte remodeling başladığını, yeni kemik oluştuğunu ve sürecin osseoentegrasyon ile tamamlandığını tespit etmişlerdir.

Abrahamsson ve ark. saf titanyum ve altın alaşımlarından yapılan implant materyallerinin yumuşak ve sert dokular ile ilişkilerini inceledikleri araştırmalarında titanyum ve altın alaşımının kemikle bütünleştiğini tespit etmişlerdir.(52) Çalışmada titanyumun, altın alaşımına oranla kemikle daha iyi bağlantı sağladığı da ortaya konmuştur.

D.J. Wever ve ark. gine domuzları üzerinde yaptıkları araştırmada Ni-Ti alaşımının sitotoksikite, alerjenite ve genotoksitesini araştırmışlar ve Ni-Ti alaşımının biyolojik olarak uyumlu bir materyel olduğu sonucuna varmışlardır.(15)

Bizim çalışmamızda kullanılan Ni-Ti greft materyalleri Poröz yapıya sahiptir. Poröz yapıdaki greft materyallerinin kemik iyileşmesine olan etkileri çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.

Müeller ve ark. titanyum yüzeyine alüminyum oksit ve biyoseramik partikülleri püskürterek yüzey morfolojisini değiştirmişlerdir. Bu çalışmada, implant çevresindeki kemik büyümesinin, implant yüzey topoğrafisi ve içeriğine bağlı olduğu sonucuna varılmıştır.(53)

Bong-Soon Chang ve ark. 84 Tavşan üzerinde yaptıkları çalışmada 50-100-300-500 mikron genişliğinde delikler içeren ve 250 mikron arabağlantılı ve 100 mikron sıralı delikler içeren 6 grup hidroksiapatit materyali denemişlerdir. (54) Histolojik değerlendirmede bütün gruplarda kemik iyileşmesi görülmüş ;

biyo-mekanik değerlendirmede 300 mikronluk materyal içeren grup daha başarılı bulunmuştur.

Sauli Kujalaa ve ark. Fareler üzerinde yaptıkları çalışmada üç farklı grupta hacmen boşluk miktarı ve delik genişliklerini değerlendirmişlerdir. (20) 14 fare içeren birinci grupta %66.6 hacmen boşluk ve ortalama 259 mikron genişliğinde delikler bulunmaktadır. 4 fare içeren ikinci grupta %59.2 hacmen boşluk ve ortalama 272 mikron genişliğinde delikler bulunmaktadır. 15 fare içeren üçüncü grupta ise %46.6 hacmen boşluk ve ortalama 505 mikron genişliğinde delikler bulunmaktadır. Yapılan değerlendirmede istatistiksel olarak anlamlı olmasa da birinci grupta kemik temas yüzeyi en fazla bulunmuştur. Fibrosis miktarı ise en az üçüncü gruptadır.

Literatürde Ni-Ti greft materyallerinin içerisindeki poröz yapıların oluşturulmasına yönelik değişik tekniklerde rapor edilmiştir.

Bernard Bertheville Ca elementini buharlaştırarak elde ettiği Ni-Ti greft materyallerini rapor etmiştir.(17)

Krishna BV ve ark. NiTi alaşımlar üzerinde lazer kullanarak aę oluşturma tekniği ile poröz yapılar oluşturmayı başarmışlardır.(19)

Bizim alışmamızda kullandığımız Ni-Ti greft materyallerinin üretim tekniğini Tarık Aydoğmuş ve ark. boşluk tutucu olarak magnezyumun kullanıldığı çalışmalarında rapor etmişlerdir. (18)

Poröz Ni-Ti greft materyalleri, her geçen gün gelişen doku mühendisliği alanında, gerek biyo-uyumluluğu, gerek kemik elastisitesine yakınlığı ile ümit vaad edici bir çatı materyali adaydır. Bu materyal ile ilgili biyo-mekanik, uzun dönem değerlendirme, materyalin içerisine büyüme faktörleri eklenerek uygulaması gibi araştırmaların yapılması, materyalin gelişimine ve başarisına önemli katkılar sağlayacaktır.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda farklı porözitelerdeki Nikel-Titanyum greft materyallerinin kemik iyileşmesine etkileri değerlendirilmiştir. Bu amaçla oluşturulan defektlere yerleştirilen materyaller histopatolojik olarak incelenmiş ve buna göre;

1. 12 hafta sonunda üç grupta da kemik içerisinde olan materyallerin içerisine kemik göçünün olduğu,
2. Karşılaştırılan greft materyallerinin boşluk miktarları ve arabağlantılarının histolojik örneklerde net bir şekilde izlenebildiği,
3. Greft materyali ve yeni oluşan kemik arasında osseoentegrasyon meydana geldiği, materyal ile dokular arasında yabancı cisim reaksiyonu oluşmadığı,
4. İstenilen elastisite ve dayanım miktarına göre her üç gruptaki Ni-Ti disklerin başarılı ve alternatif bir greft materyali olabileceği,
5. Greft materyalinin yerleştirilmesi sırasında bariyer bir membran ile örtülmesinin stabilizasyonu daha iyi sağlanacağı ve kemik oluşumunun daha iyi izlenebileceği,
6. Kemik genişliği ve kalınlığı daha fazla bir hayvan modeli seçilmesinin başarıyı arttırabileceği,
7. Greft materyallerinin büyüme faktörleri ve/veya kök hücrelerle birlikte uygulanmasının başarıyı arttırabileceği,
8. Uzun dönem çalışmaların materyalin merkezindeki kemik oluşumu hakkında daha fazla bilgi verebileceği,
9. İyileşmiş materyal üzerinde biyo-mekanik testlerin yapılmasının gruplar arasındaki farkları daha iyi ortaya koyacağı sonucuna varılmıştır.

Elde edilen bu sonuçların, Ni-Ti greft materyalleri ile yapılacak yeni araştırmalara ışık tutacağını ve farklı şartlar altında yapılacak olan bu çalışmalarından daha olumlu sonuçlar alınacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Fonseca, Rj., Walker, R.V., Betts, N.J., Barber, H.D., Powers, M.P.: Oral and Maxillofacial Trauma, 3rd. Edition Vol. 1 2005.
2. Karl-Erik Kahnberg Bone Grafting for Maxillary Implants 2006
3. Marks, S.C.Jr. The origin of osteoclasts: Evidence, Clinical Implications and Investigate Chalanges of an Extraskelatal Source, J Oral Pathol, 1983;12:226-256.
4. Lindhe, J., Karring, T., Lang, N.P. Clinical Periodontology and Implant Dentistry, Blackwell Pub, 4th edition, USA, 867-877,2003
5. Aaboe M, Pinholt EM, Hjørting-Hansen E. Healing of experimentally created defects: a review. Br J Oral Maxillofac Surg. 1995 Oct;33(5):312-8. Review.
6. Beaman FD, Bancroft LW, Peterson JJ, Kransdorf MJ. Bone graft materials and synthetic substitutes. Radiol Clin North Am. 2006 May;44(3):451-61. Review.
7. Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton MW. Allograft and alloplastic bone substitutes: a review of science and technology for the craniomaxillofacial surgeon. J Craniofac Surg. 2005 Nov;16(6):981-9. Review.
8. Lynch, S.E., Genco, R.J., Marx, R.E. Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics. Quintessence Pub, USA, 1999.

9. Chan CK, Kumar TS, Liao S, Murugan R, Ngiam M, Ramakrishnan S. Biomimetic nanocomposites for bone graft applications. *Nanomed*. 2006 Aug;1(2):177-88. Review.
10. Dalkız M, Ozcan A, Yapar M, Gökay N, Yüncü M. Evaluation of the effects of different biomaterials on bone defects. *Implant Dent*. 2000;9(3):226-35.
11. Keating JF, Mcqueen MM. Substitutes for autologous bone graft in orthopedic trauma. *J. Bone Surg. Br*. 2001 Jan;83 (5):3-8. Review
12. Viana AC, Gonzalez BM, Buono VT, Bahia MG. Influence of sterilization on mechanical properties and fatigue resistance of nickel-titanium rotary endodontic instruments. *Int Endod J*. 2006 Sep;39(9):709-15.
13. Valois CR, Silva LP, Azevedo RB. Multiple autoclave cycles affect the surface of rotary nickel-titanium files: an atomic force microscopy study. *J Endod*. 2008 Jul;34(7):859-62.
14. Shuilin Wu,¹ Xiangmei Liu,¹ Y.L. Chan,² J.P.Y. Ho,¹ C.Y. Chung,¹ Paul K. Chu,¹ C.L. Chu,^{1,3} K.W.K. Yeung,² W.W. Lu,² K.M.C. Cheung,² K.D.K. Luk² Nickel release behavior, cytocompatibility, and superelasticity of oxidized porous single-phase NiTi. *J Biomed Mater Res* 81A: 948–955, 2007
15. D.J. Wever, A.G. Veldhuizen, M.M. Sanders*, J.M. Schakenraad+ and J.R. van Horn Cytotoxic, allergic and genotoxic activity of a nickel-titanium alloy *Biomaterials* 18 (1997) 1115-1120
16. Y.W. Gu,^{1,2} H. Li,² B.Y. Tay,¹ C.S. Lim,³ M.S. Yong,¹ K.A. Khor² *In vitro* bioactivity and osteoblast response of porous NiTi synthesized

by SHS using nanocrystalline Ni-Ti reaction agent. J Biomed Mater Res 78A: 316–323, 2006

17. Bernard Bertheville, Porous single-phase NiTi processed under Ca reducing vapor for use as a bone graft substitute, Biomaterials 27 (2006) 1246–1250

18. Tarık Aydoğmuş, Şakir Bor Processing of Porous TiNi alloys using magnesium as space holder J Alcom (2009)

19. Krishna BV, Bose S, Bandyopadhyay A. Fabrication of porous NiTi shape memory alloy structures using laser engineered net shaping. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2009 May;89B(2):481-90.

20. Sauli Kujalaa,* , Jorma Ryh.anena, Anatoli Danilovb, Juha Tuukkanenc. Effect of porosity on the osteointegration and bone ingrowth of a weight-bearing nickel–titanium bone graft substitute, Biomaterials 24 (2003) 4691–4697

21. Thomas W. Bauer MD, PHD and George F. Muschler MD. Bone Graft Materials: An overview of the basic science. Clinical Orthopedics and related research number:371. pp:10-27 2000

22. Goldberg VM, Stevenson S. Natural history of autografts and allografts. Clin Orthop Relat Res. 1987 Dec;(225):7-16.

23. Schultze-Mosgau S, Keweloh M, Wiltfang J, Kessler P, Neukam FW. Histomorphometric and densitometric changes in bone volume and structure after avascular bone grafting in the extremely atrophic maxilla. Br J Oral Maxillofac Surg. 2001 Dec;39(6):439-47.

24. Wiltfang J, Schultze-Mosgau S, Merten HA, Kessler P, Ludwig A, Engelke W. Endoscopic and ultrasonographic evaluation of the maxillary sinus after combined sinus floor augmentation and implant insertion. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2000 Mar;89(3):288-91.
25. Hutmacher D, Hürzeler MB, Schliephake H. A review of material properties of biodegradable and bioresorbable polymers and devices for GTR and GBR applications. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1996 Sep-Oct;11(5):667-78. Review.
26. Needleman IG, Worthington HV, Giedrys-Leeper E, Tucker RJ. Guided tissue regeneration for periodontal infra-bony defects. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006 Apr 19;(2):CD001724. Review.
27. Murphy KG, Gunsolley JC. Guided tissue regeneration for the treatment of periodontal intrabony and furcation defects. A systematic review. *Ann Periodontol.* 2003 Dec;8(1):266-302. Review.
28. Hing KA. Bone repair in the twenty-first century: biology, chemistry or engineering? *Philos Transact A Math Phys Eng Sci.* 2004 Dec 15;362(1825):2821-50. Review.
29. Murphy WL, Simmons CA, Kaigler D, Mooney DJ. Bone regeneration via a mineral substrate and induced angiogenesis. *J Dent Res.* 2004 Mar;83(3):204-10.
30. LeGeros RZ. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates. *Clin Orthop Relat Res.* 2002 Feb;(395):81-98. Review.
31. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone

grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998 Jun;85(6):638-46.

32. Kassolis JD, Rosen PS, Reynolds MA. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series. *J Periodontol.* 2000 Oct;71(10):1654-61.

33. Fennis JP, Stoelinga PJ, Merckx MA, Jansen JA. Reconstruction of the mandible with a poly(D,L-lactide) scaffold, autogenous corticocancellous bone graft, and autogenous platelet-rich plasma: an animal experiment. *Tissue Eng.* 2005 Jul-Aug;11(7-8):1045-53.

34. Dalle Carbonare L, Valenti MT, Bertoldo F, Zanatta M, Zenari S, Realdi G, Lo Cascio V, Giannini S. Bone microarchitecture evaluated by histomorphometry. *Micron.* 2005;36(7-8):609-16. Epub 2005 Sep 6. Review.

35. Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Säge-Schliff (sawing and grinding) technique. *J Oral Pathol.* 1982 Aug;11(4):318-26.

36. An, Y.H., Martin, K.L. *Handbook of Histology Methods for Bone and Cartilage*, Humana Pres, USA, 199-206, 2003

37. Rohrer MD, Schubert CC. . The cutting-grinding technique for histologic preparation of undecalcified bone and bone-anchored implants. Improvements in instrumentation and procedures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1992 Jul;74(1):73-8.

38. Raghoobar GM, Stellingsma K, Meijer HJ, Vissink A. Vertical distraction of the severely resorbed edentulous mandible: an assessment of treatment outcome. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2008 Mar-Apr;23(2):299-307.

39. Cano-Sánchez J, Campo-Trapero J, Gonzalo-Lafuente JC, Moreno-López LA, Bascones-Martínez A. Undecalcified bone samples: a description of the technique and its utility based on the literature. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2005 Apr 1;10 Suppl 1:E74-87
40. Pallesen L, Schou S, Aaboe M, Hjørting-Hansen E, Nattestad A, Melsen F. Influence of particle size of autogenous bone grafts on the early stages of bone regeneration: a histologic and stereologic study in rabbit calvarium. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2002 Jul-Aug;17(4):498-506.
41. Botti F, Ragazzoni E, Pilloni A, Cocchia D. Assessment of the acrylic resin Technovit 7200 VLC for studying the gingival mucosa by light and electron microscopy. *Biotech Histochem*. 1997 Jul;72(4):178-84.
42. Daimon T, Kawai K, Kamoto T. Use of a Technovit 7200 VLC to facilitate integrated determination of aluminum by light and electron microscopy. *Biotech Histochem*. 2000 Jan;75(1):27-32. Erratum in: *Biotech Histochem*. 2000 Mar;75(2):100.
43. Schou S, Holmstrup P, Stoltze K, Hjørting-Hansen E, Fiehn NE, Skovgaard LT. Probing around implants and teeth with healthy or inflamed peri-implant mucosa/gingiva. A histologic comparison in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Clin Oral Implants Res*. 2002 Apr;13(2):113-26.
44. Lind M, Overgaard S, Nguyen T, Ongpipattanakul B, Bünger C, Søballe K. Transforming growth factor-beta stimulates bone ongrowth. Hydroxyapatite-coated implants studied in dogs. *Acta Orthop Scand*. 1996 Dec;67(6):611-6.

45. Woźniak P, Bil M, Ryszkowska J, Wychowański P, Wróbel E, Ratajska A, Hoser G, Przybylski J, Kurzydłowski KJ, Lewandowska-Szumieł M. Candidate Bone Tissue Engineered Product Based on Human Bone Derived Cells and Polyurethane Scaffold. *Acta Biomater.* 2009 Oct 15.
46. Liu X, Xie Z, Zhang C, Pan H, Rahaman MN, Zhang X, Fu Q, Huang W. Bioactive borate glass scaffolds: in vitro and in vivo evaluation for use as a drug delivery system in the treatment of bone infection. *J Mater Sci Mater Med.* 2009 Oct 15.
47. Takatsuka K, Yamamuro T, Nakamura T, Kokubo T. Bone-bonding behavior of titanium alloy evaluated mechanically with detaching failure load. *J Biomed Mater Res.* 1995 Feb;29(2):157-63.
48. Feighan JE, Goldberg VM, Davy D, Parr JA, Stevenson S. The influence of surface-blasting on the incorporation of titanium-alloy implants in a rabbit intramedullary model. *J Bone Joint Surg Am.* 1995 Sep;77(9):1380-95.
49. Steinemann SG. Titanium--the material of choice? *Periodontol* 2000. 1998 Jun;17:7-21. Review.
50. Acero, J., Calderon, J., Salmeron, J.I., Verdaguer, J.J., Concejo, C., Somacarrera, M.L.: The Behaviour of Titanium as a Biomaterial: Microscopy Study of plates and surrounding Tissues in Facial Osteosynthesis, *J Craniomaxillofac Surg*, 1999;27:117-123
51. Slaets E, Carmeliet G, Naert I, Duyck J. Early trabecular bone healing around titanium implants: a histologic study in rabbits. *J Periodontol.* 2007 Mar;78(3):510-7.

52. Abrahamsson I, Cardaropoli G. Peri-implant hard and soft tissue integration to dental implants made of titanium and gold. Clin Oral Implants Res. 2007 Jun;18(3):269-74. Epub 2007 Feb 13.

53. Müller WD, Gross U, Fritz T, Voigt C, Fischer P, Berger G, Rogaschewski S, Lange KP. Evaluation of the interface between bone and titanium surfaces being blasted by aluminium oxide or bioceramic particles. Clin Oral Implants Res. 2003 Jun;14(3):349-56.

54. Bong-Soon Chang!, Choon-Ki Lee!, *, Kug-Sun Hong", Hyuk-Joon Youn", Hyun-Seung Ryu", Sung-Soo Chung#, Kun-Woo Park! Osteoconduction at porous hydroxyapatite with various pore configurations Biomaterials 21 (2000) 1291}1298