



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ  
ANABİLİM DALI

**EKSTRAKORPORAL ŞOK DALGA TEDAVİSİNİN  
FARKLI GREFT MATERYALLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN  
DENEYSEL OLARAK İNCELENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Dt. Enes ÖZKAN**

**Samsun**

**Kasım-2015**





ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ  
ANABİLİM DALI

**EKSTRAKORPORAL ŞOK DALGA TEDAVİSİNİN  
FARKLI GREFT MATERYALLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN  
DENEYSEL OLARAK İNCELENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Dt. Enes ÖZKAN**

**Danışman**

**Doç.Dr. M.Cihan BEREKET**

**Samsun**

**Kasım-2015**



## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimde, pratik ve teorik tecrübesini, bilgisini, emeğini, desteğini, fikirlerini ve düşüncelerini her zaman ve her konuda benimle paylaşan ve tezimin planlanmasında ve yürütülmesinde büyük emekleri olan sevgili hocam ve tez danışmanım Doç.Dr. M.Cihan BEREKET'e;

Tez izleme komitemde yer alan ve tezimin olgunlaşma sürecinde bilgi ve tecrübesini esirgemeyen Doç.Dr. Deniz EKİNCİ ve Doç.Dr. İsmail ŞENER'e;

Çalışmamızın radyolojik olarak değerlendirilmesini sağlayan Doç.Dr. A.Veyssel POLAT'a ve stereolojik olarak değerlendirilmesinde yoğun emek sarfeden Histoloji Anabilim Dalı asistanlarına ve Yrd.Doç.Dr. M.Emin ÖNGER'e;

Çalışmamızın yürütülmesinde PYO.DIS.1904.12.006 proje numarası ile maddi desteği sağlayan OMÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna;

Doktora eğitimim süresince pratik ve teorik olarak üzerimde emeği geçen saygıdeğer bölüm hocalarıma;

Tezimin deneysel bölümünün yürütülmesinde emeğini ve yardımlarını esirgemeyen ve yanımda olan dostlarım Dt. Halil İbrahim EVMEK'e ve Dt. Halit FURUNCUOĞLU'na;

Asistanlığın bir ve birliktelik olduğunu gösteren, anlamlı günler geçirmeme vesile olan ve muhabbetleriyle şen olduğum sevgili dostlarım Dt. Muhsin ÖZDEMİR ve Dt. Mustafa KAYNAR'a;

Doktora eğitim sürecimde güzel günler geçirdiğim ve arkadaşlık ettiğim bütün bölüm arkadaşlarıma;

Büyük fedakarlıklar ile bu günleri görmeme en büyük müsebbip olan, maddi manevi desteklerini her zaman arkamda hissettiğim sevgili annem, babam ve kardeşlerime;

Zorlu doktora eğitimi ve tez sürecim boyunca çok fedakarlıkları ve emekleri olan, sevgisi, desteği ve yardımlarıyla çok büyük yollar katettiğim ve kendisinden çok şeyler öğrendiğim sevgili eşim Ortodontist Araş.Gör. Tuğba ÖZKAN'a,

Varlığıyla hayatımızı şenlendiren ve bizlere büyük mutluluk katan canım oğlum Ahmet Kerem'e ve müstakbel kardeşine

EN İÇTEN TEŞEKKÜRLERİMLE...

## ÖZET

### EKSTRAKORPORAL ŞOK DALGA TEDAVİSİNİN FARKLI GREFT MATERYALLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN DENEYSEL OLARAK İNCELENMESİ

**Amaç:** Bu çalışmada diyabetik ve diyabetik olmayan ratların mandibularlarında oluşturulan defektlerin tedavisinde kullanılan greft materyalleri üzerine ekstrakorporal şok dalga tedavisinin (ESWT) etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

**Materyal ve Metot:** Bu çalışmada 12 haftalık toplam 120 adet erkek Wistar rat kullanıldı. Denekler Diyabetik ( $D^+$ ) ve Non-diyabetik ( $D^-$ ) olmak üzere 2 ana gruba ayrıldı. Bu gruplar boş defekt (DF), Alloplast (AP) ve Allogreft (AL) olmak üzere 3 alt gruba ayrıldı. Her bir alt grubun yarısına ESWT uygulaması yapıldı ( $E^+$ ). Tüm hayvanların ramus bölgesinde kritik boyutlu defekt oluşturuldu. AP grubunda seramik esaslı greft materyali, AL grubunda ise insan kaynaklı greft materyali defekt bölgelerine uygulandı. Cerrahi sonrası  $E^+$  gruplara 3 seans ESWT uygulandı. Cerrahiden sonraki 4. ve 8. haftada denekler sakrifiye edildi. Örneklerde stereolojik ve radyolojik inceleme gerçekleştirildi. Veriler tek yönlü varyans analizi ve tukey testi ile değerlendirildi.

**Bulgular:** Radyolojik inceleme sonuçlarına göre,  $DFD^+E^+$  gruplarında daha yüksek Haunsfield Unit (HU) değerleri görülmüştür ( $p>0,05$ ).  $4APD^+E^+$  ve  $4APD^+E^-$  grubunda,  $4APD^-E^-$  ve  $4APD^+E^-$  grubuna göre daha yüksek HU değerleri görülmüştür ( $p>0,05$ ).  $8ALE^+$  gruplarda ise  $8ALE^-$  gruplara göre daha yüksek HU değerleri bulunmuştur ( $p>0,05$ ). Stereolojik inceleme sonuçlarına göre ise  $4DFE^-$  gruplarda  $4DFE^+$  gruplarına göre daha yüksek oranda YK, BD ve YD hacmi görülmüştür.  $4APE^+$  gruplarda  $4APE^-$  gruplarına göre daha yüksek YK tespit edilmiştir.  $4ALE^+$  gruplarında  $4ALE^-$  gruplarına göre daha yüksek YK ve YD hacmi tespit edilmiştir.

**Sonuç:** ESWT uygulamasının diyabetli olmayan gruplarda kritik boyutlu kemik defektinin iyileşmesine olumlu bir etkisinin olmadığı, diyabetik ve diyabetik olmayanlarda içerisine seramik esaslı greft materyalinin ve insan kaynaklı greft materyalinin uygulandığı kritik boyutlu kemik defektlerinin rejenerasyonu üzerine hem kısa dönem hem de uzun dönemde pozitif etkisi olduğu görülmüştür.

**Anahtar kelimeler:** Allogreft; Bifazik Kalsiyum Fosfat; Diabetes Mellitus; ESWT

Enes ÖZKAN, Doktora Tezi  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Kasım-2015

**ABSTRACT**  
**THE EFFECT OF EXTRACORPOREAL SHOCK WAVE THERAPY ON  
SEVERAL GRAFT MATERIALS IN EXPERIMENTAL STUDY**

**Aim:** The purpose of this study was to evaluate the effect of the extracorporeal shock wave therapy (ESWT) on healing of mandible defects filled with graft materials in diabetic and non-diabetic rats.

**Material and Method:** Twelve-week-old 120 male Wistar albino rats were used in the experiment. All animals were randomly divided into two main groups, non-diabetic and diabetic. 60 rats were distributed into three subgroups as empty defect (DF), Alloplast (AP) and Allograft (AL) ( $n=20$ ) in each main groups. Critical sized defects were created on ramus in all rats and filled with ceramic grafts in AP groups and filled human derived bone grafts in AL groups. ESWT was performed to half of rats in each subgroups at 3 sessions after surgery. Animals were euthanized at either 4th or 8th weeks. Stereological and radiographic examination was performed. Datas were statistically analyzed by one-way variance analysis and Tukey test.

**Results:** According to the radiological results, Hounsfield Units values were higher in DF $E^+$  groups ( $p>0.05$ ). Haunsfield Unit (HU) values were higher in D $E^+$  group than D $E^-$  group and D $E^+$  group than D $E^-$  group in 4 weeks follow up AP groups. ( $p>0.05$ ). In the AL groups, there was a higher HU value in  $E^+$  groups than  $E^-$  groups in 8 weeks follow up. According to stereological results, in 4 weeks follow up DF groups, there was a higher YK, BD and YK volume at  $E^-$  groups than  $E^+$  groups. In 4 weeks follow up AP groups, there was a higher YK volume at  $E^+$  groups than  $E^-$  groups. In 4 weeks follow up AL groups, there was a higher YK and YD volume at  $E^+$  groups than  $E^-$  groups.

**Conclusion:** It was found that ESWT application has no positive effect on the healing of critical-sized bone defects in groups without diabetes whereas positive effects in groups with diabetes were observed. It was detected that ESWT induce bone regeneration of critical sized defects filled ceramic based graft material or human derived graft material at both short and long terms.

**Keywords:** Allograft; Biphasic Calcium Phosphate; Diabetes Mellitus; ESWT

**Enes ÖZKAN, PhD. Thesis**  
**Ondokuz Mayıs University - Samsun, November-2015**

## **SİMGELER VE KISALTMALAR**

**BCP:** Bifazik Kalsiyum Fosfat

**BD:** Bağ Dokusu

**bFGF:** Temel Fibroblast Büyüme Faktörü

**BMP:** Kemik Morfogenetik Protein

**BT:** Bilgisayarlı Tomografi

**DKM:** Demineralize Kemik Matrisi

**DM:** Diabetes Mellitus

**eNOS:** Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz

**ESWT:** Ekstrakorporal Şok Dalga Tedavisi

**GMP:** Granülosit/Makrofaj Progenitör Hücreler

**HA:** Hidroksiapatit

**HU:** Haunsfield Unit

**IGF:** İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü

**IL:** İnterlökin

**IVGTT:** İntravenöz Glukoz Tolerans Testi

**i.m:** İntramüsküler

**i.p:** İntraperitoneal

**i.v:** İntravenöz

**KYD:** Kemik Yoğunluğu Değeri

**M-CSF:** Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör

**NO:** Nitrik oksit

**OGTT:** Oral Glukoz Tolerans Testi

**PDGF:** Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü

**PGE:** Prostoglandin E2



**PRF:** Trombositten Zengin Fibrin

**PRP:** Trombositten Zengin Plazma

**RANK:** Nükleer Faktör Kappa Betanın Reseptör Aktivatörü

**RANK-L:** Nükleer Faktör Kappa Betanın Reseptör Aktivatörünün Ligandı

**rhBMP-2:** Rekombinant Kemik Morfogenik Protein 2

**s.c:** Subkutan

**SE:** Standart Hata

**SS:** Standart Sapma

**TCP:** Trikalsiyum Fosfat

**TGF- $\beta$ :** Transforme Edici Büyüme Faktörü- $\beta$

**TNF:** Tümör Nekrotizan Faktör

**VEGF:** Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

**YD:** Yeni Damarlanma

**YK:** Yeni Kemik

**%:** Yüzde

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	VI
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	VIII
<b>1.GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	3
2.1. Kemik Dokusu .....	3
2.1.1. Kemik Hücreleri .....	4
2.1.2 Kemik Matrisi .....	7
2.1.3. Periosteum ve Endosteum.....	8
2.1.4. Kemik Türleri .....	8
2.1.5. Osteogenezis (Kemik Gelişimi).....	11
2.1.6. Kemğin Yaşamsal Metabolik Rolü.....	15
2.1.7. Kemik İyileşmesi .....	16
2.1.8. Kritik Boyutlu Kemik Defekti .....	22
2.2. Kemik Greftleri ve Kemik Yerine Geçebilen Biyomateryaller .....	23
2.2.1. Otojen Kemik Greftleri.....	25
2.2.2. Allojenik Kemik Greftleri.....	29
2.2.3. Ksenogreftler .....	33
2.2.4. Alloplastlar ve Doku Mühendisliği Materyalleri.....	34
2.3. Diabetes Mellitus .....	41
2.3.1. Diyabet Tipleri.....	42
2.3.2. Diyabet ve Kemik Metabolizması .....	52
2.4. Ekstrakorporal Şok Dalga Tedavisi (ESWT).....	54
2.4.1. Tanım.....	54
2.4.2. Şok Dalgası Üretim Yöntemleri .....	55
2.4.3. Şok Dalgalarının Uygulanma Şekilleri.....	57
2.4.4. Şok Dalgalarının Biyolojik Etkileri ve Temel Tedavi Uygulamaları .....	58
2.4.5. Şok Dalgalarının Kemik Dokusu Üzerine Etkisi ve Kullanımı.....	62
2.4.6. Şok Dalgalarının Oral Bölge Kullanımları .....	66
<b>3. MATERYAL VE METOT</b> .....	69

3.1. Deneý Hayvanları .....	69
3.2. Deneý Hayvanlarının Gruplandırılması .....	69
3.3. Biyomateryaller.....	70
3.3.1. Bone Ceramic .....	70
3.3.2. Mineross.....	70
3.4. ESWT Cihazı .....	71
3.5. Streptozotosin (STZ).....	72
3.6. Deneysel Diyabetik Modelin Oluşturulması.....	73
3.7. Cerrahi Prosedür .....	74
3.8. Postoperatif Bakım.....	78
3.9. ESWT Uygulama Protokolü .....	78
3.10. Deneýin Sonlandırılması.....	79
3.11. Radyolojik Değerlendirme .....	79
3.12. Stereolojik Değerlendirme .....	80
3.12.1. Cavalieri Metodu .....	81
3.13. İstatistiksel Değerlendirme .....	82
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>83</b>
4.1. Genel Bulgular .....	83
4.2. Radyolojik Bulgular .....	85
4.2.1. Boş Defekt (DF) Gruplarının Radyolojik İnceleme Sonuçları .....	85
4.2.2. Alloplast (AP) Gruplarının Radyolojik İnceleme Sonuçları.....	85
4.2.3. Allogreft (AL) Gruplarının Radyolojik İnceleme Sonuçları .....	86
4.3. Stereolojik Bulgular .....	87
4.3.1. Boş Defekt (DF) Gruplarının Stereolojik İnceleme Sonuçları .....	87
4.3.2. Alloplast (AP) Gruplarının Stereolojik İnceleme Sonuçları.....	90
4.3.3. Allogreft (AL) Gruplarının Stereolojik İnceleme Sonuçları.....	92
<b>5. TARTIşMA</b> .....	<b>97</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....	<b>130</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>132</b>
<b>EKLER</b> .....	<b>161</b>
Ek 1: Etik Kurul Onay Raporu.....	161
<b>ÖZGEÇMİş</b> .....	<b>162</b>

## 1.GİRİŞ

Kemik sahip olduğu özellikler ile canlılarda bulunan benzersiz bir dokudur. Çeşitli nedenlerle dış kuvvetlere maruz kalan kemiklerde meydana gelen kırıklardan, tümör ve kist gibi patolojik durumlardan dolayı geniş kemik defektleri meydana gelebilmektedir. Meydana gelen kemik kayıpları fizyolojik sınırlarda olduğunda kemik dokusu kendisini tamamen yenileyebilir ve fibröz skar dokusu olmadan orijinal formunda iyileşebilir (Cotran ve ark., 1994; Pilitsis ve ark., 2002). Ancak herhangi bir müdahale olmaksızın kendi kendine iyileşme gösteremeyen kritik boyuttaki kemik defektleri fibröz bağ dokusu ile iyileşir. Bu nedenle maksillofasiyal cerrahi pratiğinde kritik boyutlu kemik defektlerinin rejenerasyonu için biyomateryaller ve/veya biyostimülatif yöntemlerin kullanılması gerekmektedir (Deatherage ve ark., 1988; Clokie ve ark., 2002; Mokbel ve ark., 2008).

Kemik iyileşmesi, defektin boyutu gibi lokal faktörlerin yanında sistemik birçok durumdan etkilenmektedir (Cotran ve ark., 1994; Pilitsis ve ark., 2002). Bu sistemik durumların en başında da osteoporoz ve dünyada sıklığı gittikçe artan Diabetes Mellitus (DM) bulunmaktadır.

DM, insülin üretimindeki veya etkisindeki yetersizlik ile karakterize olan, vücuttaki birçok doku ve organda metabolik bozukluklara yol açan kronik bir hastalıktır. DM'nin birçok komplikasyonun yanında farklı mekanizmalar ile kemik metabolizmasını da etkilediği bilinmektedir (Leidig-Bruckner ve ark., 2001). DM'li hastalardaki kemik metabolizmasında meydana gelen değişikliklerden dolayı maksillofasiyal cerrahi işlemler sonrasında ciddi komplikasyonlar meydana gelebilmekte, temel fonksiyonlarda yetersizlikler ve estetik problemler ile karşı karşıya kalılabilmektedir. (Ebrahimi ve ark., 2012; Peer ve ark., 2015). Bunun sonucunda da kişilerin hayat kalitesinde ciddi oranda bozulmalar meydana gelmektedir.

Bu komplikasyonların iyileştirilmesi ve düzeltilmesi için kemik metabolizmasını etkileyen ve iyileşmeyi artırabilen farklı biyostimülatif yöntemler ve/veya kemik greftleri ve kemik yerine geçebilen biyomateryaller kullanılmaktadır. (Patrocínio-Silva ve ark., 2014; Campana ve ark., 2014). Bu biyostimülatif yöntemlerden biri olan ESWT etkili, güvenli, invaziv olmayan ve birçok avantaja sahip

modern bir tedavi metodudur. Günümüzde kliniklerde birçok hastalığın tedavisinde rutin olarak kullanılmasının yanısıra deneysel araştırmalarda da farklı hastalıkların tedavisindeki etkinliği araştırılmaktadır (Romeo ve ark., 2014). Şok dalgalarının kemik rejenerasyonu üzerinde olumlu etkiler yaptığı birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir (Wang ve ark., 2001a; 2004a; 2008a; Zelle ve ark., 2010; Gollwitzer ve ark., 2013)

Bu tez çalışmasının amacı farklı kas-iskelet sistemi hastalıklarının iyileşmesine olumlu etkisinin olduğu bildirilen ESWT'nin diyabetli ve diyabetli olmayan deneklerde, farklı greft materyallerinin uygulandığı kritik boyutlu kemik defektlerinin iyileşmesine olan etkisini araştırmaktır.



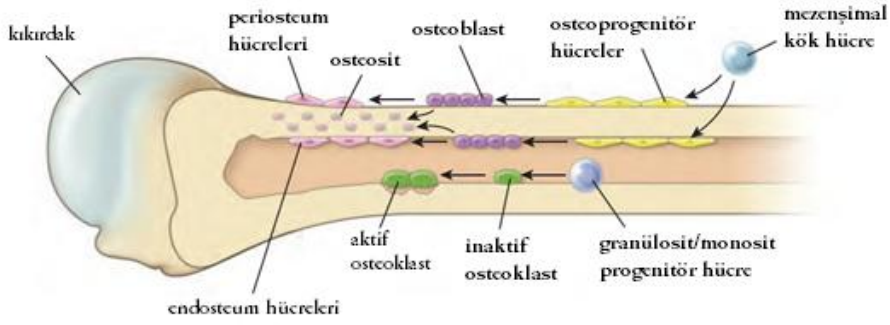
## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kemik Dokusu

Kemik, vücutta mekanik ve metabolik işlevi olan, organik ve inorganik komponentlerden oluşan özelleşmiş bir bağ dokusudur. Şeklini ve hacmini dış kuvvetlere göre değiştirebilir ve kendisini yapısal olarak yenileyebilir. Kemik dokusu erişkin iskeletin ana yapısını meydana getirir ve vücutta yumuşak dokulara/kaslara destek olur. Özellikle baş ve göğüs bölgesindeki hayati önem taşıyan organları korur, sahip olduğu ilik dokusu sayesinde hematopoezde rol alır (Webb ve ark., 2000; Junqueira ve ark., 2003). Kemik dokusu ayrıca başta kalsiyum ve fosfat olmak üzere birçok iyonun depo edilme yeridir ve bu iyonların kontrollü olarak salınımlarıyla vücut sıvılarında belli seviyelerde tutulmasını sağlar. Kemikler kasların meydana getirdiği kuvvetleri çoğaltarak ve dağıtarak bunları vücut hareketlerine dönüştürür. Yaşamın bir ve ikinci dekatlarında kemik dokusu sürekli olarak gelişir. İkinci dekatın sonuna doğru ve üçüncü dekatta kemik yapımının yerini dinamik bir remodelasyon süreci alır. Üçüncü dekattan sonra ise kemik kütlelerinde azalmalar meydana gelir (Bernard, 1991; Junqueira ve ark., 2003; Glorieux ve ark., 2012).

Kemik; ekstrasellüler matriks, kemik hücreleri ve yağlardan meydana gelen kompleks bir yapıdır. Kemik yaklaşık %20'si sudan oluşurken kuru ağırlığın %30-35'ini organik maddeler, %65-70'ini ise inorganik maddeler meydana getirir (Pilitsis ve ark., 2002; Boskey ve ark., 2010).

Kemik hücreleri; ekstrasellüler matriks içindeki lakünlerde bulunan *osteositler*, matriksin organik bileşeninin sentezini yapan *osteoblastlar*, ana vazifesi kemik rezorpsiyonu ve remodelingi olan *osteoklastlar*, osteojenik öncü hücreler olan *mezenseşimal osteoprogenitör hücreler* ve *kemik kaplayıcı hücreler* olmak üzere beş çeşittir. Osteoklast haricindeki diğer hücreler aynı hücre kökeninden meydana gelir. Tüm kemiklerde kemik sentezleyici ve tamir edici hücreleri içeren dış yüzeyde periosteum, iç yüzeyde endosteum adı verilen zarlar bulunmaktadır (Şekil 1) (Webb ve Tricker, 2000; Junqueira ve ark., 2003; Ulstrup, 2008; Ross ve ark., 2011).



Şekil 1. Kemik hücreleri (Ross ve Pawlina'dan, 2011)

### 2.1.1. Kemik Hücreleri

Kemik dokusu iki farklı kökenden gelen 5 farklı hücreye sahiptir:

- Mezenşimal kök hücre kökenliler: Osteoprogenitör hücreler, Osteoblastlar, Osteositler, osteoblastlardan köken alan Kemik Kaplayıcı Hücreler
- Monosit-makrofaj kökenliler: Osteoklastlar (Şekil 1) (Kierszenbaum, 2006)

#### Osteoblastlar

Osteoblastlar mezenşim orjinli progenitör hücrelerden meydana gelir. Osteoblastlar kemik matriksinde tip I kollajen, proteoglikanlar ve bazı özel glikoproteinlerin üretilmesinden sorumludur. Ayrıca kemik matriksinin sentezlenmesi, düzenlenmesi ve mineralizasyonunu gerçekleştirir. Kemikte mekanoreseptör olarak da görev alan osteoblastlar kan/kalsiyum dengesinin ayarlanmasında da kilit role sahiptir (Junqueira ve ark., 2003; Salgado ve ark., 2004; Glorieux ve ark., 2012). Mezenşimal osteoblast ve yüzey osteoblastı olmak üzere iki tip osteoblast vardır. Matriksin organik kısmını sentezleyen osteoblastlar, aktif kemik oluşumunun olduğu tüm kemik yüzeylerinde yan yana dizilmiş halde bulunurlar (Şekil 1). Genç hücreler bazofilik sitoplazmalı ve kübik-prizmatik yapıya iken, işlevleri azalan hücreler yassılaşılmaya başlar ve matriks içinde kalarak osteositlere dönüşür. Osteoblastların ilk olarak meydana getirdikleri ve henüz mineralleşmenin görülmediği, yalnızca organik içerikli matrikse osteoid adı verilir. Daha sonra osteoblastlar, bu matriks içerisine kalsiyum tuzlarının çökmesi ile birlikte osteoid mineralleşmesini başlatır ve bu durumu kontrol

ederler (Junqueira ve ark., 2003; Shapiro, 2008). Osteoblastlar tarafından üretilen alkalın fosfataz ve kalsiyum bağlayıcı protein olan osteokalsin, klinik olarak osteoblastik aktivite işaretleri olarak kullanılmaktadır (Ross ve Pawlina, 2011).

Osteoblast farklılaşması bazı büyüme ve transkripsiyon faktörleri ile kontrol edilmektedir. Kemik morfogenetik protein (BMP) ailesi ve transforme edici büyüme faktörü  $\beta$ 'nin (TGF- $\beta$ ) bazı çeşitleri osteoblast farklılaşmasında rol alabilmektedir. Bu farklılaşmayı osteoblastlara özgü Cbfa 1 geni kontrol etmektedir.

Osteoprotogerin, nükleer faktör kappa betanın reseptör aktivatörünün ligandı (RANK-L) ve makrofaj koloni stimüle edici faktör (M-CSF) osteoklastların farklılaşması için gerekli olan ürünler olup osteoblastlar tarafından sentezlenirler. Osteoblastlardan üretilen osteoprotogerin proteini bazı durumlarda kendi yüzeylerindeki RANK-L'ye bağlanarak nükleer faktör kappa betanın reseptör aktivatörünün (RANK) osteoklastları uyarmasını engeller. Osteoblastlar ayrıca BMP ailesinin üyeleri olan büyüme faktörlerinin üretilmesi ve salınmasından da sorumludur (Kierszenbaum, 2006).

### **Osteositler**

Osteositler, osteoblast kökenli olgunlaşmış hücrelerdir ve matriksin varlığı için çok önemlidirler. Organik matriksin üretimi sırasında bazı osteoblastlar bu yapının içinde kalarak osteosit adını alır. Osteositlerin içinde bulunduğu boşluklara laküna adı verilir. Her laküna içinde bir osteosit bulunur. Matriks içerisindeki ince silindirik kanalcıklarda (kanalikül) osteosit uzantıları (gap junksiyon) bulunur. Havers sistemi ile gelen kan, hücreler arasında bu yapılar sayesinde lameller boyunca iletilir. Osteositler ve kan damarları arasındaki moleküler değişim hücreler arası madde aracılığı ile de gerçekleşir. Bu hücreler esas olarak kemik matriksinin bakımından sorumludur. Osteositlerin ömrü besin difüzyonu sürecine ve kemik matriksinin ömrü de osteositlere bağlıdır. Ölümleri ile birlikte matrikste rezorbsiyonlar meydana gelir (Şekil 1) (Junqueira ve ark., 2003; Kierszenbaum, 2006).

### **Osteoklastlar**

Osteoklastlar, granülosit/makrofaj progenitör hücreler (GMP) olarak isimlendirilen mononükleer hematopoetik hücrelerin bir araya gelerek kaynaşması ile



meydana gelirler. Kemik iliğinde stromal hücrelerin ve osteoblastların salgıladıkları M-CSF ve RANK-L osteoklastların farklılaşması için gerekli olan önemli iki sitokindir. Ayrıca tümör nekrotizan faktör (TNF) ve interlökinler de GMP'den hem makrofajların hem de osteoklastların farklılaşmasına katkıda bulunurlar. Monositler, osteoblastların ve kemik iliğindeki stromal hücrelerin kontrolünde gerçekleşen bu işlemle ortalama 5-50 çekirdekli osteoklastları oluşturmak için bir araya gelerek birleşirler ve kan dolaşımına katılırlar (Ross ve Pawlina, 2011). Böylelikle büyük, dallanmış ve hareket edebilen hücreler olan osteoklastlar kemik matriksine ulaşır (Şekil 1). Bu bölgelerde Howship Lakünası adı verilen boşluklar içerisine yerleşirler. Kemik matriksine bağlandıktan sonra çevrelerinde asidik bir çevre oluştururlar. Osteoklastlar kollajen sindirimini ve kalsiyum tuzlarının rezorpsiyonunu sağlayan başta kollajenazı, katepsin K isimli lizozomal proteazı ve diğer proteolitik enzimleri salgılar. Böylece kemiğin rezorpsiyonunda ve remodelinginde önemli rol alır. Osteoklastların bu görevi D3 vitamini, kemik iliğinin stromal hücreleri, bazı sitokinler ve hormonlar tarafından kontrol edilir. Bu sitokinler TGF-B, prostoglandin E2 (PGE2), interlökin-1, 4, 6, 11, 13 (IL-1, IL-4, IL-6, IL-11, IL-13) ve interferon gama'dır. Hormonlar ise kalsitonin ve parathormondur. Osteoklastlarda kalsitonin reseptörü olmasına karşın parathormon reseptörü yoktur. Bu reseptör osteoblastlarda bulunur ve bu hormon ile uyarıldıklarında osteoblastlardan osteoklast uyarıcı sitokinler (RANK-L, M-CSF) üretilir (Junqueira ve ark., 2003; Kierszenbaum, 2006; Ulstrup, 2008).

### **Mezenşimal Osteoprogenitör Hücreler**

Osteoprogenitör hücreler mezenşim kökenli osteojenik öncü hücrelerdir. Çoğalma ve farklılaşma kapasitesine sahiptirler. Periosteum ve endosteumun iç tarafında bulunurlar. Bir takım büyüme ve transkripsiyon faktörlerini içeren farklılaşma mekanizması ile osteoblastlara dönüşürler. Bu hücreler kemiği döşeyen hücreler olarak tüm hayat boyunca kalırlar, kemik iyileşmesi ya da onarımı sırasında yeniden aktive olurlar (Şekil 1) (Pilitsis ve ark., 2002; Junqueira ve ark., 2003).

### **Kemik Kaplayıcı Hücreler**

Bu hücreler osteoblastlardan gelişirler ve kemik yüzeylerinde bulunurlar. Remodeling sürecinin meydana gelmediği dönemlerde kemik yüzeyinde yassı şekilli ve

organeller açısından fakir hücreler olarak bulunurlar. Kemiğin dış yüzeyinde bulunanlar periostal hücreler olarak isim alırken iç yüzeyinde bulunanlar ise endostal hücreler olarak isimlendirilir. Sahip oldukları uzantılar ile osteositler ile irtibat kurarlar. Böylece osteositlerin beslenmesi ve korunmasını sağlarlar. Ayrıca bu hücrelerin kemik içi ve dışındaki kalsiyum ve fosfatın hareketini düzenlediği düşünülmektedir (Ross ve Pawlina, 2011).

### **2.1.2 Kemik Matrisi**

Kemik matrisi %30-35 oranında organik ve %65-70 oranında inorganik bileşiklerden oluşur. İnorganik bileşende en yoğun olarak kalsiyum fosfat birikimleri bulunur. Bunun yanında kalsiyum karbonat, trikalsiyum fosfat, magnezyum florid, kalsiyum florid, potasyum ve sodyum bulunur. Matris içerisindeki kalsiyum ve fosfor hidroksiapatit kristalleri halinde bulunurlar. Hidroksiapatit kristalleri kollajen liflerine komşu bölgelerde tabakalar halinde ve etrafı ara madde ile sarılmış halde bulunurlar (Pilitsis ve ark., 2002; Kierszenbaum, 2006).

Matrisin organik yapısı ise tip I kollajen (%90) ve diğer tip kollajenlerden (tip III, tip V gibi), kondroitin sülfat, keratan sülfat ve hyaluronik asitçe zengin proteoglikanlar ve birkaç özel glikoproteinden meydana gelir. Bu özel glikoproteinlerden olan osteokalsin ve osteonektin, osteoblastlar tarafından sentezlenirler ve kemiğin mineralleşmesinde bazı rollere sahiptirler. Kemik siyaloproteini ve osteopontin multi adeziv glikoproteinlerden olup osteoblastlardan üretilen organik kemik matrisi elemanlarıdır. Glikoproteinlerin kemik matrisinin mineralleşmesinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Tip I kollajen kemik matrisinin baskın proteindir. Normalde Tip I kollajen içeren dokular çökmediği ve bu glikoproteinleri içermediği halde kemik dokusu bu yönüyle farklılık gösterir (Junqueira ve ark., 2003; Kierszenbaum, 2006; Boskey ve Coleman, 2010).

Mineral ve kollajenler kemik dokusunun sertliği ve esnekliğini sağlarlar. Kemik kalsiyumunu kaybettiğinde şeklini koruyabilir ancak bir tendon kadar esnek hale gelir. Matrisin kollajenden oluşan organik kısmı ortadan kalktığında ise yine şeklini koruyabilir ancak aşırı kırılabilir hale gelir (Junqueira ve ark., 2003).

### 2.1.3. Periosteum ve Endosteum

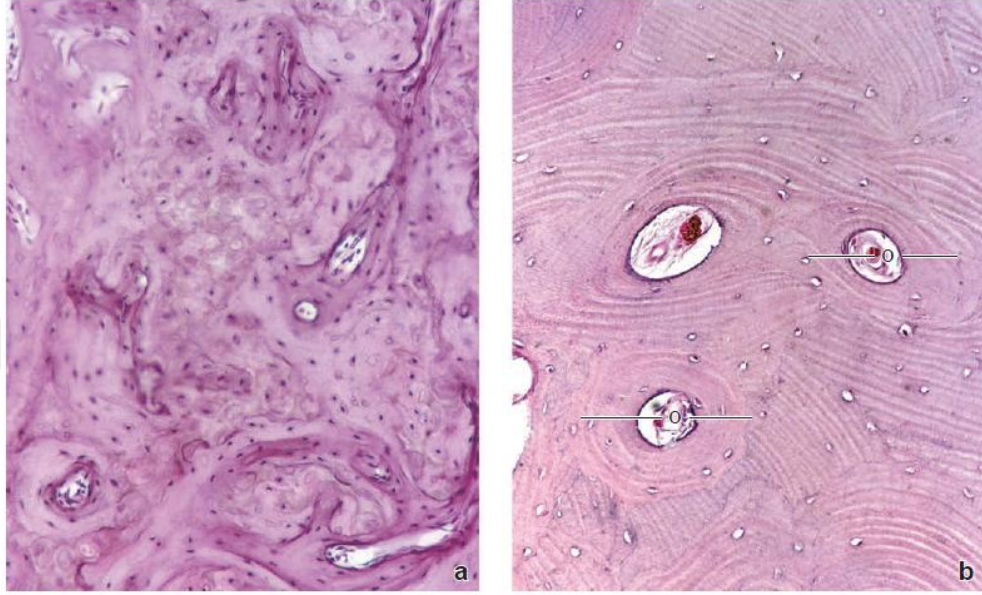
Kemik dış yüzeyini saran periosteum, kollajen lifleri ve fibroblastlardan oluşan bir bağ dokusudur. İç ve dış olmak üzere iki tabakadan oluşur. Dış tabakada kan damarları ve kollajen lifler bulunur. Sharpey lifleri adını alan bu kollajen lifler, matriks içine doğru uzanarak periosteumun kemik yüzeyine bağlanmasını sağlar. Periosteumun kemiğe bakan iç tabakasında ise yapısal olarak fibroblastlara benzeyen ve farklılaşarak osteoblastları meydana getirme potansiyeline sahip olan osteoprogenitor hücreler bulunmaktadır. Endosteum ise tek katman halinde sıralanmış osteoprogenitor hücrelerden ve bağ dokusundan oluşur. Kemiğin iç bölgesindeki yüzeyleri örter. Bu iki kemik örtüsünün ana işlevleri kemik dokusunun beslenmesi, yapımı ve onarımıdır (Junqueira ve ark., 2003; Kierszenbaum, 2006).

### 2.1.4. Kemik Türleri

Mikroskopik olarak incelendiğinde iki tür kemik olduğu görülür: 1- *birincil, immatür ya da örgü kemik*, 2- *ikincil, olgun ya da lameller kemik*. Örgü kemik intrauterin dönemde, kırık ya da defektlerin iyileşmesinde veya onarımında ilk olarak meydana gelen kemik türüdür. Lameller kemik ise daha sonra oluşan ve kollajen liflerin düzenli olarak dizildiği kemik türüdür. Örgü ve lameller kemik yapısal olarak süngerimsi (spongios) ve kompakt yapıda olabilir (Buckwalter ve ark., 1995; Junqueira ve ark., 2003).

Süngerimsi kemik, kemik iliği boşluğunu çevreleyen ve hematopoietik hücreler içeren trabeküllerden (spikül) meydana gelir. Kompakt kemik lamellerden, Volkmann kanallarından ve Osteon yada Havers sistemi denilen yapılardan oluşur. İskeletin uzun kemiklerin uç bölgelerinde (epifiz), dış tarafta ince bir kortikal kemik ve iç tarafta daha fazla oranda süngerimsi kemik bulunmaktadır. Diyafiz ise uzun kemiğin silindirik biçimli orta bölümü olmakla beraber az miktarda süngerimsi kemikten ve daha yoğun olarak kompakt kemikten oluşmaktadır. İskeletin kısa kemikleri ise, etrafında kompakt kemik bulunan süngerimsi kemikten oluşmaktadır. Kafatasını oluşturan düz kemikler ise plaka adı verilen iki tabaka kompakt kemik arasında *diploe* adı verilen süngerimsi kemik tabakalarından oluşur (Doblaré ve ark., 2004; Kierszenbaum, 2006; Glorieux ve ark., 2012).

Tüm kemiklerde kemik hücrelerinin yaşam döngüsünün devam etmesi için kanlanmanın önemi çok büyüktür. Kompakt kemiğin üst kısmının kanlanması periost tarafından sağlanırken, kompakt kemiğin alt kısımlarının, osteoprogenitör hücrelerin ve süngerimsi kemiğin kanlanması ise kemik iliğindeki damarlardan sağlanmaktadır (Junqueira ve ark., 2003; Shapiro, 2008).



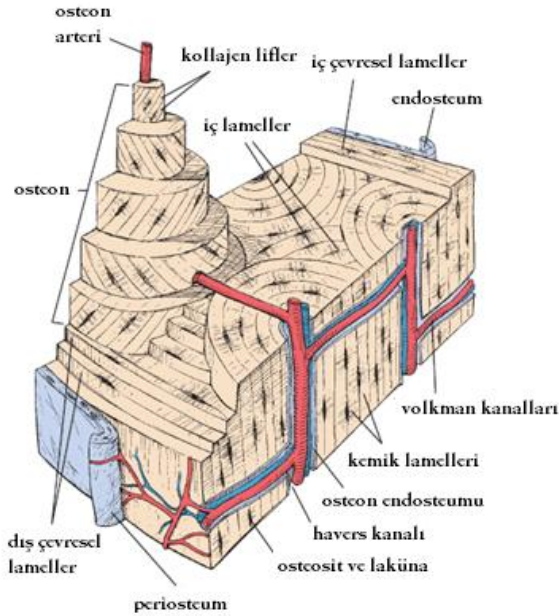
**Şekil 2. a:** Örgü kemiğin histolojik görüntüsü **b:** Lameller kemiğin histolojik görüntüsü (Ross ve Pawlina'dan, 2011)

### Örgü Kemik Dokusu

Örgü kemik, embriyonun gelişimi, kemik iyileşmesi ve büyüme sürecinde geçici olarak oluşan ve daha sonra değiştirilen kemik dokusudur. Erişkinlerde kafatasının düz kemiklerinde, diş çekim soketlerinde ve bazı tendonların kemiğe girdiği yerlerde örgü kemik değişimi görülmez. Örgü kemik bu durumların dışında kemikte normalde bulunmayan tümör dokusunda, osteogenesis imperfekta ve Paget hastalığında bulunur. Örgü kemikte kollajen lifler ve hücreler düzensiz olarak sıralanmışlardır. Lameller kemiğe göre daha fazla sayıda osteosite ve daha az mineral içeriğe sahiptir (Buckwalter ve ark., 1995; Junqueira ve ark., 2003). Histopatolojik kemik kesitlerindeki hematoksilen eozin ile boyamada örgü kemik matriksi hematoksilen ile, lameller kemik matriksi eozin ile daha yoğun olarak boyanmaktadır (Şekil 2) (Ross ve Pawlina, 2011).

## Lameller Kemik Dokusu

Lameller kemik doğumdan bir ay sonra oluşmaya başlar. Yaklaşık 4 yaş civarında vücuttaki tüm kemikler lameller kemiğe dönüşmüş olur. Lameller kemik Havers sisteminin etrafında yer alan dairesel lameller, Havers sistemlerinin aralarında yer alan iç lameller ve kemiğin iç ve dış yüzeyini çepeçevre saran çevresel lamellerden meydana gelir. Barındırdığı kanalcıklarda kollajen lifler birbirine paralel olarak ya da bir damar etrafından dairesel olarak sıralanmış halde bulunurlar. Ortada kan damarı, sinir ve gevşek bağ dokusu içeren bir kanal ve etrafındaki ortalama 4-20 dairesel kemik kanalından (lamelcik) oluşan bu kompleks yapıya Havers sistemi ya da Osteon adı verilir. Her kanal endosteum ile örtülüdür. Osteositlerin bulunduğu lakünalar bu lamellerin arasında ve nadiren de içinde bulunur. Bütün lamellerde bulunan kollajen lifler birbirine paraleldir ve sarmal halinde seyrederek (Junqueira ve ark., 2003; Kierszenbaum, 2006; Ross ve Pawlina, 2011).



Şekil 3. Lameller kemiğin şematik görüntüsü (Ross ve Pawlina'dan, 2011)

Her Havers sisteminin etrafında az miktarda kollajen lif içeren mineralleşmiş bir matriks bulunur. Buna Sement adı verilir. Havers sisteminde kemik iliği ve periost arasında enine veya çapraz şekilde bulunan ve hem periost hem de kemik iliğinden kan damarları alan Volkman kanalları bulunur. Bu kanallar etrafında dairesel lameller

bulunmaz (Şekil 3). Kemik dokusu sürekli yenilenen bir doku olduğundan Havers sisteminin yapısı da değişkenlik gösterebilir. Ancak her sistem dıştan içe doğru olgunlaşma gösterir. Yani merkezde bulunan kanala en yakın lamel en yeni oluşandır. İç lameller büyüme ve yeniden şekillenme sırasında yıkılan Havers sistemlerinden arda kalan lamellerdir. Süngerimsi kemik, lameller yapıda olabilmesine rağmen genellikle Havers sistemi içermez (Buckwalter ve ark., 1995; Junqueira ve ark., 2003; Kierszenbaum, 2006).

### **2.1.5. Osteogenezis (Kemik Gelişimi)**

Kemik dokusunun gelişimi 2 yolla olur:

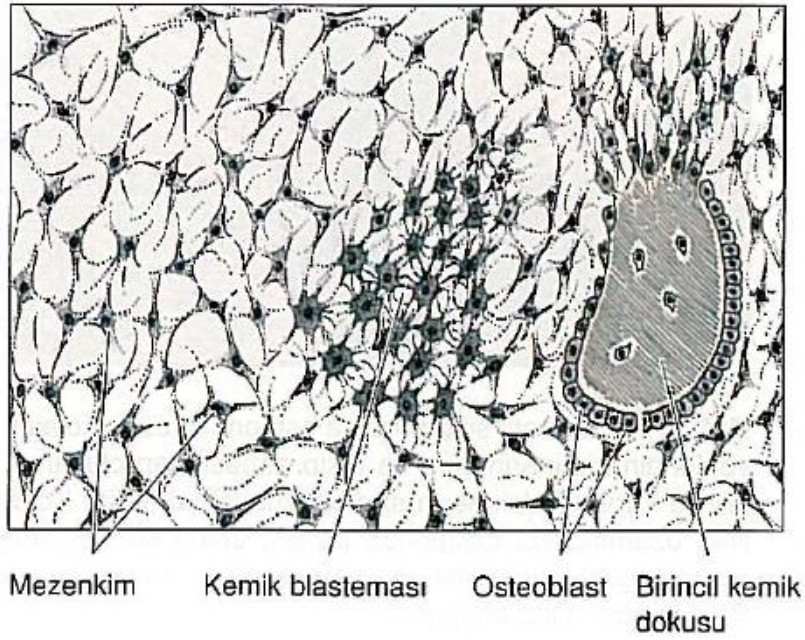
- Primitif bağ dokusu veya mezenşimden köken alan, osteoblastların salgıladıkları matrikse doğrudan minerallerin çökmesi ile meydana gelen kemik gelişimi intramembranöz kemikleşmedir.
- Önceden var olan kıkırdak matriks üzerine çökme ile meydana gelen kemik gelişimi endokondral kemikleşmedir.

Hangi yol ile meydana gelirse gelsin kemikleşme sürecinde kemik matriksi oluşumu aynıdır ve ilk oluşan kemik örgü kemiktir. Daha sonra bazı bölgeler haricindeki bütün kemiklerde lameller kemiğe dönüşüm gerçekleşir. Aralarındaki fark ise endokondral kemikleşmede kemik matriksi kıkırdağın yerini almaktadır. Kemik gelişimi sırasında örgü kemik ve lameller kemik alanları iç içe bulunur. Bu remodelasyon işlemi, büyüyen kemiklerin yanı sıra erişkinlerde de hızı yavaş olmakla beraber hayat boyu devam eder. Kemiğin enine büyümesi ve kalınlaşması periosteum sayesinde olurken boyuna uzaması epifiz bölgesindeki kıkırdağı yerini sürekli olarak kemik dokusunun alması ile gerçekleşir (Kierszenbaum, 2006; Glorieux ve ark., 2012).

### **İntramembranöz Kemikleşme**

Yassı kemiklerin oluşum mekanizması bu şekildedir. Kafatası kemikleri başta frontal ve parietal kemik olmak üzere oksipital, temporal, maksilla ve mandibulanın büyük bir kısmı bu şekilde kemikleşir. Kısa kemiklerin büyümesi ve kalınlaşması da bu şekilde olmaktadır. İntramembranöz kemikleşmenin ilk belirtisi olarak mezenşim hücreleri kemikleşme meydana gelecek bölgelere göç ederler ve buralarda toplanarak

yoğunlaşırlar. Toplanmanın meydana geldiği bu bölgelere birincil kemikleşme merkezi adı verilir. Mezenşim hücreleri Cbfa1 geni transkripsiyon faktörünün etkisiyle osteoprogenitör hücrelere farklılaşırlar. Osteoprogenitör hücrelerde bir takım hücresel değişiklikler olurken yeni organize olmaya başlayan dokuda bolca damarlanma meydana gelir. Hücresel değişiklikler sonrası osteoprogenitör hücrelerden osteoblastlar oluşur. Osteoblastlar kollojenleri, kemik sialoproteinlerini, osteokalsini ve diğer organik matriks bileşenlerini sentezler (Şekil 4).



Şekil 4. İntramebranöz kemikleşmenin şematik görünümü (Junqueira'dan, 2003)

Aynı zamanda oluşan damarlar ile kemikleşme bölgesine ulaşan kalsiyum ve fosfor, osteoblastlar tarafından salgılanan alkalen fosfataz ile kalsiyum fosfat moleküllerine dönüştürülür. Kalsiyum fosfatın organik matriks içine çökmesi ile kalsifikasyon gerçekleşir. Böylece birkaç kemikleşme merkezi bir araya gelerek mezenşim hücreleri ve kan damarlarının etrafında trabeküllerden bir duvar oluşturur. Bu yeni oluşan trabeküllerde kollajen liflerinin rastgele dağılım gösterdiği örgü kemik meydana gelmiş olur. Matriksin mineralizasyonu ile matriks içinde hapis kalan osteoblastlar osteositler halini alır. Osteoblastik farklılaşma ve aktivite devam ettikçe örgü kemik, yeniden sentezlenen ve düzenli demet halinde izlenen kollajen liflerin ve Havers sisteminin olduğu lameller kemiğe dönüşür. Diğer yandan bölgeye ulaşan



osteoklastlar kemiği iç yüzeylerden rezorbe etmeye başlar. Böylece örgü kemikten oluşan trabeküller ortadan kaldırılarak yalnızca lameller yapıdaki süngerimsi kemik meydana gelir. Daha sonraki aşamalarda kompakt kemik belirginleşmeye başlar. Bağ dokusunun osteoprogenitör hücre potansiyeline sahip kemikleşmeyen bölgeleri ise zar şeklinde gelişerek periosteumu ve endosteumu oluşturur. Büyüyen kan damarları ve mezenşim hücreleri kalsifiye kemik duvarları arasında kalarak bağ dokusuyla beraber kemik iliğini meydana getirir (Junqueira ve ark., 2003; Kierszenbaum, 2006; Ross ve Pawlina, 2011).

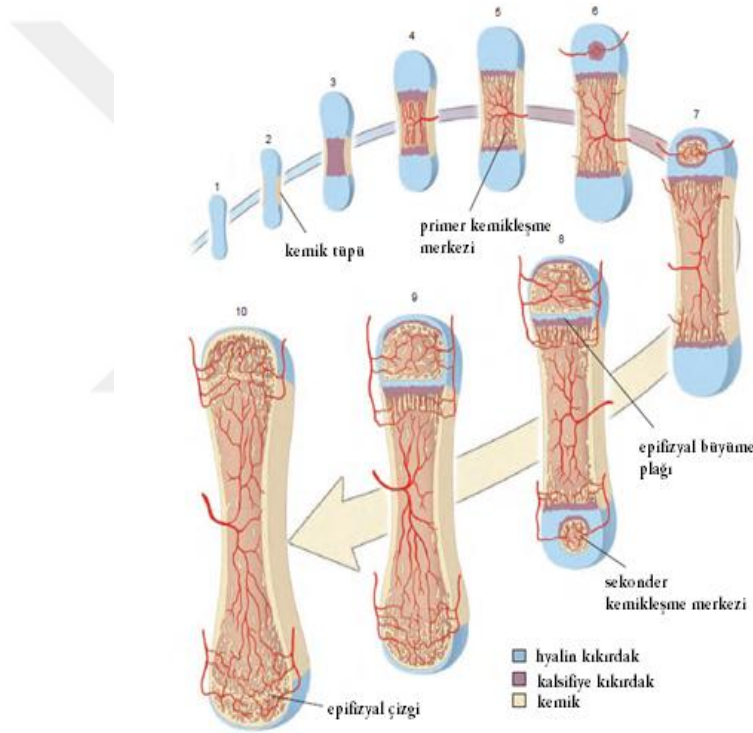
### **Endokondral Kemikleşme**

Ekstremitte kemikleri, vertebralar ve pelvis kemikleri endokondral kemikleşme ile meydana gelir. Bu tip kemikleşmede bağ dokusu veya mezenşim içerisinde sonuçta meydana gelecek kemiğin şeklini andıran küçük bir hiyalin kıkırdak model meydana gelir. Bu kıkırdak doku, embriyonik yaşamda yumuşak doku ve kaslara destek vazifesi görür (Junqueira ve ark., 2003; Kierszenbaum, 2006).

Kıkırdak model olgunlaştıkça kondrositler çoğalır ve modelin orta bölgesinde hipertrofiye uğrarlar. Böylece intramembranöz kemikleşmedekine benzer şekilde primer kemikleşme merkezinin oluşumu başlatılır. Ancak intramembranöz kemikleşmeden farklı olarak bu kemikleşme merkezi, tip II kollajenli matriksi üreten kondrositlerden oluşur. Daha sonra hipertrofik olan kondrositlerden tip X kollajen içeren matriks sentezlenir. Bu işlemler sırasında perikondriumda bulunan osteoprogenitör hücreler diyafiz denilen kıkırdak modelin orta bölgesinde, primer kemikleşme merkezi etrafında ince bir periostal halkayı oluşturur. Böylelikle perikondriumun alt tarafında intramembranöz kemikleşme ile oluşan örgü kemikten bir kemik tüpü oluşur. Kondrositlerden, perikondriumdan kan damarlarının çoğalmasını indüklemek için vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) salgılanır. Böylelikle osteoprogenitör ve hematopoietik hücreler, osteoklastların kemik tüpünde oluşturdukları küçük deliklerden içeriye doğru proliferen olan kan damarları aracılığı ile matrikse ulaşır. Damarlar aracılığı ile gelen kalsiyum ve fosfor alkelen fosfataz ile kalsiyum fosfata dönüşerek kıkırdak matriks içerisine çöker. Bu sırada matriksin kalsifikasyonu başlatılırken hipertrofik kondrositlerin apoptozisi gerçekleşir. Bu olaylar sonucunda primer kemikleşme merkezinin oluşumu tamamlanır. Primer kemikleşme merkezine ulaşan



kan damarları çoğalır, dallanır ve her iki uca kadar uzanırlar (Şekil 5). Osteoprogenitör ve hematopoietik hücreler yayılan bu kan damarlarının etrafındaki perivasküler bağ dokusu aracılığı ile kalsifiye kıkırdığın merkezine ulaşır. Bu bölgeye ulaşan osteoprogenitör hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasıyla kemik matriksinin depolanma süreci başlamış olur. Kemikleşme olayı uç bölgelere doğru ilerledikçe kıkırdak kaybı ve yeni oluşan kemik trabeküllerinin osteoklastlar tarafından rezorbe edilmesi sonucunda kemik iliği boşluğu oluşturulur. Kemik iliği boşluğunun artması ile güçsüzleşen kıkırdak modelin, periostal halkanın apozisyonel büyümesi ile uzunluğunun ve kalınlığının artması sayesinde güçlenmesi sağlanır (Kierszenbaum, 2006).



Şekil 5. Endokondral kemikleşmenin şematik görünümü (Ross ve Pawlina'dan, 2011)

Kıkırdak modelin her iki ucundaki epifiz bölgelerinde hipertrofik kondrositlerin bulunduğu alanları, kan damarları ve perikondriumdan gelen osteoprogenitör hücreler işgal eder. Böylece bu bölgelerde sekonder kemikleşme merkezi meydana gelir. Osteoprogenitör hücrelerden osteoblast farklılaşması meydana gelir ve kemik matriksi depolanmaya başlanır. Eklem kıkırdığı ve epifiz plağı haricindeki bölgelerde örgü kemik oluşumu görülür. Epifiz kıkırdığı büyüdükçe çoğunluğu diyafiz tarafında olmak üzere kemikleşme meydana gelir ve bu dönemde kemik uzaması olur. Büyüme dönemi sona erdiğinde epifiz plağı zamanla rezorbe

olarak ortadan kaldırılır ve böylece kemiğin boyuna büyümesi sonlanmış olur (Junqueira ve ark., 2003; Kierszenbaum, 2006).

Endokondral kemikleşmeden sonra kemiklerde osteoklast ve osteoblastlar tarafından yeniden şekillenme süreci başlatılır. Bazı bölgelerde osteoblastlar lamel tabakaları oluşturarak kompakt kemiğin meydana gelmesini sağlar. Kemik lamelleri de daha düzenli ve belirgin şekilde oluştuğunda Havers sistemi ve Volkmann kanalları meydana gelir (Junqueira ve ark., 2003; Kierszenbaum, 2006).

Günümüz itibari ile kemik matriksi üzerine kalsiyum fosfat çökmesinin mekanizmasını bildiren genel kabul görmüş bir varsayım bulunmamaktadır. Ancak kalsiyum tuzlarının kollajen liflerinin üzerine çökmesi ile kalsifikasyonun başladığı bilinmektedir. Yine de kalsifikasyonda rol alan alkalin fosfatın osteoblastlar tarafından nasıl bir yolla üretildiği konusu belirsizdir (Junqueira ve ark., 2003).

### **2.1.6. Kemiğin Yaşamsal Metabolik Rolü**

Vücuttaki kalsiyumun %99'u kemiklerde bulunmaktadır. Kan ve kemik arasında devamlı olarak gerçekleştirilen kalsiyum değişimi ile kandaki kalsiyum miktarı dengede tutulmaktadır. Kemikteki kalsiyum iki yolla kana verilir: İlk mekanizmada genellikle süngerimsi kemikte bulunan hafifçe kalsifiye olmuş lamellerdeki hidroksiapatit kristallerinden kalsiyumun kana geçmesi sağlanır. Remodeling'in sık olarak görüldüğü genç ve hafif kalsifiye olmuş lameller daha hızlı ve kolay bir şekilde kalsiyumu alır ve verir. Bu nedenle bu lamellerin kandaki kalsiyum derişiminin sabit tutulmasındaki rolleri ileri derecede kireçlenmiş lamellerden daha fazladır. İkinci mekanizma ise bazı hormonların kemik üzerindeki etkileri ile gerçekleşmektedir. Parathormon osteoblast reseptörlerini uyararak kemik yapımının durdurulmasını ve osteoklast uyarıcı faktörün salgılanmasını sağlar. Harekete geçen osteoklastlar ise kemik matriksini rezorbe eder ve serbest kalan kalsiyumun kana geçmesini sağlar. Bir diğer hormon ise kalsitonindir. Troit bezinin parafoliküler hücrelerinden sentezlenir ve osteoklastların işlevini inhibe ederek kemik matriksinin rezorbe edilmesine engel olur. Kemik yapımını etkileyen diğer hormonlar ise büyüme hormonu (GH-somatotropin) ve cinsiyet hormonlarıdır (testosteron, östrojen, progesteron). Hiperparatiroidizmde aşırı miktarda parathormon üretimi gerçekleşir. Bunun sonucunda kemik kalsiyumunu

kaybeder, kandaki kalsiyum ve fosfat iyonlarının artmasıyla da özellikle böbrek ve arter duvarlarında anormal kalsiyum çökmesi görülür. Bunu tersi durumunda ise osteoklastların işlevlerinin bozulması sonucunda kemiklerde aşırı büyüme, kalınlaşma ve sertleşmeyle karakterize osteopetrozis hastalığı ortaya çıkar (Junqueira ve ark., 2003).

### **2.1.7. Kemik İyileşmesi**

Kemik kendisini tamamen yenileyebilen ve fibröz skar dokusu olmadan orijinal formunda iyileşebilen benzersiz bir dokudur. Çeşitli stres faktörleri ile dış kuvvetlere maruz kalan kemiklerde kırıklar oluşabilmekte, tümör, kist gibi patolojik durumlardan ve travmalardan dolayı geniş kemik defektleri meydana gelebilmektedir. Anatomik şekli bozulan kemik dokusunda bu defektlerin rejenere veya tamir edilebilmesine yönelik bir takım fizyolojik reaksiyonlar meydana gelir. Kemik iyileşme kapasitesi birçok lokal ve sistemik duruma göre değişebilmektedir. Kemik defektlerinin iyileşmesi ile kırık iyileşmesi arasında biyolojik olarak bir farklılık yoktur, o nedenle kırık iyileşmesi kemik defektlerinin iyileşmesi açısından bir model olarak gösterilmektedir. Bununla beraber kemik defektlerinin iyileşmesi kırık iyileşmesine göre kanlanma bozukluğundan ve bazı dış faktörlerden daha az etkilenir (Cotran ve ark., 1994; Pilitsis ve ark., 2002).

Histolojik olarak kırık iyileşmesi direkt (primer) kemik iyileşmesi ve indirekt (sekonder) kemik iyileşmesi olmak üzere iki gruba ayrılır. Direkt kemik iyileşmesinde kallus formasyonu görülmeden intramembranöz kemik formasyonu ve kompakt kemiğin remodelingi görülür (Isaksson ve ark., 2007). Bu iyileşme tipi yeşil ağaç kırıklarında veya kırık segmentlerinin rijit bir şekilde sıkı temas haline getirilerek fikse edildiği durumda gerçekleşebilir. Kırık bölgesinde meydana gelen yeni kan damarları ile bölgeye osteoprogenitör hücreler ulaşır. Böylece intramembranöz kemikleşme süreci başlar. Kompakt kemikteki Osteonların yeni meydana gelen damarları izleyerek kırık bölgesinde şekillenmesi ile iyileşme sağlanır (Tsiridis ve ark., 2007).

İndirek kemik iyileşmesi ise, kırık segmentlerin bir araya getirilmesi, inflamasyon, primer yumuşak kallus oluşumu, kallus mineralizasyonu, kallus remodelingi gibi bir dizi aşamadan meydana gelir. İndirek iyileşme rijit fiksasyon

olduğunda gelişmez. Ancak mikro hareketlere izin veren fiksasyon tekniklerinde gelişmektedir. İyileşme bölgesinde hem endokonral hem de intramembranöz kemik kemik iyileşmesi görülür (Greenbaum ve ark., 1993; LaStayo ve ark., 2003).

Kemik kırıkları ya da kemik defektleri birtakım biyolojik süreçler sonunda tamamen rejenere edilmeye çalışılır. Tüm yumuşak dokularda da olduğu gibi kırık iyileşmesi de 3 ana bölüm halinde gerçekleşir: 1- İnflamatuar faz, 2-Proliferatif faz, 3- Remodeling fazı. Ancak kemik iyileşmesinde yumuşak doku iyileşmesinden farklı olarak kemiğe özgü osteoblastlar ve osteoklastlar görev alır (Pilitsis ve ark., 2002; Ghali ve ark., 2004; Brandi, 2010; Bigham-Sadegh ve ark., 2014). Her ne kadar bu fazlar ayrı süreçler olarak ifade edilse de bunlar iç içe geçmiş yara iyileşme mekanizmasını oluştururlar (Dolan, 2003; Ghali ve ark., 2004).

### **Kemik İyileşmesinin Fazları**

**İnflamatuar faz:** Kırık ya da defekt bölgesindeki kemik ve periostta hasar gören damarlardan meydana gelen kanamanın etkisiyle hematoma meydana gelir (Thomson, 2003; Mountziaris ve ark., 2008). Aktive olan koagülasyon sistemi trombositlerden hematoma içerisine güçlü vazoaaktif mediatörlerin salınmasını sağlar. IL-1, IL-6, IL-11, IL-18 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinler inflamasyon mediatörleri olarak defekt bölgesinde yaralanmadan ilk birkaç gün içinde yüksek oranda bulunurlar (Mountziaris ve Mikos, 2008). Bu mediatörlerin salınımı, nötrofil, makrofaj ve lenfosit gibi inflamasyon hücrelerinin bölgeye göç etmesine neden olur. Kırık segmentlerinin her iki ucunda damarsal harabiyete bağlı olarak kemik nekrozları görülür. Bu nekroz bölgelerinin ve lizise uğrayan hücrelerin de inflammatuar hücrelerin göçünde etkili olduğu bilinmektedir. Bu arada trombositler defekt bölgesinde toplanır ve fibrin ağı ile etkileşerek pıhtıyı organize ederler (Dolan, 2003; Dimitriou ve ark., 2005). Kan damarlarının yırtılmasında dolayı kırık bölgesinde hipoksi meydana gelir ve osteositlere gerekli besin ulaşamaz. Bundan dolayı bu hücrelerde dejeneratif ve nekrotik değişiklikler olur (Geris ve ark., 2008). Makrofajlar bir yandan nekrotik dokuları ve hücreleri fagozite ederken diğer yandan rejenerasyonda rol alacak BMP-2, BMP-5, BMP-7, temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF), TGF- $\beta$ , trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) gibi büyüme faktörlerinin salınımı için sinyal gönderir. Bu büyüme faktörleri mezenşimal hücrelerin göçünü,

proliferasyonunu ve anjioblast, kondroblast, fibroblast ve osteoblastlara farklılaşmasını sağlar. Endotelyal hücreler, osteoblastlar ve fibroblastlar, granülasyon dokusunun doldurduğu kırık boşluğunda çoğalmaya başlarlar. Bu süreç içerisinde ilk kallus dokusu oluşur. İnflamatuar faz normal koşullarda kırık oluşmasını takiben bir hafta içerisinde sonlanır (Şekil 6) (LaStayo ve ark., 2003).

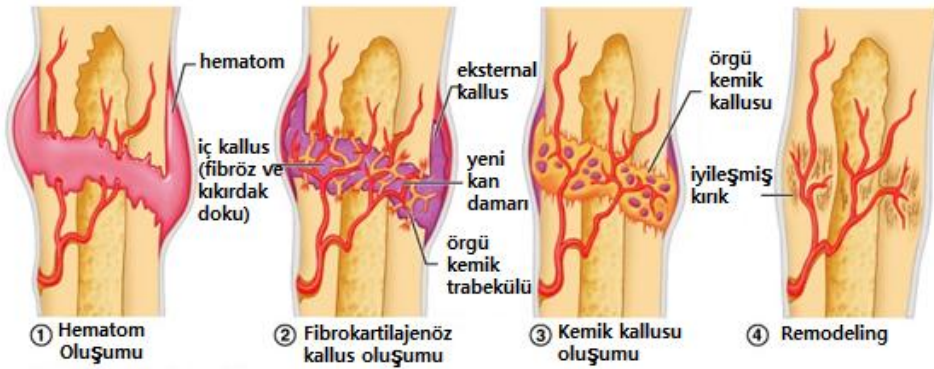
Travma sonrası T lenfositleri sayısında azalma ve fonksiyonlarında değişimler meydana gelir. Ancak lenfositlerin yara iyileşme mekanizmasında rolleri yoktur. Bunun yanında kırık iyileşmesinin normal bir şekilde tamamlanabilmesi için de tam bir immün cevabın oluşması şarttır. Henüz travma sonrası oluşan immünsüpresyonun nedeni tam olarak bilinmese de bazı stres hormonlarının ve immünsüpresif faktörlerin (inflamasyon sitokinleri, prostoglandin E2, nitrik oksit gibi) lenfosit fonksiyonlarını etkileyerek immünsüpresyonda rol aldığı bilinmektedir. (Schaffer ve ark., 1998).

Nötrofil fonksiyonlarının araştırıldığı deneysel çalışmalarda, nötrofil aracılı inflamatuar cevabı takiben mezenşimal hücrelerden osteoblast farklılaşmasının baskılandığı, kondroblast farklılaşmasının ise indüklendiği bildirilmiştir (Glass ve ark., 2011).

İnflamatuar cevabı takiben makrofajlar fibröz kallus dokusunun içinde ve yeni oluşan kemik dokusunun bir kısmında gözlenirler. Makrofajlar kırık iyileşmesinin erken döneminde kondrosit farklılaşmasında ve vaskülarizasyonda kilit role sahiptir. Makrofajlar progenitör hücrelerin farklılaşmasını stimüle ederler (Cho-Chung, 2006).

**Proliferatif faz:** Proliferatif ya da fibroplazi fazında temel olarak kırık bölgesinde meydana gelen pıhtının organizasyonu meydana gelir. Proliferatif fazın başlangıcında nekrotik kemik osteoklastlar tarafından rezorbe edilir. Daha sonra kallus formasyonu ile birlikte vasküler büyüme, osteoid sentezi ve kollojen fibrillerin varlığı izlenir. Periosteum ve endosteumdan kırık bölgesine yayılan osteoprogenitör hücrelerden osteoblast farklılaşması meydana gelir. Bu fazda kondroblastların, kondrositlerin ve fibroblastların meydana getirdiği bağ dokusu formasyonu ve osteoblastların oluşturduğu örgü kemiğin görülmeye başlandığı yumuşak kallus (fibrokartilajenöz kallus) formasyonu izlenir (Şekil 6) (Goldhahn ve ark., 2012).

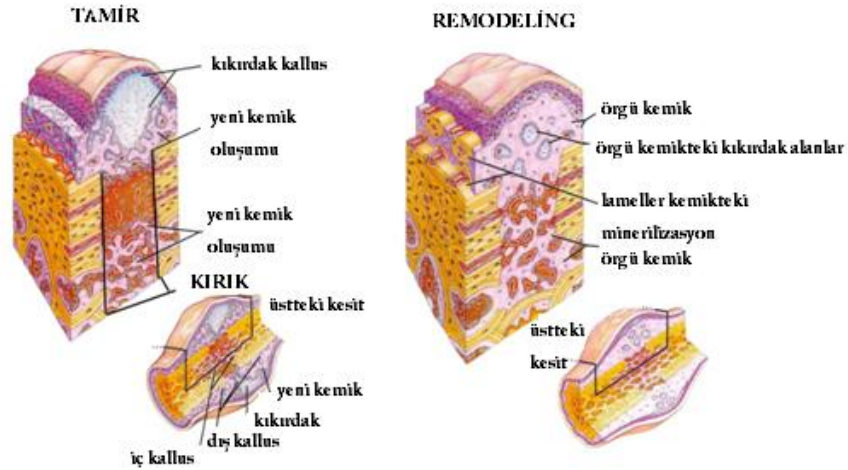
Yumuşak kallusun görülmeye başladığı kırık bölgesinin merkezinde, mezenşimal hücreler kondroblastlara dönüşürler (Geris ve ark., 2008). Çoğalan ve farklılaşan kondroblastlar BMP-2, BMP-4, BMP-5, BMP-6, IGF-1, PDGF, TGF- $\alpha$ 2 gibi büyüme faktörlerinin salınmasını stimüle ederler ve merkezde kırıkta matriksini üretirler. Kırık bölgesinin distal uçlarında ise osteoblastlar intramembranöz kemikleşme ile örgü kemik sentezlemeye başlar. Endokondral kemikleşmenin görüldüğü bölgelerde TGF- $\beta$ 2 ve TGF- $\beta$ 3, BMP'ler ve diğer moleküller kırıkta matriksinin kemikleşmesini stimüle ederler. Bu bölgelere ulaşan damarların çoğalması ile birlikte etrafındaki osteoprogenitör hücrelerden osteoblast farklılaşması meydana gelir ve osteoid salgılanmaya başlanır. Böylece kalsifiye kırıkta matriksinin yerinde kemik matriksi meydana gelmeye başlar. Ardından kalsiyum fosfatın çökmesi ile matriks kalsifiye olur. Daha sonra kan damarlarının seyri boyunca kemik trabekülleri oluşmaya başlar (Brandi, 2010).



Şekil 6. Kırık iyileşme aşamalarının şematik görüntüsü (Pearson Education'dan, 2004)

İki farklı kemikleşmenin görülmesinin nedeni iyileşme merkezinde anjiogenezisin osteojenik hücre proliferasyonu kadar hızlı olmamasından kaynaklanır. Bu yüzden kemiğe yakın distal kenarlarda mezenşimal hücreler osteoblastlara, orta kısımlarda ise kondroblastlara dönüşürler. Örgü kemik, kırıkta dokusunun yerini aldıkça sert kallus (kemik kallusu) görülmeye başlanır ve kırık sahasının stabilizasyonu artar (Şekil 6). Bu süreç birçok faktöre bağlı olmakla beraber normal şartlar altında 4-16 hafta kadar sürebilmektedir (Haverstock ve ark., 1998; Dolan, 2003; Mountziaris ve Mikos, 2008; Schindeler ve ark., 2008).

**Remodeling fazı:** Bu son aşamada ise kallusun mineralizasyonu ve şekillenmesi izlenir. Mineralize kemik yerini aldıkça orijinal şeklin, boyutların ve biyokimyasal özelliklerin geri kazanılması için remodeling meydana gelir. Bu faz ayrıca örgü kemiğin lameller kemiğe dönüştüğü sekonder kemik formasyonu olarak da adlandırılmaktadır (Thomson, 2003; Schindeler ve ark., 2008). Osteoklastlar Havers sisteminin veya trabeküllerin yeniden yapılanmasını sağlamak amacıyla örgü kemiği rezorbe ederken osteoblastlar lameller kemiğin matiksini sentezler (Şekil 7). Remodeling fazında IL-1, IL-6, IL-11, TNF- $\alpha$ , IL-12 ve interferon- $\gamma$  gibi birtakım proinflamatuvar uyarıcılar görev alır. Bu fazda parathormon ve büyüme faktörleri de kallus dokusunun güçlendirilmesinde ve iyileşmede kilit rollere sahiptirler. Kırık sonrası 6. ayda yeterli güçlenme olsa da remodeling fazı yıllarca sürebilmektedir (Haverstock ve Mandracchia, 1998).



Şekil 7. Kırık iyileşmesinde remodeling ve tamir aşamalarının şematik görünümü (Ovalle'den, 2008)

## Kemik İyileşmesini Etkileyen Faktörler

### Genel Faktörler

Çocuklardaki kırık iyileşme hızı yetişkinlere göre oldukça fazladır. Yaş ilerledikçe dokuların rejenerasyon kapasitesi azalır. Örneğin üç yaşındaki bir çocuğun femur kırığı 4 haftada iyileşirken, sekiz yaşındakinin 9 haftada, yetişkinin ise 3-6 ayda iyileşebilmektedir (Glorieux ve ark., 2012).

Kırık iyileşme bölgelerinde hücre göçü, proliferasyon ve matriks sentezi gibi olayların tam olarak gerçekleşmesi için enerjiye gereksinim vardır. Bundan dolayı beslenme ve genel sağlık durumu kemik ve yumuşak doku iyileşmesini etkileyebilmektedir (Unnanuntana ve ark., 2011).

Birçok ilaç kemik metabolizmasını ve kemik iyileşmesini etkileyebilmektedir. Kortikosteroidler mezenşimal hücrelerden osteoblast farklılaşmasını inhibe ederek ve organik matriks komponentlerinin sentezini azaltarak iyileşmeyi bozabilir. Uzun süreli kortikosteroid kullanımı kemik dansitesini de azaltmaktadır. Non-streoid antiinflamatuvar ilaçlar kırık iyileşmesinin inflamatuvar fazını etkileyerek iyileşmeyi geciktirebilir (Xia ve ark., 2010). Bunun dışında metotreksat ve siklosporin gibi bazı antiromatizmal ilaçların yüksek dozda kullanımı da kemik dokusunda zayıflamaya neden olabilmektedir. Karaciğer sitokromlarını ve kalsiyumun bağırsaktan absorpsiyonunu engelleyen ilaçlar da kemik direncinde azalmaya neden olmaktadır. Bifosfonatlar uzun zaman diliminde kemik metabolizmasını etkileyerek kemik direncinde azalmalara ve osteonekrozlara neden olabilmektedir (Ratti ve ark., 2013).

Troid hormonu, kalsitonin, insülin ve anabolik steroidler kemik iyileşmesini artırırken, radyoterapi, hiperparatroidizm, Cushing sendromu, anemi, osteopeni, osteoporoz, bazı böbrek hastalıkları, Paget hastalığı, osteopetrozis, hipervitaminoz D ve raşitizm gibi durumlarda kemik iyileşmesinde gecikmeler ya da problemler olabilmektedir. A vitamini normal dozlarda kemik iyileşmesine olumlu katkı sunarken eksikliğinde osteoblast ve osteoklast aktivitesinde bozulma, fazlalığında ise artmış osteoklast farklılaşmasından dolayı gecikmiş kemik iyileşmesi meydana gelir. Yine B<sub>6</sub> vitamininin eksikliği ve K vitamini antagonistleri de kemik iyileşmesini geciktirmektedir. Tip I Diabetes Mellitus'da kemik döngüsünün baskılanması sonucu defekt veya kırık iyileşmesinde problemler yaşanmaktadır (Reddy ve ark., 2001; Unnanuntana ve ark., 2011; Ratti ve ark., 2013).

Nikotin ve nikotin ürünleri de kırık iyileşmesini bozabilmektedir (Scolaro ve ark., 2014).



Osteogenezis imperfekta gibi bazı genetik kemik hastalıklarında, malignite durumlarında, metabolik kemik hastalıklarında, Marfan's Sendromu ve Ehlers-Danlos Sendromunda anormal kemik iyileşmesi görülebilmektedir (Ratti ve ark., 2013).

### **Lokal Faktörler**

Kemik üzerinde etkili olan travmanın derecesi, yumuşak doku yaralanması, bölgedeki enfeksiyon varlığı, yaranın kanlanması, kırık bölgesinin stabilizasyonu ve oksijenizasyonu, elektriksel akımlar kırık ya da defekt iyileşmesini etkileyebilir. Kırığın meydana geldiği bölgedeki kemiğin tipi de kırık iyileşme oranını etkiler (Jahagirdar ve Scammel, 2009). Defekt bölgesindeki sinir dokusunun zedelenmesi sonucu iyileşme süreci de bozulabilmektedir. Süngerimsi kemik kortikal kemiğe göre çok hızlı iyileşme eğilimindedir ve çoğunlukla 6 haftada iyileşmesi tamamlanır. Bunun nedeni çok daha fazla kemik hücresi içermesi, daha fazla kemik yüzey alanına ve daha fazla vasküler yapıya sahip olmasıdır. Kırık segmentleri birbirine çok yakın olduğunda süngerimsi kemik kallus dokusu meydana gelmeden iyileşir. Kortikal kemik iyileşmesi ise çoğunlukla kallus oluşumu ile meydana geldiğinden daha fazla zaman almaktadır (Wraighte ve ark., 2006; Jahagirdar ve Scammell, 2009; Guo ve ark., 2010).

#### **2.1.8. Kritik Boyutlu Kemik Defekti**

Kemik dokusunda travma meydana geldiği zaman normal şartlar altında rejenerasyon ya da tamir meydana gelir ve böylelikle şekil ve fonksiyon geri kazanılır. Travma sonucu doku kaybının fazla olduğu durumlarda bu iyileşme tam olarak meydana gelemez. Kritik boyutlu kemik defekti de kendiliğinden ve dışarıdan herhangi bir müdahale olmadan şekil ve fonksiyon olarak hayat boyu iyileşme ihtimali olmayan en küçük boyuttaki kemik defekti anlamına gelir (Hollinger ve ark., 1990). Diğer bir tanıma göre %10'dan daha az oranda rejenerere olabilen kemik defektleridir (Hollinger ve Kleinschmidt, 1990). Herhangi bir müdahale olmadığında kritik boyuttaki kemik defektleri fibröz bağ dokusu ile iyileşir. Bu nedenle kraniomaksillofasiyal cerrahide kritik boyutlu kemik defektlerinin tamirinde kemik iyileşmesini yönlendirebilecek maddeler ya da kemik greftleri kullanılması gerekmektedir (Deatherage ve ark., 1988; Clokie ve ark., 2002; Mokbel ve ark., 2008).

## 2.2. Kemik Greftleri ve Kemik Yerine Geçebilen Biyomateryaller

Kemik dokusu mühendisliğinin amacı, herhangi bir nedenle kemik kaybı oluşmuş iskelet bölgelerinde, fonksiyon görebilecek yeterli mekanik kuvvetlere sahip ve çevre dokuyla osteointegre olabilen kemik dokusunun rejenerasyonu için yanıt oluşturabilmektir. Bu amaçla maksillofasiyal cerrahi ve ortopedi uygulamalarında, çeşitli nedenlerle oluşan kemik defektlerinin tedavi edilmesinde sıklıkla kemik greftleri ve kemik yerine geçebilen biyomateryaller kullanılmaktadır. Kemik yerine geçebilen biyomateryaller, “ Otojen ve allojenik kemik haricinde kemik defektlerine yerleştirilen sentetik, inorganik veya organik bileşenlerden oluşan biyoyumlu materyaller” olarak tanımlanmaktadır (Campana ve ark., 2014). Kemik greftleri ve biyomateryaller, özellikle gecikmiş kırık iyileşmesi, kötü birleşme ve birleşmeme gibi durumlarda sıklıkla kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra travma, enfeksiyon, konjenital anomaliler, kist ve tümör cerrahisi sonucunda oluşan kemik defektlerinin tedavisinde ve rekonstrüktif işlemlerde kemik greftleri ve biyomateryallerden faydalanılmaktadır. Ağız cerrahisinde ise dental hastalıklardan kaynaklanan kemik kayıplarını onarmak amacıyla, çekim soketlerinin doldurulması ve alveol kemiğinin ogmentasyonunda kemik greftleri sıklıkla kullanılmaktadır (Bauer ve ark., 2000; Finkemeier, 2002; Şimşek ve ark., 2004; De Long ve ark., 2007).

Maksillofasiyal cerrahide kemik greftleri olarak otogreft, allogreft, ve ksenogreftler, kemik yerine geçebilen biyomateryaller olarak da alloplastlar ve doku mühendisliği materyalleri kullanılır. Canlının kendi kemik dokusundan elde edilen kemik greftlerine otojen kemik greftleri denir. Allogreftler ise genotip olarak farklı olan ve aynı türdeki bir canlıdan elde edilen greftlerdir. Ksenogreft ise farklı türdeki canlılardan elde edilen greftlerdir. Alloplastlar doğal ya da sentetik materyallerin birleşiminden oluşan ve yalnızca osteokondüktif özellikte olan greftlerdir. Kemik yerine geçebilecek biyomateryaller ise kemik greftlerine tamamlayıcı ya da alternatif olarak kullanılan osteobiyolojik ürünlerdir. Bu ürünler arasında demineralize kemik matrisi (DKM), seramikler, otojen kemik iliği, polimer esaslı biyomateryaller, kemik morfogenetik proteinler ve diğer büyüme faktörleri sayılabilmektedir. Tedavide kullanılacak greft materyalinin seçilmesinde, kemik defektinin özellikleri oldukça önem taşımaktadır. Genellikle büyük kemik defektlerinde otojen greftler, küçük defektler ve

3-5 duvarlı kemik defektleri için alloplastlar tek başına ya da allogreftler ile birlikte, çok büyük ya da 1-3 duvarlı kemik defektleri için ise diğer greft materyalleri ile kombine edilen otojen greftler kullanılmaktadır (Greenwald ve ark., 2001; Garg, 2004; Giannoudis ve ark., 2005).

Kemik greftleri ve kemik yerine geçebilecek biyomateryaller kendi içlerinde osteoindüktif, osteokondüktif ve osteojenik özelliklerine göre de ayrılırlar. Bu özelliklerine göre uygulandıkları bölgelerde kemik oluşumunu gerçekleştirirler (Finkemeier, 2002).

**Osteoindüksiyon:** Defekt bölgesinde birçok molekülün açığa çıkmasıyla birlikte osteoprogenitör ve mezenşimal kök hücrelerinin osteoblastlara farklılaşmasının uyarılabilmesidir. Bu değişim başta TGF- $\beta$  ailesine ait olan birçok büyüme ve farklılaştırma faktörünün etkisi altında gerçekleşir (Einhorn, 1995; Dimitriou ve ark., 2005).

**Osteokondüksiyon:** Greft materyalinin, yapısal bir iskelet meydana getirerek kemik formasyonunu sağlayacak hücrelerin göçünü ve vasküler infiltrasyonu sağlaması, böylece kemik oluşumunu destekleyebilmesidir. Osteokondüksiyon, osteoindüksiyonun ve osteojenik faktörlerin aynı bölgede yer alması sonucunda etkili olabilir (Finkemeier, 2002).

Osteogenezisin hızlı ve başarılı olabilmesi için yerleştirilen greft materyalinin iyi bir şekilde vaskülerize olması gerekir. Çevre dokulardaki inflamatuvar ve bağ dokusu hücrelerinden salınan VEGF gibi büyüme faktörlerinin etkisiyle greft içerisine doğru angiogenezis gerçekleşir. İçerisinde canlı hücre barındırmayan greft materyallerinde vaskülerizasyon ve matris sentezi daha uzun zamanda gerçekleşir (Keramaris ve ark., 2008). Greft materyalleri her ne kadar osteokondüksiyon sağlamada başarılı olsalar da özellikle büyük boyutlu defektlerin rekonstrüksiyonunda yeterli mekanik gücün sağlanabilmesi için yardımcı yapısal desteklere de gereksinim duyulur (Greenwald ve ark., 2001; Finkemeier, 2002; Giannoudis ve ark., 2005).

**Osteogenezis:** Greft materyallerindeki yeterli sayıdaki canlı osteojenik hücrelerin uygulandıkları bölgede yeni kemik yapımını gerçekleştirebilmesidir.

Mezenşimal kök hücreleri osteoblastlar için öncü kaynak hücrelerdir ve kemik yapımında indirekt role sahiptir. Osteogeneziste farklı birçok mediatör iyileşme aşamalarında rol alır. IL-1, IL-2, TGF- $\beta$ , IGF, FGF, PDGF, BMP, VEGF gibi birçok molekülün etkisiyle mezenşimal kök hücrelerinde proliferasyon ve farklılaşma meydana gelir (Bielby ve ark., 2007).

İdeal bir kemik grefti ya da kemik yerine geçebilecek biyomateryalin ideal kemik rejenerasyonunu sağlayabilmesi için bu üç temel özelliği de barındırması gerekir. Ayrıca biyouyumlu olmalı ve alıcı dokuda inflamatuvar yanıtı neden olmamalıdır. Ancak çoğu greft materyalinde bu özelliklerin biri ya da birkaçı bir arada bulunabilmektedir. Bu nedenle yeni çalışmalarda bu özellikleri barındıracak şekilde yeni materyallerin ya da kombinasyonların geliştirilmesi amaçlanmaktadır (Fleming ve ark., 2000; Şimşek ve ark., 2004).

### **2.2.1. Otojen Kemik Greftleri**

Aynı bireyde bir yerden başka bir yere nakledilen kemik dokusuna otojen greft adı verilir. Otojen kemik greftleri olarak kansellöz kemik grefti, vaskülerize olmayan kortikal kemik grefti, vaskülerize kortikal kemik grefti, kemik yerine geçebilecek otojen materyal ise otojen kemik iliği olarak sayılabilir. Otojen kemik greftleri osteojenik, osteokondüktif ve osteoindüktif özelliklerinin hepsini farklı oranlarda kendi içlerinde barındırdıklarından dolayı altın standart olarak kabul edilirler. Bu kemik greftlerinin yapısal ve osteojenik özellikleri Tablo 1'de gösterilmektedir. Genellikle canlı kemik hücrelerini, matriks proteinlerini ve büyüme faktörlerini içerirler. Ağız içinde mandibular simfiz, maksiller tuber, ramus, ekzostoz ve diş çekim bölgesindeki septumdan elde edilebilmektedirler (Bauer ve Muschler, 2000; Finkemeier, 2002; Garg, 2004).

### **Kansellöz Otojen Kemik Grefti**

Kansellöz kemik greftleri içerisinde osteojenik hücreleri, kemik iliği hücreleri, kollajeni, mineral matriksi ve matriks proteinlerini barındırır. Kortikal kemik greftlerine göre daha fazla osteojenik özelliklere sahiptir. İyi bir doldurucudur ancak erken dönemde yapısal olarak güçlü değildir. Yaklaşık 6-12 ay içerisinde hızlı bir şekilde

uygulandıkları bölgeye entegre olarak kortikal kemik grefti gücüne ulaşırlar. Kansellöz kemik greftlerinde canlı olarak az sayıda osteoblast ve endosteal hücre bulunur. Kansellöz greftler gözenekli yapıya sahip olduğundan osteokondüktif özellikleri çok iyidir. Böylece yeni kan damarlarının kolaylıkla çoğalmasını ve osteoprogenitör hücrelerin ve osteoblastların bu bölgeye hızlı bir şekilde göç etmelerini sağlar. Ayrıca kansellöz greftlerin içerdiği osteoindüktif faktörler, mezenşimal kök hücrelerinden osteoblast ve kondrosit farklılaşmasını sağlar (Gazdag ve ark., 1995). Bu osteoindüktif faktörler kemik greftinin rezorbsiyon süreci boyunca salınır. Greft ile canlı olarak aktarılan, greft bölgesine göç eden ve osteoprogenitör hücrelerden farklılaşan osteoblastlar bir yandan osteoid üretimi yaparken bir yandan osteoklastlar da nekrotik kemik dokularını ortadan kaldırır. Böylece yeni açılan boşluklar yeni kemik dokusu ile yer değiştirir (Bauer ve Muschler, 2000; Şimşek ve ark., 2004).

**Tablo 1.** Otojen kemik greftlerinin özellikleri (Finkemeier'den, 2002)

Özellik	Kansellöz Greft	Vaskülerize Olmayan Kortikal Greft	Vaskülerize Olan Kortikal Greft
Osteokondüksiyon	++++	+	+
Osteoindüksiyon	++	+/-	+/-
Osteoprogenitör Hücre	+++	-	++
Anlık Dayanıklılık	-	+++	+++
6. Ay Dayanıklılık	++	+++	+++
1.Yıl Dayanıklılık	+++	+++	+++

Kansellöz greftler anterior ya da daha çok posterior iliak krestten, femurun distal parçasından, radiustan, tibianın distal bölümünden ve Gerdy Tüberkülü'nden elde edilebilir (Ahlmann ve ark., 2002; Raikin ve ark., 2005; Horne ve ark., 2010). Uzun kemiklerin intrameduller kanalından çok daha fazla hacimde greft toplanabilen ve literatürde “Reamer-Irrigator-Aspirator (RIA)” olarak adlandırılan alternatif bir metot geliştirilmiştir (Şekil 8) (Finnan ve ark., 2010; Cox ve ark., 2011). Klinikte 5-6 cm'den daha az kemik kayıplarının görüldüğü kaynaşmamış kırıklarda ve kist boşluklarının doldurulmasında ideal seçenek olarak kullanılmaktadır (Finkemeier, 2002).



Şekil 8. Reamer-Irrigation-Aspiration sistemi (Sprong'dan, 2011)

Bu greftlerin diğer önemli avantajları ise yüksek başarı oranına sahip olması ve hastalık taşıma riskinin olmamasıdır. Ancak tüm bunlara rağmen rezorbsiyona daha fazla uğraması, verici bölge morbiditesi, sınırlı miktarda elde edilebilirliği, enfeksiyon ve kırık riski, ikincil bir cerrahi müdahale gerektirmesi, operasyon süresini uzatması ve olumsuz estetik sonuçlara yol açması gibi dezavantajlara sahiptir. Mandibular greftler iliak krestten elde edilen greftlere göre daha az rezorbsiyona uğrar, daha nadir morbidite görülür ancak iliak greftlere göre çok daha az hacimde elde edilebilir. Bölgelere göre elde edilebilecek maksimum hacimdeki greft miktarları Tablo 2'de gösterilmektedir. Otojen greftlerin rezorbsiyonu greftlenen bölgelerde genişletilmiş politetrafloretillen membranlarının veya yavaş rezorbe olabilen kollajen mebranların kullanımı ile azaltılabilmektedir (Ahlmann ve ark., 2002; Finkemeier, 2002; St John ve ark., 2003; Garg, 2004).

### **Kortikal Otojen Kemik Grefti**

Kortikal greftler fibula, kosta ve iliak krestten elde edilir. Daha çok osteokondüktif ve daha az oranda osteoindüktif özellik taşırlar. Perioosta canlı kalan osteoblastlar sayesinde osteojenik özelliğe de sahiptir ancak kansellöz kemik greftlerine göre daha az orandadır. Bu greftler vasküler pedikülü ya da pedikülsüz olarak alıcı bölgeye nakledilirler. Vaskülerize olmayan kortikal greftler vaskülerize olanlara göre nakledildikten sonraki ilk altı hafta içinde daha fazla direnç kaybına uğrarlar. Bunun nedeni damarsal yapıların greft içerisine doğru büyümesi ve nekroz hale gelen Osteonların rezorbsiyona uğramasıdır. Bu rezorbsiyon revaskülarizasyon için gerekli olsa da sonuçta greftin bükülme kuvvetlerine karşı direncinde azalma meydana gelir. Greftin kırılması, geç kaynaşma ve kaynaşmama gibi komplikasyonların en önemli nedeni de Osteonlarda meydana gelen bu rezorbsiyon olayıdır. Buna rağmen 6-12. aylar

arasında vaskülerize olan ve olmayan greftlerin dirençleri arasında çok az bir farklılık olduğu bildirilmektedir (Tablo 1) (Dell ve ark., 1985; Bauer ve Muschler, 2000; Finkemeier, 2002; Şimşek ve ark., 2004).

**Tablo 2.** Bölgelere göre elde edilebilecek greft formları ve maksimum miktarları (Garg'dan, 2004)

Verici Bölge	Greft Formu	Maksimum Miktar (mL)
<b><i>Ekstraoral bölge</i></b>		
Posterior iliak krest	Blok ve/veya partikül	140
Anterior iliak krest	Blok ve/veya partikül	70
Tibia	Partikül	20-40
Kranium	Yoğun kortikal blok	40
<b><i>İntraoral bölge</i></b>		
Ramus	Blok	5-10
Anterior mandibula	Blok ve/veya partikül	5
Tuber	Partikül	2

Vaskülerize kortikal greftler mikrocerrahi yöntemler ile hem arter hem de veni ile nakledildiklerinde osteositlerin yaklaşık %90'ının hayatta kaldığı bildirilmiştir. Bu nedenle alıcı bölgede çok daha hızlı iyileşme gösterirler. Greftin remodelingi normal kemik dokusundaki gibi olur. Rezorbsiyon ve revaskülarizasyon meydana gelmediği için ilk altı hafta içerisinde dirençlerinde bir azalma meydana gelmez. Nakledildikleri bölgenin mekanik özellikleri ve Wolf kanunları doğrultusunda hipertrofiye uğrarlar. Yapısal bütünlükleri bozulmadan alıcı bölgeye integre olurlar. Vaskülerize kortikal greftler, başta fibula olmak üzere, tibia, kosta, dirsek çıkıntısı (olekranon) ve iliak krestten alınabilmektedir. Kortikal greftler her ne kadar dirençli olsalar da, greftin fraktür riskine karşı internal ya da eksternal olarak fikse edilmesi gerekebilir. 5-6 cm boyutlarındaki segmental kemik defektleri için kortikal greftlerin kullanılması tavsiye edilmektedir. 12 cm'nin üzerindeki defektler için ise vaskülerize kortikal greftler, vaskülerize olmayanlara göre daha üstündür. Bu tür vakalarda başarısızlık oranı

vaskülerize greftlerde %25 iken vaskülerize olmayanlarda %50 civarındadır (Gazdag ve ark., 1995; Şimşek ve ark., 2004).

### **Otojen Kemik İliği Grefti**

Diğer bir osteojenik materyal kaynağı ise osteoblastik kök hücrelerin bulunduğu kemik iliğidir. Kemik iliğinde bulunan her 50 bin hücreden birinin osteoprogenitör hücre olduğu ve belli teknikler ile bunun çok daha artırılabilirdiği bildirilmiştir (Gazdag ve ark., 1995). Kemik iliği, içerdiği hücreler ve hücrelerden salınan büyüme faktörleri sayesinde osteoindüktif ve osteojenik özelliklere sahiptir. Özellikle inorganik matriks, allogreft ve sentetik greftler ile kombine uygulandığında çok daha etkilidir. Posterior iliak kanattan yaklaşık olarak 100-150 ml arasında kemik iliği aspire edilebilir. Kemik iliği elde etmek için skafoid (el kemiği) gibi küçük kemikler kullanıldığında elde edilen materyal santrifüje edilerek osteojenik özelliği daha fazla olan konsantre elde edilebilir (Connolly, 1995). Elde edilen kemik iliği aspirasyon sonrasında hemen kullanılmalıdır (Muschler ve ark., 1997; Finkemeier, 2002). Otojen kemik iliği aspirasyonunun, kolay uygulanabilir bir yöntem olması ve hasta yatışı yapılmadan gerçekleştirilebilmesi, otojen greft alınmasına göre verici bölgede daha az komplikasyon meydana getirmesi, daha az invazif olması gibi avantajlara sahiptir (Finkemeier, 2002).

### **2.2.2. Allojenik Kemik Greftleri**

Allojenik kemik greftleri aynı türdeki farklı bir canlıdan elde edilen greftlerdir. Genellikle farklı genetik özelliklere sahip canlılardan elde edilir. Benzer genetik özelliklere sahip canlıdan elde edilen allogreftlere ise izogreft adı verilir. İçlerinde progenitör hücrelerin ve endotelial hücrelerin tutunabildiği kimyasal ajanlar, büyüme faktörleri ve kemik morfogenetik proteinler bulunmaktadır. Kadavralardan, canlı kişilerden ya da doku bankalarından elde edilebilen bu greftlerin osteojenik etkileri bulunmamaktadır (Campana ve ark., 2014). Bu nedenle otojen greftlere göre kemik oluşturma kapasitesi daha azdır. Kemik şekillenmesi daha uzun zamanda meydana gelir. Ayrıca düşük oranda hastalık taşıma riski bulunmaktadır. HIV tanımlandığından bu yana 3 milyon doku transplantasyonu arasında HIV bulaşmış iki vaka, HBV bulaşmış bir ve HCV bulaşmış iki vaka bildirilmiştir. Ancak özellikle HIV vakalarının



işlenmemiş taze dondurulmuş allogreftlerden kaynaklandığı bildirilmiştir (Gazdag ve ark., 1995; Finkemeier, 2002; Campana ve ark., 2014). Bu greftlerin otojen greftlere göre en önemli avantajları ise ikinci bir cerrahi alan oluşturulmaması, anestezi ve cerrahi süresinin kısalması, kan kaybının daha az olması ve daha az komplikasyon riskidir. Allogreftlerin farklı hazırlanmış preparatları bulunmaktadır. Bunlar demineralize kemik matriksi, kortikokansellöz kemik grefti, kansellöz kemik partikülleri, osteokondral ve kortikal greftlerdir (Finkemeier, 2002; Garg, 2004). Bu greftler de kendi içlerinde taze, dondurulmuş, dondurulmuş-kurutulmuş ve demineralize dondurulmuş-kurutulmuş olarak ayrılmaktadır. Kemik fenestrasyonlarının tamiri, alveolar ogmentasyon, çekim soketinin doldurulması, sinüs lifting ve implant dehisenslerinin tamiri gibi ağız cerrahisi uygulamalarında dondurulmuş-kurutulmuş allogreftlerin demineralize olanlara göre üstünlüğü vardır. Demineralize dondurulmuş-kurutulmuş allogreftler yalnızca periodontal cerrahide periodontal defektlerin tedavi edilmesinde kullanılmaktadır (Garg, 2004).

Demineralizasyon işlemi ile greft içerisindeki mineraller uzaklaştırılarak matiks içerisindeki büyüme faktörlerinin ve kollajenin açığa çıkması sağlanır. Böylece greftin osteoindüktif etkisi artırılır. Bu osteoindüktif özellik greft içerisindeki matriksin miktarına ve kalitesine göre değişebilmektedir (Zhang ve ark., 1997). Ayrıca bu işlem ile HIV bulaşıcılığı da en aza indirgenmiş olur (Finkemeier, 2002; Garg, 2004; Şimşek ve ark., 2004).

Taze allogreftlerin saklama gerekliliği yoktur. Verici kişilerden alındıktan hemen sonra sterilize edilerek ve hastalık taşıyıcılığı açısından test edilerek alıcı bölgeye uygulanır. Ancak ciddi immün yanıtla neden olabildikleri için kısıtlı kullanım alanına sahiptirler.

Allogreftler çoğunlukla dondurulmuş ya da dondurulmuş-kurutulmuş formda bulunmaktadır. Dondurulmuş allogreftler  $-60^{\circ}\text{C}$  altında tutularak, hem bozulmalarına neden olacak enzimatik reaksiyonlar engellenir hem de greftin biyokimyasal yapısını değiştirmeden immünojenitesi azaltılmış olunur. Dondurulma-kurutulma işleminde ise donmuş allogreftler, suyun uzaklaştırılma işleminin ardından vakumlanarak oda sıcaklığında saklanabilir hale getirilir (Gazdag ve ark., 1995). Allogreftlerin üretilmesi ve sterilizasyonu (gama irradyasyonu ile) işlemleri sırasında greftin osteoindüktif ve

osteokondüktif özelliklerinde, mekanik direncinde (yaklaşık %50 oranında), immünojenitesinde azalma meydana gelir (Cornu ve ark., 2004; Campana ve ark., 2014).

### **Demineralize Kemik Matriksi**

Demineralize kemik matriksi greftleri osteokondüktif ve osteoindüktif özellikteki materyallerdir. Yapısal destek sağlamasalar da kemik defektleri ya da kemik kavitelelerinin doldurulmasında kullanılırlar. Hızlı bir şekilde revaskülerize olma yetenekleri vardır. Otojen kemik iliği ile karıştırılarak uygulandığında etkinliği çok daha fazla olmaktadır (Connolly, 1995; Tiedeman ve ark., 1995). Kemik grefti üreten birçok şirket, allogreftlerin üretilmesinde esas olarak aynı aşamaları kullansalar da, aralarında demineralizasyon zamanı, asidin uygulanması, sıcaklık, sterilizasyon işlemleri ve kullanılan taşıyıcı açısından farklılıklar bulunmaktadır. Bu farklılıkların ürünleri daha avantajlı hale getirdiği savunulsa da ürünler arasında farklılığı göstermiş az sayıda bilimsel sonuç bulunmaktadır (Urist ve ark., 1967; 1981; Finkemeier, 2002).

DKM, içerdiği büyüme faktörleri ve proteinler ile etkili olur ve uygulandıkları bölgede mineralizasyon için uygun bir çevre meydana getirir. İçlerinde bulunan BMP, IGF, TGF, FGF gibi faktörler ile osteojenik kök hücrelerini ve revaskülerizasyonu stimüle eder (Campana ve ark., 2014). Ancak osteoindüktif özellikleri saklama, işleme, sterilizasyon koşullarına ve verici kişiye göre değişiklik göstermektedir. DKM dondurulmuş-kurutulmuş toz, partikül, jel ya da macun formlarında olabilmektedir (Finkemeier, 2002). DKM içerisinde greft taşıyıcısı olarak gliserol, hyaluronik asit, kalsiyum sülfat, domuz kollajeni ve karboksimetilselüloz kullanılabilir (Campana ve ark., 2014). Gliserol taşıyıcılı greftlerdeki nörotoksik ve nefrotoksik etkiden dolayı özellikle çocuklarda ve yaşlılarda kullanımına dikkat edilmelidir. Bu özellikteki preparatların 2 cc/kg üzerindeki dozlarda ve sinir dokusuna yakın bölgelerde kullanılmaması gerekmektedir (Şimşek ve ark., 2004).

Demineralize kemik matriksi özellikle kemik kistlerinin neden olduğu kemik kaviteleleri ya da kemik defektlerinde kemik oluşumunu uyaran çok iyi bir greft materyalidir. Ayrıca iyileşmeyen uzun kemiklerin kırıklarında, akut kemik defektlerinde, artrodez cerrahisinde başarılı bir şekilde uygulanmaktadır. Kemik

defektlerinin büyük olduğu durumlarda kansellöz kemik greftinin miktarını ve yoğunluğunu artırmak amacıyla kullanılmaktadır. Otojen kemik kullanımının uygun olmadığı durumlarda alternatif olarak düşünülebilmektedir (Urist ve Dawson, 1981; Johnson ve ark., 1992; Hu ve ark., 1993; Whiteman ve ark., 1993; Connolly, 1995; Tiedeman ve ark., 1995). Tüm avantajlarına rağmen demineralize kemik matriksi için yeterli prospektif çalışmalar ile gösterilmiş kanıt olmadığından, yalnızca otojen kemik alınmasının uygun olmadığı durumlarda ve ikinci bir cerrahi alan istenmediğinde uygulanması tavsiye edilmektedir. Ayrıca birtakım dezavantajlara da sahiptir. Yapısal olarak dirençleri yeterli olmadığından diğer greft materyelleri ile birlikte kullanılması önerilmektedir (Gazdag ve ark., 1995; Finkemeier, 2002). Allojenik bir materyal olmasından dolayı az da olsa HIV taşıma riski bulunmaktadır (Mellonig ve ark., 1992). Bir diğer dezavantajı ise farklı birçok donör kişi olduğundan dolayı, farklı seri greftler farklı kemik oluşturma potansiyellerine sahip olabilmektedir (Finkemeier, 2002).

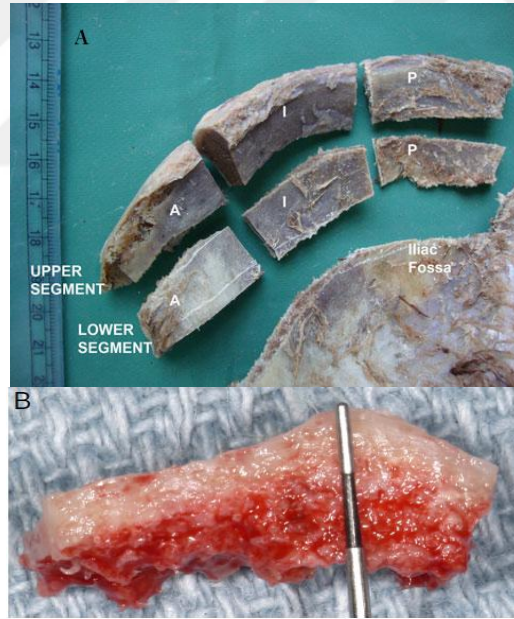
### **Kansellöz Allogreftler**

Kansellöz allogreftler osteokondüktif özelliktedir ve dış kuvvetlere karşı az bir miktar mekanik destek sağlayabilir. Bu greftler çoğunlukla dondurulmuş-kurutulmuş ve vakumlu paketler halinde bulunurlar. Partikül halinde bulunan bu greftlerin özellikle küretaj sonrası iyi sınırlı kist boşluklarının doldurulmasında ve diğer greft miktarlarının artırılmasında kullanımı tavsiye edilmektedir. Bu greft materyallerinin osteoindüksiyon potansiyeli bulunmamaktadır. Otojen kemik greftlerinin sınırlı olduğu durumlarda büyük defektlerin doldurulmasında ve kansellöz kemik ogmentasyonunda başarılı bir şekilde kullanılabilir. Tüm allogreftlerde olduğu gibi düşük bir hastalık taşıma riskine sahiptir (Finkemeier, 2002).

Kortikokansellöz kemik greftlerinin kullanımı son zamanlarda daha fazla popüler olmuştur. Bunun nedeni hem kortikal kemiğin kuvvetli yapısal özelliklerini taşıması hem de kansellöz kemiğin osteojenik özelliklerini barındırmasıdır. Ancak bu greftler tek başına kansellöz kemiğin sahip olduğundan daha az oranda osteojenik özelliğe sahiptir. Ekstraoral olarak en sık iliak krestlerden, intraoral olarak ramus ve simfizden elde edilmektedir (Şekil 9) (Mahato, 2011; Verdugo ve ark., 2014).

## Osteokondral ve Kortikal Greftler

Osteokondral ve kortikal greftler pelvis, kosta, femur, tibia ve fibula gibi iskeletin farklı birçok yerinden elde edilmektedir. Özellikle büyük kemik ve eklem kayıplarının rekonstrüksiyonunda kullanılmaktadır. Bu greftler blok kemik ya da eklem segmentleri şeklinde bulunurlar. Zayıflamış kemik bölgelerine kortikal destek amacıyla, kortikal kemiğin rekonstrüksiyonunda, kemik defektlerinin doldurulmasında kullanılmaktadır. Bu greftler az bir oranda osteoindüktif özellik taşırlar (Gazdag ve ark., 1995). Bu greftler çoğunlukla osteokondüktif özelliktedir ve uygulandıkları bölgede geçici olarak mekanik destek sağlarlar. Derin dondurulmuş ya da dondurulmuş-kurutulmuş formları bulunmaktadır. Derin dondurulmuş allogreftler, orijinal özelliklerini kaybetmediklerinden dolayı uygulandıkları bölgede eğilme ve bükülme kuvvetlerine karşı dirençli olarak kalabilirler. Dondurulmuş-kurutulmuş formları ise eğilme ve bükülme kuvvetlerine karşı daha dirençsizdirler (Finkemeier, 2002).



**Şekil 9. a:** İliak krestten elde edilen kortikokansellöz greft (Mahato'dan, 2011) **b:** Mandibular simfizden elde edilen kortikokansellöz greft (Verdugo'dan, 2014)

### 2.2.3. Ksenogreftler

İnsan dışındaki farklı bir canlı türünden elden edilen kemik greftlerine ksenojenik kemik greftleri adı verilir. Bu greftler çoğunlukla sığırdan, daha az oranda domuzdan ve attan elde edilmektedir. Osteokondüktif özelliktedirler. Dondurulmuş-

kurutulmuş formda ya da demineralize ve deproteinize halde bulunurlar. Ksenogreftlerin diğeri bir kaynağı ise mercan granülleridir (Jensen ve ark., 2009; Taheri ve ark., 2009; Park ve ark., 2010; Runyan ve ark., 2010). Son dönemlerde farklı tür ağaçlardan elde edilen örneklerin oksijensiz ortamda ısıtılması ve bozunması sonucu oluşan karbonun kalsiyum tuzları ile sature edilmesi ve tekrar ısıtılması sonucu çok gözenekli kristalize bir materyal keşfedilmiştir. Ancak günümüze kadar insanlarda kullanım alanı bulamamıştır (Tampieri ve ark., 2009). Ksenogreftlerin kolay uygulanabilirliği, yeterli mekaniksel özelliklere sahip olması ve düşük maliyetli olması gibi avantajlarının yanında hastalık taşıma riski ve şüpheli başarı oranına sahip olması gibi dezavantajları bulunmaktadır (Campana ve ark., 2014).

#### **2.2.4. Alloplastlar ve Doku Mühendisliği Materyalleri**

##### **Alloplastlar**

##### **Seramik Esaslı Greft Materyalleri**

Günümüzde kullanılan kemik yerine geçen materyallerden en yaygın olanları seramiklerdir. Yalnızca osteokondüktif özellikte olan bu materyaller içerisinde kalsiyum fosfat bileşikleri (hidroksiapatit, trikalsiyum fosfat ve kombinasyonu gibi), kalsiyum karbonat (mercan) ve kalsiyum sülfat bulunmaktadır (Garg, 2004). Seramikler yüksek baskı direncine, kırılma bir yapıya ve düşük gerilme direncine sahiptir. Bu nedenle bu greftler yalnız kemik defektlerinin doldurulmasında ve kemik kırıkları ile birlikte görülen kemik kayıplarının onarılmasında kullanılmaktadır. Seramikleri iyileşme döneminde dış kuvvetlerden korumak için sağlam kemik bölgelerine ya da rijit olarak stabil hale getirilmiş kemik bölgelerine çok sabit bir şekilde yerleştirmek gerekir. Bazı greft materyallerinin yapısal ve mekaniksel özellikleri Tablo 3'de gösterilmektedir (Bucholz ve ark., 1987; Garg, 2004).

Kalsiyum fosfat seramikleri gözenekli ya da gözenekli olmayan ve değişik boyutlardaki bloklar halinde, gözenekli granüller halinde ya da enjektabl formunda bulunurlar. Seramiklerin rezorbsiyon süreci greftin yüzey alanı ile doğrudan ilişkili olduğundan, blok halindeki seramikler partiküllü greftlere göre çok daha uzun zamanda rezorbe olabilmektedir. Bu greftler yabancı doku reaksiyonuna veya inflamasyona

neden olmaz ve alıcı doku tarafından iyi tolere edilirler. Gözenek genişliği 150-500 µm aralığında olan seramik greftler optimal osteokondüktif özelliğe sahiptir (Gazdag ve ark., 1995; Sanchez-Sotelo ve ark., 2000).

**Tablo 3.** Greft materyallerinin yapısal ve mekaniksel özellikleri (Gazdag'dan, 1995; Greenwald'dan, 2001)

Greft	Osteogenezis	Osteoindüksiyon	Osteokondüksiyon	İmmünojenite	Morbidite	Direnç
Kansellöz Otojen	+++	+++	+++	-	+	-
Kortikal Otojen	++	++	++	-	+	++
Taze Allogreft	-	+/-	+	++	-	++
Kansellöz Don. Allogreft	-	+	++	+	-	-
Kansellöz Don.- Kur. Allogreft	-	+	++	+/-	-	-
Kortikal Don. Allogreft	-	-	+	+	-	++
Kortikal Don.- Kur. Allogreft	-	-	+	+/-	-	+
Seramikler	-	-	+	-	-	+/-
DKM	-	++	+	-	-	-
Otojen Kemik İliği	++	+/-	-	-	-	-
Partiküllü Seramik+K. İliği	++	+/-	++	-	-	-

### Hidroksiapatit (HA)

Hidroksiapatit vücutta özellikle kemiklerde ve dişlerde doğal olarak bulunan ve kristal yapısında olan bir kalsiyum tuzudur. HA, osteokondüktif etkisiyle tek olarak kullanılabilirdiği gibi taşıyıcı olarak osteoindüktif büyüme faktörleri ve osteojenik materyaller ile birlikte de kullanılmaktadır. HA seramiklerinin hem doğal hem de sentetik formu bulunmaktadır (Noshi ve ark., 2000; Campana ve ark., 2014). Mercan kalsiyum karbonat iskeletlerinin birtakım hidrotermal değişimlere tabi tutularak kalsiyum fosfat yapısında ve kristal formunda hidroksiapatitlere dönüşmesi sağlanır. Böylece ortaya çıkan 200-500 µm boyutlarında porlara sahip 3 boyutlu greft yapısı, insan trabeküler kemik yapısına oldukça benzerlik gösterir. Bazı araştırmalarda mercan hidroksiapatitlerinin otojen kansellöz kemik greftlerine benzer etkiye sahip oldukları bildirilmiştir. Ancak yeni kemik dokusu HA granülleri arasında meydana gelmesine

rağmen bu granüllerin rezorbe olması çok uzun zaman alabilmektedir (Tablo 4). Bu dezavantajının yanında trikalsiyum kalsiyum fosfata göre basınca karşı dirençleri çok daha fazladır. Kortikal defektlere sahip kırık bölgelerinde mercan hidroksiapatit granüllerinin ya da bloklarının başarılı bir şekilde kullanıldığı bildirilmiştir (Finkemeier, 2002; Garg, 2004).

Sığır kemiklerinden, inorganik, tamamen biyoyumlu, sert ve yumuşak dokulara kolaylıkla bağlanabilen HA grefti elde edilebilmektedir. Sığır hidroksiapatitlerinin formu ve yüzey özellikleri, porozitesi, kalsiyum/fosfor oranı, yüzey pH oranı gibi özellikleri bu greftin rezorbsiyon oranını ve klinikte uygulanabilirliğini belirler. Büyük partiküllü veya daha kristal yapıda olan greftler uzun zaman içerisinde rezorbe olurken çok gözenekli veya amorf greftler çok daha hızlı rezorbe olabilmektedir (Fucini ve ark., 1993). Özellikle küçük partiküllü (250-420 µm) HA greftlerin alveolar ogmentasyonda başarılı bir şekilde kullanılabildiği bildirilmiştir. Ayrıca sığır kaynaklı HA grefti ile demineralize dondurulmuş-kurutulmuş allogreft karışımının sinüs lifting uygulamalarında başarılı olduğu gösterilmiştir (Krauser ve ark., 2000; Garg, 2004).

### **Trikalsiyum Fosfat (TCP)**

Trikalsiyum fosfat HA'ya benzer ancak kemikte doğal olarak bulunmaz. Çok sayıda ve rastgele dizilmiş gözeneklere sahip olduğundan dolayı HA'ya göre 10-20 kat daha hızlı rezorbe olur (Gazdag ve ark., 1995). Osteokondüktif özelliktedir ve yeni kemik oluşumu için uygulandıkları bölgede fiziksel bir matriks oluştururlar. Vücutta bir kısmı HA haline dönüşür (Gazdag ve ark., 1995; Lane, 1995).  $\alpha$  ya da  $\beta$  kristal formunda bulunurlar.  $\beta$ -TCP daha stabildir (Nandi ve ark., 2010). TCP hızlı rezorbe olduğundan dolayı mekanik olarak HA'dan daha zayıftır. Rezorbsiyon süreci TCP greftinin kimyasal yapısına, porozitesine ve partikül boyutuna bağlıdır. HA'ya dönüşüm gerçekleştikten sonra yavaş rezorbe olması sayesinde uygulandıkları bölgede yıllarca kalabilirler. Öngörülemeyen biyobozunma sürecinden dolayı bu greft materyali, çok kullanılan ve tercih edilen greft materyali haline gelememiştir (Hollinger ve ark., 1996). Ancak bazı yazarlar TCP'nin tümör ve kist gibi patolojilerin cerrahisi sonrasında ve travma sonucu meydana gelmiş defektlerin tamirinde etkili bir şekilde kullanıldığını bildirmişlerdir. Ayrıca osteoindüktif ya da osteojenik materyaller ile birlikte

kullanılmasının olumlu sonuçlar verdiği gösterilmiştir (Misch ve ark., 1993; Finkemeier, 2002). Özellikle TCP ile BMP karışımı maksillofasiyal cerrahide başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Desilets ve ark., 1990). HA'nın yüksek direnci ve TCP'nin de hızlı rezorbe oluşundan faydalanabilmek amacıyla %40-60 TCP ve %40-60 HA içeren bifazik kalsiyum fosfat greftleri üretilmiştir (Campana ve ark., 2014).

**Tablo 4.** Bazı kemik greft materyallerinin özellikleri (Garg'dan, 2004)

Greft materyali	Tahmini rezorbsiyon zamanı	Kemik oluşturma potansiyeli*	Elde edilebilir miktar (mL)
İliak krest	3-6 ay	10	70-140
Tibia	3-6 ay	10	20-40
Mandibular simfiz	4-8 ay	10	5
Maksiller tuber	3-6 ay	7	2-4
Ramus	3-7 ay	6	0.25-2.5
Kortikal ve kansellöz allogreftler	6-15 ay	6	Sınırsız
Deminerale don.-kur. allogreft	2-4 ay	2	Sınırsız
Anorganik sığır kemiği	15-30 ay	4	Sınırsız
Sığır kaynaklı hidroksiapatit	18-36 ay	4	Sınırsız
Mercan kaynaklı hidroksiapatit	5-7 yıl	3	Sınırsız
Biyoaktif cam	18-24 ay	2	Sınırsız

\*1: en düşük kemik oluşturma potansiyel \*10: en yüksek kemik oluşturma potansiyeli

### Kalsiyum Sülfat

Alfa-hemihidrat olarak tanımlanan kalsiyum sülfat greft materyali kristal yapısında olup osteokondüktif etkiye sahiptir. Biyoyumlu ve biyoaktif olan kalsiyum sülfat grefti 6-8 hafta içinde rezorbe olabilmektedir. Deminerale kemik matriksi ile birlikte kullanımı tavsiye edilmektedir. Potansiyel olarak segmental kemik defektlerinin, kist kavitelerinin, otojen kemik alınan bölgelerin doldurulmasında ve



diğer kemik greftlerine destekçi olarak kullanılmaktadır (Finkemeier, 2002; Campana ve ark., 2014).

### **Kalsiyum Fosfat Sementi**

Diğer bir seramik esaslı sentetik materyal ise kalsiyum fosfat sementidir. Toz formu macun haline getirilerek kolaylıkla defekt bölgelerine uygulanabilir. 20 dk içinde sertleşen greft reaksiyon sonucunda nanokristal HA yapısına gelir. Enjekte edilebilir formu da bulunmaktadır (Campana ve ark., 2014). Uygulandıkları bölgede dakikalar içerisinde setleştikten sonra, az kristalli ve küçük taneciklere sahip karbonize HA haline dönüşürler. Böylece 12 saat sonra 55 megapaskal direncine sahip bir yapı haline gelir. Belli bir süre sonra kademeli olarak kemik dokusu ile yer değiştirir. Özellikle uzun kemiklerin metafizyal kırıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca kalça, omurga ve topuk kemiği kırıklarında da kullanım alanı bulmuştur (Goodman ve ark., 1998; Finkemeier, 2002).

### **Biyoaktif Cam Greftleri**

Greft materyali olarak kullanılan cam partikülleri %45 silika, %24.5 kalsiyum oksit, %24.5 disodyum oksit ve %6 pirofosfattan oluşmaktadır. Piyasada farklı formlarda bulunmaktadır. Gözenekli bir yapıya sahip olmadıklarından dolayı dokuların ve damarların greft içine doğru büyümesine elverişli değildir. Bunun yerine uygulandıkları bölgede özellikle kollajen, büyüme faktörleri ve fibrine kolaylıkla bağlanırlar. Böylece osteojenik hücrelerin infiltre olabileceği gözenekli bir matriks yapısı oluştururlar. Bu matriksin basınca karşı bir miktar direnci olsa da yapısal bir destek sağlayamaz. Alıcı bölgede kemik ile temas eden bölgelere kimyasal olarak bağlanarak osteointegrasyon oluştururlar. Yüksek biyoaktif yapısından dolayı osteogenezisi ve tamir sürecini stimüle ederler. Kemik içi defektlerde kanama kontrolü meydana getirirler. Partikül veya blok halinde hazırlanmış formları bulunmaktadır (Finkemeier, 2002; Garg, 2004; Nandi ve ark., 2010).

### **Seramik Kompozitleri**

Kompozit seramik materyallerinden kalsiyum-kollojen grefti sığırlardan elde edilir. Osteokondüktif özellikteki bu materyal HA, TCP, tip 1 ve tip 3 kollajenin

birleşmesinden meydana gelir (Gazdag ve ark., 1995). Otojen kemik iliği ile karıştırılarak osteoprogenitör hücreler ve büyüme faktörlerini de içeren çok daha etkili bir materyal haline getirilebilmekte ve kemik defektlerinin tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılabilir. Bu kompozit materyal mekanik olarak destek sağlayamasa da etkili bir greft özelliği taşır. Özellikle kemik greftleri ile kombine edildiklerinde, akut kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Yapılan prospektif ve randomize kontrollü bir çalışmada, uzun kemiklerde meydana gelen kırıkların tedavisinde otojen iliak kemik grefti ile kalsiyum-kollojen greft materyali arasında kemik kaynama derecesi ve fonksiyonel özellikler açısından bir fark olmadığı bildirilmiştir. Bu materyalin otojen kemik greftleri yerine kemik iliği ile birlikte kullanılmasının daha iyi sonuçlar verdiği gösterilmiştir (Chapman ve ark., 1997; Finkemeier, 2002).

### **Polimer Esaslı Greft Materyalleri**

Polimerler diğer greft materyallerinden farklı fiziksel, mekanik ve kimyasal özelliklere sahiptir. Günümüzde kullanılan polimerler doğal ve sentetik olarak bulunabilmektedir. Ayrıca çözünebilir (polilaktik asit ile polilaktik-ko-glikolik asit) ve çözünemez (polimetil metakrilat ile polihidroksietil metakrilat karışımı) olarak da sınıflandırılmaktadır (Laurencin ve ark., 2006). Doğal olarak bulunan en önemli polimerler kollajen, fibrin, aljinat ve jelatindir. Çözünebilir sentetik polimerler tek başına kullanılabilirler gibi otogreft ya da allogreftler ile birlikte de kullanılabilir (Campana ve ark., 2014). Kemik doku mühendisliğinde umut vadeden diğer bir polimer ise polikaprolaktondur. Polikaprolakton yüksek ısıda stabil olabilmesi, biyouyumlu ve çözünebilir olması yönüyle avantajlıdır. Ancak uzun çözünme zamanından dolayı pek kullanışlı değildir (Porter ve ark., 2009; Campana ve ark., 2014).

### **Kemik Doku Mühendisliği Materyalleri**

#### **Büyüme Faktörleri**

İlk olarak 1965’de Urist’in demineralize kemik matriksindeki osteoindüktif potansiyeli keşfetmesi ile birlikte, osteoindüktif proteinler üzerine araştırmalar

yoğunlaşmış ve farklı birçok büyüme faktörü tanımlanmıştır (Urist, 1965; Dimitriou ve ark., 2005). BMP'ler osteoindüktif karakterdeki proteinlerdir ve osteoprogenitör hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasını sağlarlar. Rekombinant DNA teknolojisi ile elde edilen BMP-2 ve BMP-7, özellikle kollajen gibi taşıyıcılarla birlikte uygulanmakta ve kritik boyutlu defektlerin rejenerasyonunda etkili olmaktadır (Giannoudis ve ark., 2009). Diğer büyüme faktörleri ise farklı dokular üzerinde proliferasyon, kemotaksis, farklılaştırma ve anjiogenezis gibi etkilere sahiptirler. IGF-1 ve TGF- $\beta$  çoğunlukla kırıkta matrisinin sentezlenmesinde düzenleyici olarak rol alırken, b-FGF kondrositlerin farklılaşmasını stimüle eder. PDGF, b-FGF ve VEGF'nin de kemik iyileşmesini stimüle ettiği bildirilmiştir (Tang ve ark., 2004; Dallari ve ark., 2007; Geiger ve ark., 2007). Otojen kandan elde edilen trombositten zengin plazma (PRP) ya da trombositten zengin fibrin (PRF) içerisinde, trombositlerin degranülasyonu sonucu ortaya çıkmış bol miktarda PDGF, TGF- $\beta$  ve IGF gibi faktörler bulunmaktadır. Tüm bu büyüme faktörleri otojen greft ya da allogreftler ile birlikte uygulandığında tatmin edici sonuçlar alınmaktadır (Alsousou ve ark., 2009).

### **Kollajen**

Kollajen ekstrasellüler matrikste yoğun olarak bulunan bir proteindir. Mineral depolanmasına, vasküler büyümeye, büyüme faktörlerin bağlanmasına ve kemik rejenerasyonu için uygun çevre oluşturmaya katkıda bulunur. Kollajen yapısal olarak destek sağlayamadığından dolayı greftlerle birlikte taşıyıcı olarak kullanılmaktadır. Özellikle TCP ya da HA ile kullanımları yaygındır (Cornell, 1999; Nandi ve ark., 2010).

### **Gen Terapisi**

Bazı genetik materyaller hedef hücrelerin genomlarına transfer edilerek bu hücrelerden bazı spesifik proteinlerin daha uzun zaman diliminde salınması sağlanabilmektedir (Chen, 2001). Bu genler insan vücudunda spesifik bölgelerde oluşturulabildiği gibi, laboratuvar şartlarında doku kültürlerinden de elde edilebilmektedir. Yeterli gen terapi modelleri oluşturulabildiğinde, kemik iyileşmesi sırasında BMP'lerin ve diğer moleküllerin sürekli olarak salınabilmesi

sağlanabilecektir. Konunun maaliyeti, etkinliği ve biyolojik güvenliği konusunda çalışmalar halen devam etmektedir (Lind ve ark., 2005; Calori ve ark., 2009).

Sonuç olarak, greftlerin ya da kemik yerine geçen biyomateryallerin kullanımında alıcı bölgenin osteojenik rejenerasyon potansiyelinin çok iyi bilinmesi gerekmektedir. Alıcı bölgedeki defektin boyutu, defektin sağlam duvar sayısı, greft-alıcı kemik oranı, defektin geometrisi, yumuşak dokuların sağlığı, greftin stabilitesi, greftin yapısal ve osteojenik özellikleri, greftin formu gibi durumlar greft uygulanması planlanan olgularda dikkatle değerlendirilmesi gerekir. Yüksek iyileşme kapasitesine ve osteojenik potansiyele sahip bölgelerde düşük osteojenik kapasiteli greftler kullanılabilirken düşük iyileşme kapasitesine ve osteojenik potansiyele sahip bölgelerde yüksek osteojenik kapasiteli greftler kullanılmalıdır. Bu nedenle dokuların osteojenik kapasitelerinin değiştiği ilerleyen yaş, diyabet gibi metabolik hastalıklar, immün hastalıklar, kemoterapi veya radyoterapi gibi durumlar greft uygulanmadan önce mutlaka dikkatli bir şekilde değerlendirilmelidir (Garg, 2004).

### **2.3. Diabetes Mellitus**

Diabetes Mellitus, insülinin sekresyonundaki veya etkisindeki yetersizlik sonucunda meydana gelen ve kan glukoz seviyesinin yükselmesi (hiperglisemi) ile seyreden kronik metabolik bir hastalıktır. Vücuttaki enerji döngüsünü kontrol eden insülin, pankreasın  $\beta$  hücrelerinde sentezlenen önemli bir hormondur. Bu hormonun tamamen veya kısmi olarak yokluğu ya da etkisindeki yetersizlik karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasının bozulmasına yol açar (Papadakis ve ark., 2001; Rosenbloom ve ark., 2004; Rother, 2007). Diyabet uzun dönemde vücuttaki birçok organı etkileyen ve fonksiyon kayıplarına yol açan önemli bir hastalıktır. Bu hastalığın önlenmesi, eğer klinik belirtiler ortaya çıktıysa da tedavi edilmesi oldukça önem arz etmektedir (Yılmaz, 2003). Patogenezi bakıldığında diyabetin heterojen bir hastalık olduğu görülür. Bu nedenle yıllar içerisinde diyabetin bu heterojen yapısına bağlı olarak değişen farklı sınıflandırmalar yapılmıştır. 2014 yılında American Diabetes Association (ADA) hastalığa dair sınıflamayı ve tanı ölçütlerini belirtmiştir (Tablo 5). Yapılan bu etyolojik sınıflandırmaya göre diyabet;

#### **1. Tip 1 Diabetes Mellitus**

- a. Otoimmün
- b. İdiyopatik
2. Tip 2 Diabetes Mellitus
3. Diyabetin diğer spesifik nedenleri
  - a.  $\beta$  hücre işlevinde bozukluğa neden olan genetik hastalıklar
  - b. İnsülinin etkisinde bozukluğa neden olan genetik hastalıklar
  - c. Endokrinopatiler
  - d. İlaç ve kimyasal ajanlar
  - e. Ekzokrin pankreas hastalıkları
  - f. İmmün aracılı diyabet
  - g. Enfeksiyonlar
  - h. İnsülin eksikliği ya da direnci ile seyreden genetik sendromlar
4. Gestasyonel Diabetes Mellitus
5. Yenidoğan Diabetes Mellitusu olarak ayrılmaktadır (American Diabetes Association, 2010; Craig Ve Ark., 2014b).

### **2.3.1. Diyabet Tipleri**

#### **Tip 1 Diabetes Mellitus (Tip 1 DM)**

Tip 1 Diabetes Mellitus daha sıklıkla çocukluk çağında görülen, pankreastaki  $\beta$  hücrelerinin yıkımı neticesinde insülin eksikliği ile sonuçlanan kronik bir hastalıktır. Vakaların yaklaşık %90'ında otoimmüniteye (Tip 1A) bağlı beta hücre yıkımı gözlenirken %10 kadarında idiyopatik hücre yıkımı ya da yetmezliği (Tip 1B) görülmektedir (Rother, 2007). Hiçbir otoimmünite belirtisi göstermeyen Tip 1B DM'de bilinen bir etyoloji yoktur ve kalıcı olarak insülin eksikliği görülür. Daha önceki zamanlarda Jüvenil Diabetes Mellitus ya da İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus olarak adlandırılrsa da günümüzde bu isimlendirmeler artık kullanılmamaktadır. Her yaşta görülebilmesine karşın çoğunlukla 30 yaşın altında ortaya çıkar. Tüm diyabet vakalarının yaklaşık %5-10'unu oluşturur. Tip 2 Diabetes Mellitus'un çocuk ve ergenlerde oranı gittikçe artsa da 20 yaş altı genç ve çocuklarda tüm diyabet vakalarının yaklaşık %85'ini tip 1 DM oluşturur (Atkinson ve ark., 2001; Liese ve ark., 2006). Tip 1 DM'nin yaklaşık  $\frac{1}{4}$ 'ü ise yetişkinlerde görülür. Cinsiyet dağılımı açısından eşit

oranda bulunmasına rağmen 25 yaş üstü tanı alan vakalarda kadın:erkek oranı 1:5'dir (Joslin ve ark., 2005; Cinaz, 2013).

Tip 1 DM insidansı özellikle 5 yaş altında tüm dünyada hızlı bir şekilde artmaktadır (Patterson ve ark., 2009). Tip 1 DM insidansında gerek ülke içi ve dışında bölgesel farklılıklar bulunması gerekse de görülen bu hızlı yükseliş, diyabetin yalnızca genetik faktörlere bağlı değil, çevresel faktörlere ve gen-çevre etkileşimine bağlı olduğunu göstermektedir. Sonuçta bakıldığında tip 1 DM patogenezinde genetik, çevresel, psikolojik, enfeksiyöz, hormonal ve davranışsal faktörlerin rol aldığı görülmektedir. Tip 1 DM'nin en sık görüldüğü 4-6 yaş arasında primer etkenin enfeksiyon, ikinci pik noktası olan 10-14 yaş arasında ise büyüme hormonu ve psikolojik stres olduğu düşünülmektedir (Rosenbauer ve ark., 1999).

Tip 1 DM'nin doğal seyri birkaç evreye ayrılır. İlk evrede yalnızca genetik yatkınlık söz konusudur. Beta hücreleri ve fonksiyonları normaldir. Tip 1 DM'ye yatkınlık oluşturan genler MHC olan ve MHC olmayan olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Bu ve daha henüz açıklanamayan bazı genlerin varlığı ile genetik yatkınlık oluşmuş bireylerde bazı çevresel faktörler, immün cevabı uyararak insülitis denilen beta hücre adacığı harabiyetine yol açar (Joslin ve Kahn, 2005; Cinaz, 2013; Precechtelova ve ark., 2014).

Viral enfeksiyonlar, kimyasal maddeler, bağışıklama (aşılar), gıdalar, erken yaşta inek sütüne başlanması, D vitamini eksikliği, anne yaşı, preeklampsi öyküsü, yenidoğan sarılığı ve aşırı hijyen gibi durumlar çevresel faktörler arasında yer alır (Bach, 2002). Viral hastalıklar arasında konjenital kızamıkçık enfeksiyonunun diyabete yol açtığı kesin olarak bilinmektedir. Bunun haricinde Koksaki A, Koksaki B2 ve B4, sitomegalovirüs, ekovirüs, Epstein-Barr virüs ve retrovirüsler pankreatik beta hücrelerini enfekte edebilir ya da yok edebilir. Beta hücrelerinin enfekte olması bu hücrelere karşı otoimmün saldırıyı tetikleyerek Tip 1 DM gelişmesine neden olur. Erken dönemde inek sütü ve tahıl ürünlerinin kullanılması otoantikor oluşumunu tetikleyerek diyabet gelişmesine neden olabilir (Norris ve ark., 1996; 2003). Alloksan, streptozotosin, pentamidin, fare zehiri, interferon alfa ve takrolimus gibi ilaçlar beta hücresi için toksiktir. Stres de erken yaşlarda ortaya çıktığında Tip 1 DM gelişmesini kolaylaştırmaktadır (Thernlund ve ark., 1995).

Evre 2’de kişiye özgü antijenlerin salınımı ve otoantikörlerin oluşması izlenir. Bu süreç yavaş ve ilerleyici bir şekilde beta hücrelerini harap etmeye devam eder. Ancak genetik olarak hassas olan ya da otoantikör meydana gelmiş kişilerin hepsinde Tip 1 DM gelişmez. Evre 2’de beta hücrelerinde yaklaşık %50 yıkılma olmasına rağmen klinik olarak bir metabolik bozukluk görülmebilir. İntravenöz glukoz tolerans testinde (IVGTT) glukozu karşı intolerans ilk olarak evre 3’te izlenir. Bu evrede insülin miktarında azalma görülmesine karşın kan glukoz seviyesi normaldir. Evre 4’de oral glukoz tolerans testinde (OGTT) pozitiflik görülür. Açlık kan şekeri de yüksektir. OGTT ile glukoz intoleransı saptandıktan 1-2 yıl içerisinde ise klinik bulgular ortaya çıkar. Diyabete dair klinik bulgular ortaya çıktığında beta adacık hücrelerinin yaklaşık %80-90’ının yıkıma uğradığı düşünülmektedir. Otoimmünite başladıktan sonra adacık hücrelerindeki yıkım süreci kişiden kişiye göre farklılık gösterebilir. Küçük çocuklarda 3 yıl, büyük çocuklarda ve yetişkinlerde 10 yıl içerisinde beta hücre yıkımı tamamlanır. Otoimmün cevap vücuttaki diğer organlara karşı olan antikörler ile birliktelik gösterebilir. Otoimmün yanıt ile meydana gelmeyen diğer tip 1 diyabetlerde ise farklı antikörler görülür ve bu antikörlerin çeşidi ne kadar fazla ise diyabetin şiddeti de o kadar fazla olur. Otoimmün yanıtın T hücreleri aracılığı ile gerçekleştiği düşünülmektedir (Rother, 2007). Son olarak evre 5’te hiperglisemi ve klinik olarak tanı konmuş diyabet gelişmiş olur (van Belle ve ark., 2011; Cinaz, 2013).

DM kronik bir hastalık olduğundan dolayı özellikle klinik belirtilerin ortaya çıkmadan önce teşhis edilmesi büyük önem taşır. Ailede Tip 1 DM bulunması diyabet gelişme ihtimalini ortalama % 4 oranında artırmaktadır. Diyabetli bireylerin özellikle yakın akrabalarında bazı genetik (genler), immünolojik (antikörler), metabolik belirteçler (IVGTT, OGTT) kullanılarak risk altındaki bireyler tespit edilebilmektedir. Tip 1 DM bazı immünsüpresif ve immünomodülatör ilaçlar, antiinflamatuvar ajanlar, nikotinamid, D vitamini desteği, omega-3 yağ asitleri ve kök hücre transplantasyonu ile önlenilmeye çalışılmaktadır (Joslin ve Kahn, 2005; van Belle ve ark., 2011; Cinaz, 2013; Craig ve ark., 2014b).

Diyabet tanısı glukoz metabolizması ile alakalı 4 değişiklikten birinin tespit edilmesi ile konur:

- Açlık plazma glikozu  $\geq 126$  mg/dl (7 mmol/L) olması (açlık süresi en az 8 saat olmalıdır)
- Hipergliseminin klasik semptomlarının olduğu bireyde rastgele alınan venöz plazma glikoz düzeyi  $\geq 200$  mg/dl (11,1 mmol/L) olması
- 1,75 g/kg (maksimum 75 g) glikoz yüklemesinden sonra 2. saatte ölçülen plazma glikoz seviyesi  $\geq 200$  mg/dl (11,1 mmol/L) olması
- HbA1c  $\geq 6,5$  olması (American Diabetes Association, 2010; Craig ve ark., 2014b)

Belirgin hiperglisemi semptomları bulunmayan hastalarda tanı testlerin tekrarlanması ile tanı doğrulanmalıdır. Ayrıca prediyabetik durumlardan olan bozulmuş açlık glikozu ve bozuk glukoz toleransı, hem diyabet oluşumu hem de çeşitli kardiyovasküler hastalıkların oluşması için ana risk faktörüdür (American Diabetes Association, 2010; Cinaz, 2013).

- Normoglisemi : açlık kan glukoz değeri  $< 100$  mg/dl (  $< 5,6$  mmol/L)
- Bozulmuş açlık glukozu: açlık kan glukoz değeri 100-125 mg/dl ( 5,6-6,9 mmol/L ) (Craig ve ark., 2014b)

Oral glukoz tolerans testi değerlendirilirken 2. saatte bakılan kan şekeri:

- Normal değer:  $< 140$  mg/dl (  $< 7,8$  mmol/L)
- Bozulmuş glukoz toleransı: 140-199 mg/dl ( 7,8-11,1 mmol/L) (Craig ve ark., 2014b)

Tip 1 DM'nin klasik başvuru bulguları hiperglisemi neticesinde meydana gelen poliüri, polidipsi, polifaji ve keton cisimlerinin üretilmesi sonucu meydana gelen kilo kaybı, halsizlik ve yorgunluktur. Hastaların başvuru dönemine göre kusma, kusmaul solunumu, ağızda aseton kokusu, karın ağrısı, bilinç bulanıklığı ve ketoasidoz koması da gelişmiş olabilmektedir. Serum glikoz düzeyi 180 mg/dl'yi aştığında renal eşik aşılması olur ve idrarla glikoz atılımı artar. Meydana gelen bu glukozüri osmotik basıncı artırarak suyun geri emilimini azaltır böylece poliüri ve hipovolemiye neden olur. Hipovolemi ve hiperglisemi neticesinde diğer hücrelerden suyun osmotik yolla kana geçmesi ile polidipsi meydana gelir. Kilo kaybı ise katabolizmanın artması ve



hipovolemi sonucunda meydana gelir. İnsülin eksikliği nedeniyle kaslardaki glikoz kullanımı bozulur. Bunun yerine yağ ve protein yıkımı artar. Böylece kilo kaybı meydana gelir (Cinaz, 2013; Usher-Smith ve ark., 2015).

Tip 1 DM'nin hipoglisemi, hiperglisemi, hiperosmolar non-ketotik koma, laktik asidoz koması ve ketoasidoz gibi akut komplikasyonlarının yanında, uzun dönemli mikro ve makrovasküler komplikasyonları da bulunmaktadır. Mikrovasküler komplikasyonlar olarak retinopati, nefropati, nöropati ve yara iyileşme problemleri görülürken makrovasküler komplikasyonlar olarak kardiyovasküler bozukluklar, serebrovasküler bozukluklar, hipertansiyon ve periferik damar hastalıkları görülmektedir. Bu komplikasyonların haricinde gastroparezis, nekrobiosis lipoidika, sınırlı eklem mobilitesi, menstrual düzensizlik, paronişi, mortalite, kalsiyum, D vitamini ve kemik metabolizması değişiklikleri görülebilmektedir. Tip 1 DM'de kötü glisemik kontrol var ise iskelet ve puberte gelişiminde gecikmeler meydana gelebilir. Ayrıca bu kişiler diğer otoimmün hastalıklar açısından da risk altındadır. Bu yüzden belli aralıklar ile tarama yapılmalıdır (Joslin ve Kahn, 2005; Usher-Smith ve ark., 2015).

Uzun dönemde diyabetin komplikasyonlarından korunmak ve hasar riskini azaltmak için iyi bir glisemik kontrol sağlanması ve diyabetin iyi bir şekilde yönetilmesi gerekmektedir. Bunun için başlıca kural doğru bir şekilde ve belli zaman dilimlerinde kan şekeri ölçümü yapmaktır. Bununla birlikte egzersiz, eğitim, beslenme planı ve insülin replasmanı tedavinin ana basamaklarını oluşturur (Joslin ve Kahn, 2005).

Kan glukoz değerlerinin zaman içerisindeki değişimini değerlendirmek için HbA1c değerleri takip edilmektedir. Tablo 5'de kan şekeri ile HbA1c arasındaki ilişki görülmektedir. Glikozillenmiş hemoglobin adı verilen HbA1c'nin değeri, kandaki glikozun geri dönüşümsüz olarak bağlandığı alyuvar oranını vermektedir. Bu oran ortalama %6 civarındadır. Alyuvarların ortalama yaşam süreleri 120 gün olduğu için bu değer ölçülmesi geriye dönük üç aylık ortalama kan glukoz değerlerinin tahmin edilmesi için kullanılır (Joslin ve Kahn, 2005; Magliano ve ark., 2015).

Tip 1 DM'deki mutlak insülin eksikliğinden dolayı bu ihtiyacı karşılamak için dışardan insülin verilmesi gerekir. Dışardan verilen insülinler hayvan ve insan kaynaklı olabildikleri gibi insülin analogları şeklinde de bulunmaktadır. Bunlar uzun veya hızlı

etkili olabilmektedirler. İnsülin enjeksiyonu haricinde günümüzde kullanılan diğer bir yöntem insülin pompasıdır. Pompa ve yapay pankreas teknolojileri sayesinde pankreas taklit edilmeye çalışılarak kan şekeri regülasyonu sağlanmaktadır. Adacık hücre nakilleri ile de insülin salınması sağlanabilmektedir. Ancak uygulama prosedürlerindeki zorluklardan dolayı henüz pratikte kullanılabilir duruma gelmemiştir. Diyabetin tedavisinde beslenmenin de çok önemli bir yer vardır. Her bir diyabetik kişide kişinin özelliklerine göre beslenme programı uygulanarak kan glikoz, kolesterol ve trigliserid düzeyleri normal düzeyde tutulmaya çalışılır. Egzersiz de kan glikoz düzeyini düşürücü ve insülin duyarlılığını artırıcı özelliğinden dolayı diyabet tedavisinde önemli bir role sahiptir (Joslin ve Kahn, 2005; van Belle ve ark., 2011).

**Tablo 5.** Kan şekeri seviyesi ile HbA1c arasındaki ilişki (Cinaz'dan, 2013),

HbA1c (%)	Ortalama kan şekeri (mg/dl)
6	135
7	170
8	205
9	240
10	275
11	310
12	345

### **Tip 2 Diabetes Mellitus (Tip 2 DM)**

Tip 2 DM, kalıtım ve aile öyküsü açısından daha ön planda olan ve çevresel faktörlerin de etkisi ile ortaya çıkan, etyolojisinde birçok farklı nedenin olduğu metabolik bir hastalıktır. Özellikle yaşlı bireylerde daha fazla görülmesi ve hastalığın neden olduğu kardiyovasküler hastalıklar, retinopati ve nefropati gibi komplikasyonlar mortalite ve morbiditeyi ciddi şekilde artırmaktadır. Son dönemlerde obezitenin artmasına bağlı olarak çocuk ve ergenleri de etkileyen bir hastalık durumuna gelmiştir

(Rosenbloom ve ark., 1999). Tip 2 DM'li çocukların %56-84'ünde birinci ve ikinci derece akrabalarda diyabet hikayesi görülmesi bu hastalıkta genetik faktörlerin önemini ortaya koymaktadır (Ehtisham ve ark., 2004; Bell ve ark., 2009).

Tip 2 DM'nin patofizyolojisinde insülin etkisine direnç, bundan kaynaklı olarak hiperinsülinemi ve görece insülin eksikliği vardır (Gungor ve ark., 2005). İnsüline olan yanıtın bozulmasının başlıca sorumlusu hücre membranında bulunan insülin reseptörüdür. İnsülin duyarlılığının azalması ile birlikte hücrelerin insülin aracılı glukoz tüketiminde direnç söz konusu olduğundan, normal düzeyde kan glukoz seviyesinin sağlanması için beta hücrelerinden daha fazla insülin salınımı olmaktadır. Ancak belli bir süre sonra beta hücreleri insülin direncinin gerektirdiği aşırı insülin salınımını sağlayamadığında Tip 2 DM gelişmiş olur (Tfayli ve ark., 2010). Bu dönemde görece insülin yetersizliği, açlık hiperglisemisi ve karaciğerde glukoz yapımında artış gibi klinik belirtiler ortaya çıkmaya başlar (Weyer ve ark., 1999). Ayrıca hipergliseminin beta hücrelerine olan toksik etkisi sonucu durum daha ilerleyici olabilmektedir (Gungor ve ark., 2005).

Tip 2 DM'nin gelişmesinde ilk aşama olan insülin direnci ile alakalı birçok risk faktörü ilişkilendirilmiştir. Obezite, puberte, polikistik over sendromu, yaş, çevre kirliliği ve etnik nedenler bu faktörler arasında en önemli olanlardır (Arslanian, 2002). Obezitede insülin duyarlılığındaki azalma ile birlikte beta hücrelerinden insülin salınımında da bozulmalar meydana gelir. Tip 2 DM'li hastaların yaklaşık %55'i obezdir (Tfayli ve ark., 2010). Puberte döneminde meydana gelen büyüme hormonu artışı fizyolojik olarak insülin direncine yol açar. Bu durumun Tip 2 DM'nin gelişmesini kolaylaştırdığı düşünülmektedir (Pinhas-Hamiel ve ark., 1996).

Tip 1 ve Tip 2 DM'yi ayırt etmek, tedavi stratejisi açısından büyük önem taşımaktadır. Aile öyküsü Tip 2 DM'de %80'lere ulaşabilmektedir (Cinaz, 2013). Tip 2 DM 10 yaş altında çok nadir olarak görülürken Tip 1 DM'ye çocuk ve ergenler arasında daha sık rastlanılmaktadır (Gale, 2002; Harjutsalo ve ark., 2008). Tip 2 DM'li kişiler daha sıklıkla kilolu bireylerdir. Tip 1 DM'de klinik belirti olarak daha çok kilo kaybı görülmektedir. Akantozis nigrikans Tip 2 DM'de görülen en önemli klinik bulgulardan biridir (Scott ve ark., 1997). Tip 1 DM'de antikor pozitifliği %85'in üzerindedir (Hagopian ve ark., 1995). Tip 2 DM'de bağışık yanıt gelişmediğinden antikor pozitifliği

görülmez ve bu durum tanıda ölçüt olarak kullanılmaktadır. Yalnızca bazı vakalarda adacık hücre antikor pozitifliği görülebilmektedir (Hathout ve ark., 2001; Umpaichitra ve ark., 2002). Tip 2 DM'de ana neden insülin direnci olduğundan dolayı C-peptid düzeyi Tip 1 DM'den farklı olarak normal ya da yüksek olarak görülmektedir (Bell ve ark., 2009).

Tip 2 DM neticesinde akut ve kronik komplikasyonlar meydana gelebilmektedir. Akut komplikasyonlar olarak diyabetik ketoasidoz ve hiperglisemik koma görülebilirken kronik komplikasyon olarak ise nöropati, nefropati ve retinopati ile karşılaşılabilir. Tip 2 DM'li kişilerde nefropati nedeniyle böbrek yetmezliği, retinopati nedeniyle görme bozuklukları, nöropati nedeniyle ağrı ve duyu kaybında azalma görülebildiği gibi kardiyomyopati nedeniyle kalp yetmezliği de oluşabilmektedir (Joslin ve Kahn, 2005).

Tedavisinde ve komplikasyonların önlenmesinde kan glikoz seviyesinin kontrolü çok önemlidir. Bununla birlikte akut metabolik bozuklukların giderilmesi, insülin duyarlılığının ve salınımının sağlanması, karaciğerde glikoz yapımının azaltılması, ideal vücut ağırlığına dönülmesi gibi hedefler önem arz etmektedir. Bu amaçlarla yaşam tarzında değişiklik (egzersiz, sigaranın bırakılması, karbonhidrat rejimi) ile beraber bazı ilaç tedavileri uygulanmaktadır. Hastalığın başlangıcında insülin üretimi henüz hafif derecede bozulduğu için oral antidiyabetikler insülin üretimini iyileştirebilirler (sülfonilüre), karaciğerden salınan glukoz miktarını düzenleyip bir dereceye kadar insülin direncini azaltabilirler (metformin) ya da insülin direncini büyük ölçüde düzeltirler (tiyazolidindion). Ancak açlık kan şekeri 126-199 mg/dl ve Hb1Ac'si %8.5'in altında olan kişiler bu oral antidiyabetik ilaçlar ve yaşam tarzı değişikliği ile tedavi edilmektedir (DeFronzo, 2000). Pankreasın beta hücrelerindeki insülin salgılanmasının dahada bozulması sonucunda oral yoldan alınan ilaçlar yetersiz kalabilir. Bu noktadaki hastalarda glukoz düzeylerini normal ya da normale yakın bir seviyede tutabilmek için insülin tedavisi gerekli hale gelir. Özellikle akut komplikasyonların geliştiği ve HbA1c'nin %8.5'in üzerinde olduğu vakalarda insülin tedavisine başlanmaktadır. Yine erken dönemde hipergliseminin beta hücrelerine toksik etkisinin ortadan kaldırılması için ya da antikor pozitifliği olan kişilerde öncelikli olarak insülin tedavisine başlanabilmektedir (Glaser ve ark., 1999).

## **Gestasyonel Diyabet**

Gebeliğe bağılı olarak meydana gelen gestasyonel diyabet, insülin sekresyonundaki bozulma ve insülin yanıtının azalması sonucu meydana gelir. Tüm gebelikler içinde %2-5 oranında görülmektedir. Gebelikleri sırasında diyabet teşhisi koyulan kişiler dikkatle izlenmelidir. Bu kişilerin gebelikleri sonrasında Tip 2 DM gelişme olasılığı oldukça yüksektir. Normalde doğum sonrası düzelmesine rağmen yine de hamilelik sırasında tedavinin yapılması gerekmektedir. Kontrol altında olmayan durumlarda fetus için makrozomi, konjenital kalp ve sinir sistemi anomalileri, iskelet kası malformasyonu, respiratuvar distres sendromu ve hiperbilirubinemi riski söz konusudur (American Diabetes Association, 2010).

## **Mody (maturity onset diabetes of the young)**

Genetik nedenli olarak beta hücre fonksiyonlarının bozulması sonucu meydana gelen, klasik olarak 25 yaşından önce başlayan, insülin bağımlı olmayan ve otozomal dominant geçişli diyabet olarak tanımlanmaktadır. En az 2 ya da 3 nesilde benzer özellikler taşıyan diyabetli bireyler vardır. Obezite genellikle görülmez. C-Peptid düzeyleri normaldir. İnsülin direncinde herhangi bir problem yoktur. Akantozis nigrikans görülmez. Beyaz ırkta daha fazla rastlanır. Bugüne kadar genetik ve klinik özellikleri tanımlanan 10 tip MODY sendromu bulunmaktadır. (Cinaz, 2013).

## **Neonatal Diyabet**

Yaşamın ilk altı içerisinde ortaya çıkan diyabet türüdür. 300-400 bin canlı doğumda bir görülür (Polak ve ark., 2007). Geçici ve kalıcı olabilmektedir. Geçici olanlar ilk 1 ay ila 5 yıl içerisinde kendiliğinden kaybolur. Ancak tekrar başlar ise hayat boyu devam eder. Kalıcı diyabette ise başladıktan sonra herhangi bir gerileme olmaz. Geçici ve kalıcı diyabetin nedeni bazı gen veya genlerdeki mutasyonlara bağlıdır. Bu nedenle otoantikör negatiftir. Neonatal diyabette, diyabete neden olan moleküler bozukluğun ortaya çıkarılması, hastalığın prognozunun ve tedavi planının belirlenmesi açısından önemlidir. Bu nedenle bu hasta gruplarında genetik çalışmaların yapılması gerekmektedir (Flechner ve ark., 2008).

## **Mitokondriyal Diyabet**

Hücrelerin mitokondriilerindeki oksidatif fosforilasyonun bozulması sonucunda mitokondriyal hastalıklar meydana gelir. Bu hastalıklar farklı klinik tablolar halinde görülebilir. Diyabet bu klinik tabloların bir kısmında saptanabilir. Çünkü enerji sağlanması bozulduğunda insülin sekresyonunda da azalma meydana gelir (Walker ve ark., 2005).

## **Wolfram Sendromu**

Diabetes İnsipidus, Diabetes Mellitus, optik atrofi ve işitme kaybı ile karakterize otozomal resesif aktarılan bir klinik tablodur. Glikoz kontrolü insülin verilmesi ile sağlanır (Boutzios ve ark., 2011).

## **Kistik Fibrozis İle İlişkili Diyabet**

Kistik fibrozisin en sık görülen komplikasyonları arasında bozulmuş glukoz toleransı ve diyabet vardır. Pankreastaki salgı üreten dokunun fibröz doku ve yağ dokusu ile yer değiştirmesi sonucunda beta hücre kaybı meydana gelir. Bunun neticesinde insülin eksikliği oluşur. Tip 1 ve tip 2 DM'nin bazı özelliklerini gösterse de diyabetin ayrı bir sınıfıdır. Kistik fibrozisli hastalarda insülin direnci de gösterilmiştir. Tedavide insülin verilmesi ve beslenme planlaması düşünülür (Moran, 2002).

## **İlaçlar ve Kimyasal Maddelere Bağlı Gelişen Diyabet**

Organ nakilleri sonrasında kullanılan siklosporin ve takrolimus gibi ilaçlar beta hücreleri için toksik etkilidir. Ayrıca glukokortikoidler, L-asparaginaz, beta adrenerjik blokaj yapan ilaçlar, rodentisitler, fenitoin, alfa-interferon, nikotinic asit, diazoksit, streptozotosin ve alloksan gibi kimyasallar ve ilaçlar toksik etkisi ile diyabete neden olur (Cinaz, 2013; Craig ve ark., 2014b).

## **Diğer Nedenler**

Pankreatektomi uygulanan ve onkolojik nedenler dolayısı ile abdominal bölgeye iyonize radyasyon uygulaması yapılan kişilerde diyabet gelişebilmektedir (de Vathaire ve ark., 2012; Scavini ve ark., 2015).

### 2.3.2. Diyabet ve Kemik Metabolizması

DM'nin birçok major komplikasyonun yanında farklı patofizyolojik yollar ile kemik metabolizmasını da etkilediği uzun bir süredir bilinmektedir (Leidig-Bruckner ve ark., 2001). DM olan hastalarda osteopeni, osteoporoz, artropati ve diyabetik ayak gibi iskelet sistemi hastalıkları sıklıkla görülmektedir (Schwartz, 2003). Ayrıca kemiğin nitelik ve niceliğindeki bozulmalar kırık riskini artırmaktadır (Gallacher ve ark., 1993).

DM'de kemik mineral yoğunluğunun azaldığını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (Hofbauer ve ark., 2007; McCabe, 2007). Tip 1 DM'de hem genç hem de yetişkin yaş grubundaki kişilerin kemik mineral yoğunluğu araştırılmış ve çoğu çalışmada azalma tespit edilmiştir. Tip 1 DM'li yetişkin hasta grubunda nöropati ve retinopatinin yüksek olması mikrovasküler komplikasyonların fazla olduğunu ve bunun da kemik mineral yoğunluğunda azalmaya neden olabileceği bildirilmektedir (Weber ve ark., 1990; Krakauer ve ark., 1995; Lopez-Ibarra ve ark., 2001). Tip 2 DM'de ise çelişkili sonuçlar bildirilmektedir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kemik mineral yoğunluğunda artma ya da eşit değerler bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Bunun muhtemel nedenleri ise tip 2 DM'ye sahip çoğunlukla obez ve yaşlı hastalardaki mekanik kuvvetlerde artma ve östrojen, insülin ve leptin gibi hormonlardaki değişimlerdir. Vücut kitle indeksi 25'in altında olan ve tip 2 DM'li bireylerde ise kemik mineral yoğunluğu daha az bulunmaktadır (Tuominen ve ark., 1999; Nicodemus ve ark., 2001; Schwartz, 2003; Vestergaard ve ark., 2005; Zhou ve ark., 2010).

Tip 1 ve Tip 2 DM'ye sahip özellikle kontrol altında bulunmayan kişilerde kemik fragilitesinde artış ve kırık iyileşmesinde yavaşlama veya bozulma meydana gelmektedir (Schwartz ve ark., 2001; Miao ve ark., 2005; Vestergaard ve ark., 2005; Vestergaard, 2007). Ayrıca yeni tanı alan kişilerde kırık riski daha az iken uzun süre DM hastası olan kişilerde daha yüksektir (Leslie ve ark., 2007). Tip 2 DM'li hastalarda genel olarak görülen kemik mineral yoğunluğundaki artışa rağmen kırık riskinin artması patofizyolojide başka nedenlerin olduğunu göstermektedir (Strotmeyer ve ark., 2007).

DM'de kemik metabolizmasını etkileyen birçok durum gerçekleşir. Uzun süre devam eden hiperglisemi durumu, normale göre daha fazla androjen varlığı, böbreklerden kalsiyum ve fosfat iyonlarının atılımı, yüksek leptin düzeyi, IGF'nin

azalması, nöropati ve anjiopati gibi durumlar, artmış inflamasyon, D vitamini metabolizması değişikliği ve osteoblastik aktivitede meydana gelen azalma neticesinde kemik metabolizmasında bozulmalar meydana gelir (Strotmeyer ve Cauley, 2007; Merlotti ve ark., 2010).

Uzun süre devam eden hiperglisemi durumunda meydana gelen glikozüri ile birlikte böbreklerden kalsiyum atılımında da artış meydana gelir. Meydana gelen negatif kalsiyum dengesinden dolayı kemik kaybı oluşur (Vestergaard, 2009; Merlotti ve ark., 2010). Ayrıca DM'ye eşlik eden hipertansiyon varlığı kalsiyum atılımını artırdığından kemik kaybına neden olabilmektedir. DM'de hipergliseminin uzun süre devam etmesi neticesinde osteoblast proliferasyonu ve matürasyonunun bozulduğu, laktik asit düzeyindeki artışın osteoblastik aktiviteyi azalttığı bildirilmiştir. Kronik hipergliseminin peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gamayı artırarak osteoblast farklılaşmasını azaltabileceği bildirilmiştir (McCabe, 2007). DM neticesinde reaktif oksijen türlerindeki artış, polyol yol ağının etkilenmesi ve bazı enzimlerin glikozillenmesi neticesinde kemik metabolizmasında değişimler görülmektedir (McCabe, 2007; Merlotti ve ark., 2010). Hiperglisemi neticesinde başta peptosidin olmak üzere kemikteki pek çok proteinin glikozillenmesi neticesinde kemik mineral yoğunluğu değişmediği halde kemik biyomekaniğinde bozulmalar meydana gelir. Ayrıca bu glikozillenmiş proteinler osteoklast aktivitesini, sitokinleri, büyüme faktörlerini ve bazı molekülleri etkileyerek kemik yapım-yıkım olayında etkili olurlar (Saito ve ark., 2006; Valcourt ve ark., 2007; Vestergaard, 2009). Ayrıca proteinlerin glikolizasyonu, kollajenler arasındaki bağlantıyı etkileyerek mineralizasyonu bozar (Saito ve ark., 2006). İnsülin yetersizliğinde IGF'de de eksiklik görülür. Böylece osteoblast sayısında ve aktivitesinde azalma meydana gelir (McCabe, 2007; Merlotti ve ark., 2010). Ayrıca insülin, cinsiyet hormonlarının kemik yapımı üzerine olumlu etkilerini artırdığından dolayı eksikliği durumunda kemik mineral yoğunluğunda azalmalar meydana gelebilir (Barrett-Connor ve ark., 1996; Thrailkill ve ark., 2005). DM'li hastalarda özellikle obez kişilerde düşük D vitamini düzeyleri görülebilmektedir. D vitamininin düşük seviyelerde olması kemik metabolizmasını olumsuz yönde etkiler (Nimitphong ve ark., 2015). Nöropati ve anjiopati neticesinde osteoklastik aktivitedeki artış, kemik dokusunun kanlanmasıdaki yetersizlik ve endotelial bozukluk kemik mineral yoğunluğunda azalmaya ve kırık riskinde artmaya neden olabilmektedir. Ayrıca



DM neticesinde osteoblastların D vitamini ve parathormona karşı cevabında da azalmalar meydana gelir. İnflamasyon durumunun uzaması ya da artması ya da inflamasyon sitokinlerinin çoğalması kemik kaybını artıran diğer faktörlerdir (Rix ve ark., 1999; Schwartz, 2003; Vestergaard, 2009; Nimitphong ve ark., 2015).

DM'li hastalardaki kemik metabolizmasında meydana gelen bu değişiklikler ya da bozulmalardan dolayı maksillofasiyal cerrahi işlemler sonrasında sıkıntılı komplikasyonlar ile karşıya karşıya kalınabilmektedir (Peer ve ark., 2015). Bu komplikasyonların elimine edilebilmesi için kemik metabolizmasını etkileyen ve iyileşmeyi artırabilen biyostimülatif yöntemler hem klinik hem de deneysel olarak araştırılmaya devam etmektedir (Patrocinio-Silva ve ark., 2014).

## **2.4. Ekstrakorporal Şok Dalga Tedavisi (ESWT)**

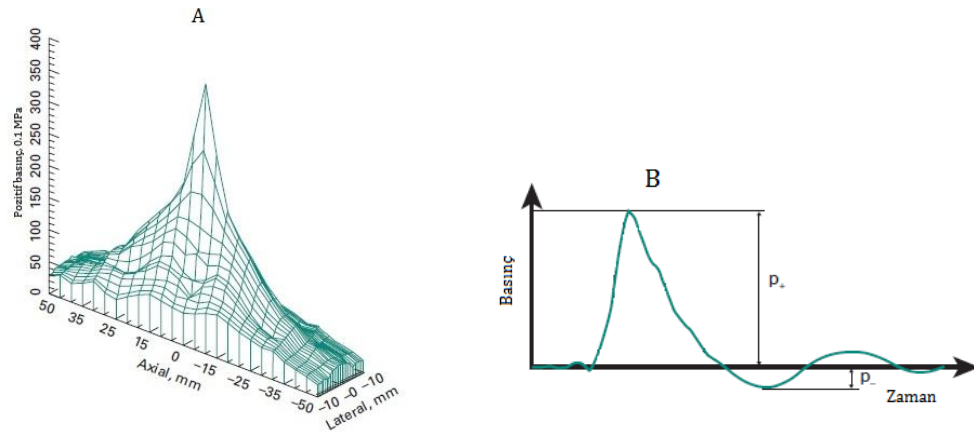
### **2.4.1. Tanım**

Dünyada her yıl milyonlarca hastada meydana gelen kemik defektleri ya da kemik kırıklarının tedavisinde cerrahi işlemler uygulanmaktadır. Ancak bu işlemlerin morbiditeye ve ek maliyete neden olması muhtemeldir. Bu nedenle son zamanlarda kemik ile ilgili hastalıkların tedavisinde ESWT gibi invaziv olmayan girişimlerin değeri ve kullanımı gün geçtikçe artmaktadır (Zelle ve ark., 2010).

Şok dalgaları, yüksek basınçlı (500 bar-120 MPa), kısa süreli (10 ms), hızlı yükselen (<10 ns) ve geniş frekans aralığına sahip (16-20 MHz) yüksek seviyeli ses titreşimleridir. Doğal ya da yapay yollarla meydana gelmiş bu ses titreşimleri ya da ses dalgalarına günlük hayatımızda birçok yerde rastlamaktayız. Gök gürültüsü sesi, patlama sesi ya da alkışlama sesi doğal şok ses dalgalarına örnek olarak verilebilir. Yine bir gaz kabarcığının sıvı içerisinde patlaması da şok ses dalgasını oluşturabilir. Yapay olarak ise şok dalgaları elektrohidrolik, elektromagnetik ve piezoelektrik metotlar ile üretilir. Üretilen şok dalgaları sayesinde enerji uzak mesafelere kadar taşınabilmektedir (Shrivastava ve ark., 2005; Zelle ve ark., 2010).

## 2.4.2. Şok Dalgası Üretim Yöntemleri

Şok dalgalarının üretilmesinde ilk olarak elektrohidrolik prensipler kullanılmıştır. Bu prensipte enerji kaynağı olarak elektrotlar kullanılır. Bu elektrotlar yarım elipsoidin odak noktasında bulunur. Elektrotlara gelen yüksek voltaj kıvılcımın oluşmasına ve kıvılcım da elektrotlar arasındaki suyun buharlaşmasına ve gaz kabarcığının meydana gelmesine neden olur. Daha sonra kabarcığın patlaması ile bir şok dalgası meydana gelir. Küresel şekilli şok dalgaları yarım elips şeklinde bir metalden yansıtılır. Yansıtılan şok dalgaları ikinci odak noktasında yoğunlaştırılır (Şekil 11). Böylece tedavi için uygulanacak yoğunluktaki akımın ve basıncın oluşması sağlanır (Wilbert, 2002; Cheing ve ark., 2003; Shrivastava ve Kailash, 2005; Romeo ve ark., 2014). Ses dalgalarının basıncı önce ani olarak yükselir ve ardından yayılması sırasında negatif basınç değerlerine geriler (Şekil 10b). Bu yükselmenin seviyesi periferden dalganın önüne doğru maksimum basınç oluşturacak şekilde artış gösterir (Şekil 10a) (Rompe ve ark., 1996; Zelle ve ark., 2010). Literatüre bakıldığında elektrohidrolik şok dalga cihazlarının diğer sistemlere göre medikal alanda daha etkili olduğu görülmektedir (Zelle ve ark., 2010).

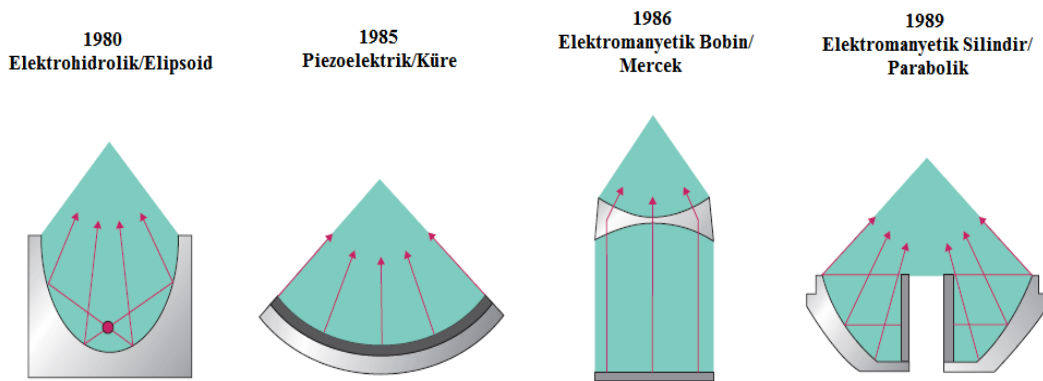


Şekil 10. a: Odaklı şok dalgalarının yayılma alanındaki basınç değerleri b: Şok dalgalarının zaman-basınç ilişkisi (Wilbert'den, 2002)

Elektromanyetik prensipte bir elektromanyetik bobin ve karşısında yer alan metal bir membran kullanılır. Bobinde üretilen yüksek akımın serbest kalmasıyla birlikte güçlü değişken bir manyetik alan meydana gelir. Bu manyetik alan membranda yüksek bir akımın oluşmasına neden olur. Elektromanyetik kuvvetler ile bobinden

uzaklaşan membran yavaş ve düşük basınçlı ses dalgalarının oluşmasını sağlar. Ses dalgalarının odaklanması için akustik mercekler kullanılır. Merceğe doğrusal bir şekilde ulaşan ses dalgaları merceği geçtikten sonra doğrusal olmayan şekilde yayılarak odak noktasında toplanır (Şekil 11). Elektromanyetik olarak üretilen bu ses dalgalarının yükselme zamanı birkaç yüz nano saniye aralığındadır. Elektromanyetik metotta kaynak olarak kullanılan diğer bir yapı ise silindirik-parabolik kaynaktır. Yüksek akım, silindir şeklindeki kaynaktan basınç dalgalarını oluşturur. Bu dalgalar hiperbolik şekilli metal reflektörden yansıtılarak odaklanır. Elektrohidrolik şok dalga cihazlarında üretilen şok dalgaları daha geniş bir odak hacmine sahipken elektromanyetik cihazlarda şok dalgaları yalnızca odak merkezinde gerçek değerlere ulaşır ve merkezin çevresindeki küçük bir bölgede etkili olur (Shrivastava ve Kailash, 2005).

Diğer bir şok dalga üretimi ise piezoelektrik metot ile olur. Birkaç yüz ile birkaç bin arasındaki piezoelektrik kristalleri küre biçimindeki bir yüzeye yerleştirilmiştir. Kristallere yüksek voltajda akım geldiğinde kristallerde hızlı bir şekilde daralma ve genişleme meydana gelir (Şekil 11). Böylece sıvı içerisinde düşük basınçlı akımlar meydana gelir. Sistem kürenin geometrik şeklinden dolayı kendi kendine odaklanabilir bir yapıya sahiptir (Shrivastava ve Kailash, 2005). Elektrohidrolik cihazlarda hem elektromanyetik hem de piezoelektrik cihazlara göre daha yüksek enerji seviyeleri üretilebilmektedir (Rompe ve ark., 1998).



**Şekil 11.** Klinikte kullanılan çeşitli şok dalga kaynaklarının şematik gösterimi (Shrivastava ve Kailash'dan, 2005)

### **2.4.3. Şok Dalgalarının Uygulanma Şekilleri**

#### **Odaklı şok dalga tedavisi**

Odaklı şok dalgaları elektrohidrolik, elektromanyetik ve piezoelektrik cihazlarda üretilebilmektedir. Bu cihazlarda enerji hedef dokudaki belirlenmiş bir noktada yoğunlaştırılır (Şekil 12). Odak hacmi, penetrasyon derinliği, enerji akış yoğunluğu düzeyi ve toplamda uygulanan enerji miktarı değiştirilebilir (Ogden ve ark., 2001b). Odaklı şok dalga tedavisi özellikle yüksek enerji seviyelerinde kullanılacağı zaman, tedavi uygulanacak bölgenin tam olarak belirlenmesi gerekir. Böylece en uygun tedavi edici etki meydana getirilebilir ve çevre doku hasarı önlenir. Bu nedenle radyografik veya ultrasonografik metotlar rehberliğinde uygulanması gerekir. Özellikle yumuşak dokularda olumlu sonuçlar vermektedir (Romeo ve ark., 2014). Odaklı şok dalgalarının hayvan modellerinde normal kemik, kırık kemik, osteotomi uygulanmış kemik ve kemik defekti üzerine yeni kemik yapımını uyarıcı etkisi gösterilmiştir (Gollwitzer ve ark., 2013).

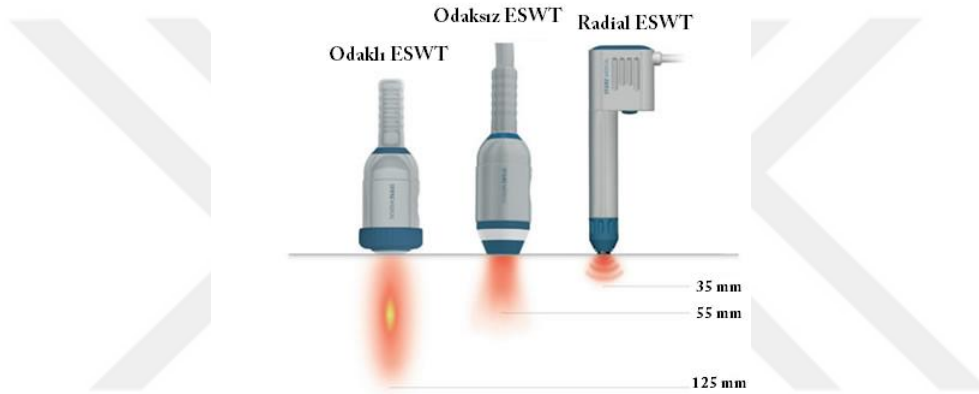
#### **Odaksız şok dalga tedavisi**

Bazı elektromanyetik ve elektrohidrolik cihazlar ses dalgalarını odaksız şekle dönüştürebilmektedir. Ses dalgalarının fiziksel karakteri aynıdır ancak enerji daha geniş yüzeylere ulaşabilmektedir. Penetrasyon derinliği daha azdır. Bundan dolayı genellikle deri lezyonları gibi yüzeysel lezyonların tedavisinde kullanılmaktadır (Mittermayr ve ark., 2012). Ancak odaksız ESWT'nin yaklaşık 3,8 cm çapında bir bölgede etkili olduğunu bu nedenle kemik kırıkları ve defektlerinin tedavisinde uygulanabileceğini vurgulayan araştırmacılar da bulunmaktadır (Şekil 12) (Van der Jagt ve ark., 2011).

#### **Radyal şok dalga tedavisi**

Radyal basınç dalgalarının üretilmesinde pnömatik jeneratörler kullanılır. Radyal jeneratörlerde sıkıştırılmış hava silindir içindeki kurşuna vurur. Bu silindirin en üst bölgesi aplikatördür. Sonuçta merminin sahip olduğu kinetik enerji aplikatörde radyal olarak genişleyen basınç dalgalarına dönüştürülür. Basınç dalgaları ile üretilen enerji, deri yüzeyinde en yüksek seviyesine ulaşır. Derin dokulara ulaştıkça enerji dalgalarında sapma ve zayıflama görülür (Romeo ve ark., 2014). Bu şok dalgalarının

fiziksel özellikleri odaklanmış şok dalgalarından oldukça farklıdır. Doğrusal bir basınç, düşük enerji değerleri, göreceli olarak daha düşük hızda yayılma gibi özellikleri ile odaklı şok dalgalarından ayrılmaktadır (Şekil 12) (Van der Worp ve ark., 2013). Tedavideki farkı bu şok dalgalarının odaklı cihazlara göre daha geniş alanlarda etkili olmasıdır. Ancak hem odaksız özellikte ve düşük enerjili olması hem de dokulara etki edebilme derinliğinin az olması özellikle kemik defektlerinde kullanımını kısıtlamaktadır (Şekil 12) (Gollwitzer ve ark., 2013). Notarnicola ve ark. (2012) radyal özellikli şok dalgalarının gecikmiş kırık iyileşmesi ve psödoartrozis gibi kemik patolojilerinde elverişli ve faydalı olmadığını belirtmişlerdir.



Şekil 12. Farklı türdeki şok dalgalarının doku içindeki yayılma şekilleri

#### 2.4.4. Şok Dalgalarının Biyolojik Etkileri ve Temel Tedavi Uygulamaları

ESWT etkili, güvenli, invaziv olmayan ve birçok avantaja sahip modern bir tedavi metodudur. Gelecekte ESWT birçok hastalığın tedavisinde cerrahinin yerini alabilir. Günümüzde kliniklerde birçok hastalığın tedavisinde rutin olarak kullanılmasının yanısıra deneysel araştırmalarda da farklı hastalıkların tedavisindeki etkinliği araştırılmaktadır (Romeo ve ark., 2014).

ESWT'nin uygulanması sırasında aplikatör ucu ile uygulanacak bölge arasında ultrason jelinin kullanılması gerekmektedir (Rompe ve ark., 1995). Ancak bu şekilde doku içerisinde etkili olabilirler. Şok dalgaları hedef dokuda odak bölgesi ya da odak hacmi olarak isimlendirilen bölgede etkili olurlar. Bu odak bölgesi dokunun uyarılma yapısına, uygulama açısına ve basınç değerlerine bağlı olarak değişebilir. Şok dalgasının terapötik etkisi ile enerji arasındaki ilişki basınçtan ziyade ses sinyallerinin

özellikleri ile alakalıdır. Yüksek enerji seviyeleri hücre yapıları üzerinde geri dönüşümsüz hasarlara neden olabilirken düşük enerji seviyeleri duyarlı hücrelerde hücre membranını uyarabilmekte, sitoplazma organellerinde fonksiyonel değişikliklere neden olabilmekte ve hücre çekirdeğini stimüle edebilmektedir (Speed, 2004). Ses dalgalarının yoğunluğunun, süresinin, frekansının ve genliğinin dokular üzerinde meydana getirdiği değişikliğin mekanizması halen tam olarak anlaşılamamıştır (Romeo ve ark., 2014).

ESWT'nin insan dokularında meydana getirdiği fiziksel etkinin 4 fazdan oluştuğu ileri sürülmektedir (Cheing ve Chang, 2003).

**Direkt ve indirekt (mekaniksel) etki:** Farklı direnç bölgelerinde şok dalgalarındaki pozitif basıncın ve kısa yükselme zamanının neden olduğu etki direkt etkidir. Pozitif faz sonrasında negatif faz görülür ve bu fazda gerilim kuvvetleri oluşur (Şekil 10b). Gerilim kuvvetleri neticesinde sıvı içindeki hava kabarcıklarının etkisiyle kavitasyon meydana gelmesi sonucunda indirekt şok dalga etkisi meydana gelir. Kavitasyon sıvı ya da doku içindeki kabarcığın, hareket etmesi sonucunda doku hasarı meydana getirmesine denir. Şok dalgaları kavitasyon kabarcıklarına vurduğu zaman veya kabarcıklar içindeki gazın ısınmasıyla kabarcıklar patlar ve jet akım denilen sıvı akışları meydana gelir. Bu akımların hızları 400-700 m/s'ye ulaşabilmektedir. Böylece oluşturdukları yüksek hızlı sıvı akımları sayesinde lokal makaslama kuvvetlerini uyarırlar (Delacretaz ve ark., 1995; Delius ve ark., 1998; Cheing ve Chang, 2003; Shrivastava ve Kailash, 2005; Romeo ve ark., 2014). Patlayan kabarcıklar dokuda lokal hemorajiler meydana getirir. Hücresel düzeyde, meydana gelen kavitasyon sonucunda serbest radikaller oluşur ve bu da hücresel antioksidatif savunmayı harekete geçirir (Cheing ve Chang, 2003). Ekstrasellüler kavitasyon nedeniyle moleküllerin iyonize olması, membran geçirgenliğinin artmasına neden olur (Romeo ve ark., 2014). Şok dalgalarının mekaniksel etkisi, dokulardaki yansıma, kırılma ve absorpsiyon durumlarından etkilenebilir (Ogden ve ark., 2001b; Cheing ve Chang, 2003).

**Fiziko-kimyasal faz:** Serbest radikallerin biyomoleküller ile etkileşime girdiği aşamadır (Cheing ve Chang, 2003).

**Kimyasal faz:** ESWT, mekaniksel duyarlılığı bulunan hücreler üzerindeki etkisini ise ekstrasellüler matriksi ve hücre çekirdeğini uyararak gerçekleştirir. Bu fazda

hücre içi reaksiyonlar ve moleküler değişiklikler izlenir (Cheing ve Chang, 2003; Romeo ve ark., 2014).

**Terapötik etki:** ESWT'nin mekanik etkilerinin yanında biyolojik etkileri de son yıllarda araştırma konusu olmuştur. Birçok araştırmada ESWT'nin biyolojik etkisi moleküler düzeyde incelenmiştir (Ogden ve ark., 2001b; Wang ve ark., 2001a; 2002a; 2003a; 2004a; Chen ve ark., 2003; 2004a; 2004b). Bu çalışmalarda ESWT'nin biyolojik etkisinin membran hiperpolarizasyonu ve serbest radikal oluşturması olmak üzere iki farklı mekanizma ile meydana geldiği ifade edilmiştir. Çalışmalarda ESWT'nin hücre membranı hiperpolarizasyonunu uyararak Ras aktivasyonunun ve TGF- $\beta$ 1, VEGF-A ve mitogen-activated protein kinaz gibi stimüle edici faktörlerin arttığı belirtilmiştir (Wang ve ark., 2001b; 2004c; Wang ve ark., 2002a; Chen ve ark., 2004a; Gollwitzer ve ark., 2013). Hücre membranındaki mekanik streslere yanıt veren G-proteinleri, şok dalgalarındaki kinetik enerjinin Ras aktivasyonuna dönüşümünde kilit bir role sahiptir (Wang ve ark., 2004c; Gollwitzer ve ark., 2013). Ras, hücrelerin sinyal transdüksiyonu, proliferasyonu, farklılaşması, adhezyonu, apoptozisi ve migrasyonu gibi süreçlerinde rol alır. Oksijen radikallerinin açığa çıkması ise kinazların oluşum mekanizmasını ve VEGF, TGF- $\beta$ 1, BMP-1, BMP-2 ve BMP-7 gibi bazı büyüme faktörlerinin indüklenmesini sağlar. Böylece tüm bu etkilerden sonra mezenşimal hücrelerin proliferasyonunun ve osteoblastlara farklılaşmasının uyarılması sağlanır (Zelle ve ark., 2010; Hausdorf ve ark., 2011; Gollwitzer ve ark., 2013). ESWT ayrıca fibroblastları, osteoblastları ve kemik morfogenetik proteinlerin salınımını stimüle ettiği bilinmektedir. Bununla birlikte yeni damarlanmayı stimüle ederek rejyonel mikrosirkülasyonun artmasına neden olur (Escudier ve ark., 2003; Craig ve ark., 2014a). Ekstrakorporal şok dalgalarının ayrıca otoimmün yanıtı, inflamatuvar ve sitokin (COX<sup>2</sup>, IL-1B, IL-6) aktivitesini ve endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) etkinliğini azalttığı bildirilmiştir (Craig ve ark., 2014a).

ESWT uygulaması ilk önceleri yalnızca dokulardaki sert maddelerin (litotripsi) kırılması amacıyla kullanılırken daha sonraki dönemlerde ortopedi ve travmatoloji alanlarında da kullanılmaya başlanmıştır (Wilbert, 2002; Shrivastava ve Kailash, 2005). Ancak litotripside kullanılan cihazın ortopedik endikasyonlar için yeterli olmaması, şok dalgası cihazlarının için yeniden dizayn edilmesine neden olmuştur. Nadiren

komplasyonlara neden olması, invaziv olmayan bir tedavi seçeneği olması, endikasyon genişliği, düşük maaliyetli olması ESWT'nin bu alanlarda kullanımını gün geçtikçe artırmıştır. ESWT'nin bazı kas-iskelet sistemi hastalıkları veya bozuklukları üzerine olan etkisi hem klinik hem de deneysel birçok araştırmaya konu olmuştur (Zelle ve ark., 2010).

Kas-iskelet sistemi hastalıklarında ESWT'nin kullanımı ilk olarak 1991 yılında Valchanou ve Michailov tarafından önerilmiştir. ESWT çoğu kas-iskelet sistemi hastalıkları vakalarında ağrıyı azaltmak amacıyla uygulanmıştır (Cheing ve Chang, 2003). Bunun haricinde osteokonditis dissekans, plantar fasiit, patellar tendinit, aşıl tendiniti, kalsifik tendinit, lateral epikondilit, femur başının avasküler nekrozu, kalkaneal spur, supraspinatus tendinopatisi, patellar desmitis ve navikular kemik hastalıkları gibi bazı ortopedik hastalıklarda ve birleşmemiş ya da geç birleşme görülmüş kırık vakalarında ESWT'nin etkisi araştırılmaya devam etmektedir (Ko ve ark., 2001; Ludwig ve ark., 2001; Ogden ve ark., 2001a; Rompe ve ark., 2001; Biedermann ve ark., 2003; Gerdesmeyer ve ark., 2003; 2008 Shrivastava ve Kailash, 2005; Wang ve ark., 2005; Mittermayr ve ark., 2012). Diğer birçok çalışmada şok dalgaları ile stimüle olan hücreler arasındaki mekanosensitif mekanizmanın anlaşılmasına odaklanılmıştır. Sonuçlar ESWT'nin anjiogenik etkisinden dolayı deri ülserleri, kronik yaralar, osteonekrozis ve miyokard iskemisi gibi hem anjiogenezisin hem de metabolik stimülasyonun gerekli olduğu patolojik durumlarda ve rejeneratif terapide potansiyel bir etkiye sahip olduğunu kanıtlar niteliktedir. Ayrıca nörolojik lezyonlarda, parodontopatilerde ve kas spazmlarında kullanılabilirliği araştırılmaktadır (Romeo ve ark., 2014). ESWT'nin Tip 1 DM hastalarında uygulanabilir potansiyel bir hemostatik otoimmün restoratif tedavi olup olmadığı son yıllarda araştırılmış bir hipotezdir. Araştırmacılar ESWT'nin pankreastaki  $\beta$  hücrelerinin proliferasyonunu ve sağ kalımını artırabileceğini ve insülin sekresyonunu normal hale getirebileceğini bildirmektedirler (Craig ve ark., 2014a). ESWT'nin diyabetik yara iyileşmesine olan etkisinin immünohistokimyasal ve sistemik olarak değerlendirildiği bir çalışmada proteom analizi sonucunda ESWT'nin D vitamini bağlayıcı protein seviyesinde önemli derecede azalma ve haptoglobulin seviyesinde önemli derecede artma meydana getirdiği böylelikle diyabetik kişilerde yumuşak doku yara iyileşmesinin artırılabilirliği bildirilmiştir (Yang ve ark., 2011).



ESWT birçok hastalıkta dünya çapında kabul gören bir tedavi metodu haline gelmiştir. Ancak tüm bunlara rağmen şok dalgalarının neden olduğu pozitif etkilerin biyomoleküler mekanizması, hastalıklarda uygulanacak en uygun dozu ve atım sayısı halen tam olarak anlaşılamamış ve açıklanamamıştır (Mittermayr ve ark., 2012). Ancak çalışmalar birden dokuzuncu haftaya kadar aralıklı ESWT uygulamasının tek bir kez uygulanmasına göre daha yararlı etkiler meydana getirdiğini göstermiştir. Bunun yanında kısa zaman aralıklı ya da daha fazla sayıda ESWT uygulamasının yararlı etkileri artırabileceği bildirilmiştir (Barnes ve ark., 2015).

Tüm bu endikasyonlarının yanında ESWT uygulamasının birtakım kontraendikasyonları bulunmaktadır:

- Hemofili hastalarında mikrovasküler kanamaya neden olabilir.
- Klavikula veya 1.kosta bölgesine uygulanmasıyla akciğer hasarı meydana gelebilir.
- Büyüme bölgeleri: ESWT kemik iyileşmesini indüklemek amacıyla büyüme merkezlerine yakın konumda uygulandığında büyüme plakalarında deformasyonlara neden olduğu bildirilmiştir (Hausdorf ve ark., 2011).
- Malignensi bölgeleri (Cheing ve Chang, 2003).

#### **2.4.5. Şok Dalgalarının Kemik Dokusu Üzerine Etkisi ve Kullanımı**

Mekaniksel uyarıların kırık iyileşmesi ve kemik rejenerasyonu üzerine negatif ve pozitif etkileri birçok çalışmada gösterilmiştir. Mekaniksel titreşimler, ultrason ve elektromanyetik alan akımları gibi biyofiziksel stimülasyon yöntemleri kemik yapımını uyarması açısından tavsiye edilse de bu yöntemlerin kemik yapımı ve şekillenmesi üzerine az bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Van der Jagt ve ark., 2011). Ancak devamlı ve titreşim karakterli şok dalgalarının kemik rejenerasyonu üzerinde olumlu etkiler yaptığı gösterilmiştir (Wang ve ark., 2001a; 2004a; 2008a; Zelle ve ark., 2010; Gollwitzer ve ark., 2013). Buna rağmen ESWT'nin kemik rejenerasyonu üzerine pozitif etkisinin olmadığına dair rapor sunan araştırmacılar da mevcuttur (Zelle ve ark., 2010). Forriol ve ark. (1994) koyun kemiklerindeki birleşmeyen kırıklarda ESWT uygulamasını takiben 3 hafta sonra radyolojik ve histolojik değerlendirme yapmışlar ve iyileşme oranında bir değişiklik olmadığını bildirmişlerdir. Buna karşılık Delius ve ark.

(1995) ise 3 ay olarak belirledikleri takip süresini sonunda ESWT uygulamasının birleşmeyen kırıklar üzerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir.

ESWT'nin kemik dokusu üzerindeki biyolojik etkisinin mekanizması tam olarak belirlenememiştir. Ancak ana teori ESWT'nin angiogenezise ve meydana getirdiği mikro travmalar (periostal ayrılma, kortikal ve trabeküler mikro kırıklar) yoluyla osteogenezise neden olduğudur (Birnbau ve ark., 2002; Gollwitzer ve ark., 2013). Bununla birlikte kemik hücreleri ve sağlam kemik dokusu üzerindeki etkisinin araştırıldığı deneysel çalışmalarda osteoblast benzeri hücrelerin (MG63) indüklendiği, kemik oluşumunda artış, kırık modellerinde kallus miktarında ve mekaniksel dirençte artma, daha hızlı iyileşme, daha fazla kortikal kemik formasyonu, daha fazla sayıda yeni damar, anjiogenik ve osteojenik büyüme faktörlerinde artış meydana geldiği gösterilmiştir (Biedermann ve ark., 2003; Martini ve ark., 2006; Zelle ve ark., 2010). Ayrıca inflamasyonu ve ödemi azalttığı, kısa süreli analjezi sağladığı rapor edilmiştir (Venkatesh Prabhuji ve ark., 2014; Barnes ve ark., 2015). Ancak osteogenezisin indüklenmesi için trabeküler ve kortikal mikro travmaların ya da periostal ayrılmanın meydana gelmesi gerekliliği tartışmalıdır. Mikro travmaların kansellöz kemikte bir stimülasyona yol açarken periostal ya da endosteal kemik oluşumunda herhangi bir etkisinin olmadığı vurgulanmaktadır (Gollwitzer ve ark., 2013).

ESWT'nin kemik patolojileri için yapılacak uygulama sıklığı, toplam tedavi sayısı ve gerekli olan minimum enerji miktarı gibi konularda henüz bir fikirbirliği bulunmamaktadır. Kemik patolojilerinde ESWT'nin 3-6 kez uygulanması ve uygulamalar arasında 4-8 hafta aralık bırakılması gerektiği vurgulanmaktadır. Ancak bazı çalışmalarda en fazla yeni kemik oluşumunun şok dalgalarının ilk kez uygulanmasından 4 hafta sonra gözleendiği, 6. haftadan sonra seviyeli olarak azaldığı bildirilmiştir. 5-6 hafta aralıklar ile tekrar uygulanan şok dalgalarının yeni kemik oluşumunda önemli derecede azalmaya neden olduğu da gösterilmiştir (Gollwitzer ve ark., 2013).

Kemik hücrelerinin gelişmesini etkileyebilen minimum eşik değerindeki şok dalgalarını tespit edebilmek amacıyla yapılan invitro bir çalışmada ESWT'nin doza bağımlı etkisi araştırılmıştır. Araştırmacılar kemik hücre stimülasyonunun enerji akış yoğunluğu (belli bir bölgeden geçen enerji miktarı) ya da uygulanan tedavi sayısından

ziyade toplamda uygulanan enerji miktarından etkilendiğini öne sürmüşlerdir. Aşırı yüksek enerji akış yoğunluğunda hücre hasarı meydana geldiğini bildirmişlerdir. Ayrıca ESWT'nin akut kemik kırıkları ve kemik defektlerinde kemik direnci ve kütlesinin doza bağlı sonuçlarını gösteren çalışmalar da vardır. Yüksek enerji seviyelerinin osteojenik etkiyi baskıladığı gösterilmiştir. Yüksek enerji seviyelerinin yumuşak doku ödemi, kortikal kırıklar, periostal ayrılma, kemik içi kanama ve pulmonar emboliye neden olabilecek kemik parçalarının ayrılması gibi komplikasyonlara neden olabileceği rapor edilmiştir (Zelle ve ark., 2010). Kemik defektleri üzerine yapılan ayrı bir çalışmada düşük enerji seviyelerinde osteostimülatif etki meydana geldiği bildirilmiştir (Gollwitzer ve ark., 2013). Bir çalışmada ESWT etkisinin uygulanmak istenen bölgenin uzaklığına göre değiştiğini ve bunun da doza bağımlı etkiyi doğruladığını, bu nedenle şok dalgalarının kemik bölgesine farklı bölgelerden uygulanması gerektiği bildirilmiştir. Tüm bu bulgular ESWT'nin kemik kütlesi ve kemik direnci üzerinde doza bağımlı bir etkisinin olduğunu göstermektedir (Maier ve ark., 2002; Chen ve ark., 2003; Wang ve ark., 2004a; Zelle ve ark., 2010).

Deneyisel çalışmalarda ESWT'nin büyüme faktörleri ve kemik morfogenetik proteinlerin üretilmesini uyararak kemik dokusunun iyileşmesi yönündeki biyolojik etkisi gösterilmiştir. ESWT uygulamasının osteoblastik farklılaşmayı ve gelişmeyi etkileyen genleri stimüle ettiği düşünülmektedir. Bunun bir örneği ESWT uygulaması sonrası TGF- $\beta$ 1 aracılığı ile mezenşimal kök hücrelerden osteoblastik öncü hücrelere farklılaşmanın gerçekleşmesinde görülebilmektedir (Wang ve ark., 2002b; Hofmann ve ark., 2008). Ayrıca ESWT sinyallerinin ulaştığı kemik hücrelerinde siklin E2/CDK2 protein kompleksi etkinliğini ve sinyal proteinlerini, transkripsiyonel faktörleri (CBFs) ve p38 kinaz aktivitesini etkilediği düşünülmektedir (Chen ve ark., 2004a; Wang ve ark., 2004b; Romeo ve ark., 2014). Şok dalga stimülasyonu ile osteoblast benzeri hücrelerin proliferasyonunun, osteokalsin, tip 1 kollogen ve BMP-2, BMP-4, BMP-7 gibi proteinlerin salınmasının uyarıldığı gözlenmiştir (Romeo ve ark., 2014).

Araştırmalarda şok dalga stimülasyonu ile nitrik oksit (NO) üretimi arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur. NO kemik metabolizmasında gözlenen, şok dalgaların neden olduğu, ekstrasellüler matriks sentezini artıran biyolojik reaksiyonlardaki ana mediyatördür (Evans ve ark., 1996). Zaten mekaniksel etkilerin laküno-kanalikular

sistem etkinleşmesinin bir sonucu olarak osteositlerde prostoglandin E-2 (PGE-2), prostoglandin I-2 (PGI-2) ve NO üretimini artırdığı bilinmektedir (Bacabac ve ark., 2004). Klinik araştırmalar da bunu doğrular niteliktedir. Kaynaşmamış uzun kemik kırıkları üzerine yapılan bir çalışmada ESWT tedavisinden 1 ay sonra, NO, TGF-β1, VEGF ve BMP-2 sistemik konsantrasyonunun önemli derecede arttığı bildirilmiştir (Wang ve ark., 2009).

ESWT'nin periostal hücreler üzerine etkisinin sağlıklı tavşan tibialarında incelendiği bir çalışmada, periostta bulunun osteoprogenitör hücrelerin proliferasyonu ve böylelikle periostal hacmin arttığı bildirilmiştir. Ayrıca indüklenmiş periostun sıgır kemik greftlerinin üzerine örtülmesi ile periost altında yeni kemik yapımının arttığı ve kallus miktarında artış meydana geldiği gösterilmiştir (Kearney ve ark., 2012).

Köpekler üzerinde yapılan bir in vivo çalışmanın sonuçları erken dönemde greftleme ile kombine uygulanan ESWT uygulamasının osteotomi boşluğunun dansitometrisinde daha fazla yoğunlaşmaya neden olduğunu göstermiştir. Başka bir çalışmada ESWT'nin kemik iyileşmesinde kallus miktarına olan etkisi incelenmiş ve 12 haftanın sonuna kadar ESWT uygulanmamış grupla kıyaslandığında anlamlı bir farkın olmadığı ortaya çıkmıştır (Barnes ve ark., 2015).

Gecikmiş iyileşme gösteren ya da iyileşmeyen kemik kırık vakalarında ESWT'nin olumlu etkisinin ispatlanmış olmasına rağmen cerrahi halen ilk düşünülen yöntemdir (Elster ve ark., 2010; Stojadinovic ve ark., 2011). Retrospektif çalışmalarda tibianın kaynaşmamış kırıklarının ESWT tedavisi (elektrohidrolik esaslı cihaz ile 4000 atım, 0,40 mJ/mm<sup>2</sup>) sonrası ilk 6 ay içerisinde %80 vakada iyileşme sağlandığı bildirilmiştir (Elster ve ark., 2010). Çalışmalar kaynaşmamış kemik kırıklarının iyileşmesinin, kırık bölgesine, kırık tipine, önceki yapılan tedavilere, travma ile şok dalgası tedavisi arasında geçen zamana, yeterli stabilizasyon ve immobilizasyona, kırık boşluğunun boyutuna bağlı olduğunu göstermiştir (Romeo ve ark., 2014).

Bir çalışmada tek doz 500 atımda, 4 bar basınçta ve 0,38 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğundaki şok dalgalarının mandibular subkondiler kırıklarının rejenerasyonu üzerine yararlı etkileri gösterilmiştir (Altuntas ve ark., 2012). Ayrıca odaksız tek doz ESWT uygulamasının (1000 atım, 3 Hz, 0,30 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğu) hem

kortikal hem de kansellöz kemikte anabolik etkilere yol açtığı böylelikle kemiğin biyomekaniksel özelliklerinde artış meydana geldiği bildirilmiştir (Van der Jagt ve ark., 2011). ESWT akut meydana gelen kırıklarda da uygulandığında başarılı sonuçlar vermektedir (Moretti ve ark., 2009).

ESWT'nin nekrotik alanların genişlemesini azaltarak ve daha fazla kemik kaybını önleyerek erken dönem femur başı osteonekrozunda etkili olduğu gösterilmiştir (Romeo ve ark., 2014). ESWT'nin femur başı osteonekrozu üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada ESWT'nin etkinliği dekompresyon+greftleme tedavisi ile karşılaştırılmalı olarak incelenmiş, erken dönem femur başı osteonekrozunda daha etkili bulunmuştur (Wang ve ark., 2008b).

İn vivo çalışmalarda ise ESWT'nin kemik yapısında etkili olduğunu ve dolayısıyla osteopeni veya osteoporoz gibi değişmiş metabolizma durumlarında kullanılmasının uygun olduğu vurgulanmıştır. Ayrıca son klinik raporlar ESWT'nin Kienböck hastalığında da etkisini göstermiştir (Romeo ve ark., 2014).

ESWT'nin kalça kemiğinin kemik iliği ödemi sendromunda görülen birçok semptomun giderilmesinde başarılı bir şekilde kullanıldığını, ağrıyı hızlı bir şekilde azalttığı, fonksiyonu artırdığı, vasküler ve metabolik iyileşmeye yardımcı olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (d'Agostino ve ark., 2014).

#### **2.4.6. Şok Dalgalarının Oral Bölge Kullanımları**

Periodontal hastalıklarda kemik rezorpsiyonu genellikle görülen bir durumdur. Son çalışmalar şok dalgalarının, alveol kemiği kaybı görülen gingivisteki rejenerasyonu artırdığını göstermektedir (Romeo ve ark., 2014). Odaksız tek doz şok dalga tedavisinden 1-2 hafta sonra sağlıklı kemik dokusu hacminde aşamalı olarak iyileşme gözleendiği, anti-inflamatuar etkinin 6 hafta sürdüğü rapor edilmiştir. Ayrıca şok dalgaları biyofilmin ve diş taşlarının uzaklaştırılması için kullanılmış ancak ultrasonik aletler kadar etkili bulunmamıştır (Hofmann ve ark., 2008; Venkatesh Prabhuji ve ark., 2014).

Oral bakterilerden belli türlerin şok dalgalarından etkinlendiği ancak bu etkinin kullanılan enerji seviyesi ve patojen türlerine göre farklılık gösterdiği bildirilmiştir.

Farklı enerji seviyeleri gram pozitif, gram negatif bakteri ve ciddi enfeksiyon oluşturabilecek Streptococcus mutans ve Porphyromonas gingivalis gibi bazı patojenlerin birikmesini engelleyebilmektedir (Romeo ve ark., 2014). 6 bakteri türünün monokültür süspansiyonlarında yapılan bir çalışmada 100 atım ve 0,3 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğundan daha düşük seviyelerdeki şok dalgalarının Streptococcus mutans ve kapsülsüz Porphyromonas gingivalis üzerinde bakterisit etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Düşük enerji akış yoğunluklarının (0,12 ve 0,22 mJ/mm<sup>2</sup>) bakteriyel birikmeyi daha fazla oranda etkilediği görülmüştür. İncelenen diğer oral bakterilerde herhangi bir azalma meydana gelmemiştir (Novak ve ark., 2008). P.gingivalis ile enfekte edilerek deneysel periodontitis oluşturulan ratlarda 0,1 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluklu 100, 300 ve 1000 atımdaki şok dalga tedavisinin etkinliği değerlendirilmiştir. 3. hafta sonunda özellikle 300 ve 1000 atım şok dalga tedavisi sonucunda anlamlı derecede alveolar kemik seviyesinde artış meydana geldiği bildirilmiştir (Sathishkumar ve ark., 2008).

ESWT'nin ortodontik diş hareketi ve periodontal dokular üzerine olan etkisi klinik bir çalışmada incelenmiştir. ESWT'nin tek doz 1000 atım olarak uygulandığı tedavi grubu ile kontrol grubu arasında plak indeksi ve dişlerin bukko-lingual tipping oranları açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır. Sonuç olarak tek doz ESWT uygulamasının diş hareketi ve periodontal dokular üzerinde etkili olmadığı in vivo çalışmada gösterilmiştir (Falkensammer ve ark., 2014a).

Rat mandibulalarında distraksiyon osteogenezisi sonrası ESWT uygulaması (500 atım, 21 kV, cerrahiden 2 hafta sonra) yapılan bir deneysel çalışmada, konsolidasyon süresinin kısaldığı, kemik mineral yoğunluğunun daha fazla olduğu ve biyomekaniksel özelliklerin arttığı bildirilmiştir (Lai ve ark., 2010).

7 mm çapının altındaki boyutlarda tükrük bezi taşlarının şok dalgaları ile başarılı bir şekilde tedavi edilebildiği gösterilmiştir (Escudier ve ark., 2003).

ESWT'nin kemik rejenerasyonuna olan etkisi ve antibakteriyel özelliğinden dolayı peri-implantitiste cerrahi olmayan bir yöntem olarak tavsiye edilmiştir. Bildirilen sonuçlara göre ESWT'nin re-osteointegrasyon ve implant başarısında artış sağladığı görülmüştür (Venkatesh Prabhuji ve ark., 2014).

ESWT'nin ortodontik mini vida stabilitesine olan etkisini inceleyen randomize kontrollü bir klinik çalışma yapılmıştır. Tedavi grubunda mini vida bölgesine 1000 atım 0,19 ve 0,23 mJ/mm<sup>2</sup> enerji uygulanmıştır. Çalışmanın sonucunda tek doz şok dalga uygulamasının mini vida stabilitesine herhangi bir katkı sağlamadığı görülmüştür (Falkensammer ve ark., 2014b).

Patolojik durumlar, travma ve cerrahi işlemlere bağlı olarak kemik defektleri meydana gelebilmektedir. Özellikle defektin kendi kendine iyileşmesinin mümkün olmadığı büyük boyutlu kemik kayıplarda kemik greftleri gibi rejenerasyonu destekleyecek materyallerin kullanılması gerekmektedir. Günümüzde görülme sıklığı hızla artan Diabetes Mellitus gibi doku iyileşme kapasitesinin azaldığı durumlarda bu kemik defektlerinin rejenerasyonu daha da zor olmaktadır. Bu nedenle bu tür hastalıklara sahip kişilerde doku rejenerasyon kapasitesinin artırılması ve dokunun sorunsuz ve hızlı bir şekilde iyileşmesinin sağlanması gerekmektedir. Çalışmamızın amacı kemik metabolizmasında değişimlere yol açtığı ifade edilen şok dalgalarının hem sağlıklı hem de diyabetik bireylerdeki kemik defektlerinin rejenerasyonuna olan etkilerini incelemektir.

### **3. MATERYAL VE METOT**

Bu deneysel çalışma için Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'ndan 30/12/2011 tarihli ve 2011/64 sayılı etik kurul onayı alınmış ve tüm deney boyunca Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu Yönergesinde belirtilen çalışma ilkelerine riayet edilmiştir.

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Proje Yönetim Ofisi tarafından desteklenen PYO.DIS.1904.12.006 no'lu bu çalışmanın deney kısmı Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nde, histolojik incelemesi Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı ve radyolojik incelemesi Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

#### **3.1. Deney Hayvanları**

Bu çalışmada Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden temin edilen ağırlığı 270-300 gr arasında değişen, 12 haftalık toplam 120 adet erkek erişkin Wistar cinsi albino ratı kullanıldı. Ratlar çalışma boyunca 12 saat gece/gündüz esasına uyularak sıcaklığı  $22\pm 2$  °C ve bağıl nem oranı %40-60 olan odalarda serbest yem ve içme suyunun sağlandığı uygun kafeslerde barındırıldı. Ratlar kafeslere ikişer ve üçerli olmak üzere yerleştirildi. Kafesler hergün temizlenerek hayvan altlarına talaş koyuldu. Denekler tüm çalışma boyunca hergün veteriner hekim tarafından kontrol edildi.

#### **3.2. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması**

Çalışmamızda istatistiksel olarak yapılan güç analizi sonucunda her bir gruba 5 adet rat dahil olacak şekilde gruplandırma yapıldı. Böylelikle çalışmaya dahil edilen toplam 120 adet rat diyabetik olan ( $D^+$ ) ve diyabetik olmayan ( $D^-$ ) olmak üzere 2 ana gruba ( $n=60$ ) ayrıldı. 60 adet rat her grupta 20 adet olacak şekilde herhangi bir biyomateryalin uygulanmadığı boş defekt grubu (DF), defekt içerisine seramik esaslı greft materyalinin uygulandığı Alloplast (AP) grubu, defekt içerisine insan kaynaklı greft materyalinin uygulandığı Allogreft (AL) grubu olmak üzere 3 alt gruba ayrıldı. Bu gruplar da kendi aralarında ESWT uygulanan ( $E^+$ ) ve ESWT uygulanmayan ( $E^-$ )



olmak üzere 2 alt gruba ayrıldı. Bu gruplardaki hayvanların yarısı cerrahi işlemden sonraki 4. hafta (n=5) diğer yarısı 8. hafta (n=5) sonunda sakrifiye edildi (Tablo 6).

**Tablo 6.** Deney hayvanlarının gruplandırılması

GRUP	DİYABETİK OLMAYAN GRUPLAR (D <sup>-</sup> ) (n=60)				DİYABETİK GRUPLAR (D <sup>+</sup> ) (n=60)			
	ESWT- (E <sup>-</sup> )		ESWT+ (E <sup>+</sup> )		ESWT- (E <sup>-</sup> )		ESWT+ (E <sup>+</sup> )	
	4 Hafta	8 Hafta	4 Hafta	8 Hafta	4 Hafta	8 Hafta	4 Hafta	8 Hafta
<b>TAKİP SÜRESİ</b>	4 Hafta	8 Hafta	4 Hafta	8 Hafta	4 Hafta	8 Hafta	4 Hafta	8 Hafta
<b>BOŞ DEFEKT (DF) (n=20)</b>	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5
<b>ALLOPLAST (AP) (n=20)</b>	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5
<b>ALLOGREFT (AL) (n=20)</b>	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5

### 3.3. Biyomateryaller

Çalışmamızda biri seramik esaslı alloplastik bir kemik grefti olan Bone Ceramic, diğeri insan kaynaklı kortiko-kansellöz kemik grefti olan Mineross olmak üzere 2 farklı greft materyali kullanılmıştır.

#### 3.3.1. Bone Ceramic

Bone Ceramic (Straumann, İsviçre) bifazik kalsiyum fosfat (BCP) yapısında olup %60 oranında hidroksiapatitten ve %40 oranında betatrikalsiyum fosfattan oluşmaktadır. Çalışmamızda 0,25 g ve granül boyutu 400-700 µm olan formu kullanılmıştır (Şekil 13).

#### 3.3.2. Mineross

İnsan kaynaklı greftlerden olan Mineross (Biohorizons, ABD) kortikal ve kansellöz kemik parçalarının karışımından meydana gelir. Partikül boyutları 600-1250

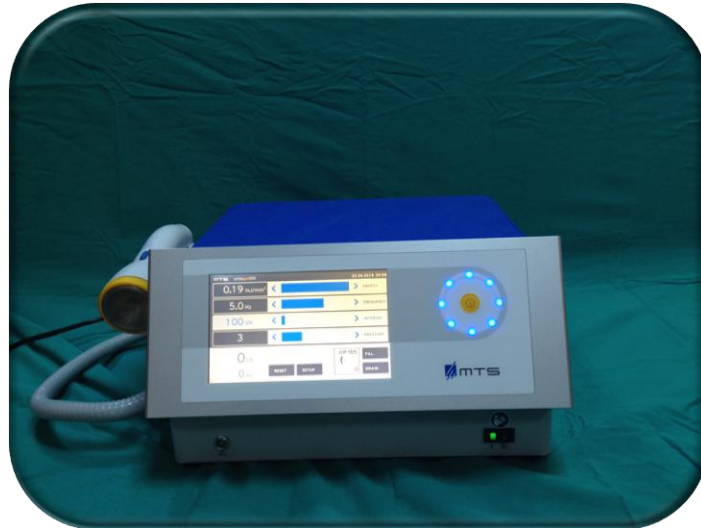
mikron arasında değişmektedir. Çalışmamızda 0,5 cc paketler halinde sunulan formu tercih edilmiştir (şekil 13).



şekil 13. Kullanılan kemik greft materyalleri

### 3.4. ESWT Cihazı

Çalışmamızda şok dalgalarının elektrohidrolik olarak üretilmesini ve yönlendirmesini sağlayan Orthogold 100 (MTS Medikal, Konstanz, Almanya) ve odaksız aplikatör (OP 155) kullanılmıştır (şekil 14).



şekil 14: Kullanılan ESWT cihazı

Orthogold cihazı hem kolay uygulanabilir hem de rahatlıkla taşınabilir özelliktedir. Ortopedik rahatsızlıkların tedavisi için dizayn edilen Orthogold 100 çok farklı endikasyonlarda kullanım alanına sahiptir. Bu amaçla cihaz ile uyumlu hale

getirilen üç farklı aplikatör dizayn edilmiştir. OE50 odaklı aplikatör tendinit, psödoartrozis ve kalkenal spur gibi standart ortopedik endikasyonlarda kullanılırken, OE35 aplikatörü daha derin dokularda kullanım alanına sahiptir. En son üretilen OP155 odaksız aplikatör ise doku rejenerasyonu amacıyla kullanılmaktadır. Aplikatörlerin özellikleri tabloda gösterilmektedir (Tablo 7).

**Tablo 7.** Orthogold100 ile uyumlu farklı aplikatörlerin özellikleri

	<b>Enerji Akış Yoğunluğu</b>	<b>Tedavi Edici Bölge Alanı</b>	<b>Odak Enerjisi</b>
OE35 Aplikatörü	0,01 – 0,16 mJ/mm <sup>2</sup>	Derinlik: 0-79 mm Genişlik: 9,8mm	0,34 – 4,22 mJ
OE50 Aplikatörü	0,03 – 0,27 mJ/mm <sup>2</sup>	Derinlik: 0-62 mm Genişlik: 8 mm	0,3 – 6,15 mJ
OP155 Aplikatörü	0,01 – 0,19 mJ/mm <sup>2</sup>	Derinlik: 0-82 mm Genişlik: 18 mm	0,40 – 3,88 mJ

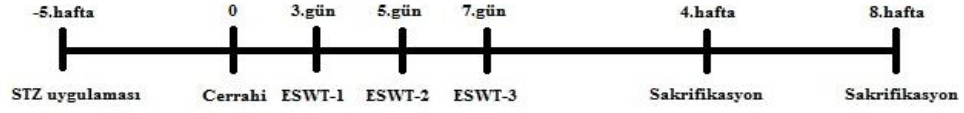
### 3.5. Streptozotosin (STZ)

Pankreasta DNA üzerine etki ederek  $\beta$  hücrelerinde nekroza neden olarak ve hücrelerdeki glikoreseptörlere bağlanarak insülin salınımını engelleyen STZ, çalışmamızda 50 mg/kg dozunda sitrat tamponu içinde çözündürülmüş olarak i.p uygulanmıştır (Şekil 15).



**Şekil 15.** Deneysel diyabet oluşturmak için kullanılan kimyasal ajan

Deneyel çalışmamızda gerçekleştirilen uygulamaların zamanlaması şekildeki gibidir (Şekil 16):



Şekil 16. Deneyin planlaması

### 3.6. Deneysel Diyabetik Modelin Oluşturulması

Toplam 60 adet diyabetik model oluşturulacak ratın ağırlıkları tek tek tartılmış ve kaydedilmiştir. 8,37 gr sodyum sitrat 250 ml saf su ve HCl içerisinde çözdürülerek pH'sı 4,5 olan 0,1 M çözelti elde edilmiştir (Şekil 17). Her bir hayvana 50 mg/kg dozunda uygulanacak şekilde toplam miktardaki STZ (Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo.), bu sitrat tamponu içinde çözdürülmüştür. Ratların ağırlıklarına göre gerekli miktardaki çözelti 26 gauge'lık insülin enjektörü ile i.p olarak enjekte edilmiştir.



Şekil 17. pH'ı 4.5 olan sitrat tamponun elde edilişi

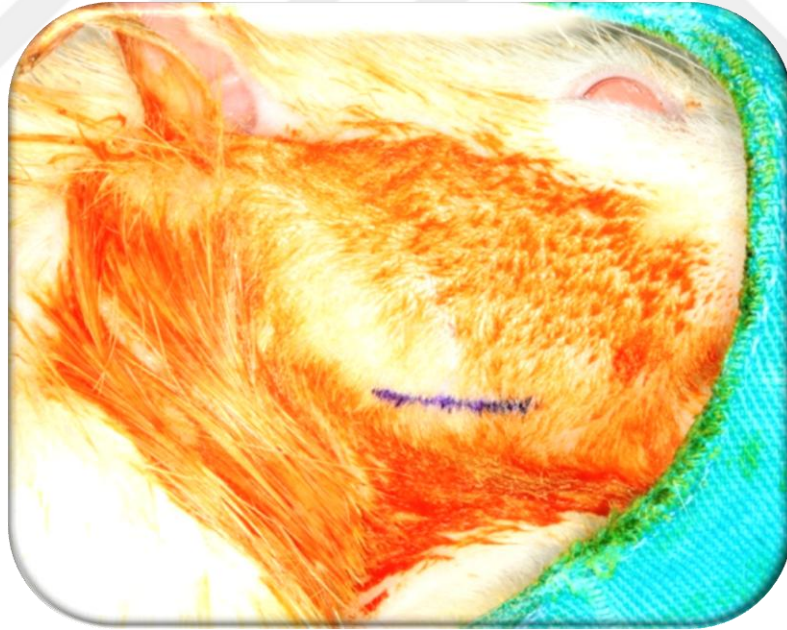
Karaoğlu (2012) alışmasında STZ uygulanmasını takiben kan şekeri düzeyinde 3 farklı değişiklik meydana geldiğini bildirmiştir. Enjeksiyondan sonra ilk 2-4 saat içinde meydana gelen geçici hiperglisemiden ratların görebileceği zararın engellenmesi amacıyla tüm diyabetik deney hayvanları enjeksiyonundan önce 18 saat a bırakıldı. Enjeksiyonu takiben yaklaşık 4-8 saat içinde meydana gelen şiddetli hipoglisemiden dolayı hayvan ölümlerini engellemek amacıyla enjeksiyondan 4 saat sonra hayvanların önlerine yemleri koyulmuş, 3. saatten sonra ise i.p tek doz %10'luk dekstroz enjekte edilmiştir. STZ enjeksiyonunu takiben 10-12 saat sonra meydana gelen kalıcı hiperglisemi fazında ise insülin seviyeleri düşer ve uzun bir süre bu şekilde devam eder.

Çalışmamızda STZ enjeksiyonundan sonraki 3. gün ve operasyondan hemen önce hayvanlar 6 saat a bırakıldıktan sonra kuyruk venlerinden kan alınarak Accu-Chek Pro (Roche Diagnostics, Almanya) cihazı ile açlık kan glikoz düzeyi lld. Tüm hayvanlarda kan şekeri düzeyinin 250 mg/dl üzerinde gerçekleştiği görüldü ve bu ratlar deneye dahil edildi. Kalıcı hipergliseminin teyit edilmesi sonrası diyabetik modelin kemik dokusu üzerindeki kronik etkilerinin ortaya çıkması amacıyla cerrahi işleme kadar 5 hafta beklenildi. Diyabetik olmayan gruptaki hayvanlara aynı zaman diliminde i.p sodyum sitrat tamponu zeltisi enjekte edildi.

### **3.7. Cerrahi Prosedür**

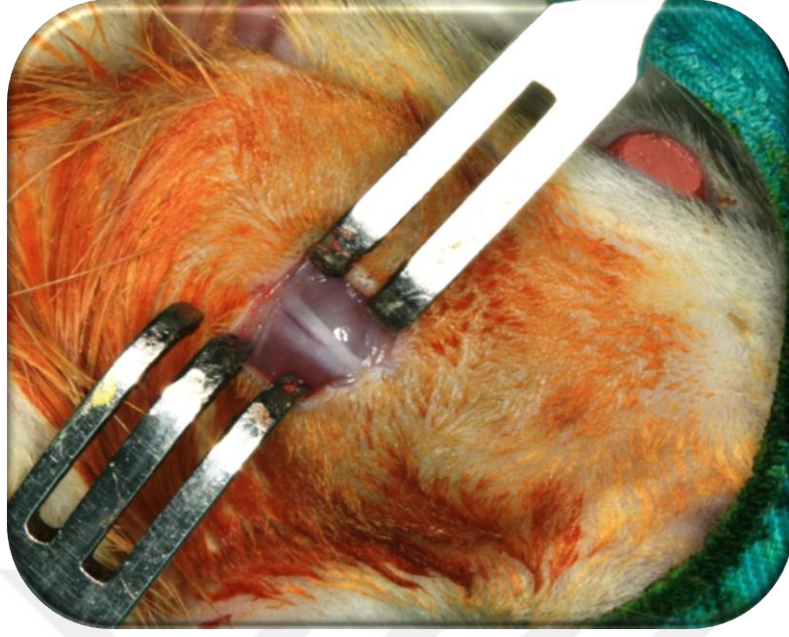
Operasyondan önce tüm hayvanların ağrlıkları lld. Hayvanların kilolarına göre i.p 10 mg/kg ketamin hidroklorid (Alfamine %10, Alfasan Int. BV, Hollanda) ve 3 mg/kg ksilazin hidroklorid (Alfazyne % 2 Enjectabl, Alfasan Int. BV, Hollanda) enjeksiyonu yapılarak genel anestezi sağlandı. Genel anestezinin gerçekleşmesi sonrasında her bir hayvanın sağ mandibula ramus bölgesi tıraş edildi. Tıraş edilen bölgelere povidon-iodin (Poviodex®, Kimpa, Türkiye) uygulanarak cerrahi alan antisepsisi sağlandı. Bölgenin asepsisi için steril rtler (Nepa®, Steril Drape, Türkiye) kullanıldı ve cerrahi alanın evre bölgelerden izolasyonu sağlandı. Cerrahi işlemlerden hemen önce 30 mg/kg Sefazolin (Cefamezin® IM Flakon, Eczacıbaşı, Türkiye) i.m uygulanarak proflaksi sağlandı. Genel anestezi altındaki deneklerde öncelikle, 1:200000 epinefrin içeren 0.5 ml artikain (Ultracain-DS; Hoechst Marion Roussel, İstanbul, Türkiye) enjeksiyonu ile lokal anestezi uygulandı. Yana doğru yatık pozisyonda tespit

edilen deneklerin sağ mandibula angulus bölgesinde basis mandibulanın sınırında 15 no'lu bistüri ile posterior-anterior yönde 1 cm uzunluğunda insizyon yapıldı (Şekil 18). İnsizyon sırasında fasiyal sinir dallarının hasar görmemesi için dokular katmanlar halinde dikkatlice diseke edildi (Şekil 19). Mandibula alt sınırına paralel bir şekilde deri, deri altı dokular, masseter kası ve periost geçildikten sonra defekt oluşturulacak alan açığa çıkartıldı. 4 mm çapında trefin frez kullanılarak serum fizyolojik soğutması altında, 2000 rpm ve 40 nM tork değeri üreten fizyodisperser aleti (WH İmplantmed, Avusturya) ile kritik boyutlu kemik defektleri oluşturuldu. Kemik defekti oluşturulurken defekt çevresinde en az 1 mm güvenlik marjini bırakıldı (Şekil 20). Defekt bölgelerine DF gruplarında herhangi bir biyomateryal uygulanmazken, AP gruplarında Bone Ceramic greft materyali (Şekil 21), AL gruplarında ise Mineross greft materyali (Şekil 22) defekt alanını dolduracak şekilde uygulandı. Deri altı dokular tabakalar halinde 4/0 glikolid esaslı emilebilen suturelarla (Vicryl, Ethicon, Brüksel, Belçika) kapatılırken cilt insizyonu 4/0 ipek suture (Doğsan, Türkiye) kullanılarak suture edildi (Şekil 23).



Şekil 18. İnsizyon hattı





Şekil 19. Fasiyal sinirin korunarak dokuların kademeli olarak geçilmesi



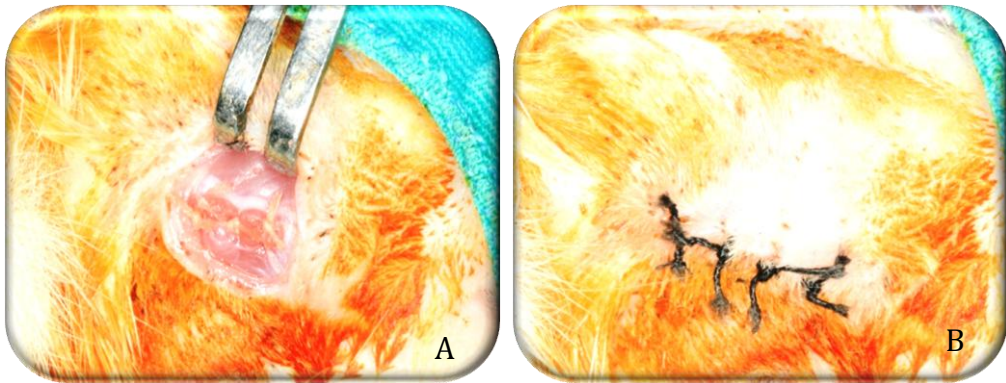
Şekil 20. **a:** Kritik boyutlu kemik defektinin oluşturulması **b:** Mandibula angulusta meydana getirilen kritik boyutlu kemik defektinin yeri ve şeklinin temsili görüntüsü



**Şekil 21.** Kemik defektlerine alloplastik greft materyalinin uygulanması



**Şekil 22.** Kemik defektlerine allogreft greft materyalinin uygulanması



**Şekil 23. a:** Operasyon bölgesindeki cilt altı dokuların Vicryl ile kapatılması **b:** Cilt insizyonunun ipek sutur ile kapatılması



### 3.8. Postoperatif Bakım

Cerrahi işlemlerin bitirilmesini takiben denekler kafeslerine yerleştirildi ve operasyon sonrası 3 gün boyunca enfeksiyonu engellemek ve analjezi sağlamak amacıyla günde bir kez i.m 50 mg/kg Sefazolin ve 5 mg/kg Tramadol HCl (Contramal®, Abdi İbrahim, Türkiye) uygulandı. Ayrıca insizyon bölgesindeki lokal enfeksiyonun ve kontaminasyonun engellenmesi ve yara iyileşmesinin optimal olmasını sağlamak amacıyla 5 gün boyunca her gün 1 kez yara bölgesine topikal antibiyotik olan Neo Caf Sprey (İntervet, MSD, İtalya) uygulaması yapıldı. Deneklerin sağlık durumları, ağırlıkları ve beslenmeleri belli aralıklar ile kontrol edildi. Diyabetik hayvanlarda meydana gelen sık idrar çıkışı nedeniyle bu hayvanların bulunduğu kafeslerin daha sık aralıklarla temizlenmesi ve yeniden kuru talaşların yerleştirilmesi sağlandı.

### 3.9. ESWT Uygulama Protokolü

ESWT uygulanmadan önce deneklerin etkilenmemeleri ve aplikatörün zarar görmemesi için ESWT uygulanacak deneklere kilolarına göre i.p 20 mg/kg dozunda ketamin hidroklorid (Alfamine %10, Alfasan Int. BV, Hollanda) ve 1 mg/kg ksilazin hidroklorid (Alfazyne % 2 Enjectabl, Alfasan Int. BV, Hollanda) enjeksiyonu yapılarak sedasyon sağlandı. Daha sonra uygulama yapılacak bölgedeki deriye ultrason jeli sürüldükten sonra cihazın aplikatörü dik açıyla temas ettirildi (Şekil 24).



Şekil 24: ESWT'nin uygulanması

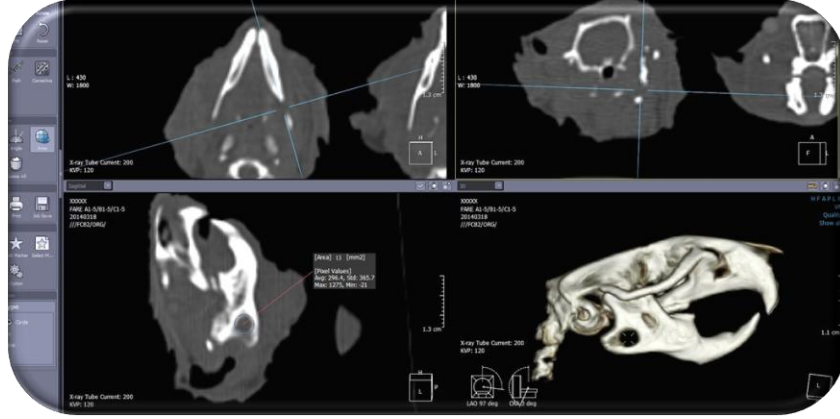
E<sup>+</sup> gruplarda postoperatif 3., 5. ve 7. günlerde mandibula angulus bölgesine her seansta 200 atımda, 5 Hz frekansta, 3 atm basınçta ve 0,19 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğunda şok dalga tedavisi uygulandı.

### **3.10. Deneyin Sonlandırılması**

Deney protokolünde belirtildiği üzere her bir E<sup>-</sup> ve E<sup>+</sup> gruplarındaki deneklerin yarısı 4. hafta sonunda, diğer yarısı ise 8. hafta sonunda yüksek doz Ketamin ve Xylazine HCL kullanılarak sakrifiye edildi. Deneklerin sağ mandibulaları alınarak ve yumuşak dokulardan temizlenerek %10'luk formaldehit içerisine koyuldu. Tüm örnekler ilk önce radyolojik olarak incelenmek üzere Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı'na, daha sonra ise stereolojik olarak incelenmek üzere Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına gönderildi.

### **3.11. Radyolojik Değerlendirme**

Çalışmamıza dahil edilen tüm deneklerin sakrifikasyon işlemleri tamamlandıktan sonra radyolojik görüntüleri elde edilmiştir. Deneklerin mandibulalarının yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografi görüntüsü, sıralı 16 dedektöre sahip çok kesitli tomografi cihazında (Aquilion 16 system, Toshiba Medical Systems Corporation, Tokyo, Japan) küçük hayvan tarama protokolüne göre elde edilmiştir. Mandibulalar 1 mm kolimasyonda taranmıştır. Tarama verileri ise şu şekildedir: Tüp akım değeri: 250 mAS, kV: 120, matriks: 512x512, algoritma: kemik, rekonstrüksiyon kalınlığı: 0,5 mm. Tüm radyolojik incelemeler hangi görüntünün hangi çalışma grubuna ait olduğu bilinmeden kör olarak yapıldı. Öncelikle DICOM dosyaları arşiv sisteminden elde edildi ve incelenmek üzere OsiriX (Pixmeo Sarl, İsviçre) programına transfer edildi. Transfer edilen çok sayıdaki kesit ile 3 boyutlu görüntüler elde edildi. Defekt alanı bu 3 boyutlu görüntüler üzerinde belirlendikten sonra sagittal kesit görüntülerdeki defekt alanının ortalama kemik yoğunluğu değerlerinin (KYD) ölçülmesi amacıyla 13 mm<sup>2</sup> alana sahip dairelerin defekt alanına çakıştırılması ile Haunsfield Unit (HU) değerleri hesaplandı. Bu işlem hata payını en aza indirmek amacıyla 2 kez gerçekleştirildi ve elde edilen değerlerin ortalamaları sonuç olarak kabul edildi (Şekil 25).



Şekil 25: Yazılım programına aktarılan görüntülerde defekt alanının kemik yoğunluk değerinin ölçülmesi

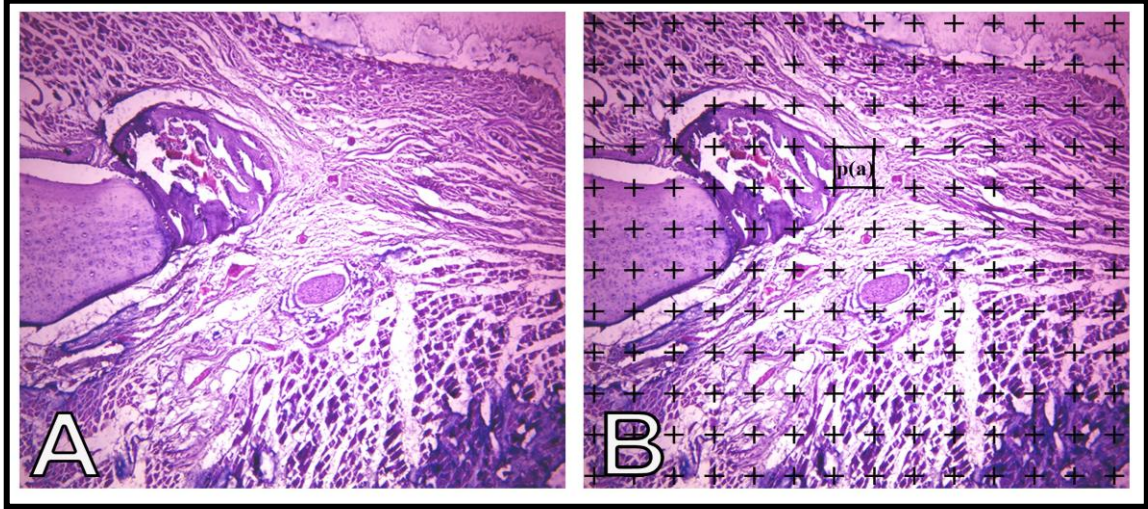
### 3.12. Stereolojik Değerlendirme

Gruplardan elde edilen mandibula doku örnekleri %10'luk formolde (10 ml % 40'luk formaldehit, 90 ml distile su) 10 gün süresince fikse edildi. Fiksasyon işlemini takiben dokular %5'lik formik asit solüsyonu içerisinde 21 gün süresince dekalsifiye edildi. Dokular belli aralıklarla kontrol edildi ve solüsyonları yenilendi. Dekalsifikasyon işlemi sonrası distile su ile yıkanan dokular dereceli alkol serilerinden (%70-%80-%96-%96-%100-%100) geçirildi. Dokular dehidratasyon işleminin ardından ksilen ile muamele edildikten sonra sıvı parafin (58°C) içerisine gömüldü.

Parafin bloklardan sistematik rastgele örnekleme ile 1/6 oranında, 10µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler 60°C sıcaklığındaki etüvde 1 gece bekletildi. Ardından ksilen solüsyonlarından geçirilerek deparafinize edilen kesitler dehidratasyon işlemi için dereceli alkol serilerine konuldu. Deparafinizasyon işlemi sonrası kesitler yeni kemik, damar ve bağ doku alanlarının gösterilmesi amacıyla hematoksilin-eosin (HE) ile boyandı. Boyanan tüm kesitler kanada balsamı ile kapatılarak mikroskop (Leica; Solms, Almanya) altında incelendi.

Sistematik Rastgele Örnekleme kuralına göre ilgilenilen alanı ve hacmi örnekleme amacıyla koronal alınan eşit uzaklıktaki (1/3) kesitler kullanıldı. Bu aralık stereolojinin temel prensiplerinden olan hata katsayısı (*Coefficient Error*) göz önünde bulundurularak belirlendi. İlgili organda geçen tüm seri kesit görüntüleri ışık mikroskopunda (Leica DM4000 B, Tokyo, Japan) x10'luk büyütmede incelendi.

Cavalieri Hacim Hesaplama Yöntemi ile stereoloji analiz sisteminde (Stereo Investigator version 9.0, Microbrightfield, Colchester, USA) noktalı alan cetveli kullanarak yeni kemik (YK), bağ dokusu (BD) ve yeni damar (YD) hacmi hesaplandı (Şekil 26).



**Şekil 26. a:** Cavalieri metodu ile yeni kemik, bağ doku ve damar hacimlerinin hesaplanması **b:** 0.5 x 0.5 mm'lik noktalı alan cetveli görülmektedir. **P(a):** dört adet noktanın arasında kalan bir birim cetvel alanı

### 3.12.1. Cavalieri Metodu

Cavalieri metodu, stereolojik yöntemlerde en sık kullanılan hacim hesaplama yöntemidir (Canan ve ark., 2002). Cavalieri metodunu uygulamak için, hacmi hesaplanmak istenen yapı eşit aralıklı birbirine paralel kesitlerle başından sonuna kadar dilimlere ayrılır. Daha sonra her bir dilimin aynı yöne bakan yüzeylerinin alanları uygun bir yöntemle hesaplanır. Tüm dilimlerden elde edilen toplam yüzey alanı değeri, dilimlerden kullanılan ortalama dilim kalınlığı ile çarpılırsa, yapının toplam hacminin tarafsız bir hesaplaması elde edilir. Bu matematiksel olarak aşağıdaki gibi yazılabilir:  $V_{ref} = \sum a_i \cdot t$  (Eşitlik 1) Formülde  $V_{ref}$  ilgilendiğimiz yapının toplam veya diğer bir ifade ile referans hacmini;  $a_i$ , i numaralı kesitteki yapı izdüşümünün (veya izdüşümlerinin toplam) yüzey alanını;  $t$  ise ortalama kesit veya dilim kalınlığı belirtir (Canan ve ark., 2002) Kesitlerdeki alanlar ise 'noktalı alan ölçüm cetvelleri' kullanılarak oldukça çabuk ve etkin bir biçimde belirlenebilir. Noktalı alan ölçüm cetvelleri birbirinden eşit aralıklarla ayrılmış noktalardan (tabloda artıların kollarının

birleşim yeri) oluşan sistematik nokta dizgeleridir (Şekil 26). Aralarındaki sabit mesafesi bilinen böyle bir noktalı alan ölçüm cetveli, alanı hesaplanmak istenen herhangi bir kesit görüntüsü üzerine rastgele biçimde atılırsa, yapının kesitteki izdüşümü üzerine isabet edecek noktaların sayısı, bu izdüşümün kesitte temsil ettiği alan miktarıyla doğru orantılı olacaktır. Kısaca, izdüşüm ne kadar büyükse içine o kadar fazla sayıda nokta isabet edecektir. Bu noktalardan her biri belli bir birim alanı ( $P(a)$ ) temsil ettiğinden, ilgilendiğimiz izdüşümün sınırları içine düşen toplam nokta sayısının ( $\Sigma P_i$ ) bu birim alan değeriyle çarpımı, bize o kesitteki izdüşümün toplam alanının ( $A_i$ ) tarafsız bir hesaplamasını verecektir.  $A_i = \Sigma P_i \cdot P(a)$  (Eşitlik 2)

Genellikle, şeffaf bir asetata çizilmiş noktalar yeterli olmakta ve büyütme derecesi doğru bir biçimde saptandıktan sonra, mikroskopta gözlenen ve monitöre aktarılan veya bir başka görüntü ortamına yansıtılan fotoğrafa rahatça uygulanabilmektedir. Tek bilinmesi gereken, cetveldeki noktalar arasındaki uzaklığın, büyütme derecesine göre doku düzeyindeki gerçek uzunluğudur. Bir diğer önemli husus da, kullandığımız noktalı alan cetvelinin nokta sıklığıdır. Genellikle, sınırları karmaşık bir yapılanma gösteren iç içe izdüşümler için daha sık yerleşimli noktalar kullanmak gerekirken, düzgün sınırlara sahip yumuşak hatlı yapılar için daha seyrek noktalar yeterli olmaktadır. Nokta sıklığını artırmak, hesaplamaların daha doğru olmasını sağlasa da, belli bir hata payı dâhilinde, mümkün olan en seyrek nokta dizgesini kullanarak bu ölçümleri gerçekleştirmek daha doğru olacaktır. Gundersen ve Jensen (1987) tarafından önerilen tarzda bir monogram, çalışacağımız yapıya uygun noktalı alan ölçüm cetveli seçiminde yardımcı olabilir.

### **3.13. İstatistiksel Değerlendirme**

Radyolojik ve stereolojik değerlendirmelerden elde edilen veriler bilgisayar ortamında SPSS (Ver:13,0, Illinois, USA) istatistik programına yüklenerek gruplar arası karşılaştırma tek yönlü ANOVA testi ile, ikili gruplar şeklindeki karşılaştırma ise Tukey testleri ile gerçekleştirildi.  $p < 0,05$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı olarak yorumlandı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Genel Bulgular

Cerrahi işlemin gerçekleştirildiği dönemden çalışmanın sonlandırılmasına kadar geçen zamanda 4ALD<sup>-</sup>E<sup>+</sup> grubundan 1 hayvanda yara bölgesinde dehisens meydana geldiği ve enfeksiyon geliştiği gözlemlendi (Şekil 27). Bu denekte enfekte bölgenin yara debridmanı ve pansumanı yapılarak takip edildi ancak çalışmanın dışında tutuldu. Bunun haricinde 4DFD<sup>-</sup>E<sup>+</sup> grubundan 1 denek genel anestezi uygulaması sırasında kaybedildi (Tablo 8).

Diyabetik olan grupların içinden 4ALD<sup>+</sup>E<sup>-</sup>, 4APD<sup>+</sup>E<sup>-</sup>, 4DFD<sup>+</sup>E<sup>-</sup>, 4DFD<sup>+</sup>E<sup>+</sup>, 8APD<sup>+</sup>E<sup>-</sup>, 8DFD<sup>+</sup>E<sup>-</sup>, 8DFD<sup>+</sup>E<sup>+</sup> gruplarından birer hayvanda operasyon sonrası yara bölgelerinde enfeksiyon gelişti (Şekil 27). Bu deneklerin hepsinde antibiyotik tedavisiyle birlikte yara debridmanı ve pansumanı yapıldı. Operasyon sonrası yara enfeksiyonu gelişen tüm hayvanlar çalışma dışında tutuldu. Bunların dışında 4ALD<sup>+</sup>E<sup>+</sup>, 4APD<sup>+</sup>E<sup>+</sup>, 8APD<sup>+</sup>E<sup>+</sup>, 8APD<sup>+</sup>E<sup>-</sup>, 8DFD<sup>+</sup>E<sup>+</sup>, 8DFD<sup>+</sup>E<sup>-</sup> gruplarından birer ve 8ALD<sup>+</sup>E<sup>+</sup>, 8ALD<sup>+</sup>E<sup>-</sup> gruplarından ikişer olmak üzere toplamda 10 denek STZ'nin dokular üzerinde toksik etkiye neden olması, dehidratasyon, malnütrisyon ve dirençsizlik nedeniyle yaşamını yitirdi (Tablo 8).



Şekil 27. Operasyon bölgesinde enfeksiyon gelişen bir denek

Yerel Etik Kurulu'ndan onay alınarak çalışma dışında tutulan ve kaybedilen deneklerin yerine aynı sayıda, aynı özelliklerde ve aynı prosedürlerin gerçekleştirildiği yeni Wistar ratlar koyularak deneyin tekrarlanması ve protokolde belirtilen sayıların korunması sağlandı.



**Tablo 8.** Çalışma dışında tutulan deneklerin gruplara göre dağılımı

GRUP	DİYABETİK OLMAYAN GRUPLAR (D <sup>-</sup> )				DİYABETİK GRUPLAR (D <sup>+</sup> )			
	ESWT- (E <sup>-</sup> )		ESWT+ (E <sup>+</sup> )		ESWT- (E <sup>-</sup> )		ESWT+ (E <sup>+</sup> )	
TAKİP SÜRESİ	4	8	4	8	4	8	4	8
	Hafta	Hafta	Hafta	Hafta	Hafta	Hafta	Hafta	Hafta
BOŞ DEFEKT (DF)	-	-	1	-	1	2	1	2
ALLOPLAST (AP)	-	-	-	-	1	2	1	1
ALLOGREFT (AL)	-	-	1	-	1	2	1	2

ESWT uygulanan gruplardaki 1. seans uygulama sonrasında (operasyon sonrası 3. gün) 16 denekte, cerrahi sonrası meydana gelen ödem oranında makroskopik olarak artma meydana geldiği gözlenmiştir (Şekil 28). Bu durum için herhangi bir ek tedavi prosedürü uygulanmamış varolan cerrahi sonrası medikal tedaviye devam edilmiştir. ESWT uygulamaları bittikten sonraki ortalama 2 gün içerisinde bütün cerrahi bölgelerin normale döndüğü gözlenmiştir.



**Şekil 28.** ESWT uygulaması sonrası meydana gelen şişlik

STZ enjeksiyonu öncesinde tüm gruplar arasında deneklerin ağırlıkları arasında bir fark yok iken deneyin sonlandırılması sırasında diyabetik olmayan

hayvanların ağırlıklarında artış, diyabetik hayvanların ağırlıklarında ise azalma meydana gelmiştir.

## 4.2. Radyolojik Bulgular

### 4.2.1. Boş Defekt (DF) Gruplarının Radyolojik İnceleme Sonuçları

Bütün DF grupları birlikte ele alındığında 8 haftalık gruplarda 4 haftalık gruplara göre daha yüksek kemik yoğunluğu değerleri elde edilmiştir. En düşük KYD  $4D^{\ominus}E^{\ominus}$  grubunda görülürken en yüksek KYD  $8D^{\oplus}E^{\ominus}$  grubunda gözlenmiştir. 4 haftalık gruplarda en yüksek değer  $D^{\oplus}E^{\ominus}$  grubunda elde edilmiştir. ANOVA testi sonucunda gruplar arasında farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). 8 haftalık gruplar içerisinde  $D^{\oplus}E^{\ominus}$  grubunda en yüksek KYD gözlenmiştir.  $D^{\ominus}E^{\oplus}$  grubunda  $D^{\ominus}E^{\ominus}$  grubuna göre daha yüksek KYD değeri görülürken  $D^{\oplus}E^{\oplus}$  grubunda  $D^{\oplus}E^{\ominus}$  grubunda göre daha düşük KYD değeri tespit edilmiştir ancak bu farklılık istatistik olarak anlamlı değildir ( $p > 0,05$ ). Hem 4 haftalık hem de 8 haftalık diyabetik gruplarda diyabetik olmayan gruplara göre daha yüksek oranda KYD gözlenmiştir (Tablo 9). Gruplar arasındaki bu farklılık istatistik olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ) (Şekil 29).

**Tablo 9.** DF gruplarına ait ortalama kemik yoğunluk değerleri (Hounsfield Unit) (Ortalama  $\pm$  SE)

GRUPLAR	4 haftalık	8 haftalık
$D^{\ominus}E^{\ominus}$	319,8 $\pm$ 21,12	739,8 $\pm$ 91,55
$D^{\ominus}E^{\oplus}$	495,4 $\pm$ 44,49	817 $\pm$ 22,49
$D^{\oplus}E^{\ominus}$	619,6 $\pm$ 19,53	916,8 $\pm$ 96,41
$D^{\oplus}E^{\oplus}$	600,6 $\pm$ 27,39	863,4 $\pm$ 20,92

### 4.2.2. Alloplast (AP) Gruplarının Radyolojik İnceleme Sonuçları

Araştırmamıza dahil edilen gruplar arasında en yüksek KYD AP gruplarında gözlenmiştir (Şekil 29). En düşük KYD ortalaması  $4D^{\ominus}E^{\ominus}$  grubunda gözlenirken en yüksek KYD  $8D^{\ominus}E^{\ominus}$  grubunda görülmüştür. ANOVA testi sonucunda gruplar arasında farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). AP uygulanan 4 haftalık hem diyabetik gruplarda hem de diyabetik olmayan gruplarda ESWT uygulaması



KYD'de artışa neden olmuştur ancak bu durum istatistik olarak anlamlı değildir ( $p>0,05$ ) (Tablo 10) (Şekil 29).

**Tablo 10.** AP gruplarına ait ortalama kemik yoğunluk verileri (HU) (Ortalama  $\pm$  SE)

GRUPLAR	4 haftalık	8 haftalık
D <sup>-</sup> E <sup>-</sup>	1115 $\pm$ 65,73	1356,8 $\pm$ 110,7
D <sup>-</sup> E <sup>+</sup>	1337 $\pm$ 44,43	1380,8 $\pm$ 90,22
D <sup>+</sup> E <sup>-</sup>	1135,6 $\pm$ 90,13	1412,6 $\pm$ 70,11
D <sup>+</sup> E <sup>+</sup>	1240,8 $\pm$ 34,94	1371 $\pm$ 76,56

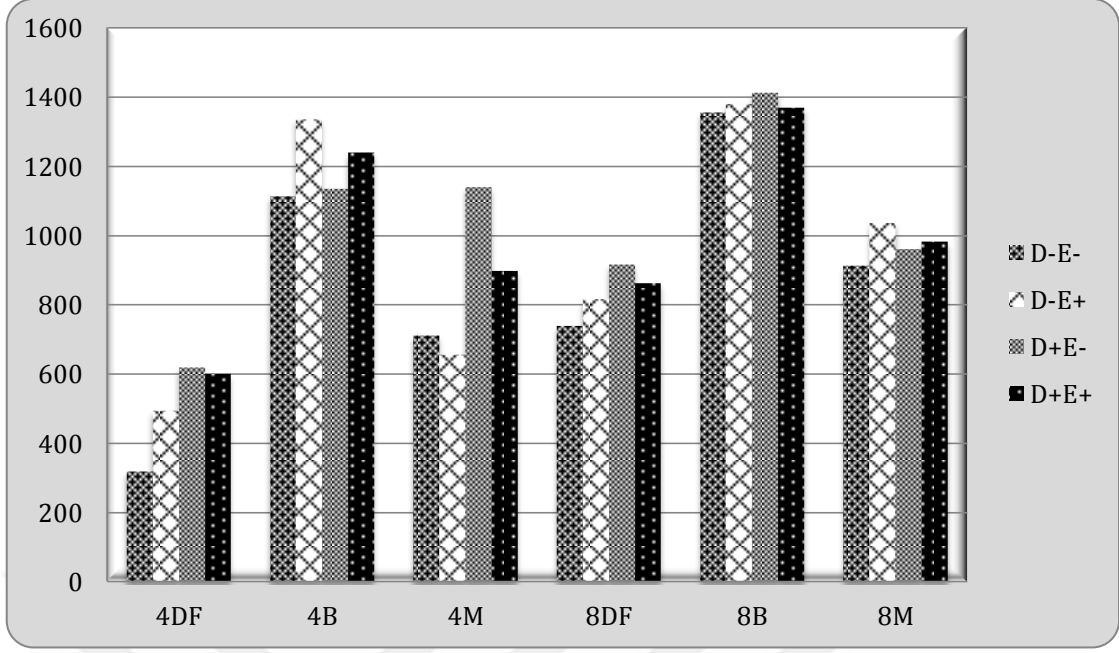
#### 4.2.3. Allogreft (AL) Gruplarının Radyolojik İnceleme Sonuçları

4 haftalık gruplar içerisinde en yüksek KYD D<sup>-</sup>E<sup>-</sup> grubunda görülürken 8 haftalık gruplar içerisinde D<sup>-</sup>E<sup>+</sup> grubunda görülmüştür. ANOVA testi sonucunda gruplar arasında farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

**Tablo 11.** AL gruplarına ait ortalama kemik yoğunluk verileri (HU) (Ortalama  $\pm$  SE)

GRUPLAR	4 haftalık	8 haftalık
D <sup>-</sup> E <sup>-</sup>	712,4 $\pm$ 58,76	914,4 $\pm$ 99,3
D <sup>-</sup> E <sup>+</sup>	657 $\pm$ 89,08	1037,4 $\pm$ 20,17
D <sup>+</sup> E <sup>-</sup>	1141 $\pm$ 24,93	962,4 $\pm$ 97,6
D <sup>+</sup> E <sup>+</sup>	899,2 $\pm$ 16,6	982,8 $\pm$ 57,86

4 haftalık ESWT uygulanan diyabetik ve diyabetik olmayan gruplarda ESWT uygulanmayan gruplara göre daha düşük KYD görülürken 8 haftalık olanlarda istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber ( $p>0,05$ ) daha yüksek KYD gözlenmiştir (Şekil 29).



**Şekil 29.** Tüm grupların bilgisayarlı tomografi görüntülerinden elde edilen ortalama kemik yoğunluk değerleri (HU)

### 4.3. Stereolojik Bulgular

DF, AP ve AL gruplarındaki defekt alanları YK, BD ve YD hacmi açısından stereolojik olarak değerlendirildi. Tüm gruplara ait YK, BD ve YD hacimleri Şekil 33, Şekil 34 ve Şekil 35'te gösterilmiştir.

#### 4.3.1. Boş Defekt (DF) Gruplarının Stereolojik İnceleme Sonuçları

4 haftalık hem diyabetik olan hem de diyabetik olmayan boş defekt gruplarında ESWT uygulamasının YK, BD ve YD hacminde azalmaya neden olduğu görülmektedir. ESWT uygulaması yapılmış diyabetli olan ( $D^+E^+$ ) ve diyabetli olmayan ( $D^-E^+$ ) gruplar arasında ise bu üç parametre açısından benzer sonuçlar görülmektedir. ESWT uygulanmayan ve diyabetik olmayan grupta ( $D^-E^-$ ) ise ESWT uygulanmayan ve diyabetik olan ( $D^+E^-$ ) gruba göre YK, BD ve YD hacminde artış olduğu görülmektedir (Tablo 11).

8 haftalık diyabetik olmayan boş defekt grubunda ( $D^-E^+$ ) ESWT uygulamasının YK, BD ve YD hacminde azalmaya neden olduğu görülmektedir. Diyabetik grupta ( $D^+E^+$ ) ise ESWT uygulamasının yalnızca YD hacminde artışa yol açtığı görülmektedir.

ESWT uygulamasının gerçekleştirildiği diyabetik olan ( $D^+E^+$ ) ve diyabetik olmayan gruplar ( $D^+E^-$ ) karşılaştırıldığında diyabetik gruplarda daha fazla oranda YK ve daha az oranda BD görülmektedir. YD hacmi açısından ise birbirine yakın sonuçlar bulunmuştur. ESWT'nin uygulanmadığı gruplar içinde ise diyabetik grupta ( $D^+E^-$ )  $D^+E^-$  grubuna göre daha az oranda YK, BD ve YD hacmi görülmüştür (Tablo 12).

**Tablo 11.** 4 haftalık DF gruplarının stereolojik inceleme sonuçları (Ortalama  $\pm$  SS) ( $mm^3$ )

GRUPLAR	Yeni Kemik Dokusu	Bağ Dokusu	Yeni Damar
$D^+E^-$	2,22 $\pm$ 0,22	2,36 $\pm$ 0,26	0,60 $\pm$ 0,04
$D^+E^+$	1,42 $\pm$ 0,06	1,51 $\pm$ 0,10	0,30 $\pm$ 0,03
$D^+E^-$	1,91 $\pm$ 0,06	1,55 $\pm$ 0,11	0,51 $\pm$ 0,09
$D^+E^+$	1,47 $\pm$ 0,07	1,52 $\pm$ 0,12	0,35 $\pm$ 0,05

**Tablo 12.** 8 haftalık DF gruplarının stereolojik inceleme sonuçları (Ortalama  $\pm$  SS) ( $mm^3$ )

GRUPLAR	Yeni Kemik Dokusu	Bağ Dokusu	Yeni Damar
$D^+E^-$	2,60 $\pm$ 0,07	2,25 $\pm$ 0,14	0,79 $\pm$ 0,08
$D^+E^+$	1,50 $\pm$ 0,08	2,00 $\pm$ 0,09	0,53 $\pm$ 0,05
$D^+E^-$	1,74 $\pm$ 0,14	1,89 $\pm$ 0,21	0,26 $\pm$ 0,02
$D^+E^+$	1,69 $\pm$ 0,24	1,41 $\pm$ 0,06	0,49 $\pm$ 0,12

### Yeni Kemik Dokusu Hacmi

Boş defekt grupları arasında en yüksek YK hacmi  $8D^+E^-$  grubunda bulunurken en az YK hacmi  $4D^+E^+$  grubunda gözlenmiştir.

4 haftalık gruplar içinde  $D^+E^-$  grubu ile  $D^+E^+$ ,  $D^+E^-$  ve  $D^+E^+$  grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,05$ ). Ayrıca  $D^+E^+$  ve  $D^+E^-$  grupları arasındaki farkın da istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ( $p<0,05$ ).

8 haftalık gruplar içinde  $D^+E^-$  grubu ile  $D^+E^+$ ,  $D^+E^-$  ve  $D^+E^+$  grupları karşılaştırıldığında aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,05$ ).

Tüm gruplar içinde  $4D^{\cdot}E^{\cdot}$  grubu ile tüm 8 haftalık gruplar karşılaştırıldığında farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü.  $8D^{\cdot}E^{\cdot}$  grubu ile  $4D^{+}E^{+}$ ,  $4D^{+}E^{\cdot}$  ve  $4D^{\cdot}E^{+}$  grupları arasındaki ve  $4D^{+}E^{\cdot}$  ile  $8D^{\cdot}E^{+}$  grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ( $p<0,05$ ) (Şekil 30).

### **Bağ Dokusu Hacmi**

Boş defekt grupları arasında en yüksek BD hacmi  $4D^{\cdot}E^{\cdot}$  grubunda bulunurken en az BD hacmi  $8D^{+}E^{+}$  grubunda gözlemlenmiştir.

4 haftalık gruplar içinde  $D^{\cdot}E^{\cdot}$  grubu ile  $D^{\cdot}E^{+}$ ,  $D^{+}E^{\cdot}$  ve  $D^{+}E^{+}$  grubu arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ( $p<0,05$ ).

8 haftalık gruplar içinde  $D^{+}E^{+}$  grubu ile  $D^{\cdot}E^{\cdot}$  ve  $D^{\cdot}E^{+}$  grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,05$ ).

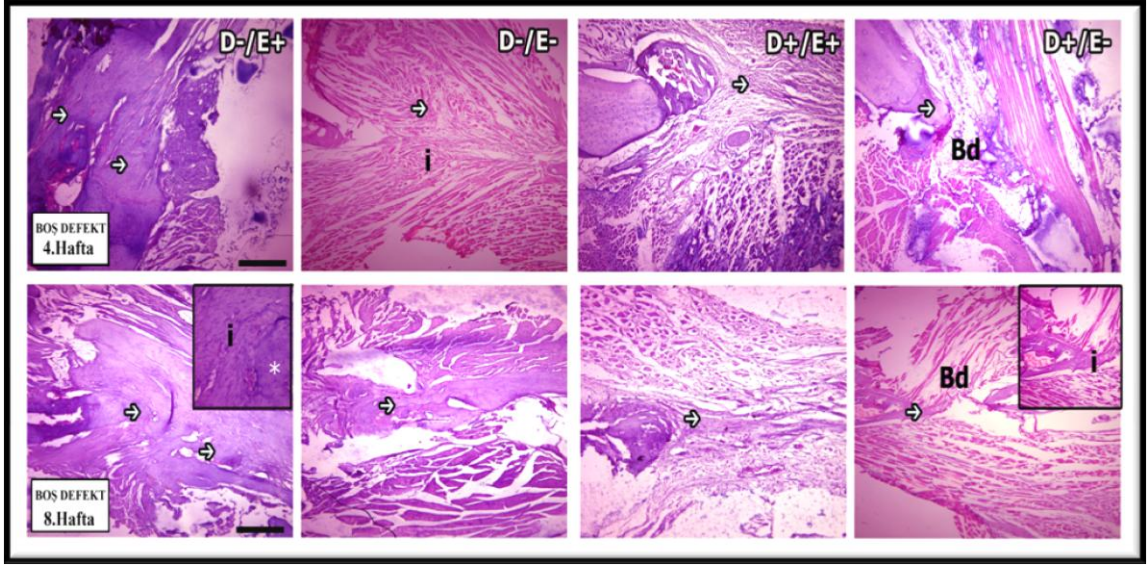
Tüm gruplar içinde  $8D^{\cdot}E^{\cdot}$  grubu ile  $4D^{+}E^{+}$ ,  $4D^{+}E^{\cdot}$  ve  $4D^{\cdot}E^{+}$  grupları arasındaki ve  $4D^{\cdot}E^{\cdot}$  ile  $8D^{+}E^{+}$  grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,05$ ) (Şekil 30).

### **Yeni Damarlanma Hacmi**

Boş defekt grupları içinde en yüksek YD hacmine  $8D^{\cdot}E^{\cdot}$  grubu ( $0,79\pm 0,08$  mm<sup>3</sup>) sahipken en az YD hacmine ise  $8D^{+}E^{\cdot}$  grubu sahiptir.

4 haftalık gruplar içinde  $D^{\cdot}E^{\cdot}$  grubu ile  $D^{+}E^{+}$  ve  $D^{\cdot}E^{+}$  grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. 8 haftalık gruplar içinde ise  $D^{\cdot}E^{\cdot}$  grubu ile  $D^{\cdot}E^{+}$ ,  $D^{+}E^{\cdot}$  ve  $D^{+}E^{+}$  grupları arasındaki farkın ve  $D^{+}E^{\cdot}$  ile  $D^{\cdot}E^{+}$  grubu arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ( $p<0,05$ ).

Tüm gruplar içinde  $8D^{+}E^{\cdot}$  grubu ile  $4D^{+}E^{\cdot}$  ve  $4D^{\cdot}E^{\cdot}$  grupları arasındaki ve  $8D^{\cdot}E^{\cdot}$  grubu ile  $4D^{+}E^{+}$ ,  $4D^{+}E^{\cdot}$  ve  $4D^{\cdot}E^{+}$  grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ( $p<0,05$ ) (Şekil 30).



**Şekil 30.** Boş defekt gruplarından 4. ve 8. haftasında elde edilen kesitlerin histolojik görüntüsü. Beyaz oklar x4'lük büyütmedeki resimlerde yeni kemik alanlarını göstermektedir. Bununla birlikte x40'luk objektifle çekilmiş panoramik görüntüde oluşan yeni kemik alanları beyaz yıldızla gösterilmiştir. İ: İnfiltrasyon alanı. Bd: Bağ doku. Barlar: 250 µm, boyama: hematoksilen-eozin

#### 4.3.2. Alloplast (AP) Gruplarının Stereolojik İnceleme Sonuçları

4 haftalık diyabetik olan ve diyabetik olmayan gruplarda ESWT uygulaması YK hacminde artışa yol açarken YD hacminde azalmaya neden olmaktadır. ESWT uygulaması diyabetik olmayan gruplarda BD hacminde artışa yol açarken diyabetik gruplarda azalmaya neden olmaktadır. ESWT uygulanan diyabetik grupta ESWT uygulanan diyabetik olmayan gruba göre daha az oranda BD ve YD hacmi görülmüştür (Tablo 13).

8 haftalık hem diyabetik olan hem de diyabetik olmayan gruplarda ESWT uygulaması YK, BD ve YD hacminde artışa neden olmaktadır. Bununla birlikte ESWT uygulanan diyabetik gruplarda, ESWT uygulanan ve diyabetik olmayan gruplara göre daha fazla oranda YK, BD ve YD hacmine sahip olduğu görülmektedir (Tablo 14).

#### Yeni Kemik Dokusu Hacmi

4 haftalık gruplar içinde  $D^+E^+$  grubu ile  $D^-E^+$  grubu arasındaki ve  $D^+E^-$  grubu ile  $D^-E^+$  ve  $D^-E^-$  grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ( $p < 0,05$ ). 8 haftalık gruplar içinde  $D^+E^+$  grubu ile diğer gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p < 0,05$ ).

Tüm gruplar içinde  $8D^{+E^{+}}$  grubu ile tüm 4 haftalık gruplar arasındaki farkın,  $8D^{+E^{-}}$  grubu ile  $4D^{+E^{-}}$  ve  $4D^{+E^{+}}$  grupları arasındaki farkın,  $8D^{+E^{+}}$  grubu ile  $4D^{+E^{-}}$  ve  $4D^{+E^{+}}$  grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ( $p<0,05$ ).

**Tablo 13.** 4 haftalık AP gruplarının stereolojik inceleme sonuçları (Ortalama  $\pm$  SS) ( $mm^3$ )

GRUPLAR	Yeni Kemik Dokusu	Bağ Dokusu	Yeni Damar
$D^{+E^{-}}$	2,02 $\pm$ 0,08	2,35 $\pm$ 0,48	0,94 $\pm$ 0,26
$D^{+E^{+}}$	2,26 $\pm$ 0,15	3,05 $\pm$ 0,30	0,41 $\pm$ 0,08
$D^{-E^{-}}$	1,63 $\pm$ 0,11	2,22 $\pm$ 0,07	0,59 $\pm$ 0,10
$D^{-E^{+}}$	1,71 $\pm$ 0,09	1,50 $\pm$ 0,25	0,35 $\pm$ 0,05

**Tablo 14.** 8 haftalık AP gruplarının stereolojik inceleme sonuçları (Ortalama  $\pm$  SS) ( $mm^3$ )

GRUPLAR	Yeni Kemik Dokusu	Bağ Dokusu	Yeni Damar
$D^{+E^{-}}$	1,95 $\pm$ 0,07	1,49 $\pm$ 0,10	0,36 $\pm$ 0,04
$D^{+E^{+}}$	2,28 $\pm$ 0,08	2,14 $\pm$ 0,11	0,61 $\pm$ 0,18
$D^{-E^{-}}$	2,13 $\pm$ 0,09	1,53 $\pm$ 0,10	0,48 $\pm$ 0,05
$D^{-E^{+}}$	3,05 $\pm$ 0,32	2,53 $\pm$ 0,58	0,63 $\pm$ 0,17

### Bağ Dokusu Hacmi

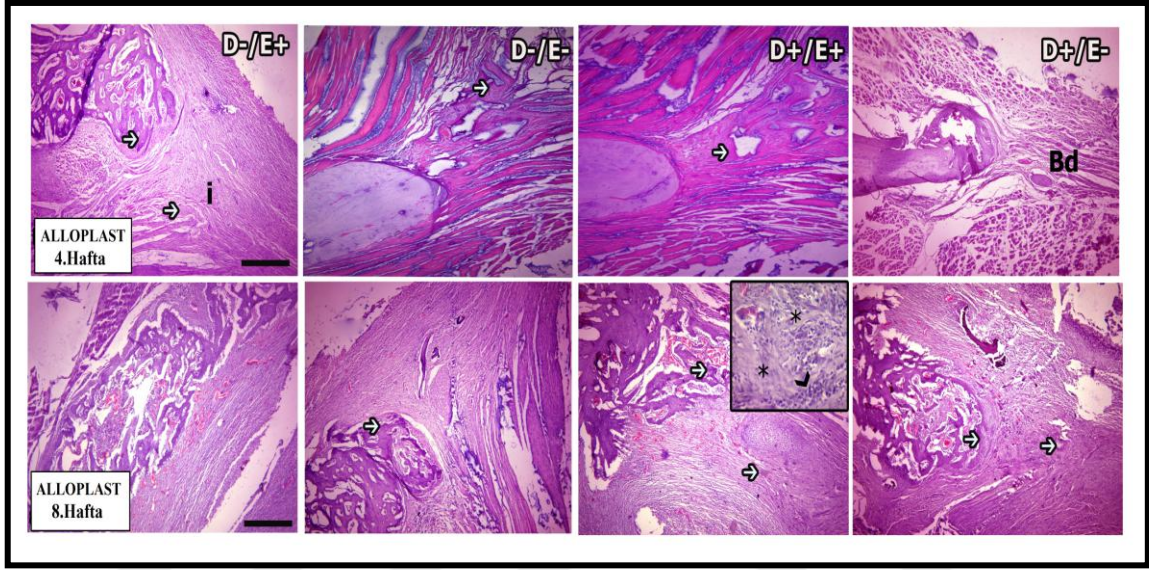
4 haftalık gruplar içinde  $D^{+E^{+}}$  grubu ile  $D^{+E^{-}}$ ,  $D^{-E^{+}}$  ve  $D^{-E^{-}}$  grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi.  $D^{+E^{-}}$  ve  $D^{-E^{+}}$  grupları arasında ve  $D^{-E^{+}}$  ve  $D^{-E^{-}}$  grupları arasındaki farkın da istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,05$ ). 8 haftalık gruplar içinde  $D^{+E^{+}}$  grubu ile  $D^{+E^{-}}$  ve  $D^{-E^{-}}$  grupları arasındaki farkın ve  $D^{-E^{+}}$  grubu ile  $D^{+E^{-}}$  ve  $D^{-E^{-}}$  grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ( $p<0,05$ ).

Tüm gruplar içinde  $4D^{+E^{+}}$  grubu ile  $8D^{+E^{-}}$ ,  $8D^{-E^{+}}$  ve  $8D^{-E^{-}}$  grupları arasındaki farkın,  $4D^{+E^{-}}$  grubu ile  $8D^{+E^{-}}$  ve  $8D^{-E^{-}}$  grupları arasındaki farkın,  $4D^{+E^{+}}$  grubu ile  $8D^{+E^{+}}$  ve  $8D^{-E^{+}}$  grupları arasındaki farkın,  $4D^{-E^{-}}$  grubu ile  $8D^{+E^{-}}$  ve  $8D^{-E^{-}}$  grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ( $p<0,05$ ).



## Yeni Damarlanma Hacmi

4 haftalık gruplar içinde  $D^-E^-$  grubu ile diğer gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ( $p < 0,05$ ). 8 haftalık gruplar içinde  $D^-E^-$  grubu ile  $D^+E^+$  ve  $D^-E^+$  grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p < 0,05$ ).



**Şekil 31.** AP gruplarından 4. ve 8. haftasında elde edilen kesitlerin histolojik görüntüsü Beyaz oklar  $\times 4$ 'lük büyütmedeki resimlerde yeni kemik alanlarını göstermektedir. Bununla birlikte  $\times 40$ 'lık objektifle çekilmiş panoramik görüntüde oluşan yeni kemik alanları siyah yıldızla gösterilirken, siyah ok başı ile yeni kemik çevresindeki osteoblast kümeleri işaretlenmiştir. İ: İnfiltrasyon alanı. Bd: Bağ doku. Barlar: 250  $\mu$ m, boyama: hematoxilen-eozin

Tüm gruplar içinde  $4D^-E^-$  grubu ile tüm 8 haftalık gruplar arasındaki farkın,  $4D^+E^+$  ile  $8D^+E^+$  ve  $8D^-E^+$  grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p < 0,05$ ) (Şekil 31).

### 4.3.3. Allogreft (AL) Gruplarının Stereolojik İnceleme Sonuçları

4 haftalık hem diyabetik olan hem de diyabetik olmayan gruplarda ESWT uygulamasının YK ve YD hacminde ESWT uygulanmayan gruba göre artışa neden olduğu görülmektedir. BD hacminde ise ESWT uygulanan diyabetik olmayan gruplarda artış meydana gelirken diyabetik gruplarda azalma meydana gelmiştir. ESWT

uygulanan diyabetik olan ve diyabetik olmayan gruplarda ise YK hacmi açısından benzer sonuçlar görülmektedir (Tablo 15).

8 haftalık diyabetik olan ve diyabetik olmayan gruplarda ESWT uygulaması YK hacminde artışa neden olmaktadır. Diyabetik olmayan gruplarda ESWT uygulaması BD ve YD hacminde de artışa neden olurken diyabetik gruplarda azalmaya neden olmaktadır. Bununla birlikte ESWT, diyabetik olan ve diyabetik olmayan gruplarda benzer sonuçlara neden olmaktadır (Tablo 16).

**Tablo 15.** 4 haftalık AL gruplarının stereolojik inceleme sonuçları (Ortalama  $\pm$  SS) (mm<sup>3</sup>)

GRUPLAR	Yeni Kemik Dokusu	Bağ Dokusu	Yeni Damar
D <sup>-</sup> E <sup>-</sup>	1,41 $\pm$ 0,16	1,17 $\pm$ 0,23	0,25 $\pm$ 0,04
D <sup>-</sup> E <sup>+</sup>	1,81 $\pm$ 0,06	1,87 $\pm$ 0,10	0,85 $\pm$ 0,10
D <sup>+</sup> E <sup>-</sup>	1,73 $\pm$ 0,18	1,81 $\pm$ 0,25	0,38 $\pm$ 0,74
D <sup>+</sup> E <sup>+</sup>	1,84 $\pm$ 0,06	1,58 $\pm$ 0,11	0,41 $\pm$ 0,04

**Tablo 16.** 8 haftalık AL gruplarının stereolojik inceleme sonuçları (Ortalama  $\pm$  SS) (mm<sup>3</sup>)

GRUPLAR	Yeni Kemik Dokusu	Bağ Dokusu	Yeni Damar
D <sup>-</sup> E <sup>-</sup>	1,55 $\pm$ 0,13	1,50 $\pm$ 0,09	0,30 $\pm$ 0,05
D <sup>-</sup> E <sup>+</sup>	1,77 $\pm$ 0,10	1,64 $\pm$ 0,17	0,37 $\pm$ 0,02
D <sup>+</sup> E <sup>-</sup>	1,73 $\pm$ 0,09	2,34 $\pm$ 0,13	0,53 $\pm$ 0,03
D <sup>+</sup> E <sup>+</sup>	1,84 $\pm$ 0,28	1,80 $\pm$ 0,28	0,41 $\pm$ 0,08

### Yeni Kemik Dokusu Hacmi

4 haftalık gruplar içinde D<sup>-</sup>E<sup>-</sup> grubu ile D<sup>-</sup>E<sup>+</sup> ve D<sup>+</sup>E<sup>+</sup> grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (p<0,05).

Tüm gruplar içinde 4D<sup>-</sup>E<sup>-</sup> grubu ile 8D<sup>+</sup>E<sup>+</sup> ve 8D<sup>-</sup>E<sup>+</sup> grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi (p<0,05).



### Bağ Dokusu Hacmi

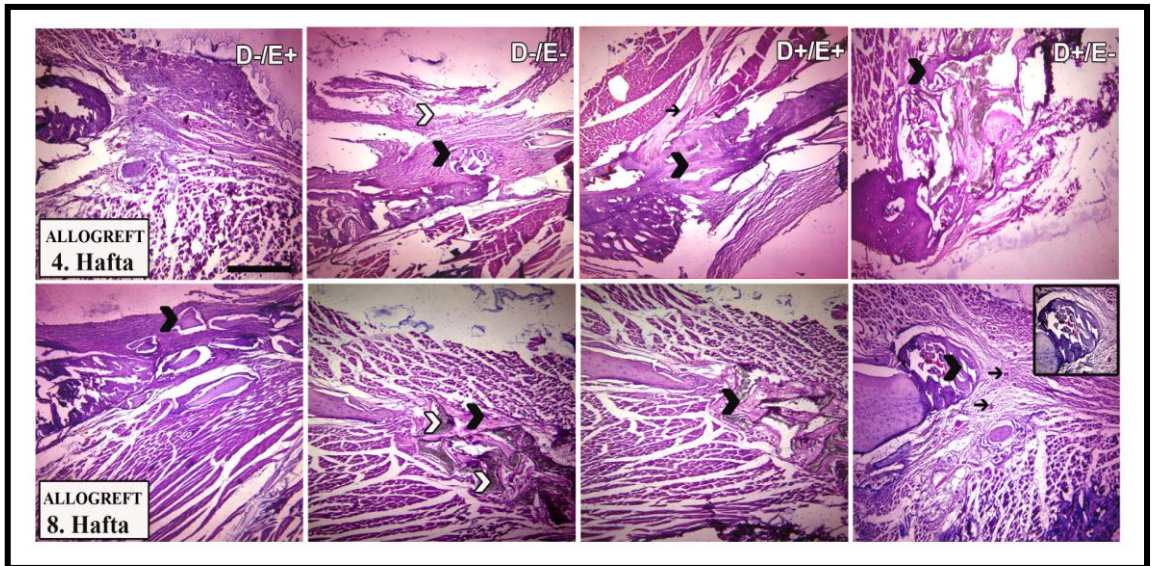
4 haftalık gruplar içinde  $D^-E^-$  grubu ile  $D^+E^+$  ve  $D^+E^-$  grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ( $p<0,05$ ). 8 haftalık gruplar içerisinde  $D^+E^-$  grubu ile diğer gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ( $p<0,05$ ).

Tüm gruplar içinde  $4D^+E^+$  grubu ile  $8D^+E^-$  grubu arasındaki farkın ve  $4D^-E^-$  grubu ile  $8D^+E^+$  ve  $8D^+E^-$  grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ( $p<0,05$ ).

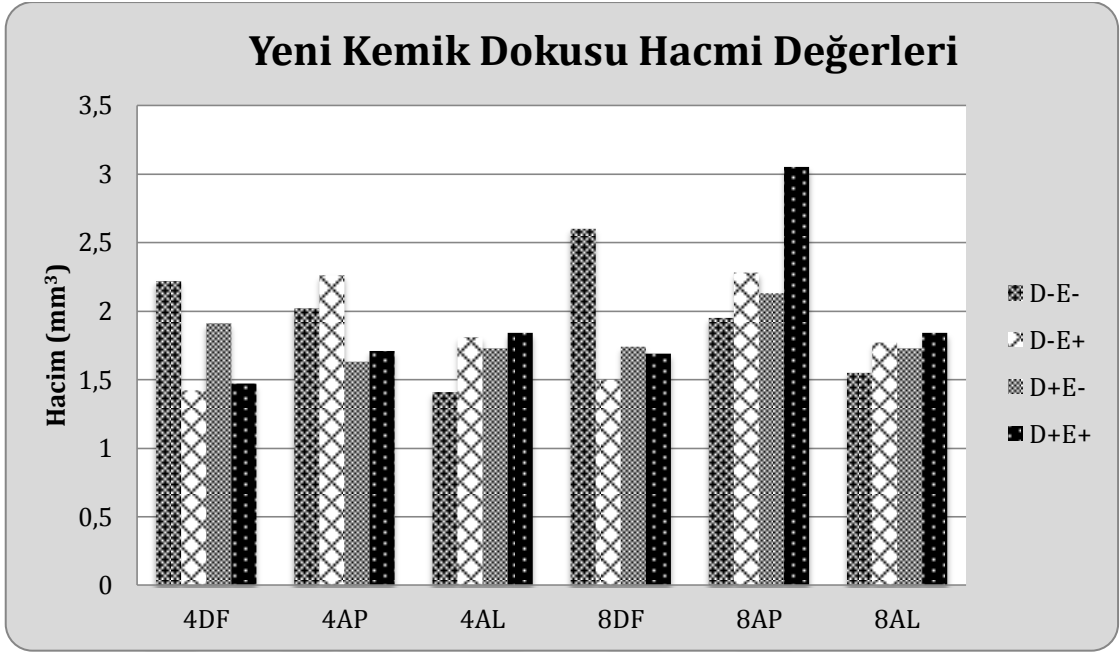
### Yeni Damarlanma Hacmi

4 haftalık gruplar içinde  $D^-E^+$  grubu ile diğer gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ( $p<0,05$ ).

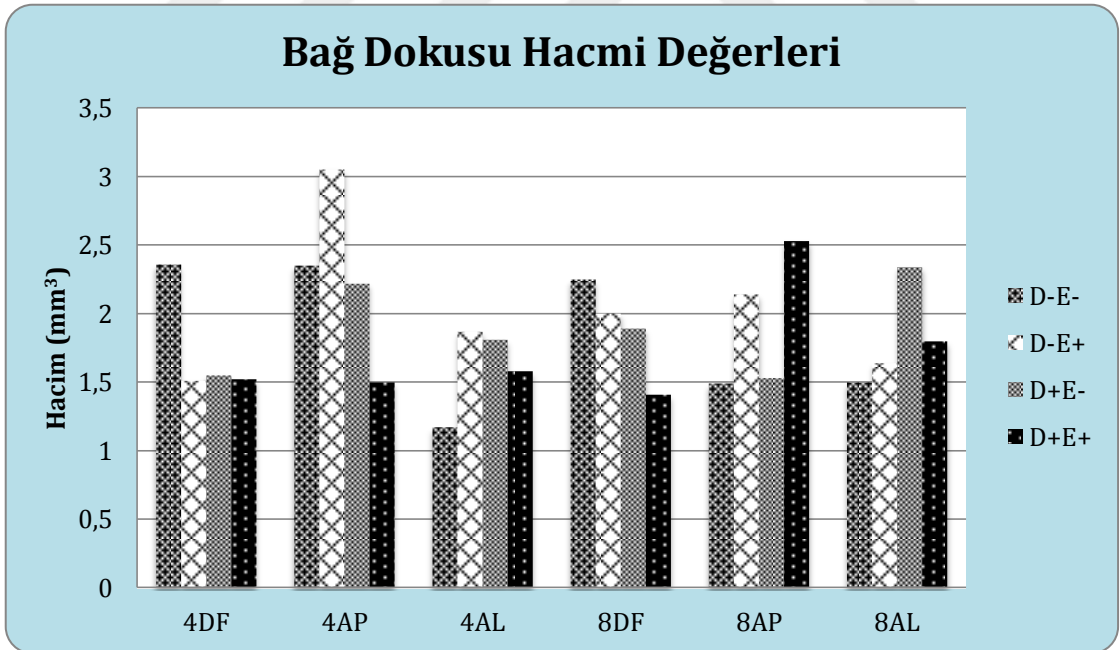
Tüm gruplar içinde  $4D^-E^+$  grubu ile tüm 8 haftalık gruplar arasındaki farkın ve  $4D^-E^-$  ile  $8D^+E^-$  grubu arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ( $p<0,05$ ).



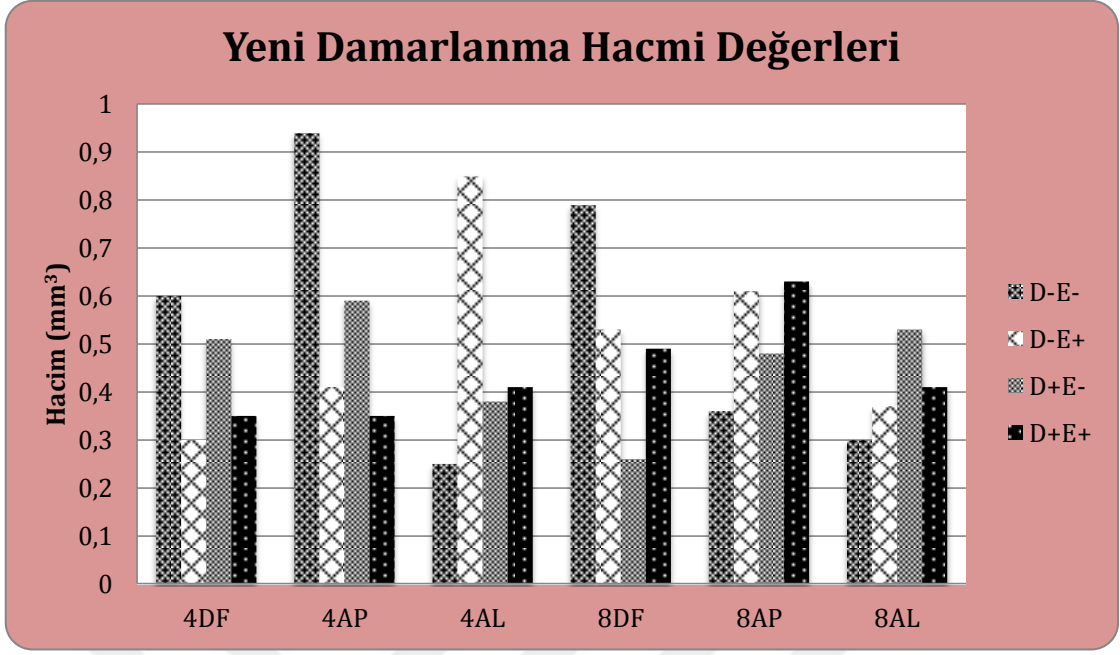
**Şekil 32.** AL gruplarından 4. ve 8. haftasında elde edilen kesitlerin histolojik görüntüsü. Siyah ok başı  $\times 4$ 'lük büyütmedeki resimlerde yeni kemik alanlarını gösterirken, beyaz ok başı ise greft materyalini göstermektedir. Siyah oklar ise damarlanma alanlarını işaret etmektedir. Bununla birlikte  $\times 10$ 'luk objektifle çekilmiş panoramik görüntüde oluşan yeni kemik alanları gösterilmiştir. İ: İnfiltrasyon alanı. Bd: Bağ doku. Bar: 250  $\mu\text{m}$ , boyama: hematoxilen-eozin



Şekil 33. Tüm gruplardaki stereolojik inceleme sonuçlarına göre yeni kemik dokusu hacmi değerleri



Şekil 34. Stereolojik inceleme sonuçlarına göre tüm gruplardaki bağ dokusu hacmi değerleri



Şekil 35: Stereolojik inceleme sonuçlarına göre tüm gruplardaki yeni damarlanma hacmi değerleri

## 5. TARTIŞMA

Travma, patolojik durumlar, konjenital hastalıklar ve rezeksiyon gibi birtakım cerrahi prosedürlere bağlı olarak maksillofasiyal bölgede kemik defektleri meydana gelebilmektedir (Gallego ve ark., 2010; Das ve ark., 2013). Kemik bu defektleri tamamen onarabilen ve yenileyebilen benzersiz bir dokudur (Junqueira ve ark., 2003). Ancak bu onarılabilme özelliği lokal ve sistemik bir çok durumdan etkilenebilmektedir. Kemik metabolizmasında bozulmalara neden olan Diabetes Mellitus bu sistemik durumlardan birisidir (Leidig-Bruckner ve Ziegler, 2001). Kemik dokusunda meydana gelen kaybın oranı veya miktarı da kemik rejenerasyonunu doğrudan etkileyen bir faktördür. Özellikle fizyolojik onarım kapasitesini aşan boyutlardaki kemik kayıpları dokunun fibröz doku ile iyileşmesine ya da iyileşmemesine neden olmaktadır (Ekaterina ve ark., 2012). Bu nedenle oral ve maksillofasiyal bölgedeki büyük kemik defeklerinde kemik rejenerasyonunu sağlamak böylece çiğneme, yutma, nefes alma gibi temel fonksiyonları hızlı bir şekilde geriye kazanmak ve estetik problemleri hızlı bir şekilde düzeltmek amacıyla kemik yerine geçebilen biyomateryaller, doku mühendisliği ürünleri (yapı iskeleleri vb.), farklı kimyasal ve fiziksel biyostimülatif yöntemler kullanılmaktadır (Finkemeier, 2002; Park ve ark., 2003; Pinheiro ve ark., 2006; Torres ve ark., 2008; Gallego ve ark., 2010; Das ve ark., 2013).

Kemik defektlerinin onarılmasında greft materyalleri olarak başta altın standart olarak kabul edilen otojen greftler olmak üzere, allogreftler, ksenograftler, alloplastlar ve kompozit greftler kullanılmakta iken biyostimülatif yöntemler olarak büyüme faktörleri, hormonlar, ultrason, lazer, elektromanyetik ve elektriksel uyarımlar, hiperbarik oksijen tedavisi gibi uygulamalar kullanılmaktadır (Buser ve ark., 1998; Lind ve ark., 2001; Finkemeier, 2002; Almeida ve ark., 2007; Grunert ve ark., 2014; Hu ve ark., 2014; Grassmann ve ark., 2015; Zhu ve ark., 2015). Yapılan araştırmalarda biyostimülatif yöntemlerin kemik greftleriyle beraber kullanımlarının greftlerin sahip oldukları dezavantajların giderilmesi, doku iyileşmesini hızlandırması ve greftlerin daha kontrollü bir şekilde rezorbe olup yerini yeni kemik dokusuna bırakması açısından olumlu etki oluşturduğu rapor edilmektedir (Akiyama ve ark., 2014; Cunha ve ark., 2014; Santana ve ark., 2015). Böylece büyük boyutlardaki kemik dokusu kayıplarında ve kemik metabolizmasının bozulduğu durumlarda rejenerasyonun daha iyi ve daha

hızlı sağlanması ile birçok kişinin hayat kalitesinde dikkate değer şekilde artış meydana geleceği düşünülmektedir.

Bu araştırmada kas-iskelet sisteminde biyostimülatif etkisi kanıtlanmış olan ESWT'nin diyabetli ve diyabetli olmayan deneklerde boş kemik defekti, seramik greft uygulanmış kemik defekti ve insan kaynaklı kemik grefti uygulanmış kemik defekti iyileşmesine olan etkisinin deneysel olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Kemik rejenerasyonunun biyolojisi farklı türler arasında ve hatta aynı türdeki canlılar arasında bile farklılık gösterebilmektedir. Bu nedenle en uygun deneysel çalışmanın insanlar üzerinde yapılması gerektiği aşıkardır. Ancak etkisinin tam olarak kanıtlanmadığı biyostimülatif bir yöntemin ya da biyomateryalin insan üzerinde uygulanması etik problemleri beraberinde getirmektedir. Hücre ya da doku kültür çalışmaları ise, biyomateryallerin toksik/zararlı etkisini ya da biyolojik aktivitesini göstermede ve moleküler etkileşimlerin yoğun bir şekilde görüldüğü doğal biyolojik ortamları tam olarak taklit etmede tek başlarına yetersiz kalmaktadır. Bu nedenlerle kemik defektlerinde yeni bir rejeneratif metodun ya da materyalin etkisinin hayvan modellerinde araştırılması en uygun yöntem olmaktadır (Sumner ve ark., 2001; Schortinghuis ve ark., 2003; Pellegrini ve ark., 2009). Klinik uygulamaları mükemmel bir şekilde taklit edebilen bir hayvan modeli bulunmamaktadır. Buna rağmen deneysel hayvan modelleri defektin standardize edilebilmesi, düşük maliyetli olması, sonuçların tekrarlanabilir olması, deneyin idare edilebilirliği ve minimal etik problemler içermesi gibi bir takım avantajlara sahiptir (Kim ve ark., 2013a; Stavropoulos ve ark., 2015). Hayvan deney modellerinin sahip olduğu bu avantajlardan ve çalışmamızı planladığımız zaman içerisinde ESWT'nin çene kemiklerinde uygulandığı klinik bir çalışma olmadığından dolayı araştırmamızın hayvan modellerinde yapılması uygun görülmüştür.

Hangi tür deney hayvanının deney modeli açısından daha yararlı olduğu hususunda çeşitli faktörler rol almaktadır (Kim ve Kim, 2013a). Literatüre bakıldığında kemik iyileşmesi üzerine farklı yöntemlerin etkilerinin araştırıldığı bir çok çalışmada denek olarak ratlar kullanılmıştır (Ekaterina ve ark., 2012; Chin ve ark., 2013). Kemirgenlerden olan ratların anatomik olarak insandan farklı yapıda bulunması, küçük yapılarından dolayı kemik cerrahisi işlemlerinin uygulanma zorluğu gibi bazı

dezavantajları bulunmaktadır (Sengupta, 2013). Bununla birlikte ratlar arasındaki fiziksel, patofizyolojik ve genetik özelliklerin birbirine yakın olması, bakım ve barınma kolaylığı, kolay elde edilebilirliği, düşük maliyetli olması, cerrahi işlemlere dayanıklı olması, büyük deney hayvanlarına göre daha az komplikasyon görülmesi, cerrahi işlemlerin toplamda daha kısa sürede yapılabilmesi, enfeksiyona ve hastalıklara dirençli olmaları ve üstün doku rejenerasyon kapasitelerinin olması gibi avantajlara sahiptir (Egermann ve ark., 2005; Bigi ve ark., 2011; Gomes ve ark., 2011). Belirtilen avantajları taşımasından dolayı çalışmamızın deney modeli Wistar cinsi ratlar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda kullanılan 120 adet ratın cinsiyeti, yaşları, ağırlıkları, defektin tipi ve yeri standardize edilmiştir. Bir araştırmada Wistar cinsi ratların ortalama 6-7 hafta içerisinde seksüel olgunluğa eriştiği, 10-12 hafta içerisinde ise genç erişkinliğe ulaştığı belirtilmektedir (Sengupta, 2013). Aktif kemik büyümesinin görülmemesi ve insanlardakine benzer şekilde yalnızca remodeling sürecinin izlenmesi nedeniyle (Altuntas ve ark., 2012) araştırmamızda seksüel olgunluğa ve kas-iskelet sistemi erginliğine sahip en az 12 haftalık ve 270-300 gr ağırlığında olan erişkin ratlar tercih edilmiştir. Araştırmacılar puberte dönemindeki dişi laboratuvar deneklerinde östrojen seviyesindeki artışın kemik rejenerasyonunu engellediğini belirtmişlerdir (Yingling ve ark., 2009). Bu nedenle çalışmamızda kemik iyileşmesinde etkili olabilecek faktörleri en aza indirmek amacıyla erkek erişkin rat kullanılması uygun görülmüştür.

DM neticesinde meydana gelen metabolik değişiklikler sonrasında kemik dokunun makroskopik yapısında, kortikal ve kansellöz komponentlerinde ve organik/inorganik maddelerinde etkilenmeler meydana gelir (Korres ve ark., 2013). Yapılan klinik ve deneysel çalışmalar DM neticesinde kemik fizyolojisinde bozulmalara neden olan moleküler ve hücrel değişikliklerin meydana geldiğini ortaya koymuştur (Armas ve ark., 2012). Diyabet neticesinde meydana gelen bu değişikliklerin mekanizması halen tam olarak anlaşılamamıştır. Shyng ve ark. (2001) kemikteki değişimlerin diyabetin ya direk neden olduğu hiperglisemi neticesinde ya da uzun dönemde vasküler yapılar üzerinde etkili olması sonucunda meydana geldiğini bildirmişlerdir. Yapılan bir hayvan çalışmasında DM neticesinde kortikal kemik yapımında durma olduğu, trabeküler kemikte kayıp meydana geldiği ve kemik mineral yoğunluğunda azalma olduğu gösterilmiştir (Silva ve ark., 2009). Ward ve ark. (2001) STZ uygulanmış ratlarda böbreklerden atılan kalsiyum miktarında artma ve kemik oluşum

markırlarından olan osteokalsin miktarında %53 oranında azalma meydana geldiğini göstermişlerdir. Tip 1 DM’de kemik kaybının patolojisi ve mekanizmasının araştırıldığı bir çalışmada osteoblast farklılaşmasında azalma ve kemik iliğinde yağlanma meydana geldiği, bu nedenle osteojenik kapasitenin azaldığı bildirilmektedir (McCabe, 2007). Diyabetik ratlardaki kemik defektlerinin iyileşmesinin kemik döngüsündeki ve osteoblast aktivitesindeki azalma (Verhaeghe ve ark., 1994; Ward ve ark., 2001; Abbassy ve ark., 2010), kollojen oluşumundaki aksaklıklar, damarların bazal membranlarındaki incelmeler, doku savunma sisteminin bozulması ve bakteriyel invazyonların görülmesi neticesinde bozulduğu bildirilmiştir (Mattson ve ark., 1998). Bu çalışmada ESWT’nin kontrol altında olmayan diyabetik deneklerde meydana getirilen kemik defektlerindeki iyileşmenin üzerine etkileri araştırılmıştır.

Kemik dokusu iyileşmelerinin incelendiği deneysel çalışmalarda spontan diyabet (Picke ve ark., 2015) ya da kimyasal ile indüklenmiş diyabet modeli (Ward ve ark., 2001) kullanılmaktadır. Deney hayvanlarında Tip 1 DM modelinin oluşturulması için sıklıkla streptozotosin ve alloxan kullanılmaktadır (Maia ve ark., 2014; Kim ve ark., 2015c; Rybaczek ve ark., 2015). STZ’nin yaygın olarak kullanılması, alloxana göre  $\beta$  hücreleri dışındaki yapılara daha az zarar vermesi, daha uzun yarılanma ömrü olması, daha uzun süre hiperglisemi meydana getirmesi, daha az oranda ketozise ve mortaliteye neden olduğundan olması gibi nedenlerle (Lenzen, 2008; Chatzigeorgiou ve ark., 2009) çalışmamızda STZ tercih edilmiştir.

STZ (2-Deoxy-2-([(methylnitrosoamino)carbonyl]amino)-D-glucopyranose) Streptomyces achromogenes gram pozitif bakterisi tarafından üretilen antineoplastik özellikli bir antibiyotiktir (Bell ve ark., 1983; Szkudelski, 2001). Pankreasta DNA üzerine etki ederek  $\beta$  hücrelerinde nekroza neden olur. Bu toksik etkisi dışında ayrıca glikoreseptörlere de bağlandığı için glikoz artışı ile uyarılan insülin salınımını da engeller. Işıktan korunarak  $-20^{\circ}\text{C}$ ’de saklanmalıdır. 4-4,5 ph’da en dengeli durumdadır. Bu nedenle genellikle pH’sı 4 olan sitrat tamponu içinde çözdürülerek yine ışıktan korunarak hızlı bir şekilde uygulanır. Wistar ratlarında diyabetik model oluşturmak için STZ kullanılan çalışmalarda farklı dozlarda uygulamalar görülmektedir (Kidder ve ark., 2009; Pari ve ark., 2009; Jin ve ark., 2010). Bu amaçla STZ genellikle 40-80 mg/kg

dozunda i.v, i.p, i.m ya da s.c uygulanmaktadır (Szkudelski, 2001; İrer ve ark., 2004; Karaoğlu, 2012; Korres ve ark., 2013).

Çalışmamızda komplikasyon riskini azaltmak ve diğer organları toksik etkiden korumak amacıyla tek doz uygulama için yeterli olan minimum doz (50 mg/kg) uygulanmıştır. STZ uygulamasını takiben gerçekleştirilen serum glikoz seviyesinin 180-500 mg/dl olması diyabetik modelin gerçekleştiğini göstermektedir (Etuk, 2010). Yapılan çalışmalarda çoğunlukla 250 mg/dl değerinin üzerindeki kan şekeri düzeyine sahip ratların çalışmaya dahil edildiği bildirilmiştir (Lungkaphin ve ark., 2014; Mirazi ve ark., 2014; Oghbaei ve ark., 2015). Bu yaygın görüşten dolayı çalışmamıza 250 mg/dl üzerinde kan glikoz seviyesi bulunan ratlar dahil edilmiştir.

Çalışmamız süresinde anestezi komplikasyonu olarak 1 hayvan kaybedilmiştir. Bunun dışında diyabetik model oluşturulan deneklerden 10 tanesi takip süresi boyunca farklı zaman dilimlerinde hayatını kaybetmiştir. STZ'nin karaciğer, böbrek ve pankreas gibi hayati organlar üzerinde toksik etkiye neden olması, hayvanların kilo kaybetmesi ve dolayısı ile meydana gelen direnç düşüklüğü gibi nedenlerle deney hayvanlarında ölüme neden olduğu düşünülmektedir.

Operasyon öncesinde ve sakrifikasyon zamanı ağırlıkları ölçülen deneklerin durumları değerlendirildiğinde diyabetik olmayan hayvanların normal beslenmesine devam ettiği ve kilo kaybı yaşamadığı, ancak diyabetik gruplarda zamanla birlikte kilo kaybı yaşandığı görülmüştür. Kilo kaybı Diabetes Mellitus'un bir komplikasyonu olarak katabolizmanın artması ve hipovolemi sonucunda meydana gelir. İnsülin eksikliğinden dolayı glikozun hücreler tarafından kullanımı bozulduğu için yağ ve protein yıkımı meydana gelir. Böylece kilo kaybı oluşur. (Cinaz, 2013; Usher-Smith ve ark., 2015). Çalışmamızdaki diyabetik hayvanlarda bu nedenlerle kilo kaybı yaşandığı düşünülmektedir.

Streptozotosin uygulamasından sonra kalıcı kan glikoz seviyesinin oluşması ve bu durumun kemik metabolizmasına olan etkisinin ortaya çıkması için belli bir süre beklenilmesi gerekmektedir. STZ uygulamasından 4 hafta sonra tibia, femur ve vertebradaki trabeküler kemik durumunun histomorfometri ve mikro bilgisayarlı tomografi ile analiz edildiği çalışmalarda yaklaşık olarak %50 oranında azalma



meydana geldiği doğrulanmıştır (Locatto ve ark., 1993; Waud ve ark., 1994; Botolin ve ark., 2005; Martin ve ark., 2007). Abbassy ve ark. (2010) yapmış oldukları bir çalışmada STZ enjeksiyonunu takiben 28 gün sonra mandibula molar bölgedeki kemik kalsifikasyonu ve kemik oluşumunda anlamlı derecede azalma meydana geldiğini belirtmişlerdir. Shyng ve ark. (2010) STZ enjeksiyonu ile diyabetik model oluşturdukları çalışmalarında diş çekimlerini gerçekleştirmek için enjeksiyonu takiben 3 hafta süreyle beklemişlerdir. Abdi ve ark. (2009) tibialarda gerçekleştirdikleri osteotomileri STZ uygulamasından 30 gün sonra yaptıklarını belirtmişlerdir. Alkan ve ark. (2002) diyabetik rat modelinde tibia defektleri oluşturdukları çalışmalarında STZ enjeksiyonunu takiben diyabetin kronik etkilerinin oluşması için 6 hafta, Akyol ve ark. (2010) ise femur üzerinde yaptıkları çalışmada 2 ay süreyle beklemişlerdir. Kemik metabolizmasındaki bozukluklar diyabetin kronik safhasında ortaya çıktığı için çalışmamızda cerrahi işlemlerden önce ve STZ enjeksiyonundan sonra 5 hafta bekleme süresi bırakılmıştır.

Biyostimülatif bir yöntemin ya da bir biyomateryalin kemik rejenerasyonuna olan etkisinin incelenebilmesi için kemik defektinin deney amacına uygun boyutlarda yani spontan olarak iyileşemeyecek boyutlarda olması gerekmektedir. Aksi durumda kemik dokusu kendisini onarabilecektir. Kritik boyutlu kemik defekti herhangi bir biyomateryal ya da bir biyostimülatif yöntem uygulanmadan şekil ve fonksiyon olarak hayat boyu iyileşme ihtimali olmayan en kk boyuttaki kemik hasarıdır (Schmitz ve ark., 1986; Hollinger ve Kleinschmidt, 1990; Aaboe ve ark., 1995; Stavropoulos ve ark., 2015). Kritik boyutlu kemik defektlerinin sahip olması gereken özellikler, hayvanın cinsine, yaşına, defektin büyüklüğüne ve yerine bağlı olarak değişebilmektedir (Schmitz ve Hollinger, 1986; Kim ve Kim, 2013a). Ratlarda kritik boyutlu kemik defektleri kalvaryum, mandibula, zigoma, maksilla, femur, tibia, radius ve ulna gibi kemiklerde oluşturulabilmektedir (Kim ve Kim, 2013a; Stavropoulos ve ark., 2015). Mandibula kraniofasiyal bölgede yer alan, sahip olduğu gelişim ve iyileşme özelliği ile eşsiz bir kemiktir (Saadeh ve ark., 2001). Kritik boyutlu kemik defektlerindeki rejenerasyonun araştırıldığı birçok çalışmada mandibula kullanılmıştır (Schortinghuis ve ark., 2003; Gallego ve ark., 2010). Ancak rat mandibulasında dişlerin ve diş köklerinin varlığından dolayı kritik boyutlu kemik defekti oluşturulabilecek bölge çok yetersizdir. Bu yüzden yalnızca mandibula ramusun angulus bölgesinde oluşturulabilmektedir. Mandibula

ramustaki kritik boyutlu kemik defekti 16-24 hafta içinde kendi kendine iyileşmeyen, mandibula alt kenarı ve ramus arka kenarından en az 1 mm uzaklıkta, en az 4 mm çapında (4-7 mm), daire şeklinde tam kalınlıktaki bikortikal defekt olarak tanımlanmaktadır (Kaban ve ark., 1979; Saadeh ve ark., 2001; Park ve ark., 2003; Schortinghuis ve ark., 2003; Chin ve ark., 2013; Das ve ark., 2013). Rat mandibulalarında oluşturulan kritik boyutlu kemik defektlerinde kemik greftleri, membranlar ve birtakım biyostimülatif yöntemlerin rejenerasyon üzerine etkileri birçok araştırmaya konu olmuştur (Lorente ve ark., 1992; Sandberg ve ark., 1993; Hedner ve ark., 1995; Alden ve ark., 2000; Arosarena ve ark., 2003b; Donos ve ark., 2005; Hirota ve ark., 2009). Oral ve maksillofasiyal uygulamaları yakinen taklit edebilmek, aynı kemikleşme mekanizmasındaki kemik dokuyu kullanmak ve ESWT'nin çene kemiklerindeki etkisini araştırmak amacıyla operasyon bölgesi olarak mandibula tercih edilmiştir. Bigi ve ark. (2011) mandibulada intramembranöz kemikleşme ile meydana gelen birçok bölge bulunduğunu ve bu bölgelerin kıkırdak, sement, dentin ve periodontal ligament gibi dokuların bulunmadığı bölgeler olduğunu vurgulamıştır. Bu nedenle çalışmamızda diş ve diş köklerinden uzak bir bölge olan ve intramembranöz kemikleşme ile oluşan sağ mandibula angulus bölgesinde dış çapı 4 mm olan trefin frezler kullanılarak bikortikal kemik defektleri meydana getirilmiştir. Komplikasyon riskini en alt seviyede tutmak amacıyla mandibulada oluşturulabilen en küçük kritik boyutlu kemik defekt modeli tercih edilmiştir. Deney protokolünde belirtildiği üzere oluşturulan defektlere bir grupta bifazik kalsiyum fosfat greft materyali ve diğer gruba dondurulmuş-kurutulmuş, mineralize kortikal ve kansellöz kemik karışımı olan allogreft yerleştirilmiştir.

Otojen greftler hastalık taşıma riskinin bulunmaması ve sahip olduğu osteoindüktif, osteokondüktif ve osteojenik özellikler ile ideal kemik greft materyali olsa da sınırlı elde edilişi, ikinci cerrahi alan oluşturma gerekliliği, genellikle hastalar tarafından istenmeyişi, ağrıya ve kan kaybına neden olması, enfeksiyon riskini artırması, ekstra zaman ve maliyete neden olması gibi dezavantajlara sahiptir (Gazdag ve ark., 1995; Moore ve ark., 2001). Bundan dolayı farklı tür greft materyallerinin kullanımı ön plana çıkmaktadır. Günümüzde doku mühendisliği ilgisini sentetik materyallerden doğal ve fonksiyonel kemik dokusu oluşturmaya yoğunlaştırmıştır (Kim ve Kim, 2013a; Stavropoulos ve ark., 2015). Allogreftler ve alloplastlar bu nedenlerle

otojen kemik yerine ya da otojen greftlerle birlikte birçok vakada kullanılmaktadır (Nandi ve ark., 2010).

Allogreftler aynı türdeki farklı bir canlıdan elde edilen ve yakın zamana kadar otojen greftlerden sonra en sık kullanılan greft materyalleridir. İmmün reaksiyonlara neden olmasını engellemek için bir takım işlemlerden geçirilmesi osteoindüksiyon özelliklerinin zayıflamasına neden olduğundan dolayı kullanımı eskiye oranla azalmıştır (Gazdag ve ark., 1995; Greenwald ve ark., 2001). Mineralize ya da demineralize özellikte olabildikleri gibi kortikal, kansellöz ya da kortiko-kansellöz yapıda hazırlanabilmektedirler (Nandi ve ark., 2010; Lafzi ve ark., 2015). Yapılan çalışmalarda hem kortikal hem de kansellöz kemik özelliklerini taşıması ve osteokondüktif/osteoinduktif özelliğinden dolayı kortikal-kansellöz kemik karışımı greftler maksillofasial cerrahide başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Gapski ve ark., 2008; Avila ve ark., 2010a; Avila ve ark., 2010b). Düşük olarak immün reaksiyona yol açma ihtimali ve hastalık taşıma riski bulunmaktadır (Parikh, 2002; Kocabey ve ark., 2004; Rokn ve ark., 2011). Çalışmamızın deney protokolündeki bir grupta kortikal/kansellöz kemik parçaları karışımından oluşan, doğal kemikteki kalsiyum/fosfat oranına yakın bir orana sahip mineralize dondurulmuş-kurutulmuş insan kaynaklı kemik greft materyali olan Mineross kullanılmıştır. Başarılı bir osteokondüktif özelliğe sahiptir. Partikül boyutları 600-1250 mikron arasında değişmektedir. Hem kortikal hem de kansellöz kemiğin sahip olduğu avantajları bir arada barındırır. Alveolar ve sinüs ogmentasyonu, çekim soketi greftleme, periodontal defekt, immedat implantasyon gibi vakalarda kullanım endikasyonu bulunmaktadır. Mineross greft materyali sterilizasyonu sırasında düşük doz gamma radyasyonuna maruz kaldığı için biyolojik ve mekaniksel özellikleri hasara uğramaz. Bu nedenle yazarlar osteoinduktif etkisinin kaybolmadığını belirtmişlerdir (Gapski ve ark., 2008; Greenspan, 2012).

Allogreftlerin ve otogreftlerin sahip olduğu dezavantajlardan dolayı sentetik greftlerin kullanımı gün geçtikçe artmıştır. Sentetik greft materyallerinden en sık kullanılanları kemik yapısını taklit etmesinden dolayı kalsiyum fosfat esaslı olan TCP ve HA gibi biyoseramiklerdir (Arosarena ve ark., 2003a; Frenken ve ark., 2010; Campana ve ark., 2014). TCP hızlı rezorbe olabilir, biyouyumlu, osteokondüktif ve porözlü bir yapıya sahiptir. Ancak uygulandıkları bölgede dış kuvvetlere karşı

dirençsizdirler ve kırılındırlar. Rezorbsiyon hızları kemiğin rejenere olma hızından daha fazladır (Nasr ve ark., 1999; Frenken ve ark., 2010). HA greftleri ise uzun süreler boyunca değişmeden uygulandıkları bölgede kalabilmektedirler (Arosarena ve Collins, 2003a). Basınca karşı çok dirençlidirler. Çok sert ve kırılğan bir yapıya sahiptirler. Biyouyumludur ve toksik etki oluşturmazlar (Moore ve ark., 2001; Frenken ve ark., 2010). Bu her iki sentetik greftin avantajlarını birarada toplamak, dezavantajlarını elimine etmek ve ideal bir greft materyali oluşturmak amacıyla HA ve  $\beta$ -TCP'den oluşan osteoindüktif ve osteokondüktif özellikli bifazik kalsiyum fosfat seramikleri üretilmiştir (Farina ve ark., 2008; Paknejad ve ark., 2008). BCP'nin kritik boyutlu kemik defektlerinde kemik oluşumunu hızlandırdığı hem insan hem de hayvan deneylerinde gösterilmiştir (Boix ve ark., 2004; Jensen ve ark., 2007; Frenken ve ark., 2010). Sinüs lift uygulamasında kullanılan BCP greftinin uygulandıktan 6 ay sonra trabeküler yapıdaki yeni kemik oluşumunu sağladığı bildirilmiştir (Frenken ve ark., 2010). Escobar ve ark. (2014) ratların parietal kemiklerindeki defektlere BCP'nin uygulandıkları çalışmalarında deney grubunda kontrol grubuna göre daha fazla oranda yeni kemik dokusu tespit etmişlerdir. Ancak farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını vurgulamışlardır (Escobar ve ark., 2014). Jafarian ve ark. (2008) bifazik kalsiyum fosfat greftlerinin geleneksel greftlere göre daha fazla kemik oluşumu sağladığını bildirilmişlerdir. Bu nedenlerle çalışmamızda, çözünürlüğünün ve kemik oluşturma kapasitesinin artırılması amacıyla oluşturulmuş ve son günlerde kullanılabilirliği gittikçe artan bifazik kalsiyum fosfat seramik grefti (Bone Ceramic) kullanılmıştır. Tamamen sentetik yapıda olan bu greft materyali osteokondüktif özelliktedir. Greft BCP yapısında olup %60 oranında yavaş rezorbe olarak mekanik destek sağlayan ve hacim oluşturan hidroksiapatitten ve %40 oranında hızlı rezorbe olarak kemik mineralizasyonu için kaynak oluşturan  $\beta$ -TCP'den oluşmaktadır. Kolay ıslanabilirlik ve kolay kullanılabilirlik gibi özellikleri bulunan Bone Ceramic yüksek oranda (%90) poröz ve üç boyutlu bir yapıya sahiptir. Bu nedenlerle maksillofasiyal cerrahide birçok bölgede kullanım alanı bulunmaktadır. Özellikle alveolar kemikteki defektler, çekim soketleri, maksiller sinüs ve periodontal kemik içi defektler gibi intraoral bölgelerde kullanımı önerilmektedir. Greft materyalleri ve doku iskelelerinin por yapısı doku rejenerasyonu için çok önemlidir. Yüksek poröz yapıdaki biyomateryaller hücre çoğalmasını ve göçünü çok iyi bir şekilde sağlamaktadır (Zeltinger ve ark., 2001).

Çalışmamızda kullanılan Bone Ceramic'in por büyüklüğünün 100-500 um aralığında olması hücrel ve vasküler penetrasyonun başarılı bir şekilde oluşmasını sağlamaktadır (Lecomte ve ark., 2008; Rokn ve ark., 2011). Kemik rejenerasyonundaki bu avantajlarından dolayı çalışmamızın bir grubunda greft materyali olarak tercih edilmiştir.

Kemik iyileşmesinin incelendiği çalışmalarda, genellikle 4 haftaya kadar takip süresinin belirlendiği çalışmalarda erken dönem ve 8 haftaya kadar belirlenenlerde ise geç dönem iyileşme bulgularının araştırılması amaçlanmıştır (Li ve ark., 2012; Stavropoulos ve ark., 2015). Ekaterina ve ark. (2012) rat kalvaryalarında oluşturdukları ve 3 farklı ksenogreft uyguladıkları kritik boyutlu kemik defektlerinin iyileşmesini cerrahi sonrası 2. hafta ve 8. hafta incelemişlerdir. Ancak 2. hafta incelemelerinde defektin boş bırakıldığı kontrol gruplarında yeni kemik oluşumu olmadığını, defektin bağ dokusu ile dolu olduğunu rapor etmişlerdir. Greft uyguladıkları gruplarda ise yeni kemik oluşumu gözlediklerini bildirmişlerdir. 8. hafta incelemelerinde bütün gruplarda yeni kemik dokusu alanlarında artış olduğu, ancak defektin tümüyle iyileşmediğini belirtmişlerdir. Literatürde farklı süreler belirlenmiş olmasıyla beraber biz çalışmamızda erken dönem bulguların saptamak amacıyla takip süresini 4 hafta olarak belirledik. STZ'nin toksik bir ilaç olmasından ve deney hayvanlarının uzun dönemli hayatta kalımlarını ciddi oranda etkilemesinden dolayı uzun dönem takip süresi 8 hafta olarak belirlenmiştir.

Kemik defektlerinin hızlı bir şekilde rejenerasyonunu sağlamak ve greft materyallerinin kemiğe dönüşümünü hızlandırmak için ve olası komplikasyonları en aza indirmek amacıyla farklı birçok biyostimülatif yöntem uygulanmaktadır (Ebrahimi ve ark., 2012). Bu yöntemler arasında kemik greft materyalleri, doku mühendisliği ürünleri (Skelly ve ark., 2014), hormonlar (Tao ve ark., 2015), kimyasallar (Atalay ve ark., 2015; Kazancıoğlu ve ark., 2015; Yan ve ark., 2015), kök hücreler (Aloise ve ark., 2015; Petridis ve ark., 2015), sitokinler, bifosfonatlar ya da strontium gibi ilaçlar (Cheng ve ark., 2014), büyüme faktörleri (Liu ve ark., 2014), rekombinant büyüme faktörleri (Hogel ve ark., 2014), trombosit zengin plazma veya fibrin (Messora ve ark., 2014), elektrofizyolojik uygulamalar (Muttini ve ark., 2014), düşük yoğunluklu lazer uygulamaları (Nagata ve ark., 2014), ultrason (Bronoosh ve ark., 2015), hiperbarik

oksijen (Kan ve ark., 2015), ozon tedavisi (Kazancioglu ve ark., 2013; Kan ve ark., 2015) ve şok dalgaları (Oktas ve ark., 2014) sayılabilir.

Kim ve ark. 36 rat kalvaryasında yaptıkları bir çalışmada düşük doz bifosfonat ve rekombinant kemik morfogenezik protein 2'nin (rhBMP-2) kemik rejenerasyonu üzerine etkinliğini incelemiş ve bifosfonatla birlikte rhBMP-2'nin kombine uygulamasının osteoblastlardaki RANK-L aktivitesini azaltarak kemik rejenerasyonunda sinerjik etki oluşturduğunu bildirmişlerdir (Kim ve ark., 2015b).

McDaniel ve ark.'nın (2015) tavşanların radiuslarında meydana getirdikleri segmental defektlerin iyileşmesi üzerine yaptıkları çalışmalarında demineralize kemik matriksi ya da kollajen/betatrikalsiyum fosfat kompozit grefti içeren doku iskeleleriyle kombine edilen kemik iliği aspirasyonunun etkinliğini değerlendirmişler ve demineralize kemik matriksi içeren doku iskelelerinde anlamlı olarak daha fazla oranda kemik rejenerasyonu görüldüğünü ve kemik iliği aspirasyonu ile kombine uygulamaların kemik defekti iyileşmesinde başarılı bir şekilde kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Li ve ark. (2015) ise aynı defekt modelinde FGF/BMP kombinasyonunun ksenogreftler ile beraber kullanımının defekt iyileşmesini anlamlı derecede artırdığını rapor etmişlerdir.

Tao ve ark. (2015) osteoporotik rat modelinde, sistemik paratroid hormon uygulamasının,  $\beta$ -TCP grefti uygulanmış femur defektlerinin iyileşmesi üzerine olan etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar  $\beta$ -TCP grefti ile paratroid hormonun kombine uygulanmasının kemik iyileşmesine üzerine hem osteoporotik hem de osteoporotik olmayan ratlarda olumlu etkilerini rapor etmişlerdir.

Kan ve ark. (2015) sistemik ozon ve hiperbarik oksijen sinin kalvaryal defektlerin iyileşmesi üzerine etkisini histomorfometrik ve mikrotomografik olarak değerlendirdikleri çalışmalarında her iki uygulamanın da kemik iyileşmesini stimüle edici etkisini göstermiş, kombine uygulamanın ayrı ayrı uygulamaya göre daha fazla bir etkisinin olmadığını hem histolojik hem de radyolojik olarak kanıtlamışlardır.

Son dönemlerde hidrojeller içerisine lokal salınımlı maddelerin eklenmesi ve yara bölgesine uygulanmasıyla doku iyileşmesini stimüle etmeyi amaçlayan metotların

araştırıldığı deneyler yapılmaktadır (Krishnan ve ark., 2015). Yan ve ark. (2015) enjekte edilebilir formdaki hidrojeller içerisinde yerleştirilmiş simvastatinin etkisini in vitro ve in vivo olarak incelemiştir. Simvastatin eklenmiş hidrojellerin kemik defektlerinde yeni kemik oluşumunu daha fazla artırdığı bildirilmiştir.

Sentetik olarak üretilen doku iskeleleri, kritik boyutlu kemik defektlerinin tedavisinde kullanılması ve rejenerasyonu yönlendirmesi açısından birçok araştırmacının ilgisini çekmektedir. Liu ve ark. (2014) ürettikleri üç boyutlu biyoaktif cam doku iskelelerini 10 µm BMP-2 ile beraber rat femurlarında oluşturdukları kritik boyutlu kemik defektlerine uygulamışlar ve yaptıkları mikro-BT incelemeleri sonucunda BMP-2 uyguladıkları doku iskelelerinde BMP-2 uygulamadıkları gruplara göre daha fazla oranda kallus oluşumu meydana geldiğini bildirmişlerdir. Yazarlar lokal olarak BMP-2 salınımı yapan biyoaktif cam doku iskelelerinin büyük boyutlu kemik defektlerinde başarılı bir şekilde uygulanabileceğini bildirmektedir.

Skelly ve ark. (2014) ise yaptıkları histoloji ve mikro-BT incelemeleri sonucunda vankomisin içeren poly2-hydroxyethylmethacrylate-nanocrystalline hydroxyapatite (pHEMA-nHA) sentetik kemik greftinin 3 µg rhBMP-2 ile kombine uygulanması sonucunda rat femurlarındaki 5 mm kritik boyutlu segmental kemik defektlerinde mineralize kallus formunun 12 hafta sonunda büyük oranda oluştuğunu bildirmişler, bu kombinasyonun özellikle enfeksiyona eğilimli büyük boyutlu kemik defektlerinde kullanılabileceğini rapor etmişlerdir.

Atalay ve ark. (2015) Wistar ratlarında tibial defekt modelini oluşturdukları çalışmalarında kalsiyum kanal blokeri olan amlodipin ve büyüme faktörleri içeren PRP'nin etkinliğini incelemiştir. Araştırmacılar hem 21. gün hem de 30. gün sonunda PRP uygulanan gruplarda daha fazla oranda kemik iyileşmesi görüldüğünü bildirmişlerdir. Ayrıca amlodipinin trombosit zengin plazma ile birlikte uygulanmasının en iyi sonucu verdiğini rapor etmişlerdir.

Petridis ve ark. (2015) dental pulpa kaynaklı kök hücrelerini hyaluronik esaslı hidrojel ile birlikte (biyokompleks) rat kalvaryalarındaki 5 mm boyutlu kemik defektlerine uygulamışlardır. 8 hafta sonra yaptıkları histomorfometrik inceleme sonucunda biyokompleks uygulanan gruptaki yeni kemik oluşumun anlamlı olarak daha

fazla olduğunu rapor etmişlerdir. Aloise ve ark. (2015) yaptıkları çalışma sonucunda kemik iliği mezenşimal kök hücreleri ile birlikte otogreft ya da ksenogreft uygulamasının, yalnızca greft uygulamasına göre rekonstrüksiyonda daha etkili olduğunu rapor etmişlerdir.

Zacchetti ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada osteoporotik bir ilaç hammaddesi olan strontium ranelatın kemik defekti iyileşmesi üzerine etkisini incelemişlerdir. 4, 8 ve 12. hafta sonunda sakrifiye edilen ratların tibialarında gerçekleştirilen araştırmada mikro-BT analizleri, strontium ranelat uygulanan gruplarda kontrol gruplarına göre 8. ve 12. haftalarda anlamlı derecede trabeküler kemik miktarında artış meydana geldiğini göstermiştir. Araştırmacılar strontium ranelat uygulamasının hem trabeküler hem kortikal kemikte niceliksel ve niteliksel olarak artış meydana getirdiğini bildirmişlerdir.

Schneppendahl ve ark. (2015) tavşanların radial diyafizlerinde yaptıkları deneysel çalışmalarında meydana getirdikleri defekte otojen greft ve trombosit zengin plazma uygulayarak bunların iyileşmeye olan etkilerini incelemişlerdir. 3 ve 6 hafta takip sürelerinin ardından yaptıkları histomorfometrik ve radyolojik değerlendirme sonuçlarına göre otojen greft ile kombine PRP'nin uygulanması hem kortikal bölgede hem de defektin merkez bölgesinde istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla yeni kemikleşme alanları olduğu bildirilmiştir. Tabrizi ve ark. (2015) ise yaptıkları klinik araştırmada idiopatik kemik kavitelerine PRP uygulamışlar ve herhangi bir madde uygulamadıkları ve yalnızca küretaj yaptıkları kontrol grubuna göre radyolojik değerlendirmede anlamlı derecede oposite farklılığı meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Toker ve ark.'nın (2012) sistemik ve lokal bifosfonatın otojen greftler ile kombine uygulanmasının kemik iyileşmesi üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında tavşanların kalvaryalarında oluşturdukları kemik defektlerinde osteoblast sayısını, lameller kemik oluşumunu ve yeni kemik oluşumunu araştırmışlardır. Cerrahiden 8 hafta sonra sakrifikasyonun gerçekleştirildiği çalışmada otojen greft ile sistemik olarak 8 hafta boyunca günde 0,01 mg/kg alendronat uygulamanın ve 1 mg/mL lokal alendronat uygulamanın kontrol grubuna göre anlamlı derecede yeni kemik oluşumunu artırdığı rapor edilmiştir. Bununla birlikte araştırmacılar lokal ve sistemik uygulama



arasında yeni kemik oluşumu ve toplam kemik miktarı açısından anlamlı bir fark olmadığını bildirmişleridir.

Düşük seviyeli lazer uygulaması, kemik rejenerasyonunu artırmak ve hızlandırmak amacıyla son dönemlerde deneysel çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Düşük seviyeli lazer uygulamasının kemik iyileşmesi sırasındaki osteojenik faktörler üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada deney grubunda 15. gündeki yeni kemik oluşumu, 45. gündeki RUNX-2 salınımı ve 30. gündeki BMP-9 salınımı anlamlı ölçüde fazla olduğu rapor edilmiştir. Araştırmacılar tibial defektlerde düşük seviyeli lazer uygulamasının yeni kemik oluşumunu ve osteojenik faktörlerin salınımını artırdığını bildirmişlerdir (Tim ve ark., 2014).

Diyabetik ratlarda lazerin tibial defekt iyileşmesine fotobiomodülasyon etkisinin incelendiği bir çalışmada ise farklı dozlarda 808 nm Ga-Al-As lazeri kullanılmış, cerrahi sonrası 15. ve 30. günlerde hayvanlardan elde edilen örneklerde histolojik, histomorfometri, immünohistokimya ve biyomekaniksel incelemeler yapılmıştır. Histolojik ve histomorfometrik sonuçlara göre tüm lazer uygulanan gruplarda diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha fazla yeni kemik oluşumu gözlenmiştir. Yazarlar çalışma sonucunda lazerin tüm farklı dozlarının diyabetik kemik iyileşmesini ve osteojenik faktörlerin salınımını artırdığını rapor etmişlerdir (Magri ve ark., 2015).

He ve ark. (2015) düşük yoğunlukta ultrason ve mezenşimal kök hücrelerinin kombine uygulamasının kemik iyileşmesi üzerine olan etkisini deneysel olarak incelemişlerdir. X-ray değerlendirmesi sonucunda kök hücreler ile kombine uygulanan ultrasonun kırık aralığındaki iyileşmeyi stimüle ettiği rapor etmişlerdir. Çalışma sonucuna göre yazarlar düşük yoğunlukta ultrason uygulamasının kök hücre proliferasyonunu sağlayarak kemik iyileşmesini hızlandığını bildirmişlerdir.

Kim ve ark. (2013b) yaptıkları deneysel çalışmada tavşanların mandibulalarında meydana getirdikdikleri segmental defektlere kollajen spanç ve hidrojel içerisnde rh-BMP-2'ye kombine olarak uyguladıkları elektriksel stimülasyonun kemik rejenerasyonu üzerine etkisini incelemişlerdir. 7 gün boyunca uyguladıkları 20  $\mu$ A, 100  $\mu$ s ve 100 Hz değerlerindeki elektriksel stimülasyonun

uygulanmasından 4 hafta sonra histolojik, radyolojik ve mikro-BT analizleri yapmışlardır. Araştırmacılar büyük defektlerde rh-BMP-2 ile birlikte uygulanan elektriksel stimülasyonun yeni kemik oluşumunu anlamlı derecede artırdığını bildirmişlerdir.

Kemik defektlerinin rejenerasyonunu iyileştirmek ve hızlandırmak amacıyla araştırılan yöntemlerden biri de düşük yoğunlukta atımlı ultrason tedavisidir. Hayvan deneylerinde ultrason tedavisinin tibia ve radius kırıklarının iyileşmesini artırdığı rapor edilmiştir (Leung ve ark., 2004). Ancak maksillofasiyal bölgede düşük yoğunluklu atımlı ultrasonun etkisi tartışmalıdır. Schortinghuis ve ark. (2014) ratların mandibulasında yaptıkları çalışmalarında ultrason uygulanan grup ile kontrol grubu arasında defektin kapanması açısından ve ayrıca 15 ve 30 gün sonra yapılan kemik mineral yoğunluğu ölçümlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığını bildirmişlerdir. Yazarlar başka bir çalışmada düşük yoğunlukta atımlı ultrason stimülasyonunun büyük mandibular defektlerde etkili olduğuna dair bir kanıtın olmadığını rapor etmişlerdir (Schortinghuis ve ark., 2005). Buna rağmen mandibular distraksiyon osteogenezisinde kemik rejenerasyonu üzerine pozitif etkili olduğunu bildiren araştırmacılar da mevcuttur (El-Bialy ve ark., 2002). Erdoğan ve ark. (2006) 1.5 MHz yoğunlukta ultrasonun mandibular kırıkların iyileşmesine önemli katkı sağladığını bildirmişleridir. Bronoosh ve ark. (2015) tavşan mandibulalarında ultrason uygulamalarının defekt iyileşmesi üzerine olan etkisini incelemişlerdir. İki farklı grupta 1 ve 3 MHz değerlerinde 2 veya 4 hafta ultrason uygulamasının yapıldığı deneyde stereolojik ve histolojik değerlendirme sonuçlarına göre 4 hafta 3 MHz değerindeki ultrason uygulamasının yeni kemik oluşumunu anlamlı derecede artırdığı, osteoblast ve osteosit sayısında anlamlı derecede artışa neden olduğu bildirilmiştir. Yazarlar ayrıca 3 MHz değerindeki ultrason uygulamasının 4 haftadan daha uzun süre uygulamanın klinik olarak anlamlı değişikliğe yol açmayacağını bildirmişlerdir.

ESWT umut vadeden, araştırılmaya açık, bu zamana kadar farklı hayvan modellerindeki normal kemikte, kırık modellerinde, osteotomiler ve defektler üzerinde etkisinin araştırıldığı ve kliniklerde kas-iskelet sistemindeki birçok hastalığın tedavisinde kullanılan, farklı dokular üzerinde biyostimülatif etkiye sahip yeni bir tedavi metodudur (Wang ve ark., 2001a; 2004a; Hsu ve ark., 2003; Gollwitzer ve ark.,

2013; Romeo ve ark., 2014). ESWT tıpta böbrek ve üretra taşlarının tedavisinde kullanıldığı gibi psödoartrozis, tendinopatiler (Thiel, 2001) ve yara iyileşme problemlerinde de (Schaden ve ark., 2007) kullanılmaktadır. ESWT'nin anjiogenezis, osteogenezis ve revaskülarizasyonu artırdığı, rejyonel kan akımını ve anjiogenik faktörlerin salınımını artırdığı, osteojenik ve mezenşimal hücreleri indüklediği kanıtlanmış olmasına rağmen halen lokal ve sistemik etkileri tam olarak açıklanamamıştır (Kearney ve ark., 2012; Romeo ve ark., 2014). ESWT'nin olumlu etkilerinin bildirilmesine rağmen herhangi bir pozitif etkisinin olmadığını rapor eden araştırmacılar da mevcuttur (Zins ve ark., 2010; Van der Jagt ve ark., 2011). Araştırmacılar ESWT'nin mekaniksel dayanıklılığı azalttığını (Augat ve ark., 1995), kırık iyileşmesini yavaşlattığını (Forriol ve ark., 1994), gecikmiş kemik iyileşmesine (Bulut ve ark., 2006) neden olduğunu bildirmişlerdir.

Literatüre bakıldığında ESWT'nin, kliniklerde ve deneysel çalışmalarda farklı atım sayısında, farklı enerji akış yoğunluğunda ve farklı seans sayısında uygulandığı görülmektedir. Gollwitzer ve ark. (2013) 13 Yeni Zelanda tavşanının arka bacaklarına uyguladıkları ESWT'nin osteogenezis etkisini incelemişlerdir. 4000 atım, 4 bar ve 0,16 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğunda uygulanan radial şok dalgaları bir hafta arayla iki kez uygulanmıştır. 2, 4 ve 6 hafta sonra sakrifikasyon yapılan çalışmada yeni kemik oluşumu florokrom boyama tekniği kullanılarak incelenmiştir. İnceleme sonucunda ESWT uygulanan grupta tüm zamanlarda anlamlı olarak daha fazla oranda florokrom depo edildiği gözlenmiştir. Yazarlar ESWT'nin bu etkisinin 6 hafta devam ettiğini, dolayısı ile 6 hafta sonra tekrarlanması gerektiğini rapor etmişlerdir.

Oktaş ve ark. (2014) rat femurlarında meydana getirdikleri deneysel kırık modelinde uyguladıkları 500 atım ve 0,15 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğundaki ESWT'nin etkinliğini radyografik ve histolojik olarak incelemişler, ESWT'nin özellikle periost ya da yumuşak doku kaybı gözlenen ve psödoartrozis riski bulunan açık kırıkların iyileşmesini artırdığını bildirmişlerdir.

Uslu ve ark. (1999) tavşan radiuslarında yaptıkları çalışmalarında ESWT'nin kemik defektlerindeki kallus oluşumuna etkisini incelemişlerdir. 20 adet tavşanın her iki ön ayağında 1 cm boyutunda standart defektler meydana getirilmiştir. Floroskopi görüntülemesi altında tavşanların sağ radiuslarına 7, 14 ve 21. günlerde ESWT

uygulaması yapılmıştır. 6. ve 12. haftalarda sakrifiye edilen ratlarda radyolojik ve histolojik incelemeler yapılmıştır. Her iki grupta da hem histolojik hem de radyolojik olarak ortalama kallus hacminin kontrol tarafına göre daha fazla olduğu, bunun 12. haftada sakrifiye edilen grupta istatistiksel olarak anlamlı olduğu bildirilmiştir. Ayrıca granülasyon dokusunun ve kondroid dokunun ESWT uygulanan tarafta daha fazla olduğu görülmüştür.

Bulut ve ark. (2006) tavşanların sol radiuslarında meydana getirdikleri kaynaşmamış kırık modelinde ESWT'nin etkinliğini araştırmışlardır. 1000 atım ve 0,48 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğunda uygulanan şok dalgalarının sağ radiustakine (kontrol) göre daha fazla oranda kallus hacminde artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar şok dalgalarının kemik iyileşme hızını ve kemik hacmini artırdığını rapor etmişlerdir.

ESWT uygulaması ile kemik iyileşmesi sırasında salınan büyüme faktörleri arasındaki ilişkinin ortaya koyulduğu bir çalışmada ratların femurlarında 5 mm boyutunda segmental defektler meydana getirilmiş ve operasyondan 6 hafta sonra 0,16 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğunda 500 atım şok dalga tedavisi uygulanmıştır. ESWT uygulamasını takiben 1, 2, 4 ve 8. haftalarda sakrifiye edilen ratlarda yapılan histolojik ve immünohistokimyasal analizler sonucunda ESWT uygulanan gruplarda kallus içerisinde yoğun bir şekilde BMP-2, BMP-3, BMP-4 ve BMP-7 salınımı olduğu ve bunların yoğun bir şekilde mezenşimal hücreler, olgun kondrosit ve osteoblastlar ile etkileşim içerisinde olduğu bildirilmiştir (Wang ve ark., 2003b).

İskemik dokuların tedavisinde en uygun şok dalga sayısının araştırıldığı bir çalışmada 36 Sprague-Dawley ratı altı gruba ayrılmıştır; 200 atım, 500 atım, 1500 atım, 2500 atım, 5000 atım ve kontrol grubu. Çalışmada epigastrik deri flebi modeli gerçekleştirilmiş ve cerrahiden hemen sonra 0,11 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğunda şok dalgaları uygulanmıştır. Nekroz bölge büyüklüğünün değerlendirildiği gruplar arasında en az nekroz görülen grubun 500 atım uygulanan grup olduğu, 5000 atım uygulanan grup haricindeki diğer gruplarda da kontrol grubuna göre daha küçük boyutlarda nekrotik bölgelerin görüldüğü bildirilmiştir (Kamelger ve ark., 2010).

Chen ve ark. (2003) Sprague-Dawley ratlarında ESWT'nin doza bağımlı etkisinin segmental femur defektlerinin iyileşmesi üzerindeki sonuçlarını incelemişlerdir. Çalışmada cerrahi operasyondan 8 hafta sonra 4 farklı grupta 500 atım 0, 0,16, 0,28 ve 0,42 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğu uygulanarak, diğer 4 grupta 0,16 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğunda 0, 200 ,500 ve 2000 atım şok dalgası uygulanarak, 0,16 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğunda 500 atım uygulanan farklı 6 grup ise ESWT'den sonra 0, 1, 2, 4, 6 ve 8. haftalarda sakrifiye edilerek toplam 14 grupluk çalışma dizaynı oluşturulmuştur. Araştırmacılar komplikasyonsuz olarak gerçekleşen yeni kemik yapımı, en fazla kallus hacmi ve kemik mineral yoğunluğu için en optimal dozun 500 atım ve 0,16 mJ/mm<sup>2</sup> olduğunu, şok dalga tedavisinin alkalin fosfat aktivitesini ve osteokalsin üretimini artırdığını, mezenşimal hücre yoğunlaşmasını, endokondral kemikleşmeyi ve sert kallus oluşumunu artırdığını bildirmişlerdir.

ESWT son dönemlerde diş hekimliği alanlarında da araştırılmaya başlanmıştır (Falkensammer ve ark., 2014b). Ancak ESWT'nin kas-iskelet sistemindeki dokularda tedavi edici etkisi bilinmesine rağmen çene-yüz bölgesindeki etkisi henüz tam olarak belirlenememiştir. Ortopedik çalışmalarda kanıtlanan ESWT'nin etkisi çoğunlukla tendon ya da uzun kemikler üzerindeki araştırmalara konu olmuştur. Çalışmalar şok dalgalarının endokondral kemikleşme yerine intramebranöz kemikleşmeye neden olduğunu bildirmektedir (Kearney ve ark., 2012). Çene-yüz bölgesindeki kemiklerin uzun kemiklerin aksine çoğunlukla intramembranöz olarak kemikleşmesinden dolayı ESWT'nin bu bölgedeki etkisinin farklılık göstereceği düşüncesi bu çalışmayı planlamamızda rehber olmuştur.

Altuntaş ve ark. (2012) ESWT'nin subkondiler kırıkların iyileşmesini artırabilmek amacıyla rat mandibulaları üzerinde deneysel araştırma yapmışlardır. 20 Wistar ratı üzerinde unilateral olarak subkondiler kırık meydana getirdikleri deneylerinde cerrahiden bir gün sonra medial yönden tek doz 500 atım, 4 bar ve 0,38 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğunda şok dalga tedavisi uygulamışlardır. 21 gün sonra ratlar sakrifiye edilmiştir. Histolojik inceleme sonucunda ESWT uygulanan gruptan elde edilen örneklerdeki histolojik skor kontrol grubundakine göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlara göre araştırmacılar ESWT'nin kırık iyileşmesini

hızlandırdığını ve böylelikle kırık komplikasyonlarının daha az görülebileceğini bildirmişlerdir.

Sathishkumar ve ark. (2008) çalışmalarında ratlarda ESWT'nin alveolar kemik rejenerasyonu üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. 10 hafta boyunca P. Gingivalis ile enfekte edilen alveolar kemikte görülen rezorbsiyon sonrasında odaksız, tek doz 0,10 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğunda 100, 300 ve 1000 atım ESWT uygulamışlardır. Uygulama sonrası 0, 3, 6 ve 12. haftalarda alveol kemik rejenerasyonunu değerlendirmişlerdir. Değerlendirme sonucuna göre 3. hafta sonunda 300 ve 1000 atım uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha fazla alveol kemik rejenerasyonu olduğunu bildirmişlerdir.

Lai ve ark. (2010) rat mandibularlarında yaptıkları distraksiyon osteogenezi modelinde ESWT'nin konsolidasyon süresine olan etkisini incelemişlerdir. Farklı enerji akış yoğunluklarının uygulandığı çalışmada osteotomiden 2 hafta sonra konsolidasyon sürecinin başlangıcında bir grupta 0,19 mJ/mm<sup>2</sup> ve 500 atım, diğer grupta ise 0,49 mJ/mm<sup>2</sup> ve 500 atım şok dalgası uygulanmıştır. Çalışma sonucunda 0,19 mJ/mm<sup>2</sup> enerji yoğunluğunda uygulanan grupta istatistiksel olarak daha fazla kemik mineral yoğunluğu ve kemik direncinde artış meydana geldiği, konsolidasyon zamanında kısılma oluştuğu bildirilmiştir. İmmünohistokimyasal analiz sonuçlarına göre bu grupta daha yoğun olarak osteoblast yoğunlaşması, yeni kemik oluşumu ve neovaskülarizasyon meydana geldiğini rapor etmişlerdir. Aynı şekilde VEGF ve BMP-2 aktivitesinde de daha fazla artış meydana gelmiştir. Araştırmacılar optimal dozda şok dalga tedavisinin uygulanmasıyla neovaskülarizasyon, hücre proliferasyonu ve osteojenik büyüme faktörlerinin salınımı uyarılarak fasiyal bölgede kemik rejenerasyonunun artırılabilirliğini bildirmişlerdir.

Elektrohidrolik esaslı ESWT'nin ortodontik mini vidaların stabilizasyonuna olan etkisinin incelendiği bir klinik çalışmada araştırmacılar tek seans, odaklı, 5 Hz frekansında, 0,19-0,23 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğunda 1000 atım şok dalga tedavisi uygulamışlar ancak ortodontik tedavisi sırasında mini vidaların stabilizasyonunu artırmada etkili bulmamışlardır (Falkensammer ve ark., 2014b).

Literatürde daha önce ESWT'nin kemik grefti üzerine etkisinin incelendiği yalnızca bir çalışma bulunmaktadır. ESWT'nin kemik rejenerasyonuna etkisinin incelendiği bir çok çalışmada şok dalgalarının yalnızca dokular üzerindeki etkileri incelenirken köpekler üzerinde yapılan bir çalışmada tibial tüberositas ilerletme işleminde kansellöz greftler ile kombine olarak ESWT uygulandığı ve greft üzerine olan etkisinin de incelendiği görülmektedir. Çalışmada 1000 atım ve 0,15 mj/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğundaki şok dalgaları cerrahi işlemden hemen sonra ve bundan 4 hafta sonra olmak üzere 2 seans halinde uygulanmıştır. Cerrahiden 4 hafta sonra yapılan dansitometrik incelemede greft ve ESWT uygulanan grupta, yalnızca ESWT uygulanan gruba ve kontrol grubuna göre anlamlı derece artış görüldüğü ancak bu durumun 8. haftada yapılan dansitometrik incelemede aynı doğrultuda olmadığı bildirilmiştir (Barnes ve ark., 2015).

ESWT'nin birçok çalışma ile ortaya koyulan biyostimülatif etkisi, diyabet ve osteoporoz gibi kemik metabolizmasının etkilendiği ve sonuç olarak kemik mikro yapısında değişikliğe neden olan hastalıkların konu olduğu yalnızca birkaç çalışmada kendisine yer bulmuştur. Wang ve ark. (2014) ESWT'nin osteoporotik osteoartritler üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında 56 Sprague Dawley ratı kullanmışlardır. Deneysel osteoartrit oluşturulan çalışmada cerrahi işlemlerden bir hafta sonra tek doz 800 atım ve 0,22 mj/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğunda ESWT uygulaması yapılmıştır. Cerrahiden 12 hafta sonra sakrifiye edilen deneklerde kemik mineral yoğunluğu testi, mikro-BT, kemik-güç testi, histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemeler yapılmıştır. ESWT uygulanan gruplarda kemik gücünde ve kemik mineral yoğunluğunda anlamlı derecede artış meydana geldiği, mikro-BT sonuçlarına göre ise subkondral plaka kalınlığında ve kemik porozitesinde anlamlı derecede artış görüldüğü, immünohistokimyasal incelemede ise daha fazla oranda büyüme faktörü salınımı görüldüğü bildirilmiştir. Araştırmacılar ESWT'nin osteoporoziste görülen osteoartritlerde etkili olduğunu rapor etmişlerdir.

Diğer bir çalışmada Van der Jagt ve ark. (2009) osteoporotik rat modelinde elektrohidrolik esaslı odaksız ESWT'nin bilateral fibula osteotomilerinin iyileşmesi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Toplamda 2000 atım ve 0,16 mj/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğunda şok dalgası uygulanan deney gruplarının birinde üç hafta arayla 2 kez

1000 atım ESWT uygulanmıştır. Araştırmacılar kontrol grubunda ESWT'nin trabeküler kemik hacminde artışa neden olduğunu ve yaşa bağlı görülen kemik kaybında azalma meydana geldiğini, osteoporotik grupta ise tek seans ESWT uygulamanın kemik kaybını azalttığını, çift seans uygulanan grupta ise yine kemik kaybının azaldığı ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bildirmişlerdir. Çalışma sonucuna göre elektrohidrolik esaslı odaksız şok dalgalarının osteoporoz ve osteopeni tedavisinde kullanılabileceği bildirilmiştir.

Literatürde diyabetin neden olduğu kemik metabolizmasındaki değişikliğin yol açtığı komplikasyonların önlenmesinde ya da kemik metabolizmasını iyileştirmede ESWT'nin etkinliğini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız ESWT'nin diyabetik kemik iyileşmesi üzerine etkisini inceleyen ilk çalışma olduğundan dolayı literatüre önemli bir katkı sunmaktadır.

Literatüre bakıldığında diyabet nedeniyle yumuşak dokular üzerinde meydana gelen komplikasyonların iyileştirilmesi amacıyla ESWT'nin klinik ve hayvan deneylerinde kullanıldığı görülmektedir. ESWT ile ilgili çalışmalar diyabetik ayak (Wang ve ark., 2015), diyabetik polinöropati (Lohse-Busch ve ark., 2014), yumuşak dokudaki akut ve kronik yara iyileşmesi (Antonic ve ark., 2011) ve kronik plantar fasiitis'teki (Chuckpaiwong ve ark., 2009) iyileşmenin artırılmasına yönelik olmuştur. Araştırmacılar ESWT'nin revaskülarizasyonu uyararak ve doku rejenerasyonunu artırarak diyabetik yara iyileşmesini etkileyebildiğini rapor etmişlerdir. Yang ve ark. (2011) 0,11 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğunda ve 3 Hz frekans değerinde 100 atım şok dalga tedavisinin diyabetik ratlarda insizyon yarasının iyileşmesi üzerine etkisini incelemişlerdir. ESWT uygulanan grupların birinde postoperatif olarak 1, 3 ve 5. günlerde 3 seans uygulama, diğer grupta ise tek seans uygulama yapılmıştır. Postoperatif 7 ve 14. günlerde sakrifikasyonun yapıldığı çalışmada, ESWT uygulanan gruplarda gerçekleştirilen yara güç testinde dokunun daha dirençli olduğu, hidroksprolin seviyesinde de anlamlı derece yükselme olduğu bildirilmiştir. Üç seans şok dalgası uygulanan grupta ise en yüksek seviyelerin görüldüğü rapor edilmiştir. Histolojik olarak incelendiğinde ise ESWT uygulanmayan diyabetik grupta ince granülasyon dokusu, çok az oranda damarlanma, fibroblast ve kollajen fibrilleri görülmesine rağmen ESWT uygulanan diyabetik gruplarda 14 gün sonunda tamamlanan hızlı bir epitelizasyon, daha



kalın granülasyon dokusu ve çok sayıda damar, fibroblast ve kollajen oranı görüldüğü bildirilmiştir. Ayrıca ESWT uygulanan gruplarda TGF- $\beta$ 1 salınımının da arttığı gösterilmiştir. Tüm bu sonuçlara göre araştırmacılar bu enerji akış yoğunluğundaki şok dalgalarının diyabetik yara iyileşmesini indüklediğini ve artırdığını rapor etmişlerdir. Diyabetik yara iyileşmesinin incelendiği rat modelinde oluşturulan sırt deri defektinin kenarındaki 8 ayrı noktaya, cerrahi işlemden 3 ve 7 gün sonra odaksız, 100 atım ve 0,09 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğunda (8x100 atım) şok dalga tedavisi uygulanmıştır. Araştırmacılar ESWT'nin bu dozlarının yara iyileşmesini artırdığını bildirmişlerdir (Yang ve ark., 2014). Diyabetik Wistar ratlarında 6x5 cm boyutlarında sırt deri defektlerinin oluşturulduğu başka bir çalışmada gruplardan birinde postoperatif 3. günde, diğerinde 3 ve 5. günlerde, bir diğerinde ise 3, 7 ve 10. günlerde odaksız, 0,09 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğunda 800 atım şok dalga tedavisi uygulanmış, özellikle 2 ve 3 doz uygulanan gruplarda daha fazla oranda yara iyileşmesi gözlenmiştir (Kuo ve ark., 2009). Fareler üzerinde yapılan diğer bir çalışmada ise 0,25 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğunda ve 4 Hz frekansındaki tek seans 100 atım şok dalga tedavisinin diyabetik yumuşak doku yara iyileşmesini hızlandırdığı, bunu eNOS ve VEGF salınımını artırarak gerçekleştirdiği bildirilmiştir (Hayashi ve ark., 2012).

Gollwitzer ve ark. (2013), Oktaş ve ark. (2014), Wang ve ark. (2003b), Chen ve ark. (2003), Lai ve ark. (2010) Falkansammer ve ark. (2014b) ve Barnes ve ark. (2015) belirttiği üzere kemik defektlerinin rejenerasyonu ya da kırık iyileşmesinde ESWT'nin en sık olarak 0,16-0,22 mJ/mm<sup>2</sup> arasındaki enerji akış yoğunluğunda ve ortalama 500 atımda uygulandığı ve olumlu sonuçlar alındığı görülmektedir. Tüm bu bilgilere dayanarak çalışmamızda 3 seans halinde postoperatif 3, 5, ve 7.günlerde olmak üzere toplamda 600 atım (200x3 atım), 0,19 mJ/mm<sup>2</sup>, 3 atm basınç ve 5 Hz frekansında elektrohidrolik yöntemler ile üretilen odaksız şok dalgaları kullanılmıştır.

Çalışmalarda 0,30 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğundaki ESWT uygulamasının ağrıya neden olurken 0,10 mJ/mm<sup>2</sup> yoğunluğundaki uygulamanın anestezisiz olarak gerçekleştirilebileceği bildirilmiştir (Van der Jagt ve ark., 2011) Ancak çalışmamızda ESWT uygulanmadan önce, deneklerin etkilenmemeleri ve aplikatörün zarar görmemesi için ESWT uygulanacak deneklere ketamin hidroklorid ve ksilazin hidroklorid enjeksiyonu yapılarak sedasyon sağlanmıştır. Sedasyona bağlı hayvan ölümü

yaşanmamıştır. Çalışmalarda uygulanan anestezi dozunun ve uygulama sıklığının inflamatuvar ajanları etkileyerek kemik iyileşmesini değiştirebileceğini gösterilmiştir (Boehm ve ark., 2010). Ancak çalışmamızda ESWT uygulamasının seans başı yaklaşık 1,5 dk gibi kısa bir süre alması anestezinin de düşük dozlarda uygulanmasını sağlamıştır. Bu nedenle bu süre zarfında sedasyona bağlı bir komplikasyona rastlanmamıştır.

Klinik ve hayvan deneyi çalışmalarına bakıldığında yeni kemik oluşumunun incelenmesinde radyolojik, histolojik, biyokimyasal ve klinik yöntemler kullanıldığı görülmektedir. Bunlar arasında klinik analizler (Kuo ve ark., 2009), direk grafiler ve BT (Wang ve ark., 2009; Kawcak ve ark., 2011), mikro-BT (Wang ve ark., 2014), kan serum analizi (Wang ve ark., 2009), elektron mikroskopik inceleme-SEM (Kim ve ark., 2015a), ultrasonografi (Lukac ve ark., 2013), manyetik rezonans (Gelber ve ark., 2014), sintigrafi (Maier ve ark., 2002), dansitometri (Uslu ve ark., 1999), histoloji (Oktas ve ark., 2014), histomorfometri (Lai ve ark., 2010), immünohistokimya (Wang ve ark., 2003b) ve stereoloji (Bulut ve ark., 2014) gibi yöntemler sayılabilmektedir.

Çalışmamızda kritik boyutlu kemik defektlerinde ESWT uygulaması sonrası kemik yoğunluğunun değerlendirilmesi amacıyla BT ve YK, BD ve YD hacminin analiz edilmesi amacıyla stereolojik yöntem kullanılmıştır. BT görüntüleri tamamen dijitaldir ve sayısal verilerden oluştuğu için işlenebilir özelliktedir. İstenilen bölgelerin yoğunlukları ölçülebilir ve üç boyutlu görüntüler elde edilebilir (Shapurian ve ark., 2006; Miyamoto ve ark., 2013). BT’de kemik mineralizasyonunun çok duyarlı bir şekilde ölçülmesinin yanısıra alınan X-ray ışın dozu yüksek olduğundan dolayı pratikte osteoporoz gibi hastalıklarda kemik mineral yoğunluğu ölçümleri DEXA gibi dansitometrik yöntemler ile yapılmaktadır (Lai ve ark., 2010). Histolojik sonuçlar ile BT’deki kemik mineral yoğunluğu arasındaki korelasyonun araştırıldığı bir çalışmada araştırmacılar operasyon öncesi kemik kalitesi ve yoğunluğunun belirlenmesinde BT’nin kullanılabilir bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir (Todisco ve ark., 2005). Maksiller sinüs greftlemesi yapılan alanlarda histolojik ve kemik mineral yoğunluğu korelasyonunun incelendiği bir çalışmada da benzer sonuçlar bildirilmiştir (Lee ve ark., 2011).

Çalışmamızda her bir deneğin defekt alanındaki kemik yoğunluk değerleri BT ile elde edilen sagittal kesitler üzerinde HU değeri ölçülerek analiz edildi. Diyabetik olmayan ve ESWT uygulaması yapılan 4 haftalık boş defekt grubunda kontrol grubuna göre, 8 haftalık boş defekt grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek kemik yoğunluk değerleri bulunmuştur. Bununla beraber erken ve uzun dönemde ESWT uygulaması yapılan ve diyabetik olan gruplarda kontrol gruplarına göre daha düşük değerler tespit edilmiştir. Ancak diyabetik gruplardaki ortalama KYD diyabetik olmayanlara göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Sonuçlar ESWT'nin herhangi bir biyomateryalin uygulanmadığı boş defektlerde diyabet varlığında etkili olmadığını göstermektedir. Wang ve ark. (2004b) tavşan femurlarında gerçekleştirdikleri kırık modelinde ESWT'nin etkisini araştırmışlar ve ESWT uygulamasından 12 ve 24 ay sonra kemik mineral yoğunluğu ölçümlerinde kontrol grubuna göre artış olduğunu bildirmişlerdir. ESWT'nin kemik mineral yoğunluğunda artışa neden olması yönüyle çalışmamızla paraleldir. Bronoosh ve ark. (2015) tavşan mandibulasında yaptıkları çalışmada düşük yoğunlukta atımlı ultrason tedavisinin defekt iyileşmesi üzerine etkisini incelemişlerdir. 1 ve 3 Hz frekasında olmak üzere iki ayrı grupta ve 2 ve 4 hafta takip süresi olmak üzere 2 ayrı zaman diliminde inceleme yapılan çalışma sonucunda 2 hafta sonunda en yüksek kemik mineral yoğunluğu değeri kontrol grubunda elde edilirken 4 hafta sonunda ise istatistik olarak anlamlı olmakla beraber 3 Hz atımlı ultrason uygulanan grupta elde edilmiştir. Bununla beraber en yüksek osteoblast ve osteosit yoğunluğu da 4 haftalık 3 Hz ultrason uygulanan grupta elde edilmiştir. Bizim çalışmamızdaki diyabetik olmayan gruplarda izlenen 4. ve 8. hafta sonuçlarında en yüksek değer ESWT uygulanan gruplarda elde edilmiştir. Bu yönüyle Bronoosh ve ark.'larının yaptıkları çalışmayla uyumludur. Wang ve ark. (2008b) ESWT'nin tavşanlarda gecikmiş kemik-tendon kompleksi iyileşmesi üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında 8. hafta sonundaki defekt bölgesi kemik mineral yoğunluğu ESWT uygulanan grupta kontrol grubuna göre daha düşük seviyede iken 12. hafta sonunda ESWT uygulanan grupta daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda hem 4 hafta hem de 8 hafta sonraki ölçümlerde ESWT uygulanan bölgelerdeki kemik yoğunluğu değerleri daha fazla görüldüğünden bu çalışma sonuçları ile farklılık göstermektedir. Schortinghuis ve ark. (2004) düşük yoğunlukta ultrason tedavisinin rat mandibulasında meydana getirdikleri 5 mm kritik boyutlu kemik defekti iyileşmesi üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında

2 ve 4 hafta sonra mikroradyografi ile defekt kapanma oranını, stereolojik inceleme ile de doku hacimlerini incelemişlerdir. 2 hafta sonunda en yüksek değer kontrol grubunda elde edilirken 4. hafta sonunda birbirine yakın değerler bulduklarını rapor etmişlerdir. Aynı araştırmacıların aynı defekt modeli üzerine kollogen membran uyguladıkları çalışmalarında da benzer sonuçlar elde etmişlerdir (Schortinghuis ve ark., 2005). Düşük yoğunlukta ultrason tedavisinin etkisinin incelendiği bu çalışmaların sonuçlarını çalışmamızın sonuçları ile örtüşmemektedir. Fındık ve ark. (2014) rat femurlarında oluşturduğu 2 adet 3 mm kemik defektlerinden birine kortikal otojen kemik grefti yerleştirmişler ve düşük yoğunlukta ultrason uygulaması gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonucunda ultrason uygulanan boş defekt ve greft uygulanan defektte, DEXA incelemesi sonucunda daha yüksek kemik mineral yoğunluğu değerleri tespit edilmiştir. Çalışmamızdaki  $D^+E^-$  gruplarda daha yüksek oranda KYD tespit edilmesi bu çalışmanın sonuçlarıyla uyumludur.

AP gruplarında diğer gruplara göre daha yüksek KYD tespit edilmiştir. Bunun nedeni olarak BCP greft materyeli içerisindeki hidroksiapatitin oposite değerinde artışa neden olması olarak düşünülmektedir.  $4D^+E^+$  grubunda  $4D^+E^-$  grubuna göre ve  $4D^+E^+$  grubunda  $4D^+E^-$  grubuna göre KYD’de artış meydana geldiği görülmüştür. 8AP gruplarında ise birbirlerine yakın KYD tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ESWT’nin erken dönemde hem diyabetik hem de diyabetik olmayanlarda BCP uygulanan defektlerdeki kemik yoğunluğunda artışa neden olduğunu uzun dönemde ise bu farklılığın ortadan kalktığını göstermektedir. Walsh ve ark. düşük yoğunlukta ultrason tedavisinin  $\beta$ -TCP yerleştirdikleri ulna defektlerinin iyileşmesi üzerine etkisini incelemişler ve yaptıkları DEXA analizi sonucunda kemik mineral yoğunluğunda ultrason uygulanan grupta 4. hafta sonunda anlamlı derecede farklılık gözlemlemişlerdir. Bu farkın ise 12 hafta sonunda ortadan kalktığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada ultrason uygulaması yapılan ve greft uygulanan gruptaki 4. hafta sonunda izlenen kemik mineral yoğunluğu değerinin 12. hafta sonundaki değerden yüksek olduğu görülmektedir. Çalışmamızdaki 4. hafta sonuçlarındaki farklılığın 8. hafta sonunda ortadan kalkması bu çalışma ile paralellik göstermektedir. Ancak bizim çalışmamızda 8. hafta KYD değerleri 4. hafta değerlerinden daha yüksektir. Bu açıdan farklılık göstermektedir. Ayrıca Zhuo ve ark. (2010) düşük yoğunlukta ultrason ve hidroksiapatit greft materyalinin kombine uygulamasının lumbar kemiğin posterolateral kaynaşması üzerine etkilerini

inceledikleri çalışmada gri skala kullanılarak kemik mineral yoğunluğu incelemesi yapmışlardır. En yüksek kemik mineral yoğunluğu değerini hidroksiapatit kullanılan ve ultrason uygulanan grupta tespit etmişlerdir. Bununla beraber otojen greft uyguladıkları kontrol grubunda da ultrason uygulamasının kemik mineral yoğunluğu değerlerinde artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Ultrason tedavisinin tavşan femur kondillerine yerleştirilen hidroksiapatit greflerin iyileşmesine olan etkisinin incelendiği bir çalışmada 3 hafta düşük yoğunlukta ultrason uygulamasının hidroksiapatit grefti içerisindeki mineralize doku hacminde anlamlı derecede artış meydana getirdiği bildirilmiştir (Iwai ve ark., 2007). Çalışmamızdaki 4. hafta bulguları hem Zhuo ve ark. hem de Iwai ve ark.'larının yaptıkları çalışmalar ile uyumluluk göstermektedir.

AL uygulanan  $4D^+E^-$  grubunda  $4D^-E^+$  grubuna göre ve  $4D^+E^+$  grubunda  $4D^-E^-$  grubuna göre daha düşük KYD,  $8D^+E^+$  grubunda  $8D^-E^-$  grubuna göre ve  $8D^+E^-$  grubunda  $8D^-E^+$  grubuna göre daha yüksek KYD tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ESWT'nin hem diyabetik hem de diyabetik olmayanlarda AL uygulanan defeklerin KYD'de kısa dönemde etkili olmadığını, uzun dönemde ise artışa neden olduğunu göstermektedir.

Tüm radyolojik sonuçlar, ESWT'nin diyabetik kemik iyileşmesindeki kemik yoğunluğu değerlerinde diyabetik olmayan deneklerdekine benzer şekilde artış sağlamadığını göstermektedir. Diyabetik olmayan neredeyse tüm ESWT uygulanan gruplarda kontrol gruplarına göre daha yüksek oranda KYD tespit edilmiştir. Kemik mineral yoğunluğu değerlerinin bu gruplarda daha yüksek bulunması ESWT'nin kemikleşmeyi artırdığını göstermektedir. Bu sonuç Van der Jagt'ın (2009) odaksız ESWT'nin osteoporotik ratlardaki etkinliğini araştırdığı çalışmasında tespit ettiği overektomize edilmeyen ratlarda ESWT'nin daha etkili olduğu sonucuyla benzerlik göstermektedir. Yazarlar literatürde daha önce bildirilen raporların aksine bu etkinin oluşmasının odaksız şok dalgaları nedeniyle olabileceği yönünde yorumlamışlardır. Ayrıca overektomi sonrası yaşanan kemik kaybı miktarının az olduğu durumda ESWT'nin daha etkili olduğunu, bu nedenle sağlam kemik dokusunda daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Bununla beraber çalışmalarda yüksek enerji akış yoğunluğunda ( $0,54-0,90 \text{ mJ/mm}^2$ ) veya yüksek atım sayısında ( $>1500$ ) korteks kırılması, kanama, ekstrimitenin kullanılamaması gibi komplikasyonlar görülebildiği ve

bu komplikasyonların doku iyileşmesini değiştirebileceği belirtilmiştir (Delius ve ark., 1995; Maier ve ark., 2002). Bizim çalışmamızda düşük enerji akış yoğunluğunda ve 600 atım şok dalgası uygulanmasına ve herhangi bir komplikasyon görülmemesine rağmen moleküler seviyede farklılıklar meydana gelmiş olabilir. Bu nedenle diyabetiklerdeki boş defektlerde ESWT etkili olmamış olabileceğini düşünmekteyiz. Bir diğer olası neden ise diyabetiklerde ESWT uygulamasının 3 farklı zamanda ve erken yara iyileşme döneminde gerçekleştirilmesi ve doku iyileşmesine bu durumun negatif etki oluşturması olasılığıdır. Van der Jagt ve ark. (2009) atım sayısı aynı kalmak üzere bölümlü seans yerine tek seans uygulamanın tedavi edici etki oluşturması açısından önemli olduğunu vurgulamışlardır. Buna rağmen Kuo ve ark. (2009) 2 ve 3 seans ESWT uygulamasının deri defekti iyileşmesinde daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Azuma ve ark. (2001) rat femurlarında yaptıkları çalışmalarında kırık oluşturulduktan sonra 4 farklı zaman diliminde uyguladıkları (1-8. gün, 9-16. gün, 17-24. gün ve 1-24. gün) ultrason tedavisi sonucunda uygulama zamanına bağlı olmaksızın iyileşmenin kontrol gruplarına göre daha fazla olduğu vurgulanmıştır. Laboratuvar çalışmaları düşük yoğunlukta ultrason uygulamasının kemik iyileşmesinin her döneminde etkili olduğunu göstermektedir (Pounder ve ark., 2008). Başka bir çalışmada ise ultrason gibi stimüle edici faktörlerin en etkili olduğu zamanın anjiogenezis ve proliferasyon fazı olduğu bildirilmektedir (Spadaro ve ark., 1998; Azuma ve ark., 2001). Birçok çalışma ise ultrasonun iyileşmenin erken dönemleri olan inflamatuvar ve yumuşak kallus döneminde özellikle akustik basıncın neden olduğu mekanik strese dolaylı hücre ve moleküllerin fonksiyonlarını değiştirerek etkili olduğu bildirilmektedir (Findik ve Baykul, 2014). Buradan yola çıkarak çalışmamızda, anjiogenezis ve proliferasyon dönemi içerisinde farklı zamanlarda periyodik olarak şok dalga uygulanmasının rejenerasyon üzerinde etkili olacağı düşünmekteyiz. ESWT'nin hangi enerji akış yoğunlukta, hangi zamanda, kaç seansta ve kaç atımda optimum kemik iyileşmesini sağlayabilecek özelliklere sahip olacağı tartışmalı bir konu olduğundan dolayı diyabetiklerde gerçekleştirilecek farklı dozlarda ve farklı zamanlardaki uygulamaların yapıldığı yeni çalışmaların yapılmasını tavsiye etmekteyiz.

Kemik iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalarda geleneksel olarak kemik rejenerasyonu, defekt merkezinden alınan kesitlerin histolojik incelemesi neticesinde değerlendirilmektedir (Zellin ve ark., 1997; Dupoirieux ve ark., 2001). Kemik dokusu

iyileşmesinin araştırıldığı birçok çalışmada histolojik değerlendirme olarak histopatoloji ya da histomorfometri gibi iki boyutlu analizler yapılmaktadır. Histolojik inceleme standart olarak kabul edilse de özellikle defektin bir bölgesinden elde edilen kesitlerin defektin tümünü yansıtmaması gibi önemli bir dezavantaja sahiptir. Ayrıca histolojik skorlama sistemleri arasındaki farklılıktan dolayı çalışmalar arasında kıyaslama yapmak zor olmaktadır (Schortinghuis ve ark., 2003). Çalışmamızda kullandığımız stereolojik yöntemde ise dokunun üç boyutlu yani hacimsel olarak değerlendirilmesiyle gerçeğe en yakın analizlerin yapılması sağlanmıştır. Bu yöntem ile YK, BD ve YD hacmi tespit edilmiştir. Literatürde ESWT'nin diyabetli ve diyabetli olmayan deneklerde kemik grefti uygulanan ya da uygulanmayan defektlerin iyileşmesine yönelik etkisini stereolojik olarak inceleyen başka bir çalışma bulunmamaktadır.

Yapılan stereolojik inceleme sonucunda boş defektlerde yeni kemik dokusu hacmi ve yeni damarlanma hacmi değerlendirildiğinde kısa dönem sonunda (4 hafta)  $D^-E^-$  grubu ile  $D^+E^-$  grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı görülmüştür. Bağ dokusu dokusu hacmi açısından ise anlamlı farklılık bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Uzun dönem sonunda ise  $D^-E^-$  grubu ile  $D^+E^-$  grubu arasında yeni kemik dokusu ve yeni damarlanma hacmi açısından anlamlı farklılık olduğu görülmüştür ( $p<0,05$ ). Bu sonuçlar 5 hafta bekleme süresi ve 4 hafta cerrahi sonrası takip süresinin diyabetik modelde belirgin kemik metabolizma değişikliğine neden olmadığını, ancak 5+8 hafta sonunda ise yeni kemik dokusu ve yeni damarlanma üzerinde belirgin etki meydana geldiğini göstermektedir.  $4D^+E^+$  grubunda  $4D^-E^-$  grubuna göre ve  $4D^+E^+$  grubunda  $4D^+E^-$  grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olamamakla beraber YKD, BD ve YD hacminde daha düşük değerler gözlenmiştir. 8 haftalık gruplarda da benzer sonuçlar görülmüştür. Ancak hem  $4D^+E^+$  grubunda hem de  $8D^+E^+$  YKD, BD ve YD hacmi açısından  $4D^+E^+$  grubu ve  $8D^+E^+$  grubu değerlerine benzer sonuçlar görülmesi ESWT'nin diyabetik deneklerde etkili olduğunu düşündürmektedir. Buna karşılık  $4D^+E^-$  ve  $8D^+E^-$  grubunda YKD, BD ve YD hacmi  $4D^-E^-$  ve  $8D^-E^-$  gruplarına göre beklendiği gibi daha düşük gözlenmiştir.  $8D^+E^+$  grubunda YKD ve YD açısından 4 hafta sonundaki değerlere göre artış görülmüşken  $8D^+E^-$  grubunda azalma meydana gelmiştir. Bu sonuçlar uzun dönem sonunda ESWT'nin uygulanan dozunun diyabetik gruplarda yeni kemik yapımı ve yeni damarlanmayı stimüle ettiğini ve hacimlerde artış sağladığını, buna rağmen diyabetik olmayan gruplarda yeni kemik oluşumu ve yeni damarlanmaya

pozitif bir etkisinin olmadığını düşündürmektedir. Sonuç olarak ESWT uygulamasının diyabetli olmayan gruplarda kritik boyutlu kemik defektinin iyileşmesine olumlu bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Ancak normalde diyabetiklerde daha az oranda iyileşme oranı beklenirken ESWT uygulanan diyabetik gruplardaki sonuçların diyabetik olmayan gruplardakine benzer olması, ESWT'nin diyabetiklerde olumlu bir sonucunun olduğunu düşündürmektedir. Barnes ve ark. (2015) tibial tuberositas ilerletme cerrahisi yaptıkları köpeklerde 4 ve 8 hafta sonunda ESWT'nin tek başına uygulanmasının kontrol grubuna göre bir değişiklik oluşturmadığını ve etkili olmadığını bildirmişlerdir. Osteotomi alanındaki en yüksek iyileşmeyi ise otojen kansellöz greft ile birlikte ESWT'nin kombine uygulandığı grupta elde ettiklerini rapor etmişlerdir. Wang ve ark.'larının (2008b) kapalı kırık modelini uyguladıkları çalışmalarında cerrahi işlemden 12 hafta sonra sakrifikasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. ESWT uygulanan grupta daha az oranda fibröz doku ve örgü kemik, daha fazla oranda ise kortikal kemik izlendiğini bildirmişlerdir. İnsan hücreleri üzerine ESWT'nin etkisinin incelendiği çalışmalarda ESWT'nin kemik iliği hücrelerini stimüle ettiği (Wang ve ark., 2001b) buna karşın kondrositlerin ve fibroblastların proliferasyonunu inhibe ettiği (Kalesar Johannes ve ark., 1994; Dorotka ve ark., 2003) rapor edilmiştir. Çalışmamızda da ESWT uygulanan gruplarda daha az oranda bağ doku ve yeni kemik alanları görülmüştür. Altuntaş ve ark.'larının (2012) Wistar ratlarında, ESWT'nin subkondiler kırıkların iyileşmesine olan etkisini inceledikleri çalışmalarında deney modelini oluşturduktan 1 gün sonra ESWT uygulanmış ve cerrahiden 21 gün sonra ise sakrifikasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. 21 gün sonunda kontrol gruplarında daha fazla oranda fibröz doku alanlarının olduğu buna karşın ESWT uygulanan gruplarda ise kırıkta ve örgü kemik alanlarının daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızdaki bağ dokusu hacmi sonuçları bu çalışma ile uyumlu iken yeni kemik hacmi sonuçları uyumlu değildir. Bazı araştırmacılar bağ dokusu miktarının azalsa da ESWT'nin fibroblastların hücrel aktivitesini artırdığını ve büyüme faktörlerinin salındığını, böylece doku iyileşme kapasitesinin artacağını bildirmişlerdir (Hausdorf ve ark., 2011).

Van der Jagt ve ark. (2011) odaksız ESWT'nin ratlarda kortikal ve kansellöz kemikte anabolik etkilere sahip olduğunu bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada ESWT uygulamasını takiben 49 gün sonra gerçekleştirdikleri mikro BT analizinde ESWT'nin yeni kemik oluşumunu uyardığı böylelikle trabeküler ağı ve hacmi artırdığı



bildirilmiştir. Yazarlar ayrıca distraksiyon osteogenezisindeki benzer şekilde fibröz dokudaki fibroblastların öncü hücreler gibi davrandığını ve osteoblastlara farklılaşabileceğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise ESWT'nin kritik boyutlu kemik defektinde yeni kemik oluşumunu uyarıcı etkisinin olmadığı görülmüştür. Bronoosh ve ark.'larının (2015) yaptıkları çalışmada DEXA ile inceledikleri kemik mineral yoğunluğunda gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenirken histolojik ve stereolojik inceleme sonucunda 3 Hz ultrason tedavisi sonrası anlamlı derecede daha fazla defekt iyileşmesi gözlemlenmiştir. Çalışmamızda ise diyabetik olmayan boş defekt gruplarında ESWT uygulaması kemik yoğunluğunda artışa yol açarken yeni kemik dokusu hacmi ve yeni damarlanma hacminde düşüş görülmesi bu çalışma ile ters yönlü olmuştur. Bulut ve ark.'larının (2006) tavşan radiuslarında yaptıkları deneysel çalışmalarında ESWT'nin birleşmeyen kırıklar üzerindeki etkinliğini histolojik ve radyolojik olarak incelemişlerdir. Cerrahi işlemlerin yapıldığı gün 1000 atım 0,46 mJ/mm<sup>2</sup> enerji akış yoğunluğunda ESWT uygulaması da gerçekleştirilmiştir. Kontrol gruplarının aynı hayvanın diğer radiusunda oluşturulduğu çalışma sonucunda ESWT uygulanan tarafta hem 4 hafta hem de 6 hafta sonra istatistiksel olarak daha fazla oranda kallus miktarı gözlemlendiği bildirilmiştir. Her iki grubun ESWT uygulanan radiuslarında kontrol radiuslarına göre daha fazla oranda kalınlaşmış ve osteoblastlar ile çevrelenmiş trabekül izlendiği bildirilmiştir. ESWT'nin kırık bölgesindeki kanıtlanan kemik yapımını uyarıcı etkisi çalışmamızda izlenememiştir. Bunun bir nedeni olarak anatomik farklılıklar olabileceğini düşünmekteyiz. Küçük hayvanların mandibula ramuslarında çok ince bir kortikal kemik tabaka bulunmaktadır. Bu nedenle ultrason ile yapılan çalışmalarda da görüldüğü üzere distraksiyon osteogenezisi (El-Bialy ve ark., 2002) ya da kırık modelindeki (Erdogan ve ark., 2006) etkilerinin araştırıldığı çoğu çalışmada olumlu sonuçlar elde edilirken ramus defektlerinde (Schortinghuis ve ark., 2004; Schortinghuis ve ark., 2005) olumsuz sonuçlar göze çarpmaktadır. Bu durum, iyileşme kapasitesinin sınırlı olduğu bir bölgede kritik boyutlu bir defektin herhangi bir biyomateryal uygulanmadan rejenere olamayacağını düşündürmektedir.

Defekt bölgelerine AP kemik greft materyalinin uygulandığı gruplardaki stereolojik inceleme sonucunda 4D<sup>-</sup>E<sup>+</sup> ve 4D<sup>+</sup>E<sup>+</sup> gruplarında 4D<sup>-</sup>E<sup>-</sup> ve 4D<sup>+</sup>E<sup>-</sup> gruplarına göre daha yüksek hacimde yeni kemik dokusu (p>0,05) ve daha düşük hacimde yeni damarlanma görülmüştür. Yeni damarlanma hacmindeki bu farklılık 4D<sup>-</sup>E<sup>+</sup> grubu ve

4D<sup>-</sup>E<sup>-</sup> grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı olarak gerçekleşmiştir (p<0,05). 4D<sup>-</sup>E<sup>+</sup> grubunda 4D<sup>-</sup>E<sup>-</sup> grubuna göre daha yüksek oranda bağ dokusu hacmi görülürken 4D<sup>+</sup>E<sup>+</sup> grubunda 4D<sup>+</sup>E<sup>-</sup> grubuna göre daha düşük oranda görülmüştür. 4D<sup>+</sup>E<sup>+</sup> grubunda 4D<sup>-</sup>E<sup>+</sup> grubuna göre daha az oranda YK hacmi, BD hacmi ve YD hacmi görülmüştür. Bu farklılık YKD ve BD açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmuşken YD açısından anlamlı bulunmamıştır. 8 haftalık hem diyabetik olan hem de diyabetik olmayanlarda ESWT uygulamasının YK, BD ve YD hacminde artışa neden olduğu ve bağ dokusundaki artışın istatistiksel olarak anlamlı gerçekleştiği gözlenmiştir. Bununla birlikte 8D<sup>+</sup>E<sup>+</sup> grubunda 8D<sup>-</sup>E<sup>+</sup> grubuna göre daha fazla oranda YK, BD ve YD hacmi tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, içerisine seramik esaslı greft materyalinin uygulandığı kritik boyutlu kemik defektlerinde ESWT uygulamasının kısa ve uzun dönem sonunda hem diyabetiklerde hem de diyabetik olmayanlarda yeni kemikleşmeyi artırdığını, ancak kısa dönemde yeni damarlanma üzerinde pozitif etkisinin olmadığını göstermektedir. Uzun dönem sonuçlar ESWT uygulamasının yeni kemikleşmeyi artırdığı gibi anjiogenezis üzerinde de pozitif etkiye sahip olduğunu kanıtlamaktadır. Kısa dönem ve uzun dönem sonuçlar karşılaştırıldığında yeni damarlanma açısından E<sup>-</sup> gruplarda azalma meydana gelirken E<sup>+</sup> gruplarda artış meydana gelmiştir. Ayrıca YKD açısından en fazla artış D<sup>+</sup>E<sup>+</sup> ve D<sup>+</sup>E<sup>-</sup> grubunda gözlenmiştir. Bu sonuçlar ESWT'nin uzun dönemde damarlanmayı artırdığını, diyabetiklerde kemik rejenerasyonu üzerine diyabetik olmayanlardakine göre daha pozitif etkiye sahip olduğunu kanıtlamaktadır. Walsh ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada düşük yoğunlukta ultrason ve  $\beta$ -TCP uygulanan defeklerdeki 12 hafta sonundaki yeni kemik oluşumunun kontrol grubuna göre anlamlı derecede fazla olduğunu rapor etmişlerdir. Yeni kemik oluşumunun da özellikle kemik ile temas eden greft partikülleri etrafında yoğunlaştığı bildirilmiştir. Uzun dönem sonunda elde edilen bu sonuçlar çalışmamızın sonuçlarına uyumluluk göstermektedir. Zhuo ve ark.'larının (2010) yaptıkları çalışmada operasyondan 5 hafta sonra yapılan histolojik ve radyolojik inceleme sonuçlarına göre düşük yoğunlukta ultrasonun hidroksiapatit kemik grefti ile birlikte uygulanmasının yeni kemik miktarını anlamlı derecede artırdığını rapor etmişlerdir. Ayrıca kontrol grubuna göre ultrason uygulanan grupta hidroksiapatit greftleri ve bağlantı bölgeleri içerisinde daha yüksek oranda osteoblast, kondrosit, yeni matür trabekül ve kıkırdak doku olduğunu bildirmişlerdir. Yazarlar düşük yoğunlukta ultrasonun endokondral kemikleşmeyi,

kallus oluşumunu ve greft içerisine kemik hücre göçünü stimüle ettiğini doğrulayan raporları sunmuşlardır. Iwai ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada tavşan femur kondillerine hidroksiapatit greftleri uygulamışlardır. 2 hafta düşük yoğunlukta ultrason uygulamasının ardından greft merkezindeki osteoblast sayısında ve yeni kemik dokusunda anlamlı derecede artış meydana geldiği bildirilmiştir. Kearney ve ark.'larının (2012) yaptıkları çalışmada ESWT ile uyarılmış periost altına yerleştirilen kalsiyum fosfat içerikli doku iskelesinin üst katmanlarında kontrol grubuna göre 4 kat kemik dokusu ve 3,3 kat osteoprogenitör hücre sayısı saptanmıştır. Doku iskelesinin kemik yüzeyine bakan kısmında ise 12 kat yeni kemik dokusu ve 8 kat osteoprogenitör hücre sayısı belirlenmiştir. Hidroksiapatit ve  $\beta$ -TCP eklenen defekt bölgelerine düşük yoğunlukta ultrason tedavisinin uygulanmasının çalışmamıza benzer şekilde yeni kemik oluşumunu stimüle ettiği bu raporlar doğrultusunda doğrulanmaktadır.

Defekt bölgelerine AL materyalinin uygulandığı gruplardaki stereolojik inceleme sonucunda YKD, BD ve YD hacimleri tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre  $4D^+E^+$  grubunda  $4D^+E^-$  grubuna göre ve  $4D^-E^+$  grubunda  $4D^-E^-$  grubuna göre ( $p<0,05$ ) daha yüksek oranda YKD ve YD hacmi görülmüştür. Bu fark özellikle  $4D^-E^+$  ve  $4D^-E^-$  gruplarında daha fazladır. BD hacmi açısından ise  $4D^-E^+$  grubunda  $4D^-E^-$  grubuna göre daha yüksek oran görülürken ( $p<0,05$ )  $4D^+E^+$  grubunda  $4D^+E^-$  grubuna göre daha düşük oranda tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ESWT'nin kısa dönemde özellikle diyabetik olmayanlarda insan kaynaklı greft uygulanan mandibular defektlerdeki yeni kemik oluşumunu ve yeni damarlanmayı stimüle ettiğini göstermektedir. Bunun yanında diyabetik olanlarda da istatistik olarak anlamlı olmamakla beraber daha yüksek seviyede YKD ve YD hacmi görülmesi ESWT'nin diyabetiklerde de etkili olduğu sonucunu ortaya koymaktadır. Stereolojik inceleme sonuçlarında  $8D^-E^+$  grubunda  $8D^-E^-$  grubuna göre ve  $8D^+E^+$  grubunda  $8D^+E^-$  grubuna göre daha yüksek seviyede YKD hacmi görülmüştür. Bu farklılık kısa dönem sonuçlarına benzer şekilde diyabetik olmayan gruplarda daha fazladır.  $8D^-E^+$  grubunda BD ve YD hacmi  $8D^-E^-$  grubuna göre daha yüksek oranda görülürken  $8D^+E^+$  grubunda  $8D^+E^-$  grubuna göre daha düşük seviyede gözlenmiştir. Bu sonuçlar ESWT'nin kısa ve uzun dönem sonunda hem diyabetik olan hem de diyabetik olmayanlarda yeni kemik oluşumunu ve yeni damarlanmayı artırdığını göstermektedir. Santoni ve ark.'larının (2008) koyunlar üzerinde yaptıkları çalışmada düşük yoğunlukta ultrason tedavisinin defekt ile allogreft

birleşmesini artırdığını ve iyileşmeyi stimüle ettiğini rapor etmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları

Çalışmamızın sonuçları doğrultusunda ESWT uygulamasının kemik defektlerinin rejenerasyonunu daha fazla artırabilmesi ve rejenerasyon süresini kısaltabilmesi açısından en iyi sonuçların alınabilmesi amacıyla yeni çalışmaların yapılmasıyla bu sonuçların desteklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Çalışmamızda tüm gruplardaki deneklerde farklı oranlarda yeni kemik oluşumunun izlenmesi, diyabetik modelin tam olarak meydana gelmesi ve ciddi bir komplikasyon ile karşılaşılması, çalışma metodumuzun ve rehber olarak aldığımız parametrelerin doğruluğunu göstermektedir.

- Literatürde diyabetin neden olduğu kemik metabolizmasındaki değişikliğin yol açtığı komplikasyonların önlenmesinde ya da kemik metabolizmasını iyileştirmede ESWT'nin etkinliğini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız ESWT'nin diyabetik kemik iyileşmesi üzerine etkisini inceleyen ilk çalışma olduğundan dolayı literatüre önemli bir katkı sunmaktadır.

- Literatürde daha önce ESWT'nin kemik greftleri üzerine etkisinin araştırıldığı, sonuçların üç boyutlu olarak analiz edilebilmesini sağlayan stereolojik metotlar ile incelendiği bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız metoduyla ve sonuçların gerçeğe en yakın niceliksel değerlerin elde edilmesi yönüyle öncü bir çalışma niteliğindedir.

- Kritik boyuttaki kemik defektlerine herhangi bir biyomateryal uygulanmadığında, ESWT tek başına etkili olamamakta, defektin büyük bir kısmı bağ dokusu ile dolmakta ve kemikleşme sınırlı seviye kalmaktadır.

- ESWT uygulaması erken dönem kemik iyileşmesinde hem diyabetik gruplarda hem de diyabetik olmayan gruplarda etkili olmamaktadır. Diyabetik gruplarda ESWT uygulaması zaman içerisinde yeni kemik dokusu ve yeni damarlanma hacminde artışa neden olmaktadır.

- ESWT, diyabetli ve diyabetsiz deneklerde alloplastik greft materyalinin uygulandığı defeklerin iyileşmesini stimüle ettiği bulunmuştur.

- ESWT'nin tekrarlı dozları, allogreft uygulanan kritik boyutlu kemik defektlerinin erken ve geç dönem iyileşmesinde pozitif etkili olmuştur.

- ESWT'nin biyomateryaller ile kombine olarak klinik çalışmalarda kemik defektlerinin tedavisinde uygulanmasıyla önemli sonuçlar elde edilebileceği düşünülmektedir.

- ESWT'nin kemik dokusu stimülasyonu için standardize edilmiş uygulama parametreleri bulunmamaktadır. Bu çalışmadaki kullanılan doz miktarı, atım sayısı, apikatör cinsi ve uygulanma zamanları gibi özellikler, ESWT'nin kemik iyileşmesinin stimülasyonunda optimal değerlerin belirlenmesinde önemli bir katkı sağlamaktadır.

- Odaksız ESWT'nin uzun dönemde mandibula ve çevre dokular (fasiyal ve trigeminal sinir, tükürük bezleri ve damarlar) üzerindeki etkisinin araştırılması önerilmektedir.

- Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçları destekleyecek, farklı deney modellerinde ESWT'nin greft üzerine etkilerinin ve diyabetik kemik iyileşmesi üzerine etkisinin inceleneceği başka çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu çalışmaların özellikle farklı enerji akış yoğunluğu, atım sayısı ve seans sayısı belirlenmesiyle ve odaklı veya odaksız şok dalga formlarının kullanılmasıyla optimum sonuçlara ulaşabileceğini ve kemik dokusu rejenerasyonu üzerindeki etkisinin daha iyi anlaşılabilceğini düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

- Aaboe M, Pinholt EM, Hjorting-Hansen E. Healing of experimentally created defects: a review. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1995;33(5):312-318.
- Abbassy MA, Watari I, Soma K. The effect of diabetes mellitus on rat mandibular bone formation and microarchitecture. *Eur J Oral Sci.* 2010;118(4):364-369.
- Abdi S, Bayat M, Javadieh F, Mohsenifar Z, Rezaie F, Bayat M. The effects of helium-neon light therapy on healing of partial osteotomy of the tibia in streptozotocin induced diabetic rats. *Photomed Laser Surg.* 2009;27(6):907-912.
- Ahlmann E, Patzakis M, Roidis N, Shepherd L, Holtom P. Comparison of anterior and posterior iliac crest bone grafts in terms of harvest-site morbidity and functional outcomes. *J Bone Joint Surg Am.* 2002;84-a(5):716-720.
- Akiyama H, Hachiya Y, Otsuka H, Kurisuno M, Kawanabe K, Katayama N, Ohura H, Yamamoto K, Sato K, Matsuda S. Low-intensity pulsed ultrasound therapy stimulates callus formation between host femur and cortical onlay strut allograft. *Ultrasound Med Biol.* 2014;40(6):1197-1203.
- Akyol UK, Gungormus M. Effect of biostimulation on healing of bone defects in diabetic rats. *Photomed Laser Surg.* 2010;28(3):411-416.
- Alden TD, Beres EJ, Laurent JS, Engh JA, Das S, London SD, Jane JA, Jr., Hudson SB, Helm GA. The use of bone morphogenetic protein gene therapy in craniofacial bone repair. *J Craniofac Surg.* 2000;11(1):24-30.
- Alkan A, Erdem E, Gunhan O, Karasu C. Histomorphometric evaluation of the effect of doxycycline on the healing of bone defects in experimental diabetes mellitus: a pilot study. *J Oral Maxillofac Surg.* 2002;60(8):898-904.
- Almeida JD, Arisawa EA, da Rocha RF, Carvalho YR. Effect of calcitonin on bone regeneration in male rats: a histomorphometric analysis. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2007;36(5):435-440.
- Aloise AC, Pelegrine AA, Zimmermann A, de Mello EOR, Ferreira LM. Repair of critical-size bone defects using bone marrow stem cells or autogenous bone with or without collagen membrane: a histomorphometric study in rabbit calvaria. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2015;30(1):208-215.
- Alsousou J, Thompson M, Hulley P, Noble A, Willett K. The biology of platelet-rich plasma and its application in trauma and orthopaedic surgery: a review of the literature. *J Bone Joint Surg Br.* 2009;91(8):987-996.
- Altuntas EE, Oztemur Z, Ozer H, Muderris S. Effect of extracorporeal shock waves on subcondylar mandibular fractures. *J Craniofac Surg.* 2012;23(6):1645-1648.
- Antonic V, Mittermayr R, Schaden W, Stojadinovic A. Evidence supporting extracorporeal shock wave therapy for acute and chronic soft tissue wounds. *Wounds.* 2011;23(7):204-215.

- Armas LA, Akhter MP, Drincic A, Recker RR. Trabecular bone histomorphometry in humans with Type 1 Diabetes Mellitus. *Bone*. 2012;50(1):91-96.
- Arosarena OA, Collins WL. Defect repair in the rat mandible with bone morphogenic protein 5 and prostaglandin E1. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003a;129(10):1125-1130.
- Arosarena OA, Falk A, Malmgren L, Bookman L, Allen MJ, Schoonmaker J, Tatum S, Kellman R. Defect repair in the rat mandible with bone morphogenic proteins and marrow cells. *Arch Facial Plast Surg*. 2003b;5(1):103-108.
- Arslanian S. Type 2 diabetes in children: clinical aspects and risk factors. *Horm Res*. 2002;57 Suppl 1(19-28).
- Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2008;31(Supplement 1):S55-S60.
- Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2010;33(Supplement 1):S62-S69.
- Atalay Y, Bozkurt MF, Gonul Y, Cakmak O, Agacayak KS, Kose I, Hazman O, Keles H, Turamanlar O, Eroglu M. The effects of amlodipine and platelet rich plasma on bone healing in rats. *Drug Des Devel Ther*. 2015;9(1973-1981).
- Atkinson MA, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet*. 2001;358(9277):221-229.
- Augat P, Claes L, Suger G. In vivo effect of shock-waves on the healing of fractured bone. *Clin Biomech (Bristol, Avon)*. 1995;10(7):374-378.
- Avila G, Neiva R, Misch CE, Galindo-Moreno P, Benavides E, Rudek I, Wang HL. Clinical and histologic outcomes after the use of a novel allograft for maxillary sinus augmentation: a case series. *Implant Dent*. 2010a;19(4):330-341.
- Avila G, Wang HL, Galindo-Moreno P, Misch CE, Bagramian RA, Rudek I, Benavides E, Moreno-Riestra I, Braun T, Neiva R. The influence of the bucco-palatal distance on sinus augmentation outcomes. *J Periodontol*. 2010b;81(7):1041-1050.
- Azuma Y, Ito M, Harada Y, Takagi H, Ohta T, Jingushi S. Low-intensity pulsed ultrasound accelerates rat femoral fracture healing by acting on the various cellular reactions in the fracture callus. *J Bone Miner Res*. 2001;16(4):671-680.
- Bacabac RG, Smit TH, Mullender MG, Dijcks SJ, Van Loon JJ, Klein-Nulend J. Nitric oxide production by bone cells is fluid shear stress rate dependent. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;315(4):823-829.
- Bach JF. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N Engl J Med*. 2002;347(12):911-920.
- Barnes K, Lanz O, Werre S, Clapp K, Gilley R. Comparison of autogenous cancellous bone grafting and extracorporeal shock wave therapy on osteotomy healing in the tibial tuberosity advancement procedure in dogs. *Vet Comp Orthop Traumatol*. 2015;28(
- Barrett-Connor E, Kritz-Silverstein D. Does hyperinsulinemia preserve bone? *Diabetes Care*. 1996;19(12):1388-1392.



- Bauer TW, Muschler GF. Bone graft materials. An overview of the basic science. *Clin Orthop Relat Res.* 2000;371):10-27.
- Bell RA, Mayer-Davis EJ, Beyer JW, D'Agostino RB, Jr., Lawrence JM, Linder B, Liu LL, Marcovina SM, Rodriguez BL, Williams D, Dabelea D. Diabetes in non-Hispanic white youth: prevalence, incidence, and clinical characteristics: the SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Diabetes Care.* 2009;32 Suppl 2(S102-111).
- Bell RH, Jr., Hye RJ. Animal models of diabetes mellitus: physiology and pathology. *J Surg Res.* 1983;35(5):433-460.
- Bernard G. Healing and repair of osseous defects. *Dental Clinics of North America.* 1991;35(3):469-477.
- Biedermann R, Martin A, Handle G, Auckenthaler T, Bach C, Krismer M. Extracorporeal shock waves in the treatment of nonunions. *J Trauma.* 2003;54(5):936-942.
- Bielby R, Jones E, McGonagle D. The role of mesenchymal stem cells in maintenance and repair of bone. *Injury.* 2007;38 S26-32.
- Bigham-Sadegh A, Oryan A. Basic concepts regarding fracture healing and the current options and future directions in managing bone fractures. *Int Wound J.* 2014.
- Bigi MM, Lewicki M, Ubios AM, Mandalunis PM. Experimental model of distraction osteogenesis in edentulous rats. *Braz Oral Res.* 2011;25(3):217-224.
- Birnbaum K, Wirtz DC, Siebert CH, Heller KD. Use of extracorporeal shock-wave therapy (ESWT) in the treatment of non-unions. A review of the literature. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2002;122(6):324-330.
- Boehm CA, Carney EL, Tallarida RJ, Wilson RP. Midazolam enhances the analgesic properties of dexmedetomidine in the rat. *Vet Anaesth Analg.* 2010;37(6):550-556.
- Boix D, Gauthier O, Guicheux J, Pilet P, Weiss P, Grimandi G, Daculsi G. Alveolar bone regeneration for immediate implant placement using an injectable bone substitute: an experimental study in dogs. *J Periodontol.* 2004;75(5):663-671.
- Boskey AL, Coleman R. Aging and bone. *Journal of dental research.* 2010;89(12):1333-1348.
- Botolin S, Faugere MC, Malluche H, Orth M, Meyer R, McCabe LR. Increased bone adiposity and peroxisomal proliferator-activated receptor-gamma2 expression in type I diabetic mice. *Endocrinology.* 2005;146(8):3622-3631.
- Boutzios G, Livadas S, Marinakis E, Opie N, Economou F, Diamanti-Kandarakis E. Endocrine and metabolic aspects of the Wolfram syndrome. *Endocrine.* 2011;40(1):10-13.
- Brandi M. How innovations are changing our management of osteoporosis. *Medicographia.* 2010:1-6.
- Bronoosh P, Tanideh N, Noorafshan A, Andisheh Tadbir A, Aalipanah M, Kamali F, Abbasnia K, Koohi-Hosseiniabadi O. Effects of low-intensity pulsed ultrasound

- on healing of mandibular bone defects: an experimental study in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2015;44(2):277-284.
- Bucholz RW, Carlton A, Holmes RE. Hydroxyapatite and tricalcium phosphate bone graft substitutes. *Orthop Clin North Am*. 1987;18(2):323-334.
- Buckwalter J, Glimcher M, Cooper R, Recker R. Bone biology. *J Bone Joint Surg Am*. 1995;77(8):1276-1289.
- Bulut E, Bas B, Altunkaynak BZ, Bekcioglu B, Erdem Koc G, Gonulol E, Onger ME, Kaplan S. Efficacy of Ankaferd Blood Stopper on bone healing in diabetic rats: a stereological and histopathological study. *Biotech Histochem*. 2014;89(7):535-543.
- Bulut O, Eroglu M, Ozturk H, Tezeren G, Bulut S, Koptagel E. Extracorporeal shock wave treatment for defective nonunion of the radius: a rabbit model. *J Orthop Surg (Hong Kong)*. 2006;14(2):133-137.
- Buser D, Hoffmann B, Bernard JP, Lussi A, Mettler D, Schenk RK. Evaluation of filling materials in membrane-protected bone defects. A comparative histomorphometric study in the mandible of miniature pigs. *Clin Oral Implants Res*. 1998;9(3):137-150.
- Calori GM, Donati D, Di Bella C, Tagliabue L. Bone morphogenetic proteins and tissue engineering: future directions. *Injury*. 2009;40 Suppl 3 S67-76.
- Campana V, Milano G, Pagano E, Barba M, Cicione C, Salonna G, Lattanzi W, Logroscino G. Bone substitutes in orthopaedic surgery: from basic science to clinical practice. *Journal of Materials Science. Materials in Medicine*. 2014;25(10):2445-2461.
- Canan S, ŞAHİN B, ODACI E, Bünyami Ü, ASLAN H, BİLGİÇ S, KAPLAN S. Toplam hacim, hacim yoğunluğu ve hacim oranlarının hesaplanmasında kullanılan bir stereolojik yöntem: Cavalieri prensibi. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*. 2002;22(1):7-14.
- Chapman MW, Bucholz R, Cornell C. Treatment of acute fractures with a collagen-calcium phosphate graft material. A randomized clinical trial. *J Bone Joint Surg Am*. 1997;79(4):495-502.
- Chatzigeorgiou A, Halapas A, Kalafatakis K, Kamper E. The use of animal models in the study of diabetes mellitus. *In Vivo*. 2009;23(2):245-258.
- Cheing GL, Chang H. Extracorporeal shock wave therapy. *J Orthop Sports Phys Ther*. 2003;33(6):337-343.
- Chen Y. Orthopedic applications of gene therapy. *J Orthop Sci*. 2001;6(2):199-207.
- Chen YJ, Kuo YR, Yang KD, Wang CJ, Huang HC, Wang FS. Shock wave application enhances pertussis toxin protein-sensitive bone formation of segmental femoral defect in rats. *J Bone Miner Res*. 2003;18(12):2169-2179.
- Chen YJ, Kuo YR, Yang KD, Wang CJ, Sheen Chen SM, Huang HC, Yang YJ, Yi-Chih S, Wang FS. Activation of extracellular signal-regulated kinase (ERK) and p38 kinase in shock wave-promoted bone formation of segmental defect in rats. *Bone*. 2004a;34(3):466-477.

- Chen YJ, Wang CJ, Yang KD, Kuo YR, Huang HC, Huang YT, Sun YC, Wang FS. Extracorporeal shock waves promote healing of collagenase-induced Achilles tendinitis and increase TGF-beta1 and IGF-I expression. *J Orthop Res.* 2004b;22(4):854-861.
- Cheng C, Alt V, Pan L, Thormann U, Schnettler R, Strauss LG, Heinemann S, Schumacher M, Gelinsky M, Nies B, Dimitrakopoulou-Strauss A. Application of F-18-sodium fluoride (NaF) dynamic PET-CT (dPET-CT) for defect healing: a comparison of biomaterials in an experimental osteoporotic rat model. *Med Sci Monit.* 2014;20:1942-1949.
- Chin VK, Shinagawa A, Naclerio-Homem Mda G. Bone healing of mandibular critical-size defects in spontaneously hypertensive rats. *Braz Oral Res.* 2013;27(5):423-430.
- Cho-Chung YS. Autoantibody biomarkers in the detection of cancer. *Biochim Biophys Acta.* 2006;1762(6):587-591.
- Chuckpaiwong B, Berkson EM, Theodore GH. Extracorporeal shock wave for chronic proximal plantar fasciitis: 225 patients with results and outcome predictors. *J Foot Ankle Surg.* 2009;48(2):148-155.
- Cinaz P, Darendeliler F, Akıncı A, Özkan B, DüNDAR B, Abacı A, Akçay T. *Temel Çocuk Endokrinoloji.* 1. Baskı, İstanbul, Nobel Kitabevi, 2013; 409-487.
- Clokie CM, Moghadam H, Jackson MT, Sandor GK. Closure of critical sized defects with allogenic and alloplastic bone substitutes. *J Craniofac Surg.* 2002;13(1):111-121.
- Connolly JF. Injectable bone marrow preparations to stimulate osteogenic repair. *Clin Orthop Relat Res.* 1995;313:8-18.
- Cornell CN. Osteoconductive materials and their role as substitutes for autogenous bone grafts. *Orthop Clin North Am.* 1999;30(4):591-598.
- Cornu O, Libouton X, Naets B, Godts B, Van Tomme J, Delloye C, Banse X. Freeze-dried irradiated bone brittleness improves compactness in an impaction bone grafting model. *Acta Orthop Scand.* 2004;75(3):309-314.
- Cotran R, Kumar V, Robbins S. *Robbin's Pathologic Basis of Disease.* Robbin's Pathologic Basis of Disease, 5th Edition, Prism Book Pvt. Ltd. 1994;667-697.
- Cox G, Jones E, McGonagle D, Giannoudis PV. Reamer-irrigator-aspirator indications and clinical results: a systematic review. *Int Orthop.* 2011;35(7):951-956.
- Craig K, d'Agostino C, Poratt D, Walker M. Original hypothesis: Extracorporeal shockwaves as a homeostatic autoimmune restorative treatment (HART) for Type 1 diabetes mellitus. *Med Hypotheses.* 2014a;83(3):250-253.
- Craig ME, Jefferies C, Dabelea D, Balde N, Seth A, Donaghue KC. Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes.* 2014b;15 Suppl 20 4-17.
- Cunha MJ, Esper LA, Sbrana MC, de Oliveira PG, do Valle AL, de Almeida AL. Effect of low-level laser on bone defects treated with bovine or autogenous bone grafts: in vivo study in rat calvaria. *Biomed Res Int.* 2014.

- d'Agostino C, Romeo P, Lavanga V, Pisani S, Sansone V. Effectiveness of extracorporeal shock wave therapy in bone marrow edema syndrome of the hip. *Rheumatol Int.* 2014;34(11):1513-1518.
- Dallari D, Savarino L, Stagni C, Cenni E, Cenacchi A, Fornasari PM, Albisinni U, Rimondi E, Baldini N, Giunti A. Enhanced tibial osteotomy healing with use of bone grafts supplemented with platelet gel or platelet gel and bone marrow stromal cells. *J Bone Joint Surg Am.* 2007;89(11):2413-2420.
- Das A, Segar CE, Hughley BB, Bowers DT, Botchwey EA. The promotion of mandibular defect healing by the targeting of S1P receptors and the recruitment of alternatively activated macrophages. *Biomaterials.* 2013;34(38):9853-9862.
- De Long WG, Jr., Einhorn TA, Koval K, McKee M, Smith W, Sanders R, Watson T. Bone grafts and bone graft substitutes in orthopaedic trauma surgery. A critical analysis. *J Bone Joint Surg Am.* 2007;89(3):649-658.
- de Vathaire F, El-Fayech C, Ben Ayed FF, Haddy N, Guibout C, Winter D, Thomas-Teinturier C, Veres C, Jackson A, Pacquement H, Schlumberger M, Hawkins M, Diallo I, Oberlin O. Radiation dose to the pancreas and risk of diabetes mellitus in childhood cancer survivors: a retrospective cohort study. *Lancet Oncol.* 2012;13(10):1002-1010.
- Deatherage JR, Matukas VJ, Miller EJ. A review of matrix-induced osteogenesis with special reference to its potential use in cranio-facial surgery. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1988;17(6):395-399.
- DeFronzo RA. Pharmacologic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med.* 2000;133(1):73-74.
- Delacretaz G, Rink K, Pittomvils G, Lafaut JP, Vandeursen H, Boving R. Importance of the implosion of ESWL-induced cavitation bubbles. *Ultrasound Med Biol.* 1995;21(1):97-103.
- Delius M, Draenert K, Al Diek Y, Draenert Y. Biological effects of shock waves: in vivo effect of high energy pulses on rabbit bone. *Ultrasound Med Biol.* 1995;21(9):1219-1225.
- Delius M, Ueberle F, Eisenmenger W. Extracorporeal shock waves act by shock wave-gas bubble interaction. *Ultrasound Med Biol.* 1998;24(7):1055-1059.
- Dell PC, Burchardt H, Glowczewskie FP, Jr. A roentgenographic, biomechanical, and histological evaluation of vascularized and non-vascularized segmental fibular canine autografts. *J Bone Joint Surg Am.* 1985;67(1):105-112.
- Desilets CP, Marden LJ, Patterson AL, Hollinger JO. Development of synthetic bone-repair materials for craniofacial reconstruction. *J Craniofac Surg.* 1990;1(3):150-153.
- Dimitriou R, Tsiridis E, Giannoudis PV. Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury.* 2005;36(12):1392-1404.
- Doblaré M, García J, Gómez M. Modelling bone tissue fracture and healing: a review. *Engineering Fracture Mechanics.* 2004;71(13):1809-1840.

- Dolan R. Facial Plastic, Reconstructive and Trauma Surgery. Place, Informa Health Care, Published 2003; 53-77.
- Donos N, Bosshardt D, Lang N, Graziani F, Tonetti M, Karring T, Kostopoulos L. Bone formation by enamel matrix proteins and xenografts: an experimental study in the rat ramus. *Clin Oral Implants Res.* 2005;16(2):140-146.
- Dorotka R, Kubista B, Schatz KD, Trieb K. Effects of extracorporeal shock waves on human articular chondrocytes and ovine bone marrow stromal cells in vitro. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2003;123(7):345-348.
- Dupoirieux L, Pourquier D, Picot MC, Neves M. Comparative study of three different membranes for guided bone regeneration of rat cranial defects. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2001;30(1):58-62.
- Ebrahimi T, Moslemi N, Rokn A, Heidari M, Nokhbatolfoghahaie H, Fekrazad R. The influence of low-intensity laser therapy on bone healing. *J Dent (Tehran).* 2012;9(4):238-248.
- Egermann M, Goldhahn J, Schneider E. Animal models for fracture treatment in osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2005;16 Suppl 2 S129-138.
- Ehtisham S, Hattersley AT, Dunger DB, Barrett TG. First UK survey of paediatric type 2 diabetes and MODY. *Arch Dis Child.* 2004;89(6):526-529.
- Einhorn TA. Enhancement of fracture-healing. *J Bone Joint Surg Am.* 1995;77(6):940-956.
- Ekaterina K, Kim Y, Kim J-Y, Kim M-R, Kim S, Kim S-J. Histomorphometric study on healing of critical sized defect in rat calvaria using three different bovine grafts. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine.* 2012;9(5):276-281.
- El-Bialy TH, Royston TJ, Magin RL, Evans CA, Zaki Ael M, Frizzell LA. The effect of pulsed ultrasound on mandibular distraction. *Ann Biomed Eng.* 2002;30(10):1251-1261.
- Elster EA, Stojadinovic A, Forsberg J, Shawen S, Andersen RC, Schaden W. Extracorporeal shock wave therapy for nonunion of the tibia. *J Orthop Trauma.* 2010;24(3):133-141.
- Erdogan O, Esen E, Ustun Y, Kurkcu M, Akova T, Gonlusen G, Uysal H, Cevlik F. Effects of low-intensity pulsed ultrasound on healing of mandibular fractures: an experimental study in rabbits. *J Oral Maxillofac Surg.* 2006;64(2):180-188.
- Escobar T, Almeida e Sousa J, Portela A, Vasconcelos M, Faria de Almeida R. The effect of a biphasic calcium phosphate on bone healing: a pilot study in rats. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2014;29(6):1322-1331.
- Escudier MP, Brown JE, Drage NA, McGurk M. Extracorporeal shockwave lithotripsy in the management of salivary calculi. *Br J Surg.* 2003;90(4):482-485.
- Etuk E. Animal models for studying diabetes mellitus. *Agric Biol JN Am.* 2010;1(2):130-134.
- Evans DM, Ralston SH. Nitric oxide and bone. *J Bone Miner Res.* 1996;11(3):300-305.

- Falkensammer F, Arnhart C, Krall C, Schaden W, Freudenthaler J, Bantleon HP. Impact of extracorporeal shock wave therapy (ESWT) on orthodontic tooth movement—a randomized clinical trial. *Clin Oral Investig*. 2014a;18(9):2187-2192.
- Falkensammer F, Rausch-Fan X, Arnhart C, Krall C, Schaden W, Freudenthaler J. Impact of extracorporeal shock-wave therapy on the stability of temporary anchorage devices in adults: a single-center, randomized, placebo-controlled clinical trial. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2014b;146(4):413-422.
- Farina NM, Guzon FM, Pena ML, Cantalapiedra AG. In vivo behaviour of two different biphasic ceramic implanted in mandibular bone of dogs. *J Mater Sci Mater Med*. 2008;19(4):1565-1573.
- Findik Y, Baykul T. Effects of low-intensity pulsed ultrasound on autogenous bone graft healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2014;117(3):e255-260.
- Finkemeier CG. Bone-grafting and bone-graft substitutes. *J Bone Joint Surg Am*. 2002;84-a(3):454-464.
- Finnan RP, Prayson MJ, Goswami T, Miller D. Use of the Reamer-Irrigator-Aspirator for bone graft harvest: a mechanical comparison of three starting points in cadaveric femurs. *J Orthop Trauma*. 2010;24(1):36-41.
- Flechtner I, Vaxillaire M, Cave H, Scharfmann R, Froguel P, Polak M. Neonatal hyperglycaemia and abnormal development of the pancreas. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2008;22(1):17-40.
- Fleming JE, Jr., Cornell CN, Muschler GF. Bone cells and matrices in orthopedic tissue engineering. *Orthop Clin North Am*. 2000;31(3):357-374.
- Forriol F, Solchaga L, Moreno JL, Canadell J. The effect of shockwaves on mature and healing cortical bone. *Int Orthop*. 1994;18(5):325-329.
- Frenken JW, Bouwman WF, Bravenboer N, Zijderveld SA, Schulten EA, ten Bruggenkate CM. The use of Straumann Bone Ceramic in a maxillary sinus floor elevation procedure: a clinical, radiological, histological and histomorphometric evaluation with a 6-month healing period. *Clin Oral Implants Res*. 2010;21(2):201-208.
- Fucini SE, Quintero G, Gher ME, Black BS, Richardson AC. Small versus large particles of demineralized freeze-dried bone allografts in human intrabony periodontal defects. *J Periodontol*. 1993;64(9):844-847.
- Gale EA. The rise of childhood type 1 diabetes in the 20th century. *Diabetes*. 2002;51(12):3353-3361.
- Gallacher SJ, Fenner JA, Fisher BM, Quin JD, Fraser WD, Logue FC, Cowan RA, Boyle IT, MacCuish AC. An evaluation of bone density and turnover in premenopausal women with type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med*. 1993;10(2):129-133.
- Gallego L, Junquera L, Garcia E, Garcia V, Alvarez-Viejo M, Costilla S, Fresno MF, Meana A. Repair of rat mandibular bone defects by alveolar osteoblasts in a novel plasma-derived albumin scaffold. *Tissue Eng Part A*. 2010;16(4):1179-1187.

- Gapski R, Misch C, Stapleton D, Mullins S, Cobb C, Vansanathan A, Reissner M. Histological, histomorphometric, and radiographic evaluation of a sinus augmentation with a new bone allograft: a clinical case report. *Implant Dent.* 2008;17(4):430-438.
- Garg AK. Bone biology, harvesting, and grafting for dental implants: rationale and clinical applications. Place, Quintessence Publishing Company, Published 2004; 3-57.
- Gazdag AR, Lane JM, Glaser D, Forster RA. Alternatives to Autogenous Bone Graft: Efficacy and Indications. *J Am Acad Orthop Surg.* 1995;3(1):1-8.
- Geiger F, Lorenz H, Xu W, Szalay K, Kasten P, Claes L, Augat P, Richter W. VEGF producing bone marrow stromal cells (BMSC) enhance vascularization and resorption of a natural coral bone substitute. *Bone.* 2007;41(4):516-522.
- Gelber PE, Batista J, Millan-Billi A, Patthauer L, Vera S, Gomez-Masdeu M, Monllau JC. Magnetic resonance evaluation of TruFit(R) plugs for the treatment of osteochondral lesions of the knee shows the poor characteristics of the repair tissue. *Knee.* 2014;21(4):827-832.
- Gerdesmeyer L, Frey C, Vester J, Maier M, Weil L, Jr., Weil L, Sr., Russlies M, Stienstra J, Scurran B, Fedder K, Diehl P, Lohrer H, Henne M, Gollwitzer H. Radial extracorporeal shock wave therapy is safe and effective in the treatment of chronic recalcitrant plantar fasciitis: results of a confirmatory randomized placebo-controlled multicenter study. *Am J Sports Med.* 2008;36(11):2100-2109.
- Gerdesmeyer L, Wagenpfeil S, Haake M, Maier M, Loew M, Wortler K, Lampe R, Seil R, Handle G, Gassel S, Rompe JD. Extracorporeal shock wave therapy for the treatment of chronic calcifying tendonitis of the rotator cuff: a randomized controlled trial. *Jama.* 2003;290(19):2573-2580.
- Geris L, Gerisch A, Sloten JV, Weiner R, Oosterwyck HV. Angiogenesis in bone fracture healing: a bioregulatory model. *J Theor Biol.* 2008;251(1):137-158.
- Ghali G, Waite P, Miloro M, Larsen P. Peterson's principles of oral and maxillofacial surgery. 2nd ed, Place, PMPH-USA, 2004; 3-17.
- Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E. Bone substitutes: an update. *Injury.* 2005;36 Suppl 3(S20-27).
- Giannoudis PV, Einhorn TA. Bone morphogenetic proteins in musculoskeletal medicine. *Injury.* 2009;40 Suppl 3S1-3.
- Glaser B, Cerasi E. Early intensive insulin treatment for induction of long-term glycaemic control in type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab.* 1999;1(2):67-74.
- Glass GE, Chan JK, Freidin A, Feldmann M, Horwood NJ, Nanchahal J. TNF-alpha promotes fracture repair by augmenting the recruitment and differentiation of muscle-derived stromal cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(4):1585-1590.
- Glorieux FH, Pettifor JM, Jüppner H, 2012. Pediatric bone biology & diseases, 2nd ed. Academic, London, pp. 1-28.

- Goldhahn J, Feron JM, Kanis J, Papapoulos S, Reginster JY, Rizzoli R, Dere W, Mitlak B, Tsouderos Y, Boonen S. Implications for fracture healing of current and new osteoporosis treatments: an ESCEO consensus paper. *Calcif Tissue Int.* 2012;90(5):343-353.
- Gollwitzer H, Gloeck T, Roessner M, Langer R, Horn C, Gerdesmeyer L, Diehl P. Radial extracorporeal shock wave therapy (rESWT) induces new bone formation in vivo: results of an animal study in rabbits. *Ultrasound Med Biol.* 2013;39(1):126-133.
- Gomes PS, Fernandes MH. Rodent models in bone-related research: the relevance of calvarial defects in the assessment of bone regeneration strategies. *Lab Anim.* 2011;45(1):14-24.
- Goodman SB, Bauer TW, Carter D, Casteleyn PP, Goldstein SA, Kyle RF, Larsson S, Stankewich CJ, Swiontkowski MF, Tencer AF, Yetkinler DN, Poser RD. Norian SRS cement augmentation in hip fracture treatment. Laboratory and initial clinical results. *Clin Orthop Relat Res.* 1998;348:42-50.
- Grassmann JP, Schnependahl J, Hakimi AR, Herten M, Betsch M, Logters TT, Thelen S, Sager M, Wild M, Windolf J, Jungbluth P, Hakimi M. Hyperbaric oxygen therapy improves angiogenesis and bone formation in critical sized diaphyseal defects. *J Orthop Res.* 2015;33(4):513-520.
- Greenbaum MA, Kanat IO. Current concepts in bone healing. Review of the literature. *J Am Podiatr Med Assoc.* 1993;83(3):123-129.
- Greenspan DC. Physical And Chemical Properties Of Commercially Available Mineralized Bone Allograft. *Zimmer Dental.* 2012:1-8.
- Greenwald AS, Boden SD, Goldberg VM, Khan Y, Laurencin CT, Rosier RN. Bone-graft substitutes: facts, fictions, and applications. *J Bone Joint Surg Am.* 2001;83-A Suppl 2 Pt 2 98-103.
- Grunert PC, Jonitz-Heincke A, Su Y, Souffrant R, Hansmann D, Ewald H, Kruger A, Mittelmeier W, Bader R. Establishment of a novel in vitro test setup for electric and magnetic stimulation of human osteoblasts. *Cell Biochem Biophys.* 2014;70(2):805-817.
- Gundersen HJ, Jensen EB. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microsc.* 1987;147(Pt 3):229-263.
- Gungor N, Bacha F, Saad R, Janosky J, Arslanian S. Youth type 2 diabetes: insulin resistance, beta-cell failure, or both? *Diabetes Care.* 2005;28(3):638-644.
- Guo S, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *Journal of dental research.* 2010;89(3):219-229.
- Hagopian WA, Sanjeevi CB, Kockum I, Landin-Olsson M, Karlsten AE, Sundkvist G, Dahlquist G, Palmer J, Lernmark A. Glutamate decarboxylase-, insulin-, and islet cell-antibodies and HLA typing to detect diabetes in a general population-based study of Swedish children. *J Clin Invest.* 1995;95(4):1505-1511.
- Harjutsalo V, Sjoberg L, Tuomilehto J. Time trends in the incidence of type 1 diabetes in Finnish children: a cohort study. *Lancet.* 2008;371(9626):1777-1782.



- Hathout EH, Thomas W, El-Shahawy M, Nahab F, Mace JW. Diabetic autoimmune markers in children and adolescents with type 2 diabetes. *Pediatrics*. 2001;107(6):E102.
- Hausdorf J, Sievers B, Schmitt-Sody M, Jansson V, Maier M, Mayer-Wagner S. Stimulation of bone growth factor synthesis in human osteoblasts and fibroblasts after extracorporeal shock wave application. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2011;131(3):303-309.
- Haverstock BD, Mandracchia VJ. Cigarette smoking and bone healing: implications in foot and ankle surgery. *J Foot Ankle Surg*. 1998;37(1):69-74.
- Hayashi D, Kawakami K, Ito K, Ishii K, Tanno H, Imai Y, Kanno E, Maruyama R, Shimokawa H, Tachi M. Low-energy extracorporeal shock wave therapy enhances skin wound healing in diabetic mice: a critical role of endothelial nitric oxide synthase. *Wound Repair Regen*. 2012;20(6):887-895.
- He R, Zhou W, Zhang Y, Hu S, Yu H, Luo Y, Liu B, Ran J, Wu J, Wang Y, Chen W. Combination of low-intensity pulsed ultrasound and C3H10T1/2 cells promotes bone-defect healing. *Int Orthop*. 2015.
- Hedner E, Linde A. Efficacy of bone morphogenetic protein (BMP) with osteopromotive membranes--an experimental study in rat mandibular defects. *Eur J Oral Sci*. 1995;103(4):236-241.
- Hirota M, Matsui Y, Mizuki N, Kishi T, Watanuki K, Ozawa T, Fukui T, Shoji S, Adachi M, Monden Y, Iwai T, Tohnai I. Combination with allogenic bone reduces early absorption of beta-tricalcium phosphate (beta-TCP) and enhances the role as a bone regeneration scaffold. Experimental animal study in rat mandibular bone defects. *Dent Mater J*. 2009;28(2):153-161.
- Hofbauer LC, Brueck CC, Singh SK, Dobnig H. Osteoporosis in patients with diabetes mellitus. *J Bone Miner Res*. 2007;22(9):1317-1328.
- Hofmann A, Ritz U, Hessmann MH, Alini M, Rommens PM, Rompe JD. Extracorporeal shock wave-mediated changes in proliferation, differentiation, and gene expression of human osteoblasts. *J Trauma*. 2008;65(6):1402-1410.
- Hogel F, Hoffmann S, Hungerer S, Fleischacker E, Ullmann T, Betz OB, Augat P. Bone healing of critical size defects of the rat femur after the application of bone marrow aspirate and two different rh-BMP7 concentrations. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2014.
- Hollinger JO, Brekke J, Gruskin E, Lee D. Role of bone substitutes. *Clin Orthop Relat Res*. 1996;324:55-65.
- Hollinger JO, Kleinschmidt JC. The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. *J Craniofac Surg*. 1990;1(1):60-68.
- Horne LT, Murray PM, Saha S, Sidhar K. Effects of distal radius bone graft harvest on the axial compressive strength of the radius. *J Hand Surg Am*. 2010;35(2):262-266.
- Hsu RW, Tai CL, Chen CY, Hsu WH, Hsueh S. Enhancing mechanical strength during early fracture healing via shockwave treatment: an animal study. *Clin Biomech (Bristol, Avon)*. 2003;18(6):S33-39.

- Hu WW, Hsu YT, Cheng YC, Li C, Ruaan RC, Chien CC, Chung CA, Tsao CW. Electrical stimulation to promote osteogenesis using conductive polypyrrole films. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2014;37 :28-36.
- Hu X, Yao L, Lu C, Wang S, Chen Y. Experimental and clinical investigations of human insoluble bone matrix gelatin. A report of 24 cases. *Clin Orthop Relat Res*. 1993;293:360-365.
- İrer SV, Alper G. Deneysel Diyabet Modelleri. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*. 2004;127-136.
- Isaksson H, Comas O, van Donkelaar CC, Mediavilla J, Wilson W, Huiskes R, Ito K. Bone regeneration during distraction osteogenesis: mechano-regulation by shear strain and fluid velocity. *J Biomech*. 2007;40(9):2002-2011.
- Iwai T, Harada Y, Imura K, Iwabuchi S, Murai J, Hiramatsu K, Myoui A, Yoshikawa H, Tsumaki N. Low-intensity pulsed ultrasound increases bone ingrowth into porous hydroxyapatite ceramic. *J Bone Miner Metab*. 2007;25(6):392-399.
- Jafarian M, Eslaminejad MB, Khojasteh A, Mashhadi Abbas F, Dehghan MM, Hassanizadeh R, Houshmand B. Marrow-derived mesenchymal stem cells-directed bone regeneration in the dog mandible: a comparison between biphasic calcium phosphate and natural bone mineral. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008;105(5):e14-24.
- Jahagirdar R, Scammell BE. Principles of fracture healing and disorders of bone union. *Surgery (Oxford)*. 2009;27(2):63-69.
- Jensen SS, Terheyden H. Bone augmentation procedures in localized defects in the alveolar ridge: clinical results with different bone grafts and bone-substitute materials. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009;24 Suppl:218-236.
- Jensen SS, Yeo A, Dard M, Hunziker E, Schenk R, Buser D. Evaluation of a novel biphasic calcium phosphate in standardized bone defects: a histologic and histomorphometric study in the mandibles of minipigs. *Clin Oral Implants Res*. 2007;18(6):752-760.
- Jin P, Zhang X, Wu Y, Li L, Yin Q, Zheng L, Zhang H, Sun C. Streptozotocin-induced diabetic rat-derived bone marrow mesenchymal stem cells have impaired abilities in proliferation, paracrine, antiapoptosis, and myogenic differentiation. *Transplant Proc*. 2010;42(7):2745-2752.
- Johnson EE, Urist MR, Finerman GA. Resistant nonunions and partial or complete segmental defects of long bones. Treatment with implants of a composite of human bone morphogenetic protein (BMP) and autolyzed, antigen-extracted, allogeneic (AAA) bone. *Clin Orthop Relat Res*. 1992;277:229-237.
- Joslin EP, Kahn CR. *Joslin's Diabetes Mellitus*: Edited by C. Ronald Kahn...[et Al.]. Place, Lippincott Williams & Wilkins, Published 2005.
- Junqueira L, Carneiro J, Kelley R, 2003. *Basic Histology*. McGraw-Hill, pp. 141-159.
- Kaban LB, Glowacki J, Murray JE. Repair of experimental mandibular bony defects in rats. *Surg Forum*. 1979;30: 519-521.

- Kamelger F, Oehlbauer M, Piza-Katzer H, Meirer R. Extracorporeal shock wave treatment in ischemic tissues: what is the appropriate number of shock wave impulses? *J Reconstr Microsurg.* 2010;26(2):117-121.
- Kan B, Sencimen M, Bayar GR, Korkusuz P, Coskun AT, Korkmaz A, Bahador E, Zerener T. Histomorphometric and microtomographic evaluation of the effects of hyperbaric oxygen and systemic ozone, used alone and in combination, on calvarial defect healing in rats. *J Oral Maxillofac Surg.* 2015;73(6):1231.e1231-1210.
- Karaoğlu ZKD. Deneysel Diyabet Modellerinde Alloksan ve Streptozotosin Kullanımı. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism.* 2012:16.
- Kaulesar Johannes EJ, Sukul DM, Bijma AM, Mulder PG. Effects of high-energy shockwaves on normal human fibroblasts in suspension. *J Surg Res.* 1994;57(6):677-681.
- Kawcak CE, Frisbie DD, McIlwraith CW. Effects of extracorporeal shock wave therapy and polysulfated glycosaminoglycan treatment on subchondral bone, serum biomarkers, and synovial fluid biomarkers in horses with induced osteoarthritis. *Am J Vet Res.* 2011;72(6):772-779.
- Kazancioglu HO, Bereket MC, Ezirganli S, Aydin MS, Aksakalli S. Effects of caffeic acid phenethyl ester on wound healing in calvarial defects. *Acta Odontol Scand.* 2015;73(1):21-27.
- Kazancioglu HO, Ezirganli S, Aydin MS. Effects of laser and ozone therapies on bone healing in the calvarial defects. *J Craniofac Surg.* 2013;24(6):2141-2146.
- Kearney CJ, Hsu HP, Spector M. The use of extracorporeal shock wave-stimulated periosteal cells for orthotopic bone generation. *Tissue Eng Part A.* 2012;18(13-14):1500-1508.
- Keramaris NC, Calori GM, Nikolaou VS, Schemitsch EH, Giannoudis PV. Fracture vascularity and bone healing: a systematic review of the role of VEGF. *Injury.* 2008;39 Suppl 2:S45-57.
- Kidder LS, Chen X, Schmidt AH, Lew WD. Osteogenic protein-1 overcomes inhibition of fracture healing in the diabetic rat: a pilot study. *Clin Orthop Relat Res.* 2009;467(12):3249-3256.
- Kierszenbaum AL, 2006. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi-Patolojiye Giriş*, 2 ed. Palme, pp. 118-144.
- Kim BS, Yang SS, Yoon JH, Lee J. Enhanced bone regeneration by silicon-substituted hydroxyapatite derived from cuttlefish bone. *Clin Oral Implants Res.* 2015a.
- Kim HC, Song JM, Kim CJ, Yoon SY, Kim IR, Park BS, Shin SH. Combined effect of bisphosphonate and recombinant human bone morphogenetic protein 2 on bone healing of rat calvarial defects. *Maxillofac Plast Reconstr Surg.* 2015b;37(1):16.
- Kim J-H, Kim H-W. Rat defect models for bone grafts and tissue engineered bone constructs. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine.* 2013a;10(6):310-316.

- Kim J, Yang HJ, Cho TH, Lee SE, Park YD, Kim HM, Kim IS, Seo YK, Hwang SJ, Kim SJ. Enhanced regeneration of rabbit mandibular defects through a combined treatment of electrical stimulation and rhBMP-2 application. *Med Biol Eng Comput.* 2013b;51(12):1339-1348.
- Kim JH, Lee DE, Woo GH, Cha JH, Bak EJ, Yoo YJ. Osteocytic Sclerostin Expression in Alveolar Bone in Diabetic Rats With Ligature Induced-Periodontitis. *J Periodontol.* 2015c:1-14.
- Ko JY, Chen HS, Chen LM. Treatment of lateral epicondylitis of the elbow with shock waves. *Clin Orthop Relat Res.* 2001;387:60-67.
- Kocabey Y, Klein S, Nyland J, Caborn D. Tibial fixation comparison of semitendinosus-bone composite allografts fixed with bioabsorbable screws and bone-patella tendon-bone grafts fixed with titanium screws. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2004;12(2):88-93.
- Korres N, Tsiridis E, Pavlou G, Mitsoudis A, Perrea DN, Zoumbos AB. Biomechanical characteristics of bone in streptozotocin-induced diabetic rats: An in-vivo randomized controlled experimental study. *World J Orthop.* 2013;4(3):124-129.
- Krakauer JC, McKenna MJ, Buderer NF, Rao DS, Whitehouse FW, Parfitt AM. Bone loss and bone turnover in diabetes. *Diabetes.* 1995;44(7):775-782.
- Krauser JT, Rohrer MD, Wallace SS. Human histologic and histomorphometric analysis comparing OsteoGraf/N with PepGen P-15 in the maxillary sinus elevation procedure: a case report. *Implant Dent.* 2000;9(4):298-302.
- Krishnan L, Priddy LB, Esancy C, Li MT, Stevens HY, Jiang X, Tran L, Rowe DW, Guldberg RE. Hydrogel-based Delivery of rhBMP-2 Improves Healing of Large Bone Defects Compared With Autograft. *Clin Orthop Relat Res.* 2015;473(9):2885-2897.
- Kuo YR, Wang CT, Wang FS, Chiang YC, Wang CJ. Extracorporeal shock-wave therapy enhanced wound healing via increasing topical blood perfusion and tissue regeneration in a rat model of STZ-induced diabetes. *Wound Repair Regen.* 2009;17(4):522-530.
- Lafzi A, Vahabi S, Ghods S, Torshabi M. In vitro effect of mineralized and demineralized bone allografts on proliferation and differentiation of MG-63 osteoblast-like cells. *Cell Tissue Bank.* 2015.
- Lai JP, Wang FS, Hung CM, Wang CJ, Huang CJ, Kuo YR. Extracorporeal shock wave accelerates consolidation in distraction osteogenesis of the rat mandible. *J Trauma.* 2010;69(5):1252-1258.
- Lane JM. Bone graft substitutes. *West J Med.* 1995;163(6):565-566.
- LaStayo PC, Winters KM, Hardy M. Fracture healing: bone healing, fracture management, and current concepts related to the hand. *J Hand Ther.* 2003;16(2):81-93.
- Laurencin C, Khan Y, El-Amin SF. Bone graft substitutes. *Expert Rev Med Devices.* 2006;3(1):49-57.

- Lecomte A, Gautier H, Bouler JM, Gouyette A, Pegon Y, Daculsi G, Merle C. Biphasic calcium phosphate: a comparative study of interconnected porosity in two ceramics. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2008;84(1):1-6.
- Lee CY, Prasad HS, Suzuki JB, Stover JD, Rohrer MD. The correlation of bone mineral density and histologic data in the early grafted maxillary sinus: a preliminary report. *Implant Dent*. 2011;20(3):202-214.
- Leidig-Bruckner G, Ziegler R. Diabetes mellitus a risk for osteoporosis? *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2001;109 Suppl 2(S493-514).
- Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 2008;51(2):216-226.
- Leslie WD, Lix LM, Prior HJ, Derksen S, Metge C, O'Neil J. Biphasic fracture risk in diabetes: a population-based study. *Bone*. 2007;40(6):1595-1601.
- Leung KS, Lee WS, Tsui HF, Liu PP, Cheung WH. Complex tibial fracture outcomes following treatment with low-intensity pulsed ultrasound. *Ultrasound Med Biol*. 2004;30(3):389-395.
- Li J, Wang X, Zhou C, Liu L, Wu Y, Wang D, Jiang H. Perioperative glucocorticosteroid treatment delays early healing of a mandible wound by inhibiting osteogenic differentiation. *Injury*. 2012;43(8):1284-1289.
- Li X, Lin Z, Duan Y, Shu X, Jin A, Min S, Yi W. Repair of large segmental bone defects in rabbits using BMP and FGF composite xenogeneic bone. *Genet Mol Res*. 2015;14(2):6395-6400.
- Liese AD, D'Agostino RB, Jr., Hamman RF, Kilgo PD, Lawrence JM, Liu LL, Loots B, Linder B, Marcovina S, Rodriguez B, Standiford D, Williams DE. The burden of diabetes mellitus among US youth: prevalence estimates from the SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Pediatrics*. 2006;118(4):1510-1518.
- Lind M, Bunger C. Factors stimulating bone formation. *Eur Spine J*. 2001;10 Suppl 2:S102-109.
- Lind M, Bunger C. Orthopaedic applications of gene therapy. *Int Orthop*. 2005;29(4):205-209.
- Liu WC, Robu IS, Patel R, Leu MC, Velez M, Chu TM. The effects of 3D bioactive glass scaffolds and BMP-2 on bone formation in rat femoral critical size defects and adjacent bones. *Biomed Mater*. 2014;9(4):045013.
- Locatto ME, Abranzon H, Caferra D, Fernandez MC, Alloatti R, Puche RC. Growth and development of bone mass in untreated alloxan diabetic rats. Effects of collagen glycosylation and parathyroid activity on bone turnover. *Bone Miner*. 1993;23(2):129-144.
- Lohse-Busch H, Marlinghaus E, Reime U, Mowis U. Focused low-energy extracorporeal shock waves with distally symmetric polyneuropathy (DSPNP): a pilot study. *NeuroRehabilitation*. 2014;35(2):227-233.
- Lopez-Ibarra PJ, Pastor MM, Escobar-Jimenez F, Pardo MD, Gonzalez AG, Luna JD, Requena ME, Diosdado MA. Bone mineral density at time of clinical diagnosis of adult-onset type 1 diabetes mellitus. *Endocr Pract*. 2001;7(5):346-351.

- Lorente CA, Song BZ, Donoff RB. Healing of bony defects in the irradiated and unirradiated rat mandible. *J Oral Maxillofac Surg.* 1992;50(12):1305-1309.
- Ludwig J, Lauber S, Lauber HJ, Dreisilker U, Raedel R, Hotzinger H. High-energy shock wave treatment of femoral head necrosis in adults. *Clin Orthop Relat Res.* 2001;387:119-126.
- Lukac D, Milenovic N, Drapsin M, Kecojevic V, Sekulic S, Klasnja A. Ultrasonographic diagnostics and evaluation of calcaneal fracture: case report. *Srp Arh Celok Lek.* 2013;141(7-8):532-535.
- Lungkaphin A, Arjinajarn P, Pongchaidecha A, Srimaroeng C, Chatsudthipong L, Chatsudthipong V. Impaired insulin signaling affects renal organic anion transporter 3 (Oat3) function in streptozotocin-induced diabetic rats. *PLoS One.* 2014;9(5):e96236.
- Magliano DJ, Harding JL, Shaw JE. Glycemic control and excess mortality in type 1 diabetes. *N Engl J Med.* 2015;372(9):880.
- Magri AM, Fernandes KR, Assis L, Mendes NA, da Silva Santos AL, de Oliveira Dantas E, Renno AC. Photobiomodulation and bone healing in diabetic rats: evaluation of bone response using a tibial defect experimental model. *Lasers Med Sci.* 2015.
- Mahato NK. Characterization of cortico-cancellous bone along the iliac crest: focus on graft harvesting. *Surg Radiol Anat.* 2011;33(5):433-437.
- Maia LG, Alves AV, Bastos TS, Moromizato LS, Lima-Verde IB, Ribeiro MA, Gandini Junior LG, de Albuquerque-Junior RL. Histological analysis of the periodontal ligament and alveolar bone during dental movement in diabetic rats subjected to low-level laser therapy. *J Photochem Photobiol B.* 2014;135:65-74.
- Maier M, Milz S, Tischer T, Munzing W, Manthey N, Stabler A, Holzkecht N, Weiler C, Nerlich A, Refior HJ, Schmitz C. Influence of extracorporeal shock-wave application on normal bone in an animal model in vivo. Scintigraphy, MRI and histopathology. *J Bone Joint Surg Br.* 2002;84(4):592-599.
- Martin LM, McCabe LR. Type I diabetic bone phenotype is location but not gender dependent. *Histochem Cell Biol.* 2007;128(2):125-133.
- Martini L, Giavaresi G, Fini M, Borsari V, Torricelli P, Giardino R. Early effects of extracorporeal shock wave treatment on osteoblast-like cells: a comparative study between electromagnetic and electrohydraulic devices. *J Trauma.* 2006;61(5):1198-1206.
- Mattson JS, Gallagher SJ, Jabro MH, McLey LL. Complications associated with diabetes mellitus after guided tissue regeneration: case report. *Compend Contin Educ Dent.* 1998;19(9):923-926, 928, 930 passim; quiz 938.
- McCabe LR. Understanding the pathology and mechanisms of type I diabetic bone loss. *J Cell Biochem.* 2007;102(6):1343-1357.
- McDaniel JS, Pilia M, Raut V, Ledford J, Shiels SM, Wenke JC, Barnes B, Rathbone CR. Alternatives to autograft evaluated in a rabbit segmental bone defect. *Int Orthop.* 2015.

- Mellonig JT, Prewett AB, Moyer MP. HIV inactivation in a bone allograft. *J Periodontol.* 1992;63(12):979-983.
- Merlotti D, Gennari L, Dotta F, Lauro D, Nuti R. Mechanisms of impaired bone strength in type 1 and 2 diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2010;20(9):683-690.
- Messora MR, Nagata MJ, Fucini SE, Pola NM, Campos N, de Oliveira GC, Bosco AF, Garcia VG, Furlaneto FA. Effect of platelet-rich plasma on the healing of mandibular defects treated with fresh frozen bone allograft: a radiographic study in dogs. *J Oral Implantol.* 2014;40(5):533-541.
- Miao J, Brismar K, Nyren O, Ugarph-Morawski A, Ye W. Elevated hip fracture risk in type 1 diabetic patients: a population-based cohort study in Sweden. *Diabetes Care.* 2005;28(12):2850-2855.
- Mirazi N, Shoaie J, Khazaei A, Hosseini A. A comparative study on effect of metformin and metformin-conjugated nanotubes on blood glucose homeostasis in diabetic rats. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 2014.
- Misch CE, Dietsch F. Bone-grafting materials in implant dentistry. *Implant Dent.* 1993;2(3):158-167.
- Mittermayr R, Antonic V, Hartinger J, Kaufmann H, Redl H, Teot L, Stojadinovic A, Schaden W. Extracorporeal shock wave therapy (ESWT) for wound healing: technology, mechanisms, and clinical efficacy. *Wound Repair Regen.* 2012;20(4):456-465.
- Miyamoto I, Ishikawa A, Morimoto Y, Takahashi T. Potential risk of asymptomatic osteomyelitis around mandibular third molar tooth for aged people: a computed tomography and histopathologic study. *PLoS One.* 2013;8(9):e73897.
- Mokbel N, Bou Serhal C, Matni G, Naaman N. Healing patterns of critical size bony defects in rat following bone graft. *Oral Maxillofac Surg.* 2008;12(2):73-78.
- Moore WR, Graves SE, Bain GI. Synthetic bone graft substitutes. *ANZ J Surg.* 2001;71(6):354-361.
- Moran A. Endocrine complications of cystic fibrosis. *Adolesc Med.* 2002;13(1):145-159, vii-viii.
- Moretti B, Notarnicola A, Moretti L, Patella S, Tato I, Patella V. Bone healing induced by ESWT. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 2009;6(2):155-158.
- Mountziaris PM, Mikos AG. Modulation of the inflammatory response for enhanced bone tissue regeneration. *Tissue Eng Part B Rev.* 2008;14(2):179-186.
- Muschler GF, Boehm C, Easley K. Aspiration to obtain osteoblast progenitor cells from human bone marrow: the influence of aspiration volume. *J Bone Joint Surg Am.* 1997;79(11):1699-1709.
- Muttini A, Abate M, Bernabo N, Cavani F, Mingozzi R, Tosi U, Cadossi M, Setti S, Giannini S, Leone R, Valbonetti L. Effect of electric current stimulation in combination with external fixator on bone healing in a sheep fracture model. *Vet Ital.* 2014;50(4):249-257.

- Nagata MJ, de Campos N, Messoria MR, Pola NM, Santinoni CS, Bomfim SR, Fucini SE, Ervolino E, de Almeida JM, Theodoro LH, Garcia VG. Platelet-rich plasma, low-level laser therapy, or their combination promotes periodontal regeneration in fenestration defects: a preliminary in vivo study. *J Periodontol*. 2014;85(6):770-778.
- Nandi SK, Roy S, Mukherjee P, Kundu B, De DK, Basu D. Orthopaedic applications of bone graft & graft substitutes: a review. *Indian J Med Res*. 2010;132(15-30).
- Nasr HF, Aichelmann-Reidy ME, Yukna RA. Bone and bone substitutes. *Periodontol* 2000. 1999;19:74-86.
- Nicodemus KK, Folsom AR. Type 1 and type 2 diabetes and incident hip fractures in postmenopausal women. *Diabetes Care*. 2001;24(7):1192-1197.
- Nimitphong H, Sritara C, Chailurkit LO, Chanprasertyothin S, Ratanachaiwong W, Sritara P, Ongphiphadhanakul B. Relationship of vitamin D status and bone mass according to vitamin D-binding protein genotypes. *Nutr J*. 2015;14(1):29.
- Norris JM, Barriga K, Klingensmith G, Hoffman M, Eisenbarth GS, Erlich HA, Rewers M. Timing of initial cereal exposure in infancy and risk of islet autoimmunity. *Jama*. 2003;290(13):1713-1720.
- Norris JM, Beaty B, Klingensmith G, Yu L, Hoffman M, Chase HP, Erlich HA, Hamman RF, Eisenbarth GS, Rewers M. Lack of association between early exposure to cow's milk protein and beta-cell autoimmunity. *Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY)*. *Jama*. 1996;276(8):609-614.
- Noshi T, Yoshikawa T, Ikeuchi M, Dohi Y, Ohgushi H, Horiuchi K, Sugimura M, Ichijima K, Yonemasu K. Enhancement of the in vivo osteogenic potential of marrow/hydroxyapatite composites by bovine bone morphogenetic protein. *J Biomed Mater Res*. 2000;52(4):621-630.
- Notarnicola A, Tamma R, Moretti L, Fiore A, Vicenti G, Zallone A, Moretti B. Effects of radial shock waves therapy on osteoblasts activities. *Musculoskelet Surg*. 2012;96(3):183-189.
- Novak KF, Govindaswami M, Ebersole JL, Schaden W, House N, Novak MJ. Effects of low-energy shock waves on oral bacteria. *J Dent Res*. 2008;87(10):928-931.
- Ogden JA, Alvarez R, Levitt R, Cross GL, Marlow M. Shock wave therapy for chronic proximal plantar fasciitis. *Clin Orthop Relat Res*. 2001a;387:47-59.
- Ogden JA, Toth-Kischkat A, Schultheiss R. Principles of shock wave therapy. *Clin Orthop Relat Res*. 2001b;387:8-17.
- Oghbaei H, Ahmadi Asl N, Sheikhzadeh F, Alipour MR, Khamaneh AM. The Effect of Regular Moderate Exercise on miRNA-192 Expression Changes in Kidney of Streptozotocin-Induced Diabetic Male Rats. *Adv Pharm Bull*. 2015;5(1):127-132.
- Oktas B, Orhan Z, Erbil B, Degirmenci E, Ustundag N. Effect of extracorporeal shock wave therapy on fracture healing in rat femoral fractures with intact and excised periosteum. *Eklemler Hastalik Cerrahisi*. 2014;25(3):158-162.



- Ovalle WK, Nahirney PC, Netter FH. Netter's essential histology. Place, Saunders/Elsevier, Published 2008.
- Paknejad M, Emtiaz S, Rokn A, Islamy B, Safiri A. Histologic and histomorphometric evaluation of two bone substitute materials for bone regeneration: an experimental study in sheep. *Implant Dent.* 2008;17(4):471-479.
- Papadakis MA, Tierney LM, McPhee SJ. *Current Medical Diagnosis & Treatment* 2002. Place, McGraw-Hill Professional Publishing, Published 2001; 1203-1215.
- Pari L, Sankaranarayanan C. Beneficial effects of thymoquinone on hepatic key enzymes in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Life Sci.* 2009;85(23-26):830-834.
- Parikh SN. Bone graft substitutes: past, present, future. *J Postgrad Med.* 2002;48(2):142-148.
- Park J-Y, Koo K-T, Kim T-I, Seol Y-J, Lee Y-M, Ku Y, Rhyu I-C, Chung C-P. Socket preservation using deproteinized horse-derived bone mineral. *Journal of Periodontal & Implant Science.* 2010;40(5):227-231.
- Park J, Ries J, Gelse K, Kloss F, von der Mark K, Wiltfang J, Neukam FW, Schneider H. Bone regeneration in critical size defects by cell-mediated BMP-2 gene transfer: a comparison of adenoviral vectors and liposomes. *Gene Ther.* 2003;10(13):1089-1098.
- Patrocínio-Silva TL, de Souza AM, Goulart RL, Pegorari CF, Oliveira JR, Fernandes K, Magri A, Pereira RM, Araki DR, Nagaoka MR, Parizotto NA, Renno AC. The effects of low-level laser irradiation on bone tissue in diabetic rats. *Lasers Med Sci.* 2014;29(4):1357-1364.
- Patterson CC, Dahlquist GG, Gyurus E, Green A, Soltesz G. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989-2003 and predicted new cases 2005-20: a multicentre prospective registration study. *Lancet.* 2009;373(9680):2027-2033.
- Peer A, Khamaisi M. Diabetes as a risk factor for medication-related osteonecrosis of the jaw. *J Dent Res.* 2015;94(2):252-260.
- Pellegrini G, Seol YJ, Gruber R, Giannobile WV. Pre-clinical models for oral and periodontal reconstructive therapies. *J Dent Res.* 2009;88(12):1065-1076.
- Petridis X, Diamanti E, Trigas G, Kalyvas D, Kitraki E. Bone regeneration in critical-size calvarial defects using human dental pulp cells in an extracellular matrix-based scaffold. *J Craniomaxillofac Surg.* 2015;43(4):483-490.
- Peyami Cinaz FD, Ayşehan Akıncı, Behzat Özkan, Bumin M. Dündar, Ayhan Abacı, Teoman akçay. *Temel Çocuk Endokrinoloji.* Place, 2013 Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., Published 2013; 409-487.
- Picke AK, Gordaliza Alaguero I, Campbell GM, Gluer CC, Salbach-Hirsch J, Rauner M, Hofbauer LC, Hofbauer C. Bone defect regeneration and cortical bone parameters of type 2 diabetic rats are improved by insulin therapy. *Bone.* 2015.

- Pilitsis JG, Lucas DR, Rengachary SR. Bone healing and spinal fusion. *Neurosurgical focus*. 2002;13(6):1-6.
- Pinhas-Hamiel O, Dolan LM, Daniels SR, Standiford D, Khoury PR, Zeitler P. Increased incidence of non-insulin-dependent diabetes mellitus among adolescents. *J Pediatr*. 1996;128(5 Pt 1):608-615.
- Pinheiro AL, Gerbi ME. Photoengineering of bone repair processes. *Photomed Laser Surg*. 2006;24(2):169-178.
- Polak M, Cave H. Neonatal diabetes mellitus: a disease linked to multiple mechanisms. *Orphanet J Rare Dis*. 2007;2:12.
- Porter JR, Henson A, Popat KC. Biodegradable poly(epsilon-caprolactone) nanowires for bone tissue engineering applications. *Biomaterials*. 2009;30(5):780-788.
- Pounder NM, Harrison AJ. Low intensity pulsed ultrasound for fracture healing: a review of the clinical evidence and the associated biological mechanism of action. *Ultrasonics*. 2008;48(4):330-338.
- Precechtelova J, Borsanyiova M, Sarmirova S, Bopegamage S. Type I diabetes mellitus: genetic factors and presumptive enteroviral etiology or protection. *J Pathog*. 2014;2014:738512.
- Raikin SM, Brislin K. Local bone graft harvested from the distal tibia or calcaneus for surgery of the foot and ankle. *Foot Ankle Int*. 2005;26(6):449-453.
- Ratti C, Vulcano E, Canton G, Marano M, Murena L, Cherubino P. Factors affecting bone strength other than osteoporosis. *Aging Clin Exp Res*. 2013;25 Suppl 1:S9-11.
- Reddy GK, Stehno-Bittel L, Hamade S, Enwemeka CS. The biomechanical integrity of bone in experimental diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2001;54(1):1-8.
- Rix M, Andreassen H, Eskildsen P. Impact of peripheral neuropathy on bone density in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 1999;22(5):827-831.
- Rokn AR, Khodadoostan MA, Reza Rasouli Ghahroudi AA, Motahhary P, Kharrazi Fard MJ, Bruyn HD, Afzalifar R, Soolar E, Soolari A. Bone formation with two types of grafting materials: a histologic and histomorphometric study. *Open Dent J*. 2011;5:96-104.
- Romeo P, Lavanga V, Pagani D, Sansone V. Extracorporeal shock wave therapy in musculoskeletal disorders: a review. *Med Princ Pract*. 2014;23(1):7-13.
- Rompe JD, Hopf C, Kullmer K, Heine J, Burger R, Nafe B. Low-energy extracorporeal shock wave therapy for persistent tennis elbow. *Int Orthop*. 1996;20(1):23-27.
- Rompe JD, Kirkpatrick CJ, Kullmer K, Schwitalle M, Krischek O. Dose-related effects of shock waves on rabbit tendo Achillis. A sonographic and histological study. *J Bone Joint Surg Br*. 1998;80(3):546-552.
- Rompe JD, Rumler F, Hopf C, Nafe B, Heine J. Extracorporeal shock wave therapy for calcifying tendinitis of the shoulder. *Clin Orthop Relat Res*. 1995;321:196-201.

- Rompe JD, Zoellner J, Nafe B. Shock wave therapy versus conventional surgery in the treatment of calcifying tendinitis of the shoulder. *Clin Orthop Relat Res.* 2001;387:72-82.
- Rosenbauer J, Herzig P, von Kries R, Neu A, Giani G. Temporal, seasonal, and geographical incidence patterns of type I diabetes mellitus in children under 5 years of age in Germany. *Diabetologia.* 1999;42(9):1055-1059.
- Rosenbloom A, Silverstein J. Diabetes in the child and adolescent. *Pediatric Endocrinology.* 2004:611-651.
- Rosenbloom AL, Joe JR, Young RS, Winter WE. Emerging epidemic of type 2 diabetes in youth. *Diabetes Care.* 1999;22(2):345-354.
- Ross MH, Pawlina W. *Histology: A Text and Atlas : with Correlated Cell and Molecular Biology.* 6th ed, Place, Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health, Published 2011; 218-253.
- Rother KI. Diabetes treatment--bridging the divide. *N Engl J Med.* 2007;356(15):1499-1501.
- Runyan CM, Jones DC, Bove KE, Maercks RA, Simpson DS, Taylor JA. Porcine allograft mandible revitalization using autologous adipose-derived stem cells, bone morphogenetic protein-2, and periosteum. *Plast Reconstr Surg.* 2010;125(5):1372-1382.
- Rybaczek T, Tangl S, Dobsak T, Gruber R, Kuchler U. The Effect of Parathyroid Hormone on Osseointegration in Insulin-Treated Diabetic Rats. *Implant Dent.* 2015.
- Saadeh PB, Khosla RK, Mehrara BJ, Steinbrech DS, McCormick SA, DeVore DP, Longaker MT. Repair of a critical size defect in the rat mandible using allogenic type I collagen. *J Craniofac Surg.* 2001;12(6):573-579.
- Saito M, Fujii K, Soshi S, Tanaka T. Reductions in degree of mineralization and enzymatic collagen cross-links and increases in glycation-induced pentosidine in the femoral neck cortex in cases of femoral neck fracture. *Osteoporos Int.* 2006;17(7):986-995.
- Salgado AJ, Coutinho OP, Reis RL. Bone tissue engineering: state of the art and future trends. *Macromol Biosci.* 2004;4(8):743-765.
- Sanchez-Sotelo J, Munuera L, Madero R. Treatment of fractures of the distal radius with a remodellable bone cement: a prospective, randomised study using Norian SRS. *J Bone Joint Surg Br.* 2000;82(6):856-863.
- Sandberg E, Dahlin C, Linde A. Bone regeneration by the osteopromotion technique using bioabsorbable membranes: an experimental study in rats. *J Oral Maxillofac Surg.* 1993;51(10):1106-1114.
- Santana RB, Santana CM. A clinical comparison of guided bone regeneration with platelet-derived growth factor-enhanced bone ceramic versus autogenous bone block grafting. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2015;30(3):700-706.

- Santoni BG, Ehrhart N, Turner AS, Wheeler DL. Effects of low intensity pulsed ultrasound with and without increased cortical porosity on structural bone allograft incorporation. *J Orthop Surg Res.* 2008;3:20.
- Sathishkumar S, Meka A, Dawson D, House N, Schaden W, Novak MJ, Ebersole JL, Kesavalu L. Extracorporeal shock wave therapy induces alveolar bone regeneration. *J Dent Res.* 2008;87(7):687-691.
- Scavini M, Dugnani E, Pasquale V, Liberati D, Aleotti F, Di Terlizzi G, Petrella G, Balzano G, Piemonti L. Diabetes after pancreatic surgery: novel issues. *Curr Diab Rep.* 2015;15(4):589.
- Schaden W, Thiele R, Kolpl C, Pusch M, Nissan A, Attinger CE, Maniscalco-Theberge ME, Peoples GE, Elster EA, Stojadinovic A. Shock wave therapy for acute and chronic soft tissue wounds: a feasibility study. *J Surg Res.* 2007;143(1):1-12.
- Schaffer M, Barbul A. Lymphocyte function in wound healing and following injury. *Br J Surg.* 1998;85(4):444-460.
- Schindeler A, McDonald MM, Bokko P, Little DG. Bone remodeling during fracture repair: The cellular picture. *Semin Cell Dev Biol.* 2008;19(5):459-466.
- Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop Relat Res.* 1986;205:299-308.
- Schneppendahl J, Jungbluth P, Logters TT, Sager M, Wild M, Hakimi M, Windolf J, Grassmann JP. Treatment of a diaphyseal long-bone defect with autologous bone grafts and platelet-rich plasma in a rabbit model. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2015;28(3):164-171.
- Schortinghuis J, Ruben JL, Meijer HJ, Bronckers AL, Raghoobar GM, Stegenga B. Microradiography to evaluate bone growth into a rat mandibular defect. *Arch Oral Biol.* 2003;48(2):155-160.
- Schortinghuis J, Ruben JL, Raghoobar GM, Stegenga B. Ultrasound to stimulate mandibular bone defect healing: a placebo-controlled single-blind study in rats. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004;62(2):194-201.
- Schortinghuis J, Ruben JL, Raghoobar GM, Stegenga B, de Bont LG. Does ultrasound stimulate osteoconduction? A placebo-controlled single-blind study using collagen membranes in the rat mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005;20(2):181-186.
- Schwartz AV. Diabetes Mellitus: Does it Affect Bone? *Calcif Tissue Int.* 2003;73(6):515-519.
- Schwartz AV, Sellmeyer DE, Ensrud KE, Cauley JA, Tabor HK, Schreiner PJ, Jamal SA, Black DM, Cummings SR. Older women with diabetes have an increased risk of fracture: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(1):32-38.
- Scolaro JA, Schenker ML, Yannascoli S, Baldwin K, Mehta S, Ahn J. Cigarette smoking increases complications following fracture: a systematic review. *J Bone Joint Surg Am.* 2014;96(8):674-681.

- Scott CR, Smith JM, Craddock MM, Pihoker C. Characteristics of youth-onset noninsulin-dependent diabetes mellitus and insulin-dependent diabetes mellitus at diagnosis. *Pediatrics*. 1997;100(1):84-91.
- Sengupta P. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *Int J Prev Med*. 2013;4(6):624-630.
- Shapiro F. Bone development and its relation to fracture repair. The role of mesenchymal osteoblasts and surface osteoblasts. *Eur Cell Mater*. 2008;15:53-76.
- Shapurian T, Damoulis PD, Reiser GM, Griffin TJ, Rand WM. Quantitative evaluation of bone density using the Hounsfield index. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2006;21(2):290-297.
- Shrivastava SK, Kailash. Shock wave treatment in medicine. *J Biosci*. 2005;30(2):269-275.
- Shyng YC, Chi CY, Devlin H, Sloan P. Healing of tooth extraction sockets in the streptozotocin diabetic rat model: Induction of cartilage by BMP-6. *Growth Factors*. 2010;28(6):447-451.
- Shyng YC, Devlin H, Sloan P. The effect of streptozotocin-induced experimental diabetes mellitus on calvarial defect healing and bone turnover in the rat. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2001;30(1):70-74.
- Silva MJ, Brodt MD, Lynch MA, McKenzie JA, Tanouye KM, Nyman JS, Wang X. Type 1 diabetes in young rats leads to progressive trabecular bone loss, cessation of cortical bone growth, and diminished whole bone strength and fatigue life. *J Bone Miner Res*. 2009;24(9):1618-1627.
- Skelly JD, Lange J, Filion TM, Li X, Ayers DC, Song J. Vancomycin-bearing synthetic bone graft delivers rhBMP-2 and promotes healing of critical rat femoral segmental defects. *Clin Orthop Relat Res*. 2014;472(12):4015-4023.
- Spadaro JA, Albanese SA. Application of low-intensity ultrasound to growing bone in rats. *Ultrasound Med Biol*. 1998;24(4):567-573.
- Speed CA. Extracorporeal shock-wave therapy in the management of chronic soft-tissue conditions. *J Bone Joint Surg Br*. 2004;86(2):165-171.
- Sprong F, Snyckers CH, Birkholtz FF. Autologous intramedullary bone graft harvesting as an alternative to conventional harvesting methods. *SA Orthopaedic Journal*. 2011;10(4):53-58.
- St John TA, Vaccaro AR, Sah AP, Schaefer M, Berta SC, Albert T, Hilibrand A. Physical and monetary costs associated with autogenous bone graft harvesting. *Am J Orthop (Belle Mead NJ)*. 2003;32(1):18-23.
- Stavropoulos A, Sculean A, Bosshardt DD, Buser D, Klinge B. Pre-clinical in vivo models for the screening of bone biomaterials for oral/craniofacial indications: focus on small-animal models. *Periodontol 2000*. 2015;68(1):55-65.
- Stojadinovic A, Kyle Potter B, Eberhardt J, Shawen SB, Andersen RC, Forsberg JA, Shwery C, Ester EA, Schaden W. Development of a prognostic naive bayesian

- classifier for successful treatment of nonunions. *J Bone Joint Surg Am*. 2011;93(2):187-194.
- Strotmeyer ES, Cauley JA. Diabetes mellitus, bone mineral density, and fracture risk. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2007;14(6):429-435.
- Sumner DR, Turner TM, Urban RM. Animal models relevant to cementless joint replacement. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2001;1(4):333-345.
- Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res*. 2001;50(6):537-546.
- Şimşek A, Çakmak G, Cila E. Kemik Greftleri ve Kemik Greftlerinin Yerini Tutabilecek Maddeler. *Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği Dergisi*. 2004;2:3-4.
- Tabrizi R, Karagah T, Shahidi S, Zare N. Does platelet-rich plasma enhance healing in the idiopathic bone cavity? A single-blind randomized clinical trial. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2015;44(9):1175-1180.
- Taheri M, Molla R, Radvar M, Sohrabi K, Najafi MH. An evaluation of bovine derived xenograft with and without a bioabsorbable collagen membrane in the treatment of mandibular Class II furcation defects. *Aust Dent J*. 2009;54(3):220-227.
- Tampieri A, Sprio S, Ruffini A, Celotti G, Lesci IG, Roveri N. From wood to bone: multi-step process to convert wood hierarchical structures into biomimetic hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering. *Journal of Materials Chemistry*. 2009;19(28):4973-4980.
- Tang CH, Yang RS, Huang TH, Liu SH, Fu WM. Enhancement of fibronectin fibrillogenesis and bone formation by basic fibroblast growth factor via protein kinase C-dependent pathway in rat osteoblasts. *Mol Pharmacol*. 2004;66(3):440-449.
- Tao ZS, Zhou Q, Tu KK, Huang ZL, Xu H, Sun T, Lv YX, Cui W. Treatment study of distal femur for parathyroid hormone (1-34) and beta-tricalcium phosphate on bone formation in critical size defects in rats. *J Biomater Appl*. 2015.
- Tfayli H, Lee S, Arslanian S. Declining beta-cell function relative to insulin sensitivity with increasing fasting glucose levels in the nondiabetic range in children. *Diabetes Care*. 2010;33(9):2024-2030.
- Therlund GM, Dahlquist G, Hansson K, Ivarsson SA, Ludvigsson J, Sjoblad S, Hagglof B. Psychological stress and the onset of IDDM in children. *Diabetes Care*. 1995;18(10):1323-1329.
- Thiel M. Application of shock waves in medicine. *Clin Orthop Relat Res*. 2001;387:18-21.
- Thomson DD. Introduction--Mechanisms of fracture healing and pharmacologic control. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2003;3(4):295-296.
- Thraillkill KM, Lumpkin CK, Jr., Bunn RC, Kemp SF, Fowlkes JL. Is insulin an anabolic agent in bone? Dissecting the diabetic bone for clues. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2005;289(5):E735-745.

- Tiedeman JJ, Garvin KL, Kile TA, Connolly JF. The role of a composite, demineralized bone matrix and bone marrow in the treatment of osseous defects. *Orthopedics*. 1995;18(12):1153-1158.
- Tim CR, Pinto KN, Rossi BR, Fernandes K, Matsumoto MA, Parizotto NA, Renno AC. Low-level laser therapy enhances the expression of osteogenic factors during bone repair in rats. *Lasers Med Sci*. 2014;29(1):147-156.
- Todisco M, Trisi P. Bone mineral density and bone histomorphometry are statistically related. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2005;20(6):898-904.
- Toker H, Ozdemir H, Ozer H, Eren K. Alendronate enhances osseous healing in a rat calvarial defect model. *Arch Oral Biol*. 2012;57(11):1545-1550.
- Torres CS, dos Santos JN, Monteiro JS, Amorim PG, Pinheiro AL. Does the use of laser photobiomodulation, bone morphogenetic proteins, and guided bone regeneration improve the outcome of autologous bone grafts? An in vivo study in a rodent model. *Photomed Laser Surg*. 2008;26(4):371-377.
- Tsiridis E, Upadhyay N, Giannoudis P. Molecular aspects of fracture healing: which are the important molecules? *Injury*. 2007;38 Suppl 1:S11-25.
- Tuominen JT, Impivaara O, Puukka P, Ronnema T. Bone mineral density in patients with type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 1999;22(7):1196-1200.
- Ulstrup AK. Biomechanical concepts of fracture healing in weight-bearing long bones. *Acta Orthop Belg*. 2008;74(3):291-302.
- Umpaichitra V, Banerji MA, Castells S. Autoantibodies in children with type 2 diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2002;15 Suppl 1(525-530).
- Unnanuntana A, Rebolledo BJ, Khair MM, DiCarlo EF, Lane JM. Diseases affecting bone quality: beyond osteoporosis. *Clin Orthop Relat Res*. 2011;469(8):2194-2206.
- Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science*. 1965;150(3698):893-899.
- Urist MR, Dawson E. Intertransverse process fusion with the aid of chemosterilized autolyzed antigen-extracted allogeneic (AAA) bone. *Clin Orthop Relat Res*. 1981;154:97-113.
- Urist MR, Silverman BF, Buring K, Dubuc FL, Rosenberg JM. The bone induction principle. *Clin Orthop Relat Res*. 1967;53:243-283.
- Usher-Smith JA, Thompson MJ, Zhu H, Sharp SJ, Walter FM. The pathway to diagnosis of type 1 diabetes in children: a questionnaire study. *BMJ Open*. 2015;5(3):e006470.
- Uslu MM, Bozdogan O, Guney S, Bilgili H, Kaya U, Olcay B, Korkusuz F. The effect of extracorporeal shock wave treatment (ESWT) on bone defects. An experimental study. *Bull Hosp Jt Dis*. 1999;58(2):114-118.
- Valcourt U, Merle B, Gineyts E, Viguet-Carrin S, Delmas PD, Garnero P. Non-enzymatic glycation of bone collagen modifies osteoclastic activity and differentiation. *J Biol Chem*. 2007;282(8):5691-5703.

- van Belle TL, Coppieters KT, von Herrath MG. Type 1 diabetes: etiology, immunology, and therapeutic strategies. *Physiol Rev.* 2011;91(1):79-118.
- Van der Jagt OP, Piscaer TM, Schaden W, Li J, Kops N, Jahr H, Van der Linden JC, Waarsing JH, Verhaar JA, de Jong M, Weinans H. Unfocused extracorporeal shock waves induce anabolic effects in rat bone. *J Bone Joint Surg Am.* 2011;93(1):38-48.
- Van der Jagt OP, Van der Linden JC, Schaden W, van Schie HT, Piscaer TM, Verhaar JA, Weinans H, Waarsing JH. Unfocused extracorporeal shock wave therapy as potential treatment for osteoporosis. *J Orthop Res.* 2009;27(11):1528-1533.
- Van der Worp H, van den Akker-Scheek I, van Schie H, Zwerver J. ESWT for tendinopathy: technology and clinical implications. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2013;21(6):1451-1458.
- Venkatesh Prabhuji ML, Khaleelahmed S, Vasudevalu S, Vinodhini K. Extracorporeal shock wave therapy in periodontics: A new paradigm. *J Indian Soc Periodontol.* 2014;18(3):412-415.
- Verdugo F, Simonian K, Raffaelli L, D'Addona A. Computer-aided design evaluation of harvestable mandibular bone volume: a clinical and tomographic human study. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2014;16(3):348-355.
- Verhaeghe J, Suiker AM, Einhorn TA, Geusens P, Visser WJ, Van Herck E, Van Bree R, Magitsky S, Bouillon R. Brittle bones in spontaneously diabetic female rats cannot be predicted by bone mineral measurements: studies in diabetic and ovariectomized rats. *J Bone Miner Res.* 1994;9(10):1657-1667.
- Vestergaard P. Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes--a meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2007;18(4):427-444.
- Vestergaard P. Bone metabolism in type 2 diabetes and role of thiazolidinediones. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2009;16(2):125-131.
- Vestergaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Relative fracture risk in patients with diabetes mellitus, and the impact of insulin and oral antidiabetic medication on relative fracture risk. *Diabetologia.* 2005;48(7):1292-1299.
- Walker M, Taylor RW, Turnbull DM. Mitochondrial diabetes. *Diabet Med.* 2005;22 Suppl 4:18-20.
- Walsh WR, Langdown AJ, Auld JW, Stephens P, Yu Y, Vizesi F, Bruce WJ, Pounder N. Effect of low intensity pulsed ultrasound on healing of an ulna defect filled with a bone graft substitute. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2008;86(1):74-81.
- Wang CJ, Cheng JH, Kuo YR, Schaden W, Mittermayr R. Extracorporeal shockwave therapy in diabetic foot ulcers. *Int J Surg.* 2015 S1743-9191(15)00293-9
- Wang CJ, Huang CY, Hsu SL, Chen JH, Cheng JH. Extracorporeal shockwave therapy in osteoporotic osteoarthritis of the knee in rats: an experiment in animals. *Arthritis Res Ther.* 2014;16(4):R139.



- Wang CJ, Huang HY, Chen HH, Pai CH, Yang KD. Effect of shock wave therapy on acute fractures of the tibia: a study in a dog model. *Clin Orthop Relat Res.* 2001a;387:112-118.
- Wang CJ, Wang FS, Huang CC, Yang KD, Weng LH, Huang HY. Treatment for osteonecrosis of the femoral head: comparison of extracorporeal shock waves with core decompression and bone-grafting. *J Bone Joint Surg Am.* 2005;87(11):2380-2387.
- Wang CJ, Wang FS, Yang KD. Biological effects of extracorporeal shockwave in bone healing: a study in rabbits. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2008a;128(8):879-884.
- Wang CJ, Wang FS, Yang KD, Weng LH, Hsu CC, Huang CS, Yang LC. Shock wave therapy induces neovascularization at the tendon-bone junction. A study in rabbits. *J Orthop Res.* 2003a;21(6):984-989.
- Wang CJ, Yang KD, Ko JY, Huang CC, Huang HY, Wang FS. The effects of shockwave on bone healing and systemic concentrations of nitric oxide (NO), TGF-beta1, VEGF and BMP-2 in long bone non-unions. *Nitric Oxide.* 2009;20(4):298-303.
- Wang CJ, Yang KD, Wang FS, Hsu CC, Chen HH. Shock wave treatment shows dose-dependent enhancement of bone mass and bone strength after fracture of the femur. *Bone.* 2004a;34(1):225-230.
- Wang FS, Wang CJ, Chen YJ, Chang PR, Huang YT, Sun YC, Huang HC, Yang YJ, Yang KD. Ras induction of superoxide activates ERK-dependent angiogenic transcription factor HIF-1alpha and VEGF-A expression in shock wave-stimulated osteoblasts. *J Biol Chem.* 2004b;279(11):10331-10337.
- Wang FS, Wang CJ, Huang HJ, Chung H, Chen RF, Yang KD. Physical shock wave mediates membrane hyperpolarization and Ras activation for osteogenesis in human bone marrow stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001b;287(3):648-655.
- Wang FS, Wang CJ, Sheen-Chen SM, Kuo YR, Chen RF, Yang KD. Superoxide mediates shock wave induction of ERK-dependent osteogenic transcription factor (CBFA1) and mesenchymal cell differentiation toward osteoprogenitors. *J Biol Chem.* 2002a;277(13):10931-10937.
- Wang FS, Yang KD, Chen RF, Wang CJ, Sheen-Chen SM. Extracorporeal shock wave promotes growth and differentiation of bone-marrow stromal cells towards osteoprogenitors associated with induction of TGF-beta1. *J Bone Joint Surg Br.* 2002b;84(3):457-461.
- Wang FS, Yang KD, Kuo YR, Wang CJ, Sheen-Chen SM, Huang HC, Chen YJ. Temporal and spatial expression of bone morphogenetic proteins in extracorporeal shock wave-promoted healing of segmental defect. *Bone.* 2003b;32(4):387-396.
- Wang FS, Yang KD, Wang CJ, Huang HC, Chio CC, Hsu TY, Ou CY. Shockwave stimulates oxygen radical-mediated osteogenesis of the mesenchymal cells from human umbilical cord blood. *J Bone Miner Res.* 2004c;19(6):973-982.

- Wang L, Qin L, Lu HB, Cheung WH, Yang H, Wong WN, Chan KM, Leung KS. Extracorporeal shock wave therapy in treatment of delayed bone-tendon healing. *Am J Sports Med.* 2008b;36(2):340-347.
- Ward DT, Yau SK, Mee AP, Mawer EB, Miller CA, Garland HO, Riccardi D. Functional, molecular, and biochemical characterization of streptozotocin-induced diabetes. *J Am Soc Nephrol.* 2001;12(4):779-790.
- Waud CE, Marks SC, Jr., Lew R, Baran DT. Bone mineral density in the femur and lumbar vertebrae decreases after twelve weeks of diabetes in spontaneously diabetic-prone BB/Worcester rats. *Calcif Tissue Int.* 1994;54(3):237-240.
- Webb J, Tricker J. A review of fracture healing. *Current Orthopaedics.* 2000;14(6):457-463.
- Weber G, Beccaria L, de'Angelis M, Mora S, Galli L, Cazzuffi MA, Turba F, Frisone F, Guarneri MP, Chiumello G. Bone mass in young patients with type I diabetes. *Bone Miner.* 1990;8(1):23-30.
- Weyer C, Bogardus C, Mott DM, Pratley RE. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 1999;104(6):787-794.
- Whiteman D, Gropper PT, Wirtz P, Monk P. Demineralized bone powder. Clinical applications for bone defects of the hand. *J Hand Surg Br.* 1993;18(4):487-490.
- Wilbert DM. A comparative review of extracorporeal shock wave generation. *BJU Int.* 2002;90(5):507-511.
- Wraight PJ, Scammell BE. Principles of fracture healing. *Surgery (Oxford).* 2006;24(6):198-207.
- Xia X, Kar R, Gluhak-Heinrich J, Yao W, Lane NE, Bonewald LF, Biswas SK, Lo WK, Jiang JX. Glucocorticoid-induced autophagy in osteocytes. *J Bone Miner Res.* 2010;25(11):2479-2488.
- Yan Q, Xiao LQ, Tan L, Sun W, Wu T, Chen LW, Mei Y, Shi B. Controlled release of simvastatin-loaded thermo-sensitive PLGA-PEG-PLGA hydrogel for bone tissue regeneration: in vitro and in vivo characteristics. *J Biomed Mater Res A.* 2015 Nov;103(11):3580-9
- Yang G, Luo C, Yan X, Cheng L, Chai Y. Extracorporeal shock wave treatment improves incisional wound healing in diabetic rats. *Tohoku J Exp Med.* 2011;225(4):285-292.
- Yang MY, Chiang YC, Huang YT, Chen CC, Wang FS, Wang CJ, Kuo YR. Serum proteomic analysis of extracorporeal shock wave therapy-enhanced diabetic wound healing in a streptozotocin-induced diabetes model. *Plast Reconstr Surg.* 2014;133(1):59-68.
- Yılmaz T. Diabetes mellitusun tanı kriterleri ve sınıflaması. *Diabetes Mellitus' un Modern Tedavisi, birinci baskı, İstanbul, Türkiye Diyabet Vakfı.* 2003:1-9.
- Yingling V, Elle Saine M, Joshi R. Hypothalamic suppression decreases bone strength before and after puberty in a rat model. *Calcif Tissue Int.* 2009;84(6):485-493.

- Zacchetti G, Dayer R. Systemic treatment with strontium ranelate accelerates the filling of a bone defect and improves the material level properties of the healing bone. 2014;2014(549785).
- Zelle BA, Gollwitzer H, Zlowodzki M, Buhren V. Extracorporeal shock wave therapy: current evidence. *J Orthop Trauma*. 2010;24 Suppl 1(S66-70).
- Zellin G, Linde A. Importance of delivery systems for growth-stimulatory factors in combination with osteopromotive membranes. An experimental study using rhBMP-2 in rat mandibular defects. *J Biomed Mater Res*. 1997;35(2):181-190.
- Zeltinger J, Sherwood JK, Graham DA, Mueller R, Griffith LG. Effect of pore size and void fraction on cellular adhesion, proliferation, and matrix deposition. *Tissue Eng*. 2001;7(5):557-572.
- Zhang M, Powers RM, Jr., Wolfenbarger L, Jr. A quantitative assessment of osteoinductivity of human demineralized bone matrix. *J Periodontol*. 1997;68(11):1076-1084.
- Zhou Y, Li Y, Zhang D, Wang J, Yang H. Prevalence and predictors of osteopenia and osteoporosis in postmenopausal Chinese women with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2010;90(3):261-269.
- Zhu H, Cai X, Lin T, Shi Z, Yan S. Low-intensity pulsed ultrasound enhances bone repair in a rabbit model of steroid-associated osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res*. 2015;473(5):1830-1839.
- Zhuo X-L, Lü H-B, Xu D-Q, Bin L, Wang X-Y, Zhang Y, Hu J-Z. Effects of low-intensity pulsed ultrasound stimulation on porous hydroxyapatite blocks for posterolateral fusion of lumbar spine in rabbits. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*. 2010;20(10):1921-1927.
- Zins SR, Amare MF, Tadaki DK, Elster EA, Davis TA. Comparative analysis of angiogenic gene expression in normal and impaired wound healing in diabetic mice: effects of extracorporeal shock wave therapy. *Angiogenesis*. 2010;13(4):293-304.

## EKLER

### Ek 1: Etik Kurul Onay Raporu




T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
SAMSON

Sayı : HADYЕК/124  
Konu : Dilekçeniz hk.

30/12/2011

**Yrd. Doç. Dr. M. Cihan BEREKET**  
Dış Hekimliği Fakültesi Ağız Dış Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı

2011/64 numaralı "ESWT'nin Farklı Greft Materyalleri üzerine etkisinin deneysel olarak incelenmesi" konu başlıklı Dilekçenizdeki isteğiniz; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 29.12.2011 tarihli toplantısında görüşülmüş, Hayvan Hakları ve Deney Etiği açılarından uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

  
Prof. Dr. Ferişt KOLBAKIR  
HADYЕК Başkan

---

Alınan kararlar Kurul kararıdır. Kararla ilgili Kurul üyelerinin aranması etik değildir. İtirazlarınızı yazılı olarak Etik Kurul sekreterliğine başvurmanız gerekmektedir.

---

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı:** Enes ÖZKAN

**Doğum Yeri:** Erzurum, Türkiye

**Doğum Tarihi:** 10.06.1987

**Medeni Hali:** Evli ve 1 çocuk sahibi

**Bildiği Yabancı Diller:** İngilizce

### **Eğitim Durumu:**

İsmet İnönü İlköğretim Okulu (Kocaeli), (İlköğretim), 1998

Özel Üsküdar İlköğretim Okulu (İstanbul), (İlköğretim), 2001

Nevzat Ayaz Lisesi (İstanbul) (Lise), 2004

İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi (İstanbul), (Lisans) 2009

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı (Samsun), (Doktora) 2015

### **Çalıştığı Kurumlar:**

İstanbul Jandarma Bölge Komutanlığı Dispanseri (İstanbul) (Yedek Subay Diş Hekimi) 2010-2011

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, (Arş. Gör.) 2012-2015

### **İletişim Bilgileri:**

**Adres:** Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Kurupelit, Samsun, Türkiye

**Telefon:** 0555 743 96 43

**E-posta:** drenesozkan@gmail.com