

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ-DİŞ-ÇENE HASTALIKLARI
VE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

OSTEOBLAST HÜCRE KÜLTÜRÜNÜN KEMİK İMPLANT BAĞLANTISI ÜZERİNE ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

Dt. Fatih HOŞGÖR

SAMSUN
Şubat 2009

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ-DİŞ-ÇENE HASTALIKLARI
VE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

OSTEOBLAST HÜCRE KÜLTÜRÜNÜN KEMİK İMPLANT BAĞLANTISI ÜZERİNE ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

Dt. Fatih HOŞGÖR

Danışman: Doç. Dr. Nergiz YILMAZ

SAMSUN
Şubat 2009

TEŞEKKÜR

Doktora eğitim sürecinde engin bilgi ve tecrübesiyle bana her alanda yol gösterip yalnız bırakmayan, tezimin her aşamasında emeği ve desteğini benden esirgemeyen, tüm samimiyeti ile her daim yol gösterici olan Sayın Doç. Dr. Nergiz YILMAZ'a

Hücre kültürü hazırlanmasındaki çalışmalarından ötürü 19 Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğretim üyelerinden Sayın Doç. Dr. Semra GÜMÜŞOVA ve Sayın Doç. Dr. Zafer YAZICI'ya ve asistanları Murat Serhat SERDAR'a

Deney aşamaları sırasında emeği esirgemeyen 19 Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğretim üyelerinden Sayın Doç. Dr. Ahmet ÖZAK, Sayın Yrd. Doç. Dr. Sinan ŞİRİN ve Veteriner Fakültesi Klinik çalışanları ve yardımcılara,

Deney aşamasında benimle, benim kadar çalışan dost insan Sayın Dt. Özgün ŞENYURT'a ve çalıştığım süre içerisinde iyi, kötü her anımı paylaşan değerli mesai arkadaşlarıma,

Histolojik kesitlerin hazırlanması sırasında laboratuvar imkanlarını sağlayan Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi öğretim üyelerinden Sayın Doç. Dr. Mehmet KÜRKÇÜ, aynı üniversitenin araştırma görevlilerinden sevgili arkadaşım ve meslektaşım Sayın Dt. Burcu ÇAM'a,

Çalışmamda yönlendirici fikir ve katkılarından ötürü Sayın Prof. Dr. Yavuz GÜLBAHAR'a, asistanları Sayın Yonca KABAK, Sayın Önder KARAYİĞİT'e ve Sayın Sayın Doç. Dr. Gül YARIM'a

İstatistik bilgileri ile bana yapmış olduğu yardımlardan ötürü Sayın Yrd. Doç. Dr. Erol EĞRİOĞLU'na,

Eğitimim süresince ilgi ve yardımlarını gördüğüm, bilgi ve deneyimlerinden yararlanmış olduğum hocalarım Sayın Doç. Dr. Mahmut Sümer'e, Sayın Doç. Dr. Mehtap MUĞLALI'ya, Sayın Yrd. Doç. Dr. Emel BULUT' a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Bora ÖZDEN'e, Sayın Yrd. Doç. Dr. Burcu BAŞ'a,

Hayatımın her döneminde benden maddi, manevi desteklerini esirgemeyen, bu günlere gelmemi sağlayan sevgili annem Nurcan HOŞGÖR'e ve babam Emrullah HOŞGÖR'e, desteğini sürekli hissettiren sevgili ablam Şükran KARSLI'ya,

Hayatımın son yıllarına kattığı anlam nedeniyle Hatice DURAN'a

SONSUZ TEŞEKKÜRLER...

ÖZET
OSTEOBLAST HÜCRE KÜLTÜRÜNÜN KEMİK İMPLANT
BAĞLANTISI ÜZERİNE ETKİSİ

Fatih HOŞGÖR, Doktora Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, Şubat 2009

Maksillofasiyal cerrahide; kemik tamiri üzerine çalışmalar halen devam etmektedir. Kemik rekonstruktif cerrahisinde son yaklaşımlar kısıtlamalarının mevcut olmasına rağmen biomateryal kullanımı, otogreftler veya allogreftlerin üzerine yoğunlaşmıştır. Bu kısıtlamalar verici saha morbiditesi ve otogreftler için donör saha küçüklüğü, allogreftler için immunolojik bariyerler ve bulaşıcı infeksiyöz hastalıklardır. Bu nedenlerden ötürü son yıllarda doku mühendisliği tedavide ilave seçenekler sunmaktadır.

Dental implant uygulamaları ile birlikte hastalar kaybettikleri estetik ve fonksiyonlarına tekrar sahip olmaktadır. Dental implantın başarısında esas olan dental implant ile çene kemiği arasında uygun kalite ve miktarda kemiğin elde edilmesidir. Mevcut veya kazanılmış kemik defektlerinin iyileşmesinde kullanılabilecek allojenik greft maddeleri ile karşılaştırıldığında osteoblast hücreleri otojen kaynaklı olduğundan, enfeksiyon riski taşımaması ve immunolojik cevap oluşturmamasından dolayı avantajlıdır.

Mezankimal Kök Hücre (MKH)'den elde edilen osteoblastların osteojenik etkisinden yararlanarak ideal Kemik İmplant Konağı (KİK) elde etmeyi amaçladığımız bu çalışmada toplam 30 adet dental implant kullanıldı. Koyun mandibulasına yerleştirilen implantlarda koronel 4 mm'lik kısımda defektler oluşturulup, bu defektlerin bir grubuna Trombositten Zengin Plazma (TZP) diğer grubuna TZP+Hücre Kültürü kombinasyonu yerleştirildi. Kontrol defektine herhangi bir uygulama yapılmadı. 8 haftalık iyileşme periyodunu takiben implantların osseointegrasyonları histolojik olarak incelenerek, histomorfometrik ölçümler yapıldı. KİK değerleri ölçüldü. Elde edilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Sonuçlar anlamlı bulundu.

Koyunlarda implant çevresi defektlerinde TZP+Hücre Kültürünün etkinliği başarılı olarak değerlendirildi.

ABSTRACT
EFFECT OF OSTEOBLAST CELL CULTURE TO THE BONE IMPLANT
CONTACT

Fatih HOŞGÖR, PhD Thesis

19 Mayıs University, Samsun, February 2009

Many studies are still progress about bone regeneration in maxillofacial surgery. In spite of the limitations lastest approaches on bone reconstruction in maxillofacial surgery focus on biomaterials utility, autografts or allografts. These limitations are donor area morbidity and limited areas for autografts, immunologic barriers for allografts and infectious diseases. Due to the abovesaid reasons, tissue engineering have provided additional treatment regimes recently.

Patients acquire esthetic and function which they have lost by dental implants. Fundamentally succes of dental implants are favorable quality and quantative bone between implant and jaw bone. The comparison of osteoblast cells with allogenic graft materials which can be used in the treatment of present for acquired bone defects reveals an advantage for osteoblast cells due to the fact that these cells are of autogen origin; that they have no infection risk and that they do not cause any immunologic response.

The aim of this study is to acquire an ideal bone implant contact under the cover of osteogenic effect of osteoblasts derived from Mesenchimal Stem Cells (MSCs). Thirty pieces of dental implants were used fort his study. Implants were placed in sheep mandible and defects were created at coronel 4mm of dental implants. These defects were filled with Platelet Rich Plasma (PRP) in one group, and with PRP+Cell Culture in another group. No procedure was conducted in the control group defects. Eight week later osseointegration was investigated with Bone Implant Contact measurements histomorphologically. Data were checked statistically. Results were stastically significant.

The PRP+Cell Culture activity poduced successfull results in the implant defects created in sheep.

SİMGELER ve KISALTMALAR

DDKKA	Demineralize Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogreftleri
DKKA	Dondurulmuş-Kurutulmuş Kemik Allogreftleri
DKM	Demineralize Kemik Matriksi
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
EBF	Epidermal Büyüme Faktörü
EKH	Embriyonik Kök Hücre
FBF	Fibroblast Büyüme Faktörü
HA	Hidroksiapatit
HKH	Hematopoetik Kök Hücre
İBBF	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
KİK	Kemik İmplant Kontakı
KİKMKH	Kemik İliği Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre
KMP	Kemik Morfogenetik Protein
MKH	Mezenkimal Kök Hücre
MNH	Mononükleer Hücre
PBS	Phosphate Buffered Saline - Fosfatla Tamponlanmış Tuz
PGE	Prostaglandin E
PTH	Paratiroid hormon
rpm	Devir/Dakika
SLA	Sand-blasted, Largegrit, Acid-etched yüzeyler
TEBF- β	Transforme Edici Büyüme Faktörü - β
TKBF	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
TKAF	Trombosit Kaynaklı Angiogenesis Faktörü
TKEBF	Trombosit Kaynaklı Epidermal Büyüme Faktörü
TZP	Trombositten Zengin Plazma
VEBF	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü
YDR	Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu
YKR	Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu
β -TCP	β -Trikalsiyum Fosfat

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
İNGİLİZCE ÖZET	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İmplant Çeşitleri	4
2.2. Kemik Dokusunun Anatomisi	6
2.2.1. Kompakt Kemik	7
2.2.2. Spongiyoz kemik	7
2.2.3. Kemik Dokusunun Hücre Biyolojisi	8
2.2.3.1. Osteoblastlar	8
2.2.3.2. Osteoklastlar	9
2.2.3.3. Osteositler	10
2.2.3.4. Kemikteki Diğer Hücre Tipleri	11
2.3. Şekillenme ve Yeniden Şekillenme	12
2.4. Çenelerde Kemik Kaybına Etki Eden Faktörler	13
2.4.1. Kemik Kaybı ile Meydana Gelen Değişiklikler	14
2.5. Dişhekimliğinde Kemik Ogmentasyonu Uygulamaları	17
2.5.1. Greftlerin İndüktif Etkilerine Göre Sınıflandırılması	18
2.5.1.1. Osteokondüksiyon	18
2.5.1.2. Osteoindüksiyon	18
2.5.1.3. Osteogenez	18
2.6. Kemik greftlerinin sınıflandırılması	19
2.7. İnsan Kaynaklı Kemik Greftleri	19
2.7.1. Otojen Greftler	19

2.7.1.1. Ağız içinde Otojen Kemik Grefti Sağlanan Bölgeler	20
2.7.1.2. Ağızdışında Otojen Kemik Grefti Sağlanan Bölgeler	21
2.7.2. Allogreftler	21
2.7.2.1. Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti	22
2.7.2.2. Demineralize Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti	22
2.7.2.3. Demineralize Kemik Matriksi	22
2.8. İnsan Kaynaklı Olmayan Kemik Greftleri	23
2.8.1. Ksenogreftler	23
2.8.2. Alloplastlar	23
2.8.2.1. Polimerler	24
2.8.2.2. Bioseramikler	24
2.8.2.2.1. TCP	24
2.8.2.2.2. Hidroksiapatit	25
2.8.3. Bioaktif Cam	25
2.9. Greftlerin Başarıları	26
2.9.1. Ortamda Kemik Oluşturan Hücrelerin Bulunması	26
2.9.2. Alıcı Sahanın Greftin Kanlanması Sağlayabilmesi	27
2.9.3. İyileşme Sırasında Greftin Stabil Olması	27
2.9.4. Fleplerin Gerilimsiz Sütüre Edilmesi	27
2.10. Trombositten Zengin Plazma (TZP)	28
2.10.1. Büyüme Faktörleri	30
2.10.1.1. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (TKBF)	31
2.10.1.2. Transforme Edici Büyüme Faktörü- β (TEBF- β)	32
2.10.1.3. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IBF)	33
2.10.1.4. Trombosit Kaynaklı Epidermal Büyüme Faktörü (TKEBF)	33
2.10.1.5. Trombosit Kaynaklı Angiogenesis Faktörü (TKAF)	34
2.10.1.6. Fibroblast Büyüme Faktörü (FBF)	34
2.10.1.7. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)	34
2.10.1.8. Büyüme Faktörleri Arasındaki İlişkiler	35

2.11. Kök Hücre	39
2.11.1. Kök Hücrenin Sınıflandırması ve Kaynakları	41
2.11.1.1. Embriyonik Kök Hücreler	41
2.11.1.2. Fetal Kök Hücre	42
2.11.1.3. Göbek Kordonu Kök Hücreleri	42
2.11.1.4. Yetişkin Kök Hücreleri	42
2.11.1.4.1. Hematopoetik Kök Hücreler	43
2.11.1.4.2. Mezenşimal Kök Hücreler (Kemik İliği Stroması) (MKH)	43
2.11.1.4.3. Kemik ve Kıkırdak Kök Hücreleri	44
2.11.1.4.4. Diğer Yetişkin Kök Hücreleri	44
2.11.2. Kemik Tamir ve Rejenerasyonunda Kök Hücre	45
2.11.3. Kök Hücrenin Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanımı	46
3. MATERYAL METOD	48
3.1. Cerrahi Seçimi	48
3.2. Osteoblast Hücre Kültürünün Hazırlanması	51
3.3. TZP'nin Hazırlanması	53
3.4. Histolojik Değerlendirme ve Histomorfometri için Kesitlerin Hazırlanması	54
4. BULGULAR	58
4.1. Verilerin İstatistiksel Analizi	58
4.2. Histomorfometrik değerlendirme	61
5. TARTIŞMA	65
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	81
7. KAYNAKLAR	83
ÖZGEÇMİŞ	113

1. GİRİŞ

Diş kayıpları sonucu oluşan dişsiz alveoler kretlerin protetik rehabilitasyonu için saf titanyum implantların kullanılması ilk olarak 1969 yılında Branemark ve ark. (1969)'nın yayınladıkları makalede bahsedilmiştir. Yayımlanan bu ilk makaleden 7 yıl sonra Schroeder ve ark., (1976) andekalsifiye kesitlerde kemik implant kontağını (KİK) histolojik olarak göstermişlerdir. Bu sonuç osseoentegrasyonunun oluşumu olarak gösterilmiştir (Branemark ve ark., 1977).

İmplant materyali ve yüzey topografisi KİK (kemik implant kontağı) oranını etkileyen kritik faktörler olarak düşünülmektedir (Wennerberg ve ark., 1995; Wennerberg ve ark., 1996; Cochran ve ark., 1998). Diş çekiminin hemen ardından çekim soketine yerleştirilen yüzeyi pürüzlendirilmiş implantların KİK yüzdesini arttırdığı bilinmektedir (Novaes ve ark., 2002; Khoury, 1996; Wilson ve ark., 1998).

Taze çekim soketine simültane yerleştirilen implantların çevresinde meydana gelen biyolojik mekanizmayı daha iyi anlayabilmek için, deney hayvanlarında implant çevresinde kemik defektinin cerrahi olarak oluşturulduğu modeller üzerinde çalışılmaktadır (Jung ve ark., 2007).

Osseoentegrasyon miktarını artırıp, süresini kısaltmak için rhBMP2 (rekombinant kemik morfojenik proteini)(Jung ve ark., 2003), MKH (mezenşimal kök hücre)(Ito ve ark., 2006), PTH (paratiroid hormon)(Jung ve ark., 2007) gibi anabolik ajanlar kullanılmıştır.

Kemik iliği kaynaklı mezenşimal kök hücreler (MKH'ler) mezenşimal dokuların öncü hücreleridir, kolaylıkla elde edilebilmekte ve osteoblastlar, kondroblastlar, tenositler, adipozitler, kas hücreleri veya sinir hücrelerine *in vivo* ve *in vitro* ortamda farklılaşabilmektedir (Pittenger ve ark., 1999; Krause ve ark., 2001; Jiang ve ark., 2002). Günümüze kadar yapılmış olan çeşitli çalışmalarda kemik iliği MKH'lerinden kraniyal defektlerin tedavisi ve dental implantların osseoentegrasyonunun arttırılmasında faydalanılabileceği gösterilmiştir (Krebsbach ve ark., 1998; De Kok ve ark., 2003; Tran ve ark., 2003; van den Dolder ve ark., 2003; Abukawa ve ark., 2004; Kawaguchi ve ark., 2004; Yamada ve ark., 2004a; De Kok ve ark., 2003).

Doku mühendisliği uygulamalarında hidroksilapatit, poliglikolit, polilaktid ve polikaprolaktan, kollajen, jelatin, fibrin gibi yıkılabilir karakterde sentetik ya da doğal polimerlerden yapı iskelesi olarak yararlanılmaktadır (Tabata, 2004).

Çeşitli doku mühendisliği uygulamalarında MKH'lerle birlikte yapı iskelesi ve büyüme faktörü kaynağı olarak trombositten zengin plazma (TZP) kullanılmaktadır. TZP'nin MKH'lerin hücre yapısını bozmadan proliferasyonuna izin verdiği ve hücrelerin uygulanabilmesi için uygun bir araç olduğu savunulmaktadır (Yamada ve ark., 2004a; 2004b; Yamada ve ark., 2006).

Otojen kandan elde edilen TZP sayesinde, inflame bölgedeki hücrelerden salınan ve yara iyileşmesindeki hücresel olayları düzenleyen, polipeptit moleküller olan büyüme faktörleri yüksek konsantrasyonlarda elde edilebilmektedir (Hudson-Goodman ve ark.,1990; Marx, 2001; Camargo ve ark., 2002; Lekovic ve ark., 2002).

Çalışmamızda; dental implant çevresinde cerrahi olarak oluşturulan defektlerde osteoblast hücre kültürünün ve TZP'nin kemik iyileşmesi ve implantın osseoentegrasyonu üzerine etkisinin incelenmesi amaçlandı. Çalışmamız literatürde daha önceden bahsedilen benzer çalışmalarda kullanılan cerrahi yöntemler önderliğinde gerçekleştirildi. Araştırmamız, implant çevresinde oluşturulan defektlerde osteoblast hücre kültürünün kemik rejenerasyonu üzerine etkinliğinin araştırılması bakımından orjinallik taşımaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

İnsan, tarih boyunca ortaya koyduğu yeni buluşlarda, meydana getirdiği bilimsel ve teknolojik ilerlemelerde, hep tabiatı örnek almış, onu taklit etmiş ve tabiata en yakın sonuçları elde etmeye çalışmıştır. Bu doğrultuda elde ettiği sonuçlar ise, insana en üst nitelikte faydayı sağlamıştır. Diş hekimliğinde, bugün bu doğrultuda, iki bilim dalı ön plana çıkmaktadır. Bunlardan birincisi tabiattaki şartları yani tabii dişleri korumaya yönelik olan koruyucu diş hekimliğidir. İkincisine gelince, bugün diş hekimliğinin önemli bir uğraşı da ağızdaki eksik dişlerin tamamlanması yollarını aramaktır. Bu yolda ön plana çıkan ise, ağızdaki diş eksikliklerinin giderilmesinde tabiata en yakın şartların elde edildiği oral implantolojidir (Tunalı, 1996).

İmplant genel kelime anlamıyla tedavi amacı ile vücut içerisine ve canlı dokulara, cansız maddelerin yerleştirilmesini ifade eder. Dental implantlar çene kemiğinin içine, üzerine veya mukozaya yerleştirilen ve dişin yerini tutması amaçlanan yapılardır (Türker ve Yücetaş, 1997).

İmplant uygulamaları; çeşitli nedenlerle kaybedilmiş dişlerin yerine yapılacak protezlere destek olmak amacıyla, değişik yapı ve şekillerdeki alloplastik maddelerin, çeşitli cerrahi işlemler ile ağız mukozası altına veya çene kemiklerinin içine yerleştirilmesi olarak tanımlanabilir. Yerleştirilen bu alloplastik maddelere implant adı verilir. İmplant uygulamalarının ana hedefi ise osseointegre implantlar ve bunlardan destek alan implant-üstü protezler ile her türlü dişsizliğin giderilmesidir (Özdemir, 1998).

İmplant sözcüğü Latince “in = içerisine, içerisinde” ve “planto = ekme, dikme, yerleştirme” anlamına gelen sözcüklerin birleşiminden oluşmuştur. Anlam olarak “bir fonksiyon elde etmek amacıyla, uygun bir yere yerleştirilen organik ya da inorganik cisme verilen isimdir. İmplantasyon ise yerleştirme işlemi tarif eder. Tıpta, implantasyon bir materyalin vücut içerisine yerleştirilmesi anlamına gelir (Tunalı, 1996).

2.1. İmplant Çeşitleri

Diş hekimliğinde kullanılan implantlar uygulama yerlerine göre şu şekilde sınıflandırılabilir (Özdemir, 1998):

1. Endosteal implantlar,
2. Subperiostal implantlar,
3. Endodontik implantlar,
4. İntramukozal implantlar,
5. Transmandibular implantlar.

1. Endosteal İmplantlar: Üst veya alt çene kemiğinin alveolar ve/veya bazal kemiğinin içine yerleştirilen ve sadece bir kortikal tabakayı geçen, protez destek ünitesi olarak kullanılan aygıtlara denir (The Academy of Prosthodontics, 2005).

2. Subperiostal İmplantlar: Alveol kretinin üzerine adeta bir eğer gibi yerleştirilen implantlardır (Tunalı, 1996). İlk olarak, 1943 yılında İsveçli dişhekimi G.S.Dahl tarafından kemik korteksi üzerinde periostun altına yerleştirilmiştir (The Academy of Prosthodontics, 2005).

3. Endodontik İmplantlar: Mobilitesi olan dişleri stabilize etmek amacı ile dişin kök kanalı içinden geçip, periapikal kemiğe yerleşen, yivli ve/veya yivsiz, pin şeklindeki implantlara denir (The Academy of Prosthodontics, 2005). Endodontik stabilizatör, transradiküler implantlar veya transdental fiksasyonlar olarak da adlandırılırlar (Tunalı, 1996).

4. İntramukozal İmplantlar: Tam veya bölümlü hareketli protezlerin retansiyonunu arttırmak amacıyla, mukoza içerisine yerleştirilen buton seklinde implantlardır. İntramukozal implantlar, submukozal ya da subdermal implantlar olarak da adlandırılırlar (Tunalı, 1996).

5. Transmandibular İmplantlar: Alt çenenin anterior bölümünde submental bölgeye yerleştirilen, üst ve alt kortikal kemiği dikey olarak geçen implantlardır (The Academy of Prosthodontics, 2005). Özellikle alt çenenin kaza sonucu veya cerrahi müdahale sonrasında ileri derecede madde kaybına uğradığı durumlarda kullanılırlar (Türker ve Yüçetas, 1997).

Dental implantların endikasyonları (Davarpanah ve Martinez, 2004):

1. Hareketli protezlerin tutuculuğunun yetersiz olması,
2. Hareketli protezlerin stabilitesinin olmaması,
3. Hareketli protezlerin kullanımında fonksiyonel rahatsızlık olması,
4. Hareketli protez kullanımının psikolojik olarak reddedilmesi,
5. Hareketli protezlerin stabilitesini bozan parafonksiyonel alışkanlıkların bulunması,
6. Mevcut dayanak dişlerin sayısının ve dağılımının yetersiz olması,
7. Sabit protezlerde destek olarak kullanılacak dişlerin bulunmaması,
8. Komsu dişlerin sağlıklı olduğu tek diş eksiklikleri,
9. Diş agenezi,
10. Konservatif tedavi isteğidir.

Dental implantların kontrendikasyonları (Davarpanah ve Martinez, 2004):

Bunlar mutlak ve göreceli kontrendikasyonlar olarak ayrı ayrı sınıflandırılmaktadır.

Mutlak kontrendikasyonlar;

1. Majör psikolojik bozukluklar,
2. Riskli kalp patolojileri,
3. Kontrol edilemeyen sistemik rahatsızlıklar,
4. Alkol ve ilaç bağımlılığı,
5. Hastanın yaşı (Büyüme çağındaki genç hastalar),

Göreceli kontrendikasyonlar;

1. Yetersiz kemik hacmi ve/veya kötü kemik kalitesi,
2. Yetersiz interoklüzal (çeneler arası) mesafe,
3. Risk taşıyan hastalar (radyasyon almış hastalar, bruksizm, kontrol edilemeyen periodontitis, sigara, vb.)dır.

İmplantların klinik uygulamalarına bakıldığında ağırlık osseointegre implantlardadır. Amerika'da subperiostal ve transosseöz implantların sık kullanılmalarına karşın, Avrupa'da endosseöz implantlar ön sırada gelmektedir. Bunun kuşkusuz en belirgin sebebi osseointegrasyonun Kuzey Avrupa'da tanıtılmış olmasıdır(Tunalı, 1996).

Kaybedilen dişlerin yerine konmasında başvuru seçeneklerinden en güncel olanı, kuskusuz implant uygulamalarıdır. Tek ya da birden fazla sayıda implant

yerleştirilmesi; estetik sonuçlar, yüksek hasta memnuniyeti ve sağlıklı dişlerin kesimini gerektirmemesi nedeniyle klinik uygulamalarda oldukça kabul görmüştür (Malmquist ve Sennerby, 1991; Oesterle ve ark., 1993).

İdeal bir implantta bazı özellikler aranır. Biyolojik olarak dokularla uyumlu olmalıdır. Vücuda implante edilen bir materyalin canlı dokular için kimyasal ve biyolojik olarak kabul edilebilir bir tesirsizliği olmalıdır. Bunun yanında kendi biyolojik fonksiyonlarını da yerine getirmesi gerekir. İmplantlarda en uygun şekil, maksimum kuvvetlerin ara yüzlere taşınmasına imkan verecek, hiç olmazsa mevcut kemiğin durumunu koruyacak özellikte olmalıdır. Bütün bu özellikler sağlığın fizyolojik sınırlarıdır. Bir implant üzerine bu sınırlar içinde kuvvet gelirse normal klinik ve histolojik tablo gösterebilir (Kıbrıç ve ark., 1975).

2.2. Kemik Dokusunun Anatomisi

Kemik, vücudun iskeletini oluşturan, mineralize organik matriks ile karakterize yüksek oranda özelleşmiş konnektif doku formudur. Sadece mekanik destek sağlamaz, aynı zamanda kalsiyum ve fosfat gibi minerallerin de deposudur (Murugan ve Ramakrishna, 2005). Bu matriks içinde kalsiyum ve fosfat iyonları uygun formda dizilerek HA'ı oluşturur. Bu bileşim kemik dokusunun (Branemark ve ark., 1969) yüke direnç göstermesini; (Schroeder ve ark., 1976) duyarlı organların dış kuvvetlerden korunmasını ve (Branemark ve ark., 1977) vücut hemostazının devamlılığını sağlayan minerallerin katılmasını sağlar (Lindhe ve ark., 2003).

Kemik matriksi 3-7 mikron kalınlığında kemik lameli olarak adlandırılan bölümler halindedir. Asıl kemik hücreleri olan osteositler, tek sıra halinde dizili içi boş olan lakünaların içine yerleşmiştir. Kemik dokudaki bu lakünalardan her yere uzanan silindirik küçük kanalcıklar (kanaliküller) çıkar. Bu kanalcıklar birbirleriyle birleşerek, matriks içinde ağısı yapıdaki boşluk sistemini oluşturur. Kanaliküler sistem; ara maddesi kalsifiye olan ve doku matriksi difüzyon özelliği göstermeyen kemik dokusunun beslenmesinde rol oynar (Fonseca, 2000).

Makroskobik olarak kemiğe bakıldığında kompakt kemik ve spongiyöz kemik olarak isimlendirilen iki farklı kısım ayırt edilir.

2.2.1. Kompakt Kemik

Kompakt kemiklerde lameller, özel (havers sistem lamelleri), ara (interstisyel sistem lamelleri), iç ve dış sirkumferansiyel lameller olmak üzere üç farklı dizilim gösterir. Özel lameller, ortasında havers kanallarını bulunduran düzensiz silindirik biçimli birimlerdir ve bu lamellerle havers kanalından oluşan bütünlüğe “osteon” adı verilir. Kompakt kemikte, dokunun çoğunluğunu bu osteonlar oluştururken, osteonlar arasında kalan alanlarda da değişik yönlerde seyreden ara lameller bulunur. Kompakt kemiklerin iç ve dış yüzleri ise, sirkumferansiyel lameller ile çevrelenmiştir. Dış sirkumferansiyel lameller, iç sirkumferansiyel lamellerden daha kalındır (Bayar, 2004).

Kemiğin dış ve iç yüzleri bir zarla örtülmüştür. Bunlardan dış yüzde bulunan periosteum (periost), iç yüzde bulunan ise endosteum (endost) olarak isimlendirilir. Periost, perikondrium gibi özellikle gelişmekte olan kemiklerde iki katlıdır. Bunun dış katı fibröz bağ dokusundan yapılmışken, iç katı daha çok hücrelidir. Endost, periosta kıyasla çok daha ince ve tamamen hücreli bir zardır. Periost damardan zengindir. Periosttaki damarlar, birbirlerine de bağlanan volkman kanalları ile havers kanallarına ulaştığında, havers kanallarını periosta bağlarlar. Damarların dağılımı sırasında, damarların çapı giderek küçüldüğünden, havers kanalları içinde kapiller tipte kan damarı bulunur (Şimşek, 1998).

2.2.2. Spongios kemik

Aralarında sement çizgileri olan birçok lamelin üst üste gelmesiyle oluşan kemik spikülü ya da kemik trabekülalarından meydana gelmiştir. Küçük kalsifiye kırıldak adacıkları da bulunabilir. Sadece büyük trabekülaların içinde küçük Havers sistemleri görülürse de, ortalarında kan damarları bulunmamaktadır. Küçük ve ince trabekülalarda ise, mozaik gibi birleşmiş üçgen şekilli lameller bulunur. Trabekülalar aralarında boşluklar bırakarak üç boyutlu kemik ağı oluştururlar. Trabekülaların araları endosteumla örtülüdür ve kaviteleri kemik iliği ile doludur (Şimşek, 1998).

Dış taraftaki düzgün, dens bir kortikal (kompakt) kemik tabakası ile iç taraftaki spongios trabeküler (kansellöz) kemik kombinasyonu aşırı bir yük olmaksızın kemiğe yeterli direnci sağladığı gibi genişlemiş kemik yüzeyindeki hızlı formasyon ve rezorpsiyon da değişen metabolik ihtiyaçlara cevap verilebilmesini sağlar. İskelet dokusunda metabolik yanıtlar özellikle trabeküler kemik yüzeylerinde ve korteksin

endosteal yüzeyinde ortaya çıkar. Buna rağmen, şiddetli hiperparatiroidizmde gelişen subperiosteal rezorpsiyonda olduğu gibi, korteksin periosteal yüzeyi de kalsiyum düzenleyici hormonlardan etkilenebilir (Alpar, 1980).

2.2.3. Kemik Dokusunun Hücre Biyolojisi

Kemik yapan (osteoblast) ve kemik yıkan hücre (osteoklast) nesilleri tahminen gelişimin erken dönemlerinde ayrılır. Bunların fonksiyonları sadece sistemik kalsiyum düzenleyici hormonlar ve gelişim düzenleyici hormonlarca değil lokal faktörlerce de ortaya çıkarılan intraselüler sinyallerin oluşturduğu kompleks bir sistem tarafından kontrol edilir. Kemik hastalıkları kemik yapan ve yıkan hücrelerin fonksiyonları arasındaki dengesizlikten dolayı ortaya çıkar. Buna örnek olarak, osteoporozisde hızlanan rezorpsiyon ve azalan formasyon ile birlikte kemik yoğunluğundaki azalma şiddetlenir. Konjenital osteopetrozisinde kemik rezorpsiyonunun zarar görmesiyle veya viral avian osteopetrozisinde ve paget hastalığında olduğu gibi düzensiz kemik formasyonu ile de aşırı kemik yoğunluğu ortaya çıkabilir (Bayar, 2004).

2.2.3.1. Osteoblastlar

Osteoblastlar kemik yapan hücrelerdir bu yüzden kemik yapımı sırasında bol olarak bulunurlar. Şekillenmekte olan kemik trabeküllerinin ya da lamellerin yüzeylerinde tek sıra halinde dizilmişlerdir. Osteoblastların bir başka yoğunlaşma yeri periosttur. İlk bakışta tek katlı epitel hücrelerine benzetilebilirler. Aktivasyon durumuna göre, prizmatik, kübik ya da basık şekilli olabilirler. Sitoplazmaları granüllü retikulumdan ve golgi aygıtlarından zengin, çekirdekleri ökromatiktir. Bütün bunlar osteoblastların yüksek bir metabolik aktivite gösterdiklerinin belirtileridir. Bu hücreler kemik matriksinin organik bölümünü yani kollajen ipliklerle proteoglikanları, glikozaminoglikan ve glikoproteinleri salgırlar. Henüz kireçlenmemiş olan bu tür temel maddeye osteoid adı verilir. Osteoblastlar, salgıladıkları bu osteoid doku içinde gömülü kalırlar. Osteoblastlar metabolik olarak aktif sekretuar hücrelerdir. Kemik yapımı süresince, şekillenmekte olan kemik trabekül, ve lamellerinin yüzeylerinde devamlı olarak bir osteoblast sırası bulunur. Bunlar osteoprojenitör(kemik öncül) hücrelerden farklılaşırlar; bölünmeleri söz konusu değildir. Osteoblastların sitoplazmaları alkali fosfatazdan zengindir. Bu da temel maddede kalsiyum

depolanmasını (kalsiyumfosfat halinde) osteoblastların ayarladığını gösterir (Jungueira ve ark., 1989; Sağlam, 1987; Soydan, 1993; Thibodeu ve Patton, 2002).

Organik matriks komponentlerinin sentezlenmesi ve matriks mineralizasyonunun kontrolü öncelikli görevleri arasındadır. Osteoblastlar kemik yüzeylerine yerleşerek aktif matriks depozisyonu yaparlar. Bu görevi sırasında iki farklı hücreye farklılaşabilir. Bunlar kemiği sınırlandıran hücreler ve osteositlerdir. Kemiği sınırlandıran hücreler sentezleme aktivitesi göstermeyen ve kemik dokusu yüzeyini saran uzamış hücrelerdir. Osteositler ince selüler yapıyla diğer kemik hücrelerine bağlanan mineralize kemik matriksi içine yerleşmiş yıldız şekilli hücrelerdir. Osteositler, hücreler ve kemik dokunun hücrese olmayan bölümüyle geniş temas alanı oluşturacak şekilde organize olur. Bu düzenleme sayesinde (Branemark ve ark., 1969) kan-kalsiyum homeostazının düzenlenmesi; (Schroeder ve ark., 1976) mekanik yükün algılanması ve (Branemark ve ark., 1977) bu bilginin kemik içindeki diğer hücrelere iletilmesi gibi işlevleri yerine getirir.

Osteoblastlar paratiroid hormon, 1,25-dihidroksivitamin D ve sistemik gelişim düzenleyiciler için reseptörlere sahiptir. Prostaglandinler ve kemik dönüştüren gelişim faktörleri gibi düzenleyicilerin lokal kemik oluşumunun düzenlenmesinde otokrin faktörler içinde en önemli kaynak oldukları açıktır. Osteoblastlar remodeling sürecinde kemik rezorpsiyonunu tetikleyebilir. Bu aktivasyon basamağı şekil değişimlerini veya plazminojen aktivatörü gibi proteolitik enzimlerin sekresyonunu içerebilir. Bu değişiklikler mineralize kemik yüzeyine osteoklastların girişini arttırabilir. Osteoblastlar ayrıca osteoklastları aktive eden faktörleri de salabilir (Becker, 1990; Rose ve Oreffo, 2002).

2.2.3.2. Osteoklastlar

Osteoklastlar kemiği ve kalsifiye kartilajı rezorbe eder. Bu geniş ve çok çekirdekli hücreler, tek çekirdekli öncü hücrelerin kaynaşması ile şekillenir. Osteoklastların tahminen öncü mezankimal osteoblasttan ziyade hematopoetik stem hücreden türediği düşünülmektedir. Osteoklast hücre şekli monosit-makrofaj serisinden kaynaklanabilir, ancak makrofaj yüzey belirteçlerinin çoğunda osteoklastlara rastlanmaz ve osteoklast ve monosit öncü hücrelerinin şekilleri tahminen farklılaşmanın erken dönemlerinde ayrılır. Öncü osteoklast hücre kopyalanmasının stimülasyonu artan kemik

rezorpsiyonu için önemli bir mekanizma olmaktadır. Bu nedenle bir kez kaynaşma gerçekleştikten sonra osteoklast içindeki çekirdekler daha fazla hücre bölünmesine uğramaz (Bayar, 2004).

Osteoklast sitoplazması bol mitokondri, pek çok lizozom ve nispeten daha az pürüzlü bir endoplazmik retikülüm içerir. Osteoklastın eşsiz olan özelliği aktif rezorpsiyon sahasına komşu buruşuk, kabartılı bir sınırının olmasıdır. Bu sınır temiz bir bölge ile çevrelenmiştir. Bu temiz bölgenin fonksiyonu osteoklastın kemiğe yapışmasını ve lizozomal enzimler ile hidrojen iyonlarının yüksek konsantrasyonda korunabilmesi için buruşuk hücre sınırının ekstraselüler sıvıdan izole olmasını sağlamaktır. Osteoklastlar asit fosfataz yanında diğer lizozomal enzimler ve hidrojen iyon sekresyonuna yardımcı olan karbonik anhidrazdan da zengindir. Buruşuk hücre sınırı dışı dönmüş dev bir fagolizozom görünümünü taklit eder. Hidrojen iyonları, mineral mobilizasyonu yanında kemik matriks bileşenlerini (düşük bir pH da kollajeni de içerir) azaltabilen lizozomal enzimlerin aktivasyonunda da önemlidir. Osteoklastik kemik rezorpsiyonu hyaluronik asit sentezindeki bir artışla da birleşir (Becker, 1990; Rothman ve Simeone, 1975).

2.2.3.3. Osteositler

Osteositler kemiğin esas hücreleri olup, osteoblastların fonksiyonlarının ve morfolojik özelliklerinin değişmesiyle meydana gelirler. Osteoblastların osteositlere farklılaşması esnasında, protein sentezi aktivitesi belirgin olarak azalır ve hücrelerde çok sayıda protoplazmik uzantılar gelişir. Bu uzantılar kemik dokusundaki lakünalar boyunca osteon içindeki diğer osteositlerin uzantıları ve yüzey osteoblastların uzantıları ile bağlantılar oluşturur (Alpar, 1980).

Osteositlerin, osteoblastlara benzer şekilde kalsiyum regülasyonunda anlamlı bir rol oynayıp oynamadıkları açık değildir. Osteositlerin protein sentezleme aktiviteleri yoktur. Osteonal yeniden yapılanma için en önemli uyarı kemiğin harabiyetidir. Bu tip bir harabiyet genellikle fizik strese maruz kalan kemikte ortaya çıkar. Bu bölgenin tamiri için osteoklastların buraya göçü ve bir rezorpsiyon alanı oluşturmaları gerekir. Osteoklastlar osteositler tarafından aktive edilmektedir. Osteositler, osteoklastlarla devamlı temastadır ve harabiyette ilk etkilenen hücreler olduklarından osteoklastları uyararak rezorpsiyonu tetikleyen hücreler olmaktadır (Bayar, 2004).

Kemiğe uygulanan fiziki stresten en çok etkilenenler osteositler ve yüzeyde yerleşmiş osteositlerle ilişkili olan osteoblastlardır. Hayvan çalışmalarında osteositlerin bu uyarıya en erken cevap verdiği, stres ile ilgili olarak osteositte, glikoz-6-fosfat dehidrojenaz aktivitesi ve RNA miktarının arttığı gösterilmiştir. Ortamda artan PGE (Prostaglandin E) ve PGE₂ bu olayın mediatörü olabilir. PGE yüzey osteoblastları tarafından yapılırken, PGE₂'nin hem yüzey osteoblastları, hem de osteositlerde bulunduğu immüno-kimyasal çalışmalarla doğrulanmıştır. Fakat osteositlerin mekanik yüklenme durumlarında gerçekten tüm kemik boyunca sinyalin dağılmasında fonksiyonu olup olmadığı, hangi mekanizmayla bunu yapabileceği de açık değildir (Alpar, 1980).

2.2.3.4. Kemikteki Diğer Hücre Tipleri

Kemiğin osteoklastlarca kaldırılmasından sonra rezorpsiyon sahasında makrofajlar bulunabilir. Makrofajların fonksiyonu belirsizdir, ancak tam olarak sindirilmemiş rezidüel matriksi kaldırabilirler. Bu yüzden lizozomal enzimler yanında kollajenaz da salgırlar. Makrofajlar aynı zamanda kemik rezorpsiyonu için güçlü bir stimülatör olmalarının yanında osteoblast öncü hücrelerinin kopyalanmasını stimüle eden ve remodeling döngüsünde formasyon fazını başlatabilen IL-1 (İnterlökin-1) ve PGE₂ 'nin de kaynağıdır. Lenfositler de kemik rezorpsiyonuna yol açan faktörlerin salgılanmasında rol oynayabilir. Bunun dışında kalsiyum düzenleyici hormonlar bu hematopoetik hücreler üzerinde etkili olabilir. Örneğin 1,25 dihidroksivitamin D öncü monosit hücrelerinin makrofaja dönüşümünü hızlandırır.

Fibroblastik hücreler lokal düzenleyicilerin salgılanmasında rol oynayabilir. Somatomedin veya insülin benzeri gelişim faktörü (IGF-1) fibroblastlar tarafından üretilir ve kemik gelişimi üzerinde güçlü bir stimülasyon etkisi vardır. Mast hücreleri rezorbe kemiğe komşu bulunabilir ve bazı kültür sistemlerinde gösterildiği gibi kemik rezorpsiyonunu arttıran heparin üretebilirler. Son olarak, endotelial hücreler de bir rol oynayabilir. Bu hücreler gelişim faktörü üretir ve kemik rezorpsiyonunu stimüle eden ve kemik kan akımını da etkileyebilen prostasiklinin en önemli kaynağıdır (Becker, 1990).

2.3. Şekillenme ve Yeniden Şekillenme

Kemik oluşumu sırasında yeni mineralize doku, rezorpsiyon ve apozisyon süreçleri ile yeniden şekillenerek oluşur. Şekillenme oluşan ilk kemik yapısının değişmesine olanak sağlayan süreci ifade eder. Yük gibi eksternal kuvvetlerin kemik dokudaki şekillenmeyi başlattığı öne sürülmektedir. Yeniden şekillenme ise doku yapısında herhangi bir değişiklik olmaksızın mineralize kemiğin değişmesi sürecidir. Yeniden şekillenme özellikle kemik oluşumunda eski kemik ile yeni kemik yer değiştirdiğinde önemlidir. Kemik oluşumu sırasında düşük yük taşıma kapasitesine sahip primer kemik (örgü kemik) ile yüke direnci yüksek lameller kemiğin yerdeğiştirmesi sürecini yeniden şekillenme sağlar.

Kemik yeniden şekillenmesi mekanizması temelde iki süreçten oluşur: Bunlar kemik rezorpsiyonu ve kemik apozisyonudur.

Kemik çok çekirdekli ünitesi yeni oluşan kemik yüzeyi çevresinde osteoklastlar (rezorpsiyon bölümü), damar ve perisitlerden oluşan bölüm ve yeni oluşan organik matriks üzerinde osteoblast tabakası (depozisyon bölümü)'dan oluşur. Lokal uyarın olarak paratiroid hormon, büyüme hormonu, leptin ve kalsitonin gibi hormonların salınımı kemik yeniden şekillenmesinin kontrolünde rol oynar. Şekillenme ve yeniden şekillenme hayat boyu devam ederek kemiğin iç ve dış gereksinimlere adapte olmasını sağlar.

İskelet sisteminin normal fonksiyonlarını sürdürebilmesi için sadece kemik dokusunun oluşması yeterli değildir. Normal fonksiyon için farklı şekillerde kemik oluşması gerekmektedir. Kemiğin oluşumuyla beraber farklı bölgelerdeki formasyon ve rezorpsiyon faaliyetleriyle kemiğin şekillenmesine modeling denir. Modeling mekanik stresler ve genetik şifreden etkilenir.

Kemik şeklinde değişim olmaksızın gerçekleşen formasyon ve rezorpsiyon faaliyetlerine ise remodelizasyon denir. Bu iki faaliyet eş zamanlı oluşmaktadır. Fizyolojik remodeling olayı ile yaşam süresince aynı bölgedeki kemik rezorpsiyonunu, yeni kemik formasyonu takip eder. Tüm yaşam boyunca spongiyöz kemiğin remodelizasyonu kortikal kemiğe oranla daha fazladır (Parfitt ve Duncan, 1975).

2.4. Çenelerde Kemik Kaybına Etki Eden Faktörler

Çene kemiklerinde kayıplar genel veya lokal nedenlerle olabilmektedir. Lokal nedenlerle oluşan kemik kayıpları temel olarak periodontal hastalıklar ya da diş çekimi nedeniyle oluşan diş kayıplarına bağlıdır. Periodontal hastalıkta kemik yıkımı esas olarak lokal faktörler ile ilişkilidir. Bu lokal faktörler ya dişeti enflamasyonuna yol açarak ya da oklüzal travmaya neden olarak kemiği yıkıma uğratar (Zarb ve ark., 2002).

Oklüzal travma, fizyolojik limitleri aşan kuvvetlerin periodonsiyumda oluşturduğu değişikliklerdir. Basınç altında periodontal ligament lifleri, damarlar ve sinirler sıkışmakta, alveol kemiği üzerinde rezorpsiyon bulguları başlamaktadır. Gerilim altında ise periodontal aralık genişlemekte kollajen lifler gerilerek yırtılmaktadır (Caranza ve Newman, 1996).

Diş çekimlerine bağlı rezorpsiyon ise, o bölgenin fonksiyondan çıkması ile birlikte başlar. Dişlerin kaybından sonra çenelerde kemik değişiklikleri erken dönemde izlenir. Dişler ve periodontal lifler tarafından bu bölgeye herhangi bir basınç iletilmediği için kemik rezorpsiyonu başlar. Çekimi takiben socketin altındaki kemik formasyonu ve kret tepesindeki kemik rezorpsiyonu ikinci haftada bile izlenebilir ve bu devam eden bir prosestir. Değişiklikler kemiğin vertikal boyutunda olduğu kadar transversal boyutlarında da oluşmaktadır (Zarb ve ark., 2002).

Rezorpsiyon her hastada farklı dereceldedir. Bu yüzden olayı standardize etmek mümkün değildir. Hastaların bir kısmında, bir süre sonra rezorpsiyon azalır durma eğilimi gösterirken, bazılarında olay devam eder. Özellikle kadınlarda ve erken yaşta diş kayıplarında zamanla rezorpsiyon ilerlemekte ve bazı hallerde alveoler kemik ve altındaki kaidenin tamamen kaybıyla sonuçlanabilmektedir (Mutlu, 2005).

Rezorpsiyon bütün hayat boyunca da aynı oranda olmamaktadır. Maksimum rezorpsiyon diş çekiminden sonraki ilk bir yıl içerisinde oluşmaktadır. Daha sonra rezorpsiyon miktarı azalmakta fakat açıklanamaz bir şekilde sürmektedir. Mandibulanın anterior rezidüel kretinin vertikal boyutundaki azalma maksillanın anterior kretindeki azalmadan dört kat fazla olmaktadır. Genelde mandibulanın posterior bölgesinde anteriora göre daha belirgin miktarda kemik kaybı oluşmaktadır. Alveoler kemik kaybı miktarı kişiden kişiye farklılıklar göstermektedir. Diş kayıplarından sonra oluşan

alveoler kemik kayıpları kret şekillerinde değişik formlar oluşmasına neden olmaktadır (Güven ve Keskin, 1996).

Genel faktörler ise:

I. Sistemik kemik hastalıkları:

1) Osteoporoz:

- a. Senil osteoporoz,
- b. Menopoz sonrası görülen osteoporoz,
- c. Sekonder osteoporoz (Cushing sendromu).

2) Osteomalazi:

- a. D vitamini yetmezliği,
- b. Renal osteodistrofi,
- c. Sekonder hiperparatiroidizm.

3) Kötü beslenme veya beslenme yetersizliği.

II. Endokrin hastalıklar:

- 1) Diabetes mellitus,
- 2) Primer ve sekonder hiperparatiroidizm,
- 3) Alkolizm,
- 4) Diyaliz gerektiren renal bozukluklar.

III. İlaç tedavileri:

- 1) Kronik kortikosteroid tedavisi,
- 2) Kronik heparin tedavisi,
- 3) Antikonvülsifler,
- 4) İmmünosupresanlar olarak sayılabilmektedir (Güven ve Keskin, 1996).

2.4.1. Kemik Kaybı ile Meydana Gelen Değişiklikler

Yaşlılarda ve özellikle de kadınlarda, osteoblastik aktivitenin azalması sonucu, zamanla normal kemiğin yerini yağlı doku almaktadır. Mandibulada rezorpsiyonla birlikte, mental foramen alveoler kret tepesine doğru yer değiştirmesi sonucu greft, implant ve protez uygulamaları güçleşir. Kısmi dişsizlik de rezorpsiyonu arttıran

sebeplerdendir. Alt ön dişleri mevcut olan ancak üst total protez kullanan kişilerin anterior maksillasında fazla rezorpsiyon oluşması buna en iyi örnektir (Fonseca, 2000).

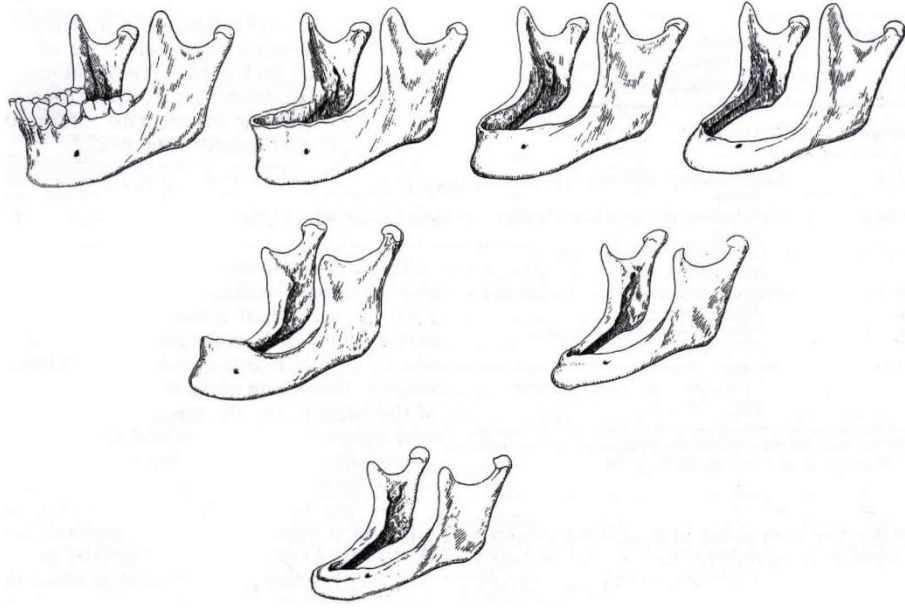
Çok ileri derecede rezorbe mandibulanın üst yüzeyi bazen konkav hale gelir, buna negatif kret de denir. Bu konkav yüzey, mandibulanın alt kenar kortikal tabakasının üst tarafına tekabül eder. Geniyal tüberküller mandibuler kret tepesinde olacak şekilde rezorpsiyon olabilir. Buraya gelen protez kuvveti ağrıya neden olur (Güven ve Keskin, 1996).

Aşırı periodontal harabiyet de şiddetli rezorpsiyona sebep olur. Çok fazla diş kaybı olan hastalarda, dişleri saran alveol, uzun süre direkt basınca maruz kalmış rezorbe kret yüzlerinin üst seviyesinde ada gibi kalmaktadır.

Mandibulanın otorotasyonu mandibulayı öne ve yukarı yer değiştirerek vertikal boyut kaybına yol açar. Kemik kaybının devam etmesi ile bıçak sırtı şeklinde kretler oluşur. Önemli bir yer değiştirmeye uğramayan kas tutunmaları ise kret tepesine çok yakın hale gelir. Fonksiyonla kaslar gerilir ve kretten daha yukarıya çıkar.

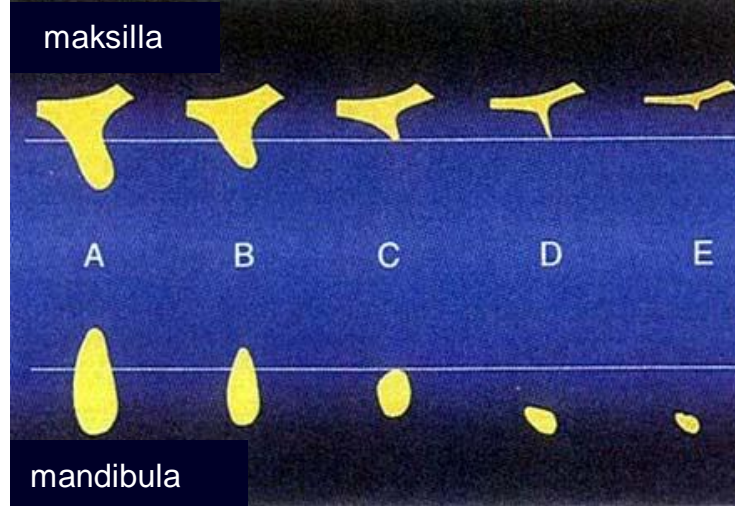
Maksillada, aşırı rezorpsiyon sonucu palatinal derinlik oldukça azalır. Nazopalatin damar sinir paketi alveoler kretin tepesine gelebilir. Anterior nazal çıkıntı da krete yaklaşarak protez kullanımını zorlaştırıcı rol oynar. Maksillada rezorpsiyon dıştan içe ve aşağıdan yukarı doğru olduğundan ileri yaşlarda üst dudak desteği de kaybedilir. Mandibuladaki değişikliklerle beraber çene ilişkileri sınıf III ilişki haline gelir (Fonseca, 2000; Güven ve Keskin, 1996).

Genellikle mandibulada, maksilladan daha fazla kemik kaybı olur (Fonseca, 2000). Bunun sebebi üst çene protezlerinin oturma sahalarının mandibulaya oranla daha fazla olması ve kuvvetin daha geniş bir alana yayılmasıdır (Güven ve Keskin, 1996). Ayrıca kemik kaybı oranının birinci yılda daha fazla olduğu ve kemik rezorpsiyonu miktarının ön bölgede arka bölgelerden daha çok olduğu çeşitli araştırmalarla tespit edilmiştir. Çekimden sonra suni dişler kullanılarak hemen fonksiyon sağlandığında kemik kaybı oranının azaldığı görülmüştür. Dişlerin çekiminden sonra yapılacak olan ideal bir protez ile alveoler kretin fonksiyonel stimülasyonu sağlanır ve kemik atrofisi de azalır (Güven ve Keskin 1996). Şekil 1'de alt çenede ilerleyen yaşla birlikte meydana gelen değişiklikler görülmektedir.



Şekil 1: Yaşam süresince oluşan alveol kret rezorpsiyonu (Fonseca, 2000)

Diş kayıplarından sonra oluşan alveoler kemik kayıpları kret şekillerinde değişik formlar oluşmasına neden olmaktadır. Zarb ve ark.ları maksilla ve mandibulladaki atrofilere beş sınıfa ayırmışlardır (Şekil 2). Bunlardan özellikle Sınıf C ve Sınıf D kemik maksillada gözlenirken Sınıf B ve C kemik mandibulada gözlenmektedir. Bu atrofilere alveoler genişlikteki azalmalar da eşlik etmektedir. Bu nedenle implant yerleştirilmesinden önce bazı hastalara kret ogmentasyonu veya redüksiyonlarının uygulanması gerekmektedir (Zarb ve ark., 2002). Özellikle maksillanın posterior bölgelerinde implant uygulamaları bazen sıkıntılı olmaktadır. Maksiller sinüste sarkma veya alveoler kemik kaybına bağlı olarak implant yerleştirmek için kullanılacak kemik miktarında kısıtlanmaya neden olmaktadır (Ohya ve ark., 2005).



Şekil 2: Alt ve üst çenenin rezorpsiyon şekli (Zarb ve ark., 2002)

2.5. Dişhekimliğinde Kemik Ogmentasyonu Uygulamaları

Vücudun bir bölgesinden ya da farklı canlı türlerinden alınan organ ya da dokuların veya biyomateryallerin başka bir bölgeye nakledilmesine transplantasyon adı verilir. İmplantasyon ya da transplantasyon için kullanılan (nakledilen) herhangi bir doku veya organa ise greft denir. (Sandallı, 2000; Şentürk, 1999)

Doku ve organların kazanılmış veya konjenital defektlerinin rekonstrüksiyonunda yer tutucu ve kemik yapımını uyarıcı etkisi olan materyallere greft adı verilir. Kemik greftleri, periodontal kemik defektlerinin tedavisinde uzun yıllardan beri sıklıkla kullanılmaktadır. Kemiğin yeniden oluşumunun gerektiği cerrahi ve periodontal destek dokuların restorasyonuna ihtiyaç duyulan tüm durumlarda kemik greftleri kullanım alanı bulmaktadır.

İdeal kemik greft materyalinin özellikleri şu şekilde özetlenebilir:

1. Antijenik özellik taşımamalı
2. Karsinojenik ve toksik olmamalı
3. Yapısal olarak güçlü ve dayanıklı olmalı, yeterli destek ve stabiliteyi sağlayabilmeli
4. Enfeksiyona dayanıklı olmalı
5. Kök rezorpsiyonu ya da ankiloza neden olmamalı
6. Kolay uygulanabilmeli ve istenilen forma kolayca getirilebilmeli
7. Hızlı ve yeterli miktarda elde edilebilmeli
8. Minimal cerrahi işlemle kullanılabilmesi

9. Maliyeti ucuz olmalı
10. Osteoindüktif ve kondüktif özellikleri olmalı
11. Yeni ataşmanı tetiklemelidir (Rosenberg ve Rose, 1998).

2.5.1. Greftlerin İndüktif Etkilerine Göre Sınıflandırılması

Bütün kemik greft materyallerinin temel fonksiyonları indüktif etkilerine göre üç basamakta kategorize edilmiştir (Grant ve ark., 1990; Güven ve Keskin, 1996; Sandallı, 2000).

2.5.1.1. Osteokondüksiyon

Osteoindüksiyon, kemik dokusunun büyümesi, apozisyonel kemik oluşumu ile karakterizedir. Bu yüzden; bu süreç, kemik veya farklılaşmamış mezenkimal hücre varlığında meydana gelir. Bu nedenle; yumuşak doku içerisine yerleştirilen osteokondüktif bir madde kemik oluşturmaz. Kemik içerisine yerleştirilen ve kemik ile direkt temasta bulunan implant üzerinde oluşan kemik, osteokondüktif bir oluşum (süreç) olarak tarif edilir (Misch, 1999; Sandallı, 2000).

2.5.1.2. Osteoindüksiyon

Greft yeni kemik oluşumunu uyarır veya başlatır (Ünlü ve Gürses, 1997). Osteoindüksiyon özelliğine sahip greft materyalleri doku içerisindeki farklılaşmış mezenkim hücrelerini osteoblast ve kondroblastlara dönüştürebilme kapasitesine sahiptirler. Oral implantolojide en yaygın kullanılan osteoindüktif materyaller kemik allogreftleridir (Misch, 1999; Sandallı, 2000). Kemik augmentasyonunu minimal invazyon ile indüklemek sadece implant cerrahisi için değil, aynı zamanda klinik tıbbın geleceğinin de en büyük uğraşlarından biri olacaktır (Moy ve ark., 1993).

2.5.1.3. Osteogenez

Greft hücreleri nakledildikleri dokuda yaşar ve kendileri yeni kemik yaparlar. Kemik greft materyalleri, direkt olarak osteoblast hücrelerinden kemik oluşturma kapasitesine sahip organik materyaller içerirler. Dokuda farklılaşmış mezenkim hücrelerinin olmadığı ortamlarda bile, bu tür organik maddeler osteogenez kabiliyetine sahiptirler. Osteogenezi oluşturan kemik grefti materyalleri canlı kemik hücrelerinin bir birleşimidir. Bu nedenle; osteogenetik karaktere sahip tek greft materyali otojen kemiktir (Grant ve ark., 1990; Sandallı, 2000; Ünlü ve Gürses, 1997).

2.6. Kemik greftlerinin sınıflandırılması (Nasr ve ark., 1999)

A- İnsan kaynaklı kemik greftleri

- 1- Otojen greftler (Otogreftler)
- 2- Allojenik greftler (Allogreftler)
 - a- Dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti (DKKA)
 - b- Demineralize edilmiş dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti (DDKKA)
 - c- Demineralize kemik matriksi (DKM)

B- İnsan kaynaklı olmayan kemik greftleri

- 1- Ksenojenik greftler (Ksenogreftler)
 - a -Sığır kaynaklı hidroksiapatit
 - b-Mercan kalsiyum karbonat
- 2- Alloplastik greftler (Alloplastlar)
 - a-Polimerler
 - b-Bioseramikler
 - i- Trikalsiyum fosfat (TCP)
 - ii- Hidroksiapatit (HA)
 - c-Bioaktif camlar

2.7. İnsan Kaynaklı Kemik Greftleri

2.7.1. Otojen Greftler

Osteojenik etkili tek greft materyalidir. Otojen kemik greftleri uzun zamandır greft materyallerinin altın standardı olarak kabul edilmektedir ve günümüzde klinik pratikte kullanmaya uygun tek osteojenik greft materyalidir. Greft materyali olarak otojen kemik kullanıldığında kemik iyileşmesi osteogenezis, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon yoluyla olur. Serbest otojen kemik grefti, yerleştirilmesini takiben ilk 2 haftalık sürede osteojenik etki gösterir. Greftlemeden 2-6 hafta sonra osteoindüktif etkisi başlar ve 6 ay kadar sürer. Son olarak osteokondüktif etki ile apozisyonel kemik oluşumu gerçekleşir. Greftin organik komponenti olan kollajen; grefte esneklik, dayanıklılık ve stabilite kazandırırken; inorganik komponent olan HA, greftin rijiditesine katkıda bulunur. Otojen kemik greftleri intraoral veya ekstraoral alanlardan elde edilebilir ve yapısında birçok osteojenik hücre içerir.

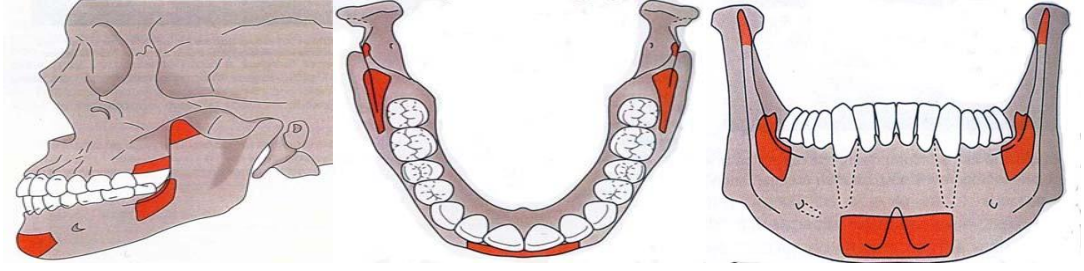
Diğer yandan bazı önemli dezavantajları vardır: (Kneser ve ark., 2006; Lynch ve ark, 1999; Yoshikawa ve ark., 1998; Oshikawa ve ark., 1996).

- Greftin elde edilmesi hastanın postoperatif dönemdeki rahatsızlığını arttıran ikinci bir cerrahi işlem gerektirir.
- Donör alanda, enfeksiyon veya morbidite riskini arttıran başka bir osseöz defekt oluşur.
- Özellikle iliak greftler ağız içi sahaya taşındığında, aşırı greft rezorpsiyonu gözlenebilir. Mandibuler greftlerde, alıcı yatak ile aynı embriyonik orjinden olduğundan daha az rezorpsiyon gözlenir.
- İntraoral donör alanlardan sadece kısıtlı miktarda greft materyali elde edilebilir.
- Çene ucu greftlerinde, apikal kök yaralanması ve duyuusal sinir yaralanması riski vardır.

2.7.1.1. Ağız içinde Otojen Kemik Grefti Sağlanan Bölgeler

İntraoral olarak otojen kemik grefti sağlamak amacıyla başta simfizis bölgesi, ramusun ön yüzü, tüber çıkıntısı, torus bölgeleri olmak üzere ağız içindeki uygun alanlar kullanılabilir(Şekil 3). Gellrich ve ark. (2007) kısıtlı miktarda otojen kemik grefti gereken durumlarda yeni bir donör alan olarak zigomatik buttres'in kullanılabileceğini rapor etmiştir. Greftlerin alınmasında frezler, testereler, lazerler ve ultrasonik enstrümanlar kullanılabilir. Lee 2005 yılında yaptığı çalışmada ramus bölgesinden otojen kemik grefti almak için Er,Cr:YSGG lazer kullanmıştır.

Ayrıca, osteoplasti ve osteotomi sırasında elde edilen “kemik chips” leri, maksillanın dişsiz tüber bölgesinden, dişsiz bölgelerden ve çekim soketlerinden elde edilen kansellöz kemik iliği (cancellous bone marrow greft) ve yoğun kemikler rond frezle düzeltilirken elde edilen kemik parçalarının kanla ıslatılmasıyla da hazırlanan “osseöz koagulum” intraoral bölgeden elde edilebilen diğer greft tipleridir (Caranza ve Newman, 1996; Grant ve ark., 1990).



Şekil 3: İntraoral donör sahalar (Palacci, 2001)

2.7.1.2. Ağız dışında Otojen Kemik Grefti Sağlanan Bölgeler

İnsan vücudunda ağız içi haricinde başta kranial kemik, kaburgalar, iliak kemik, tibial kemik olmak üzere uygun bölgeler kullanılabilir. Ağız dışı bölgelerden otojen kemik greftinin alınmasının hastane şartlarında yapılması önerilir. Diğer yandan hastane şartlarına gereksinim olmaksızın, klinik koşullarda da iliak bölgeden otojen kemik grefti alınabileceğini rapor eden çalışmalar da mevcuttur (Freilich ve Sandor, 2006).

2.7.2. Allogreftler

Aynı canlı türünün genetik olarak farklı bireylerinden elde edilen greft tipidir. Otojen olmayan kemik greftlerinin antijenik özelliklerinin öncelikle içerdiği kemik iliği hücreleri, yağ ve proteinlerden kaynaklandığı, alıcıdaki tepkinin greft'teki canlı hücre sayısı ile doğru orantılı olduğu savunulmaktadır. Kadavradan veya canlı bireylerden (kalça kırığı gibi durumlarda) çıkarılan kemiklerden elde edilirler ve bir seri işlemlere tabi tutularak kemik bankalarında muhafaza edilirler (Grant ve ark., 1990; Lynch ve ark, 1999; Sandallı, 2000).

Bu işlemler, greft materyalinin antijenitesini azaltarak, reddini önlemeyi amaçlarlar (Güven ve Keskin, 1996).

Başlıcaları;

- Deproteinizasyon,
- Demineralizasyon,
- Dondurma ve Dondurup- Kurutma (Liyofilizasyon),
- Kaynatma ve Otoklavize Etme,

- Radyasyona Tabi Tutma (Irridiated Bone) dır.

Allogreftlerin avantajları; ikinci bir cerrahi saha açılmaması, uygun şekil ve miktarda sağlanabilmesi, daha az anestezi ve cerrahi zaman gerektirmesi ile daha az kan kaybı ve komplikasyon gözlenmesidir. Dezavantajları ise; kadavradan elde edilen kemik reddedilebilmesi ile greftin kalitesi ve hastalık riskinin, alındığı donöre bağlı olmasıdır (Caranza ve Newman, 1996; Lynch, 1999).

2.7.2.1. Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti

DKKA'da greft, tüm süreç boyunca sıvı faz olmaksızın düşük sıcaklıkta kurutulur. DDKKA'da, DKKA'nın mineralize fazı uzaklaştırılır böylece kollajen ve BMP'ler ekspoz olur. Bu mineral faz uzaklaştırılmazsa kemik indüksiyon süreci gözlenmez. Kortikal kemik cipsleri, düşük antijenik aktivitesi ve fazla kollajen miktarından dolayı genellikle tercih edilir. Greftler tamamen steril şartlarda muamele edilerek kemik bankalarında depolanır. DKKA'nın kemik formasyonunu sağlayan ve osteoindüktif olarak nitelendirilmesine neden olan BMP'yi içerdiği bildirilmiştir (Buck ve Malinin, 1994; Carpio ve ark., 2000). Ancak son dönemlerde yapılan çalışmalar DKKA'nın osteoindüktif bir greft materyali olmadığını ileri sürmektedir (Becker ve ark., 1995; Schwartz ve ark., 1996b). İşlenmiş allogreft içerisinde canlı hücreler bulunmadığı için osteojenik yanıt oluşturmaz (Stein ve Greenberg, 2002).

2.7.2.2. Demineralize Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti

DDKKA, konağın farklılaşmamış mezenkimal hücreleri üzerinde etki göstererek osteoindüksiyon ile kemik rejenerasyonu sağlayabilir. DDKKA, konak kemik için matriks fonksiyonu görerek osteokondüksiyon ile de kemik rejenerasyonu sağlayabilir (Smiler ve ark., 1992; Moy ve ark., 1993; Wheeler, 1997). Diğer yandan Rummelhart ve ark. insan periodontal defektlerinin kemik tamirinde postoperatif 6. ayda, DKKA ile DDKKA'nın etkinlikleri arasında anlamlı bir fark bulamamıştır

2.7.2.3. Demineralize Kemik Matriksi

Antijenik etkiyi elimine etmek amacıyla dondurma ve kurutma işlemleri uygulanmaz. Kemik allogrefti doku bankasından alındıktan sonra uygun viral inaktivasyon işlemlerine tabi tutulur. Greft materyali, temiz odalarda aseptik şartlarda

üretildiğinden sonradan sterilize edilmesi gerekmez; böylece Bone Morphogenic Protein(BMP)'ler korunmuş olur ve osteoindüktif etki gösterir. Ayrıca demineralizasyon işleminden dolayı tedavi süresi kısalmış olur ve greft materyalinin (DKM) kemik dokusu ile yerdeğiştirmesi 3-4 ay içinde gerçekteşir (Callan ve ark., 2000).

2.8. İnsan Kaynaklı Olmayan Kemik Greftleri

2.8.1. Ksenogreftler

Farklı türde canlı dokularından elde edilen grefttir. Günümüzde sığır kemiği ve doğal mercandan elde edilen iki tip ksenogreft mevcuttur. Her ikisi de insan kemiğine benzer yapıda, biyolojik olarak uyumlu ve osteokondüktiftirler (Ataoglu ve Gürsel, 1999).

Ksenogreftler, alıcı canlıdan farklı bir türde canlıdan elde edilen greft materyalleridir. Söz konusu materyaller doğal hidroksiapatit ve organize olmamış sığır kemiğidir. Doğal hidroksiapatit, mercanın kalsiyum karbonat iskeletinden sentezlenir. Hidroksiapatit; ortalama 200 µm'lik por çapı ile doğal kemiğin üç boyutlu mikroyapısına sahiptir. Materyal yüksek derecede biyoyumludur.

Ksenogreftler yapılan deneysel çalışmalar ışığında dental implant çevresindeki defektlerde güvenilir şekilde kullanılabilmektedir (Abushahba ve ark., 2008; Polyzois ve ark., 2007; Schou, 2003; Becker, 2003).

2.8.2. Alloplastlar

Allogreft ve ksenogreftlerin dezavantajlarından kaçınmak için son yirmi yıldır biyoyumlu sentetik greft materyalleri kullanılmaktadır. Rezorbe olan ya da olmayan, mikropöröz (350 µm'den küçük), makropöröz (350 µm'den büyük) veya pöröz olmayan yapıda olabilir. Bu materyallerin avantajları:

- * çapraz enfeksiyon riskini ortadan kaldırması,
- * kolay elde edilebilmesi,
- * steril edilebilmesi ve saklanabilmesi,
- * biyoyumlu olmasıdır.

Bu materyaller osteokondüktif özelliktedir.

2.8.2.1. Polimerler

Rezorbe Olanlar

Polilaktik veya poliglikolik asitten oluşan ürünler suture materyali, fiksasyon vidaları, kemik vidaları olarak uzun yıllardır kullanılmaktadır. Bu materyaller yüksek molekül ağırlığına sahiptir ve 3 yıla varan yıkılma süreleri vardır. Polimerlerin biyolojik degradasyonunda hastanın yaşı, immün sistemin durumu, dokunun toleransı, defektin lokalizasyonu ve ekspoz olan yüzeyin konfigürasyonu gibi birçok faktör rol oynar.

Son yıllarda polilaktik asit ve poliglikolik asitin düşük dansiteli kopolimerleri üretilmiştir. Bu kopolimerler minimum 3-4 ay, maksimum 6-8 aylık degradasyon zamanına sahiptir. Toz formu üç duvarlı osseöz defektler için endikedir, sünger formu iki veya üç duvarlı defektler için endikedir. Jel formu, şırınga ile enjekte edilerek derin defektler için kullanılır.

Rezorbe Olmayanlar

Bu alloplastik materyal polimetil metakrilat ve polihidroksietil metakrilat karışımıdır. Radyoopasite sağlaması için ufak miktarda baryum sülfat eklenmiştir. Mevcut kemik greft materyallerinin çoğunluğu uygun sonuçların elde edilebilmesi için YKR membranlarının kullanılmasını gerektirir. Fakat bu materyalin kullanılması ile membran gereksinimi elimine edilebilir, çünkü materyalin kendisinin membran görevi gördüğü belirtilmektedir.

2.8.2.2. Bioseramikler

2.8.2.2.1. TCP

Trikalsiyum fosfat, kimyasal olarak HA'ya benzer, fakat doğal kemiğe benzer kimyasal kompozisyona sahip değildir. Kalsiyum/fosfat oranı 3:2'dir. Rezorpsiyon hızı materyalin kimyasal yapısına bağlıdır (Horch ve ark., 2006). TCP'nin α ve β fazları mevcuttur. Sinterizasyon sıcaklığındaki varyasyonlar, farklı kristal fazların oluşmasına neden olur. 900°C'lik sıcaklıkta β -TCP oluşur. Sıcaklıktaki artış (1180°C'den fazla) α -TCP'nin oluşmasına neden olur. α veya β terimleri, TCP kristallerinin partikül oryantasyonunu ifade eder. α -TCP çok yavaş rezorbe olur ve yıllar sonra dahi kemikte saptanabilir. Diğer yandan β -TCP tamamen rezorbe olur ve 8-12 ay sonra tamamen

doğal kemikle yerdeğiştirir. Bu sebeple α -TCP'nin klinik kullanımı önerilmemektedir (Wiltfang ve ark., 2003).

TCP, yeni kemik oluşumu için fiziksel bir matriks oluşturur ve β -TCP'nin rezorpsiyon hızı kemik remodelasyon hızıyla eş zamanlı olduğu için defekt alanında tam kemik rejenerasyonu oluşması beklenebilir. Manipülasyon kolaylığı sağlaması ve osteoindüktif özellik sağlaması için TCP'nin tercihen otojen kemik greftleri veya allogreftler ile kombine kullanılması önerilmektedir (Szabo ve ark., 2005).

2.8.2.2.2. Hidroksiapatit

Hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), kemiğin primer inorganik doğal komponentidir. Kalsifiye iskeletin % 60-70'ini ve minerin % 98'ini oluşturur. Biyouyumludur, komşu sert ve yumuşak dokuya kolayca yapışır. Bu materyalin klinik kullanımı, greft tipinin fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlıdır. Fiziksel özellikler olarak kastedilen; pöröz (mikro veya makro) ve pöröz olmayan form, rezorbe olan ve olmayan form, blok ve partiküler formdur. Kimyasal özellikler; kalsiyum fosfat oranına, çevreleyen alanın pH'sına ve iyon değişimine bağlıdır. Geniş kristal partiküllerin rezorbe olması çok uzun zaman alır ve rezorbe olmayan olarak adlandırılır. Küçük boyutlu kristal HA ve amorf HA daha çabuk yıkıma uğrar. Bu sebeple materyalin kristal yapısı, rezorpsiyon derecesini belirler. Diğer yandan pörözite, grefte olan kan geçişi ve vasküler infiltrasyonu belirler. 250-350 μm 'lik delikler (pore) kemik büyümesi için ideal olarak kabul edilmiştir. Fakat ne yazık ki pörözite artışı ile dayanıklılık azalmaktadır ve büyük bir dezavantaj oluşturmaktadır. Solid, dens, blok greftler yüksek sıkışma dayanıklılığına sahiptir; diğer yandan kırılğan yapıdadır ve iyileşme periyodu sırasında stres altında yer değiştirir (Smiler ve ark., 1992; Quinones ve ark., 1997).

2.8.2.3. Bioaktif Cam

Bioaktif cam greftler; kalsiyum tuzu, sodyum tuzu ve silikon karışımıdır. Granüllerin ortalama boyutu 300-355 μm 'dir. Cam yüzeyinde hidroksikarbonat apatit tabakası oluşur ve materyal kemiğe bağlanır. Yapılan bir çalışmada Schepers ark. (1999) bioaktif camların manipülasyonunun HA granüllerinden daha kolay olduğunu ve cam granüllerinin komşu dokulara yayılma eğiliminde olmadığını rapor etmiştir. Cam

granülleri birbirine bağlı bir kitle oluşturur ve kan ile temas ettiğinde dağılmaz (Furusaw ve Mizunuma, 1997; Norton ve Wilson, 2002).

2.9. Greftlerin Başarıları

Herhangi bir kemik greftinin başarılı olabilmesi için 4 önemli koşulun ortamda var olması gerekir:

- 1- Ortamda kemik oluşturan hücreler olması,
- 2- Bölgenin greftin kanlanması sağlayacak durumda olması,
- 3- İyileşme sürecinde greftin stabil olması,
- 4- Mukoperiosteal flep gerilimsiz suture edilebilmelidir (Smiler, 1998).

2.9.1. Ortamda Kemik Oluşturan Hücrelerin Bulunması

Kemik dokusu hücreler, moleküller ve hücre dışı matriksten meydana gelir. Kemik hücreleri 3 tiptir: Osteoblastlar, osteoklastlar ve osteositler (Rosen ve Theis, 1992; Wozney, 1992). Osteositler yoğun kortikal kemik lakünasında bulunan olgunlaşmış hücrelerdir. Kortikal kemikte az miktarda osteoblast ve osteoklasta rastlanır. Genel olarak yoğun bir kütle şeklindedir. Kortikal kemiğin dış yüzeyine kollajen lifler ile sıkıca bağlanan periost hem osteoblastik hem de osteoklastik aktiviteyi içerir. Kortikal kemiğin altındaki süngerimsi kansellöz kemiğin osteoblast ve osteoklast içeriği daha fazladır. Kansellöz kemik “trabekül” olarak bilinen geniş hidroksiapatit plak ve çubuklardan oluşur. Kortikal kemiğe oranla 8 kat fazla yüzey/kemik oranına sahip kansellöz kemiğe kemik oluşturan hücrelerin girişi daha fazla olur (Roberts ve Simmons, 1992).

Sadece osteoblastlar yeni kemik yaratabilir. Herhangi bir greftin başarılı olabilmesi için olgunlaşmamış mezenkimal hücrelerin osteoblastlara dönüşmesi ve osteoblastların greft matriksi oluşturması gerekir (McCain ve Marx, 1978). Eğer alıcı yatakta osteoblastlar yoksa başka bir yerden taşınması gerekir (Burwell, 1966; Lindholm ve Nilsson, 1982). Bu mümkün değilse komşu kemik veya periosttan kan yoluyla mezenkimal hücrelerin osteoblastlara dönüşmek üzere alıcı bölgeye gelmesi sağlanmalıdır (Kawamura ve Urist 1988; Lindhe ve Branemark 1970). Alıcı sahada osteoblastların yetersiz olması greft başarısızlığına neden olur.

2.9.2. Alıcı Sahanın Greftin Kanlanması Sağlayabilmesi

Kemik greftlemesinin optimal sonucu tamirden ziyade rejenerasyon niteliğinde olmalıdır. Tamir; hasar görmüş dokunun devamlılığının sağlanmasıdır. Orjinal dokunun işlev ve yapısı sağlanmaz. Diğer taraftan rejenerasyon ise orijinal dokunun yapı ve fonksiyonunun yeniden sağlanmasıdır. Bu noktada en önemli faktör greft ve çevre dokunun kanlanmasıdır (Branemark, 1965; Phillips ve ark., 1991).

Doku ve greft kanlanması yetersiz olduğu zaman hücreler canlı kalamayacağı için rejeneratif iyileşme gözlenmez. Bunun ötesinde yetersiz kanlanma durumunda fibrin pıhtı oluşmaz (Reddi ve ark., 1987; Marx ve ark., 1979). Fibrin pıhtı mezenkimal hücrelerin göçü, bölünmesi ve osteoblastlara dönüşmesi için ilk matriksi hazırlar (Kawamura ve Urist 1988; Bruce ve Dziewitkowsi, 1987). Ayrıca kemik oluşumu süreci sırasında osteoblastların tutunmasını sağlar.

2.9.3. İyileşme Sırasında Greftin Stabil Olması

Greft ortamı rejenerasyon ya da tamirde etkilidir. İyileşme sırasında greft üzerindeki mekanik stresler aşırı distorsiyon ve öncü fibrin pıhtının bozulmasına yol açabilir (Bucknall ve Ellis, 1984). Böylece rejenerasyon azalarak fibröz dokudan oluşan tamir dokusu oluşur. Bu sorunun üstesinden gelmek için yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu tekniği ile beraber titanyum ağı, kemik vidaları gibi fiksasyon araçları ile greftin stabilizasyonu sağlanabilir.

2.9.4. Fleplerin Gerilimsiz Sütüre Edilmesi

Greftin üzerinin primer olarak kapatılması doku devamlılığı sayesinde kanlanmayı arttıracaktır. Ayrıca greft dış kuvvetlerden, tükürük enzimlerinden ve oral kavitenin diğer elemanlarından korunmuş olacaktır. Primer kapanış isteniyorsa insizyon hattında gerilim olmamalıdır (Gottrup ve ark., 1982).

Periost elastik bir doku değildir. Greft eklenmiş insizyon hattında esneme olmaz. Bu durumda gerilimsiz primer kapanışı sağlamak için periost çizilir. Ancak derindeki bağ dokusu, kan damarları ve yağ pedini korumak gerekir. Bu tekniğin dezavantajı devamlılığı bozulan periostun kemik iyileşmesi üzerindeki etkinliğini yitirmesi ve grefte doğru fibrovasküler invazyonun olmasıdır. Fibröz invazyonu

engellemek için greft ve periost arasına yönlendirilmiş kemik rejenerasyon membranı yerleştirilmelidir (Bergmann ve ark., 1983).

Rejeneratif tedavinin önemli bir adımı da doğru bariyer membranı seçmektir. Kemik en yavaş büyüyen doku olduğu için YKR (yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu) membranı ile hızlı büyüyen epitelyum, fibröz doku veya gingival bağ dokusunu defektin dışında tutup içerideki boşluğun tamamen kemikle dolması hedeflenir. Rezorbe olabilen veya olamayan membran seçiminde defektin boyut ve yeri, membranın ne kadar süre bariyer olarak kalma gerekliliği ve ne kadar kemik rejenerasyonu istendiği gibi durumlar göz önünde bulundurulmalıdır. Membran bir ayda 1mm kemik rejenerasyonu sağlamalıdır. Bu formüle göre 2-3 mm gibi küçük defektler için 2-3 aylık süreç yeterli olurken geniş defektler için çok daha uzun süre beklemek gerekir.

2.10. Trombositten Zengin Plazma (TZP)

Bir büyüme faktörü karışımı ve fibrin pıhtının otolog bir modifikasyonu olan Trombositten Zengin Plazma (Trombosit jel) (TZP) 1970'lerin başında çok bileşimli kan ürünlerinin bir yan ürünü olarak geliştirilmiştir. Tekniklerin ve kullanılan ekipmanların hızlı bir şekilde gelişmesiyle 1990'larda; kandaki çeşitli elemanların doğal iyileşmenin bir parçası olduğu ve konsantre bir şekilde yaraya uygulandığında iyileşmeyi hızlandırdığı keşfedilmiştir (Man ve ark., 2001).

Trombositler yuvarlak ya da oval, 2-4 μ çapında küçük disklerdir. Kemik iliğinde megakaryositlerden oluşurlar. Megakaryositler kemik iliğinde hematopoetik serinin oldukça büyük hücreleridir ve kemik iliğinde ya da kana geçtikten bir süre sonra özellikle pulmoner kapillerden geçmeye çalışırken parçalanarak trombositleri oluştururlar. Trombositlerin kandaki normal konsantrasyonu milimetreküpte 150.000-350.000'dir. Nükleusları olmamasına ve çoğalamamasına rağmen trombositler hücrenin pek çok fonksiyonel karakteristiklerini taşırlar. Sitoplazmalarında çeşitli aktif faktörler vardır. Bunlar;

- 1- Trombositlerin kasılmasını sağlayan ve kas hücrelerindeki benzeyen aktin ve miyozin molekülleri ile diğer bir kontraktıl protein olan trombostenin

- 2- Çeşitli enzimleri sentezleyen ve çok miktarda kalsiyum iyonlarını depolatan endoplazmik retikulum ve golgi apereyinin kalıntıları
- 3- Mitokondri, ATP ve ADP oluşturabilen enzim sistemleri
- 4- Lokal hormonlar olan birçok damarsal ve lokal doku reaksiyonlarını sağlayan prostoglandinleri sentezleyen enzim sistemleri
- 5- Daha sonra kan pıhtılaşması ile ilişkili olarak önemli bir protein olan fibrin stabilize edici faktör
- 6- Damar endotel hücrelerinin, damar düz kas hücrelerinin ve fibroblastların çoğalma ve büyümelerini ve böylece hasarlı damar duvarlarının tamiri için gerekli hücrel büyüme sağlayan büyüme faktörleridir.

Trombositlerin hücre membranı da önemlidir. Yüzeylerini kaplayan glikoprotein örtüsü trombositlerin normal endotele yapışmasını önlerken, damar çeperlerinin hasarlanan alanlarına özellikle zedelenen endotel hücrelerine ve damar çeperinde daha derinlerde açığa çıkan kollajene yapışmalarını sağlar. Trombositler çok aktif bir yapıdadır. Yarı ömrü dolaşımda 8-10 gündür. Bu süre sonunda yaşam süreçleri sona erer ve dolaşımdan başlıca doku makrofajları tarafından uzaklaştırılırlar (Marx ve ark., 1998; 2004; Lynch ve ark., 1999).

Trombositler, doğal yara iyileşmesinde temel rol oynayan büyüme faktörü kompleksinin ana kaynağıdır. Büyüme faktörleri sayesinde ideal bir yara iyileşmesi sağlanabilmekte ve rejeneratif işlemler başarılı şekilde sonuçlanabilmektedir (Dugrillon ve ark., 2002). TZP jel, tam kanın santrifüjü ile elde edilen TZP'nin trombin ve CaCl_2 ile karıştırılmasıyla elde edilir. TZP jelde yüksek konsantrasyonda trombosit ve doğal olarak büyüme faktörleri bulunmaktadır. Trombin gibi proteinlerin trombositleri ayrıştırması ile büyüme faktörleri açığa çıkar (Carter ve ark., 2003).

Oral ve maksillofasiyal cerrahide TZP en çok alveol kemiği arttırılması, sinüs tabanı cerrahileri, dental implantoloji ve periodontal cerrahide kullanılmaktadır (Anitua 1999; Kassolis ve ark., 2000; Lekovic ve ark., 2002; 2003). Periodontal rejenerasyon amacıyla büyüme faktörü kullanımının eksikleri; periodontal hücrelerin farklılaşma listeleri ile ilgili sınırlı bilgi, bu faktörler tarafından tam olarak hangi hücrelerin modüle edileceğinin bilinmemesi ve bu faktörlerin etkisiyle şekillenecek olan dokuların stabilitesinin bilinmemesidir (Bartold ve ark., 2000b). Ayrıca kullanılacak olan TZP

preparasyonu içindeki ideal büyüme faktörü konsantrasyonunun ne olması gerektiği konusunda da yeterli bilgi bulunmamaktadır.

Bu büyüme faktörlerini bir kombinasyon şeklinde içeren TZP kullanımının çeşitli cerrahi operasyonlarda kemik rejenerasyonunun artırılması, hızlandırılması ve daha hızlı bir yumuşak doku iyileşmesi gibi bazı avantajlar sağladığı gösterilmiştir (Marx ve ark., 1998; Obarrio ve ark., 2000; Man ve ark., 2001; Camargo ve ark., 2002; Hiramatsu ve ark., 2002). Tıp alanında uzun zamandır kullanılmakta olan TZP uygulaması, diş hekimliğinde ilk kez 1998'de Marx ve ark. tarafından kullanılmıştır. Alveol kemiği defekti içerisinde otojen kansellöz kemiğe eklenen TZP'nin daha hızlı olgunlaşma oranı ve daha fazla yeni kemik oluşumu ile sonuçlandığını bildiren araştırmacılar; TZP içinde uygulanan trombositlerin, trombin ve $CaCl_2$ ile aktive edildiklerinde, alıcı bölgeye yüksek konsantrasyonda büyüme faktörü salgıladıklarını iddia etmişlerdir (Marx ve ark., 1998). Ratlarda TZP'nin pöröz HA ile kullanılmasının kemik büyümesini arttığı gösterilmiştir (Siebrecht ve ark., 2002). TZP'den salınan büyüme faktörleri komşu dokudaki (periost, endosteum) veya implante edilen otogreftlerdeki (kansellöz kemik, kemik iliği) osteoprogenitör hücrelerin ve preosteoblastların proliferasyonlarını aktive edebilir (Yoo ve Johnstone, 1998). TZP'nin bir fibrin jel oluşturup otojen kemik greftinin yapışmasını artırma ve kemik rejenerasyonunu arttıracak büyüme faktörleri salgılama etkisi olduğu literatürlerle desteklenmiştir (Anitua, 1999; 2001; Kassolis ve ark., 2000). TZP'nin tek başına greft kullanımına göre yaklaşık yarı sürede erken birleşim ve greft mineralizasyonuna neden olduğu, ayrıca trabeküler kemik yoğunluğunu %15 ile 30 arası arttırabileceği ileri sürülmüştür (Marx ve ark., 1998; Lecovic ve ark., 2003; Weibrich ve ark., 2003). Kemik greftlerine TZP'nin olumlu etkisi kırık tamirinde olduğu gibi çeşitli büyüme faktörlerinin etkileşimi sonucu olabilir (Bolander, 1992).

2.10.1. Büyüme Faktörleri

Büyüme faktörleri (polipeptid büyüme faktörleri) hücrelerin proliferasyonu, kemotaksisi, farklılaşması ve matriks sentezi gibi doku tamirindeki anahtar hücresel olayları, spesifik hücre reseptörlerine bağlanarak düzenleyen biyolojik bir medyatör sınıfıdır (Position Paper, 1996). Periodontal dokuların tamiri sırasında sementogenezis, osteogenezis ve periodontal ligament fibrillerinin oluşması hedeflenmektedir. Diş

gelişimi ve doku tamirini başlatan ve düzenleyen büyüme faktörleri hakkındaki bilgilerimizin artması sonucu periodonsiyumun rejenerasyonu amacı ile kullanıldıkları araştırmaların sayısı da artmıştır (Cochran ve Wozney, 1999; Giannobile, 1996; Grzesik ve Narayanan, 2002; King ve Cochran, 2002). Büyüme faktörleri hücre tarafından salgılandıktan sonra otokrin yoldan etki edip yine kendi büyümesini ve fonksiyonunu değiştirebilir veya parakrin yoldan etki edip bir hücrede salgılandıktan sonra başka bir hücrede etki gösterebilirler. Büyüme faktörlerinin çoğu ekstrasellüler matrikste depolanır. Matriks yıkılmasında ortama salınan bu mediyatörler doku remodelasyonu ve rejenerasyon sırasında farklı etkilere sahip karmaşık bir sinyal ağının bir parçası olarak görev yaparlar. Farklılaşma faktörleri ise tıpkı büyüme faktörleri gibi işlev görüp, bir hücrenin fenotipik karakterini kontrol eden öncü hücrelerin olgunlaşmış hücrelere dönüşmesini sağlayan proteinlerdir. Mezenkimal hücreler gibi öncül hücreler, osteoblast gibi tam olgunlaşmış fonksiyonel hücrelere değişirler (Schliephake, 2002).

2.10.1.1. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (TKBF)

TKBF 30 kD(likodalton) ağırlığında, yüksek derecede bazik özellikli, dimerik bir glikoproteindir. TKBF; yara iyileşmesi sırasında ilk olarak ortaya çıkan polipeptid hormondur (Lynch ve ark., 1999). TKBF'ün en önemli etkisi hücre çoğalmasını ve protein sentezini arttırmasıdır. Bununla birlikte TKBF'ün osteoblastlar ve periodontal ligament hücreleri üzerindeki mitojenik etkisi yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir (Canalis ve ark., 1988; Centrella ve ark., 1991; Graves ve ark., 1989). TKBF'ün aynı zamanda damarlanmayı ve makrofaj aktivasyonunu arttırdığı da bilinmektedir (Lynch ve ark., 1999).

TKBF insan dişeti fibroblastlarının çoğalmasında inhibitör görev alan lipopolisakkaritlerin etkilerini önleme özelliğine de sahiptir (Rutherford ve ark., 1992). Gr(-) bakterilerde bulunan lipopolisakkaritlerin dişeti fibroblastların çoğalmasını ve oluşumunu engellediği bilinmektedir (Bartold ve ark., 1992). Köpek ve fare çalışmalarında TKBF ve İBBF-1'in anlamlı derecede yeni kemik oluşumuna neden olduğu gözlenmiştir. Sadece İBBF-1 ile yapılan tedavi sonuçları kontrol grubuna göre farksız bulunmasına karşın sadece TKBF kullanımı ile ataşmanın rejenerasyonunda anlamlı derecede artış gözlenmiştir (Lynch ve ark., 1991a; Rutherford ve ark., 1992). TKBF ve YDR beraber kullanıldığında tek başına kullanımına göre daha iyi sonuçlar

vermektedir (Park ve ark., 1995). Büyüme faktörleri sadece jel taşıyıcılarla değil kemik greftleriyle de defektlere uygulanmış, kollajen ve saflaştırılmış kemik matriksinde TKBF-BB'nin emilim ve salınım dinamikleri belirlenmeye çalışılmıştır. Bu çalışmadaki gözlemler saflaştırılmış kemik minerali, kollajen ve PDGF-BB içeren karışımın gelişmiş osteojenik özellikler içeren etkili bir kemik greft materyali olabileceğini göstermektedir (Stephan ve ark., 2000).

2.10.1.2. Transforme Edici Büyüme Faktörü– β (TEBF- β)

TEBF- β ; birbirlerine disülfid bağlarla bağlanan iki zincirli, 25 kD moleküler kütleye sahip bir polipeptid hormondur (Schliephake, 2002). TEBF- β 1, TEBF- β 2 ve TEBF- β 3 olmak üzere 3 farklı formda bulunurlar. TEBF- β , fibroblast çoğalmasını uyaran plasenta kaynaklı bir madde olarak keşfedildikten sonra tüm vücutta yaygın olarak bulunduğu, hücre siklusu regülasyonu, embriyogenez ve organ gelişimi gibi pek çok biyolojik aktivitede görev aldığı fark edilip çeşitli araştırmalarda odak noktası olmuştur (Kanno ve ark., 2005; Pierce ve ark., 1992; Mohan ve Baylink, 1991). Üç farklı izoformundan TEBF- β 1 ve β 2, trombositlerde bulunduğu ispatlanmış olan, bağ dokusu iyileşmesi ve kemik rejenerasyonunda görev alan, TEBF'ün en sık görülen alt gruplarıdır. Hücre büyümesi, extraselüler matriks üretimi, anjiogenezin uyarılması, yara iyileşmesi ve farklılaşması gibi çeşitli biyolojik olaylarda rol alırlar (Altmeyden ve ark., 2004; Ksander ve ark., 1990; O'Toole ve ark., 2001). Fibroblastları prokollajen üretimi için aktive ederek yarada kollajen depolanmasına neden olurlar (Ksander ve ark., 1990). TEBF - β parakrin olarak etkilerini fibroblast, kemik iliği kök hücresi ve preosteoblast gibi hücreler üzerinde gösterebilirler ve bu hedef hücreler de yine TGF- β salgılayabilirler (Aukhil, 2000). Böylece TEBF- β yalnızca yumuşak doku ve kemik rejenerasyonunu başlatmakla kalmaz, remodeling aşamaları ve kemik grefti olgunlaşmasında da etkili olur (Lynch ve ark., 1999; Nall ve ark., 1996; Marx ve ark., 1998). TEBF- β 1 kemik ve trombositlerde yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Temel olarak hem parakrin hem de otokrin yolla hücreler üzerinde etkilidirler (Wirthlin, 1989). TEBF- β ; hem kemik hücrelerinin proliferasyonunu, kemotaksisini hem de ECM sentezini artırır. Bu etki hem bu büyüme faktörünün ortamda bulunduğu konsantrasyona hem de osteoblastların farklılaşma zamanına göre değişiklik

gösterebilmektedir. Bununla birlikte TEBF- β 'nin osteoklast formasyonunu ve rezorpsiyon kapasitesini inhibe ettiği bilinmektedir (Cochran ve Wozney, 1999).

2.10.1.3. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (İBBF)

İnsan proinsülinine benzerliği nedeniyle bu ismi alan İBBF-I, fibroblast, kondrosit, keratinosit, osteoblast, mezangial eritroid progenitör hücreler gibi pek çok hücre tipinin çoğalmasını arttırarak büyümeyi uyarır. Kemik matriksinde en fazla bulunan büyüme faktörüdür (Daughaday ve Rotwein, 1989; Mohan ve Baylink, 1991). İBBF I ve İBBF II olmak üzere iki formu vardır. İBBF-I'in kemik oluşumuna etkisi İBBF-II'den fazladır. Bu nedenle çalışmalar genellikle İBBF-I üzerinde yoğunlaşmıştır (MCCarthy ve Centrella, 1989) . İBBF-I tek zincirli bir polipeptit hormondur. Bu büyüme faktörü osteoblastların hem büyümesini hem de pre-osteoblastların osteoblastlara farklılaşmasını sağlar. İBBF'ün aynı zamanda osteoblastlardan tip-1 kollajen salınımını arttırdığı bilinmektedir (Canalis ve ark., 1993). İBBF başta osteoblastlar ve trombositler olmak üzere makrofaj ve monositlerden de salgılanabilmektedir. Diğer büyüme faktörleri sadece lokal ya da bölgesel düzeyde etki gösterirken İBBF'ler birçok hücre ve dokuda hem metabolik aktiviteyi hem de büyümeyi destekleyen etkilere sahiptir (Schliephake, 2002).

2.10.1.4. Trombosit Kaynaklı Epidermal Büyüme Faktörü (TKEBF)

Cohen tarafından 1962'de keşfedilmiştir ve tanımlanan ilk büyüme faktörüdür. Keratinositlerin ve dermal fibroblastların proliferasyonunu stimüle ederek, epidermal rejenerasyonu ve yara iyileşmesini hızlandırır. Bunun yanı sıra diğer büyüme faktörlerinin üretimini ve etkilerini arttırır (Sanchez ve ark., 2003). Epidermal büyüme faktörü, yara iyileşmesinin erken safhalarında fibronektin gibi proteinlerin üretimini ve epitel hücre göçünü uyarır (Machens ve ark. 2003). Kollajen üretimini arttırmadan fibroblastların çoğalmasını sağladığı düşünülmüştür. Bununla birlikte Brown ve ark.(1988), sıçanlarda insizyon bölgelerine biyosentetik EBF uygulamalarının ardından yaptıkları elektron mikroskopik incelemede artmış kollajen oluşumu göstermişler.

2.10.1.5. Trombosit Kaynaklı Angiogenesis Faktörü (TKAF)

Deneyisel olarak TKAF'nün damarlanmayı artırıcı etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Sanchez ve ark., 2003, Wang ve ark., 2004). Vasküler endotel hücreleri direkt veya indirekt yoldan etkilerler. Damarlanmanın olmadığı dokularda yeni kan damarlarının gelişmesini sağlarlar. Bazı sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin düzenlenmesi TKAF tarafından yapılır. Bunlar, İBBF-I, TBF α ve β , TKBF, temel fibroblast büyüme faktörü (bFBF), TKEBF ve interlökin 1 β (IL-1 β) dir.

2.10.1.6. Fibroblast Büyüme Faktörü (FBF)

Fibroblast büyüme faktörleri mitojenik polipeptid ailesidirler. İçlerinde en çok incelenmiş olan altgrup bFBF; fibroblastlar, endotel hücreleri, osteoblastlar, kondrositler ve keratinositler üzerinde mitozu artırıcı etki gösterir, angiogenesis ve endotel hücre göçünde rol oynar, TBF- β 'nın dağılımını artırıcı etki yapar (Klagsbrun ve D'amore, 1991 O'Toole ve ark., 2001). VEGF ve TNF- α ile birlikte olduğunda maksimum anjiogenik etkisini gösterir. Yara iyileşmesinde özellikle keratinositlerin proliferasyon ve göçüne neden olur. Angiogenesisin başlaması için gerekli olan fibroblastlardan kollajenaz üretimi ve kapiller endotel hücrelerinin proliferasyonunu sağlar (Currie ve ark., 2001; Ribatti ve ark., 2002). Granülasyon dokusu oluşumunu başlatmaya da yardımcı olur (Grotendorst ve ark., 1985). Rashid ve ark. (1999), bu faktörü kullanarak sıçan dorsal fleplerinde angiogenesisi arttırdığını saptamışlardır. Fleplerin altına Khouri ve ark. (1991) bFBF'yi, Frank ve ark. (1996) ise rekombinant bFBF'yi uyguladıklarında damarlanmanın arttığını rapor etmişlerdir.

2.10.1.7. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEBF)

VEBF'ün, tümör hücrelerinden salgılanan, damar geçirgenliğini artırarak asit oluşumuna katkıda bulunan bir madde olduğu düşünülmüş ve bu nedenle 1983'te "vascular permeability factor" olarak isimlendirilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalar doğrultusunda VEBF olarak ismi değiştirilmiş, en kuvvetli fizyolojik ve patolojik angiogenesis uyarıcısı olduğu tespit edilmiştir (Carmeliet, 2000; Currie ve ark., 2001; Klagsbrun ve D'amore, 1991). Beş adet izoformu bulunan VEBF kendi salınımından sonra diğer proteoglikan-bağlı salınımı olan büyüme faktörlerinin (bFBF) de salınımını uyarır ve bFBF ile sinerjistik anjiogenik etkisi gösterilmiştir (Distler ve ark., 2002).

Anjiogenezin ilk basamaklarında vasküler bazal membranların yıkılması için gerekli olan kollajenaz ve jelatinazın indüksiyonuna, daha sonra yine anjiogenez için gerekli olan α integrinlerin ekspresyonuna neden olarak iyileşen dokuda anjiogenez başlatır. Yara iyileşmesinde önemli rol oynayan fibroblast, inflamatuvar ve endotelial hücrelerin proliferasyon ve göçünün uyarılmasında görevlidir ve vasküler geçirgenliği artırır (Becker ve ark., 2005; Colville-Nash ve Willoughby, 1997; Distler ve ark., 2002).

2.10.1.8. Büyüme Faktörleri Arasındaki İlişkiler

Kemik metabolizmasında pek çok büyüme faktörü arasındaki karmaşık ilişkiler bazı sebeplerden dolayı önemlidir;

- 1- Pek çok büyüme faktörü (ör. IBF-I, TBF- β , bFBF ve TKBF) kemikte yüksek konsantrasyonlarda bulunur (Hauschka ve ark., 1986).
- 3- Kemik hücreleri pek çok farklı büyüme faktörünü ortama salar (Zhang ve ark., 1991; Canalis ve ark., 1988; Robey ve ark., 1987).
- 4- Kemiğin tamiri esnasında büyüme faktörlerine ait genler ve gen ürünleri eksprese edilir (Andrew ve ark., 1995; Bolander ve ark., 1992).

Sonuç olarak, kemiğin tamirinde ve olgunlaşmasında pek çok büyüme faktörü ve bunların birbirleri ile ilişkileri rol oynar. Örneğin IBF-I, TKBF ile beraber tek başlarına yapabildiklerinden daha fazla osteogenezise neden olurlar. Rutherford ve ark. (1992), maymunlarda oluşturdukları periodontitisi tedavi etmek için TKBF-BB ve TKBF-AA'yı IBF ile kombine olarak kullanmışlar ve büyüme faktörü kullanılan gruplarda elde edilen rejenerasyonun sadece flap yapılan gruplara göre anlamlı derecede fazla olduğunu göstermişlerdir. Lynch ve ark.'nın (1991b) aynı yıl yaptıkları bir başka çalışmada ise, beagle köpeklerinde, özel olarak imal edilip üzerine boşluklar oluşturulmuş titanyum implant etrafına uygulanan TKBF-IBF kombinasyonunun erken dönemdeki iyileşmeyi stimüle ettiği ve klinik olarak bu kombinasyonu kullanmanın hızlanmış ve artmış osseointegrasyona yol açacağı belirtilmiştir.

TZP, donörden alınan venöz kanın santrifüj işlemlerine tabi tutularak kan elemanlarından trombositlerin ayrıştırılmasıyla elde edilen bazı avantajları olan bir ajandır.

Bu avantajlar;

- Alıcı ve verici alanda operasyon sırasında ve sonrasında kanamanın azalması
- Yumuşak doku iyileşmesinin hızlandırılmasına yardımcı olması
- Adeziv (Yapıştırıcı) etkisi sayesinde alıcı sahadaki greft materyalinin stabilitesini arttırması
- Büyüme faktörleri sayesinde iyileşmekte olan dokuların vaskülarizasyonunun hızlandırılması
- Kemik greftleri ile kombine kullanılarak rejenerasyonun arttırılması
- Toksik olmaması
- Orijinal donörden alındığında otojen materyal olduğu için immün reaksiyona sebep olmaması
- Operasyon sırasında veya öncesinde kısa sürede hazırlanması (Operasyon sırasında zaman kaybına neden olmaz.)
- Doku uyumlu olması
- Enfeksiyöz hastalıkların geçiş riskinin bulunmaması (Ferreira ve ark., 2005; Tözüm ve Demiralp, 2003)

TZP'den salınan büyüme faktörleri hücre çekirdeğine etki etmeyip hücre membran reseptörleri ile etkileşime girerek hücre içi sinyal yolunu başlatıp hücrelerin çoğalmasını arttırmaktadır. Bu nedenle herhangi bir kanserojenik madde gibi tanımlanmamıştır (Marx, 2004). Cronkite ve Tedrick 1944 yılında fibrinojen ve trombini ilk olarak kombine etmiş ve deri greftlerinin yapıştırılmasında kullanmışlardır (Matras, 1985). Bu teknik aynı zamanda oral ve maksillofasial cerrahi uygulamalarında kullanım alanı bulmuş, kemik partiküllerinin otojen fibrin yapıştırıcı ile karıştırılarak kolay bir şekilde taşınabileceği ve yara iyileşmesine olumlu etkileri olabileceği bildirilmiştir (Tayapongsak ve ark., 1994). Whitman ve ark.'nın 1997 yılında yayınladıkları çalışma ile trombosit jeli tanımlanmış ve kullanılmaya başlanmıştır. TZP'nin popüler olmasını sağlayan bu konuda daha sonra pek çok çalışma yayınlamış kişi Robert E. Marx'dır. Marx ve arkadaşlarının, benin ve/veya malin lezyon eksizyonu yapılmış fakat radyoterapi uygulanmamış 5 cm. ve daha büyük mandibula defektine sahip 88 hasta üzerinde yaptıkları araştırmada, 44 defektin tedavisinde posterior iliak bölgeden alınan otojen kemik grefti TZP ile beraber kullanılırken, diğer 44 hasta sadece

otojen kemik grefti kullanılarak kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Radyografik sonuçlar incelendiğinde TZP kullanılan bölgelerde kemik maturasyonunun TZP kullanılmayan bölgelere oranla daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre TZP eklenmesi kemik oluşum oranını ve kemik grefti içinde kemik oluşumunun derecesini en azından ilk 6 ay boyunca hızlandırmaktadır (Marx ve ark., 1998). Bu çalışma sonrasında TZP'nin oral cerrahilerde kullanımı ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve yayınlanmıştır. Literatürde birbirinden farklı tekniklerden bahsedilmesine rağmen TZP elde etmek için izlenmesi gereken yol aynıdır. Bunun için öncelikle venöz kan elde edilir. Damar dışına çıkan kanın pıhtılaşmasını engellemek için antikoagülan bir madde ile karıştırılmalıdır. Elde edilen karışım belli bir merkezkaç kuvvetine maruz bırakılır. Buradaki amaç kanda bulunan şekilli elemanların ağırlıklarına göre çökmesini sağlayarak istenen kan fraksiyonunu (trombosit) belirli bir bölgede toplamaktır. Antikoagülan ile karıştırılmış ve tüpe yerleştirilmiş kan ilk santrifüj sonrasında iki kısma ayrılmış gibi görünmektedir. Ağırlıklarından dolayı eritrositler tüpün alt kısmında birikirken, üst kısımda sarı renkli plazma görülür. Plazma kısmının eritrositlere yakın olan alt bölümünde ise trombositler yoğunlaşır. Yapılan incelemelerde yeni sentezlenen trombositlerin, eritrositlerin oluşturduğu fraksiyonun üst kısmında yoğun olarak bulunduğu anlaşılmıştır. Bu nedenle tüm plazma içeriğinin yanı sıra eritrositlerin bulunduğu kısmın üzerinden bir miktar alınması da önerilmektedir.

Sonuçta elde edilen ve plazma ile az miktarda eritrositten oluşan karışım bir kez daha santrifüj edilerek trombosit fraksiyonunun tüpün alt kısmında toplanması sağlanır. Bu aşamadan sonra trombosit sayısı artmış olan plazma elde edilmiş olur ve antikoagülan etkinin ortadan kalkması için CaCl_2 , trombositleri aktive edip granül içeriklerini boşaltmalarını sağlamak için ise trombin ya da hastanın kendi kanı ile karıştırılır. Sonuçta normal trombosit sayısından daha yoğun miktarda trombosit içeren ve bu trombositlerin aktive olması sonucu granüllerindeki büyüme faktörlerinin ortama salındığı bir jel elde edilmiş olur. TZP tanımlandıktan sonra birçok çalışmada kullanılmış ve elde edilen olumlu sonuçlar rapor edilmiştir. Kassolis ve ark. (2000), TZP ile dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftini alveol kreti ve sinüs yükseltilmesi ameliyatlarında kullanmış ve bu hastaların implant bölgelerinden biyopsiler alarak sonuçları değerlendirmişlerdir. 12 ay sonra alınan biyopsilerde yapılan histolojik incelemelerde dondurulmuş-kurutulmuş kemik greftinin etrafında çok sayıda yeni

kemik oluşumu ve osteoid alanları izlemişlerdir. Böylece dondurulmuş-kurutulmuş kemik grefti ile TZP'nin implant ameliyatlarında kombine uygulanmasını önermişlerdir. Aynı zamanda TZP'nin, jel halinde bulunabilmesi, greftle birlikte uygulanabilmesi, pıhtı stabilizasyonu ve adeziv özelliğe sahip olmasından dolayı avantajlı olduğunu bildirmişlerdir. Anitua (1999), 20 sağlıklı insanda çekim sonrası soketlere sadece TKBF ve otojen greft ile kombine uygulamışlar ve 5 tanesini de kontrol amaçlı boş bırakmışlardır. TKBF uygulanan grupta iyileşmenin çok daha iyi olduğu gözlenmiştir (Anitua, 1999; Kim ve ark.,2002). TZP enfekte olmuş implant bölgelerinin tedavisi amacıyla da kullanılmıştır. İmplant etrafında meydana gelen defektlerin tedavisinde greft ile TZP'nin kombine kullanılmasının greftin iyileşme ve olgunlaşma sürecini hızlandırdığı belirtilmiştir (Petrungaro, 2002). Okuda ve ark. (2003) 20 sağlıklı bireyden elde ettikleri TZP'deki toplam trombosit sayısını, TKBF-AB ve TBF-β1 miktarlarını incelemişlerdir. Sonuçta elde edilen TZP içerisindeki trombosit sayısının normal kandan %283 oranında daha fazla bulunduğunu; bununla paralel olarak TZP içerisinde bulunan TGF-β1 miktarının % 346, TKBF-AB miktarının % 440 oranında daha fazla olduğunu göstermişlerdir. TZP'nin bu yedi adet büyüme faktörü dışında fibrin, fibronektin ve vitronektin gibi içerdiği 3 adet hücre adezyon molekülü yara iyileşmesi sırasında hayati önem taşıyan hücrelerin migrasyonuna, kemik ve bağ dokusu adezyonuna neden olmaktadır (Marx, 2004). Kawase ve ark. (2003) in vitro çalışmalarında, TZP'nin osteoblastlardan ve periodontal ligament hücrelerinden tip-1 kollajen sentezini arttırdığını göstermiş ve TZP'nin bu etkiyi göstermesi için jel formunun elde edilmesinin şart olduğunu savunmuşlardır. TZP; birçok greft materyali ile birlikte kemik rejenerasyonunda kullanılmıştır. Kim ve arkadaşları; köpeklerin iliak kretilerinde daha önceden yerleştirilen dental implantlar çevresinde oluşturdukları defektlere Paris alçısını TZP ile birlikte veya tek başına uygulamışlar ve yaptıkları histomorfometrik incelemelerde TZP ile kombine uygulanan Paris alçısının daha fazla kemik dolumuna neden olduğunu göstermişlerdir. Sonuç olarak TZP'nin kullanılan greft materyalinin etkinliğini arttırdığını savunmuşlardır (Kim ve ark., 2002). TZP ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır fakat bunlar incelendiğinde olumlu sonuçlar verenlerin yanında etkisinin bulunmadığını hatta olumsuz etki yarattığını bildiren çalışmaların da sayısı az değildir. Wiltfang ve ark. 2004 yılında domuzların alın bölgelerine 10 mm çapında defektler açmış ve TZP'yi bu defektlere; otojen kemik, trikalsiyum-fosfat granülleri,

sığır kaynaklı spongiyoz kemik ve sığır kaynaklı kollajen ile beraber uygulamışlardır. İki, 4 ve 8 hafta sonunda alınan biyopsi örnekleri histomorfometrik olarak değerlendirilmiş ve yalnızca otojen kemik ile beraber uygulanan TZP'nin materyale ek avantajlar getirdiği ve bu etkinin 2. haftadan sonra kesildiği gösterilmiştir. Bu durum TZP'nin yara iyileşmesinin erken safhalarında etki etmesi ile açıklanmaktadır. TZP'nin diğer kemik greftleri ile kombine kullanımı hiçbir dönemde fazladan bir kemik dolumuna neden olmamıştır. Sonuçta araştırmacı TZP'nin otojen olmayan kemik greftleri ile birlikte kullanılmaması gerektiğini savunmuştur. Grageda ve ark. (2005), koyun maksiller sinüslerinde allojen greftleri tek başına ve TZP ile kombine olarak kullanmışlardır. TZP ilavesinin olumlu etkilerini saptamamışlardır. Tavşan modelinde kranial kemikte trefan frez ile 4 defekt hazırlanmış; defektlerden biri kontrol olarak bırakılırken diğerlerine; otojen kemik, otojen kemik+TZP ve sadece TZP uygulanmıştır. Daha sonra 1, 2. ve 4. aylarda histolojik ve histomorfometrik olarak defekt bölgeleri değerlendirilmiş ve sadece otojen kemik ve otojen kemik+TZP grubunun diğerlerine göre kemik densitesinin fazla olduğu gösterilmiştir. Sadece TZP uygulamasının kontrol bölgesine göre anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı gözlemlenmiştir (Aghaloo ve ark., 2002).

2.11. Kök Hücre

Kök hücreler insan vücudunda bulunan, farklı hücrelere dönüşebilen ve her biri yeni özelleştiği hücre fonksiyonlarına sahip başkalaşım geçirmemiş hücrelerdir (Bongso ve Lee, 2005). Bir çok çalışma kemik iliği stroma hücrelerinin “multipotent yetişkin progenitör hücreler” (MAPCs), “MKH'ler”, “kemik iliği stroma kök hücreleri” (BMSCs) ve “mezodermal progenitör hücreler” (MPCs) gibi isimler aldığını, bazen de bu dokular dışında başka bir yol izleyerek bambaşka dokulara dönüşebildiğini göstermektedir.

Kemik iliğinin osteojenik potansiyeline olan ilgi 1869 yılında başlamıştır. Bu tarihte Goujon (1869) ilk defa kemik oluşturmak için otolog kemik iliği kullanılabilirliğini rapor etmiştir. Yirminci yüzyılın başlarında Chutro (1918) kemik iliği içeren kemik greftinin uzun kemik kırığında kullanılabileceğini göstermiştir. Daha sonra Mc Gaw ve Harbin (1934) osteojenik rejenerasyonda kemik iliğinin rolünü tespit etmiştir (Jensen, 2006).

Sonrasında Friedenstein ve ark. tarafından erişkin kemik iliği aspiratlarında yapışkan fibroblast benzeri klonojenik hücre grupları veya *in vitro* ortamda büyük bir proliferasyon ve farklılaşma potansiyeline sahip fibroblastik koloni oluşturan üniteler oluşturma kapasiteleriyle tanımlanmışlardır (Bartold ve ark., 2006; Miura ve ark., 2006). Kök hücreler farklılaşmamış ve kendi kendini yenileyebilen hücreler olarak tanımlanır (Jiang ve ark., 2002). Sanchez-Ramos (2000) kemik iliği stroma hücrelerinin nöronlara dönüşebildiğini; Ferrari ve ark. (1998) ise iskelet kas dokusunun onarımında görev alabildiğini göstermiştir (Derubeis ve Cancedda, 2004).

Yapılan birçok çalışma ile bu hücre popülasyonunun hem kemik yapma kapasitesi ile kemik progenitörleri olarak aldıkları rol kanıtlanmış, hem de kondrositler ve adipositler gibi mezenkimal kökenli hücrelere dönüşebildiği gösterilmiştir (Derubeis ve Cancedda, 2004).

Birçok doku ve organda bulunan kök hücrelerin hücre biyolojisi günümüzde çok daha iyi anlaşılmaktadır. *In vitro* kültür metotlarındaki gelişmeler önceleri imkansız olarak görülen değişik hücre tiplerinin çoğaltılmasını rutin hale getirmiştir (Otto ve Rao, 2004). Laboratuvar ortamında plastik kültür kaplarına yapıştıkları için kolaylıkla izole edilebilirler, geliştirilebilirler ve işlenebilirler (Lee ve ark., 2000; Halvorsen ve ark., 2001; Zuk ve ark., 2001; Gimble ve Guilak, 2003; Miura ve ark., 2003; Seo ve ark., 2004).

MKH'ler doğum sonrasında kemik iliğinin hematopoetik olmayan stromasında bulunur (Derubeis ve Cancedda, 2004). Son çalışmalar kemik iliği stroma hücrelerinin osteoblast, kondrosit, adiposit, myoblast, hepatosit, kardiyomyozit ve nöral hücrelere dönüşebildiğini göstermektedir (Kortesidis ve ark., 2005).

MKH'ler fetusun mezoderm tabakasından köken alırlar ve yetişkinlerde kemik iliği, iskelet kası, dermis, yağ dokusu, kas, dental pulpa ve PDL gibi birçok dokuda bulunurlar. Erişkin kemik iliği, kemik, kıkırdak, kas, ligament, tendon, yağ ve stroma dokusu gibi dokular mezenkimal dokuların rejenerasyonuna katkıda bulunan MKH'leri içerir (Haynesworth ve ark., 1992; Kuznetsov ve ark., 1997; Prockop, 1997; Nagatomo ve ark., 2006). Bununla birlikte kemik iliği aspiratları en kolay ulaşılabilir ve en zengin MKH kaynağı olarak kabul edilmiştir (Tuli ve ark., 2003; Lechner ve Huss, 2006). Bu hücreler kemik, yağ, kıkırdak ve kas dokuları gibi konnektif doku hücrelerine

dönüşebilmektedir (Barry ve Murphy, 2004; Barthold ve ark, 2006). Kök hücreler ihtiyaç halinde kan-kemik iliği bariyerinden geçerek dolaşıma katılırlar ve ilgili organa giderek tamir olayına katılırlar (Lapidot ve ark., 2005).

2.11.1. Kök Hücrenin Sınıflandırması ve Kaynakları

Memelilerde birçok tamir olayı birbirinden bağımsız olarak daha önceden oluşmuş olan kök hücreler ve progenitör hücreler tarafından yapılmaktadır. Kelime anlamı ile progenitör hücreler kök hücre ile tamamen başkalaşmış hücre arasındaki geçiş hücreleridir.

Kök hücreler embriyodan, fetustan, göbek kordonundan ve yetişkinlerden elde edilmesine göre, dört genel tipte incelenmektedir (Bongs ve Lee, 2005).

2.11.1.1. Embriyonik Kök Hücreler

Memelilerin embriyonik gelişiminin ilk günlerinde ortaya çıkan pluripotent kök hücrelere embriyonik kök hücreler adı verilmektedir (Ryan ve ark., 2005).

İnsan embriyonik kök hücresi 14 günden küçük embriyonun germ tabakalarından elde edilebilmektedir. Sperm ile ovumun kaynaşmasından sonra ilk 8 günde çok sayıda bölünme ile çok hücreli morula aşamasına ulaşır (Minuth ve ark, 2005). Memelilerde döllenmiş oosit, zigot, ve erken embriyo çatlağından oluşan morula totipotent (tam bir organizma oluşturabilme yeteneği) hücrelere örnektir. Bu hücrelerin sayı artışı limitlidir, bu yüzden döllenmiş oosit ve blastomerleri kök hücre olarak nitelemek mümkün değildir (Bongso ve Lee, 2005).

5-6 günlük insan blastositinin iç hücre kitlesi (Inner Cell Mass – ICM) pluripotent embriyonik kök hücre (hESCs) kaynağıdır. Embriyonik gelişim sırasında ICM epiblast ve hipoblast adı verilen iki ayrı hücre tabakasına ayrılmaktadır. Hipoblast beslenmeyi sağlayan tabakayı oluşturur ve zamanla yok olur. Epiblast ise ektoderm, mezoderm ve endoderm adı verilen üç primordial germ tabakasına dönüşür. Embriyonik endoderm hücreleri gelişim yollarında oldukça kısıtlanmıştır. Multipotent hücrelerin kesin endoderm adı verilen küçük bir kısmı yetişkindeki tüm endoderm kökenli organları oluşturmaktadır. Pluripotent embriyonik kök hücreler in vitro olarak endodermal dokulara özel hücreler dahil bir çok hücre tipine farklılaşabilmektedir (Bongso ve Lee, 2005). Embriyonik kök hücrelerin çoğaltma süreçleri oldukça uzun

sürmektedir, hücre dublikasyon sürelerini azaltmak için kültür şartlarını manüple etmeye yönelik çalışmalar yapılmaktadır (Hughes, 2004).

Embriyonik germ hücreleri 5-9 haftalık fetüslerin gonadal sırtlarının primordial hücrelerinden köken almaktadır. İnsan embriyonik germ hücreleri başarıyla izole edilebilen kök hücrelerdir. Bu hücreler pluripotenttir ve her üç germ tabakasına ait hücrelere farklılaşabilmektedir (Bongso ve Lee, 2005).

2.11.1.2. Fetal Kök Hücreler

Fetüslerin organlarında bulunan primitif hücre tipleridir. Nöral krest kök hücreleri, fetal hematopoetik kök hücreler ve pankreatik adacık progenitörler abortuslardan izole edilmiştir. Fetal nöral kök hücreler fetal beyinde bulunur ve nöronlara ve glial hücrelere farklılaştığı gösterilmiştir. Fetal kan, plasenta ve göbek kordonu fetal hematopoetik kök hücreler açısından zengin kaynaklardır (Bongso ve Lee, 2005).

2.11.1.3. Göbek Kordonu Kök Hücreleri

Göbek kordonu kanı dolaşım kök hücrelerini içerir ve içeriğindeki hücreler kemik iliği ve yetişkin periferal kanından farklı hücreler içermektedir. İçerdiği hematopoetik kök hücrelerin sayısı kemik iliğindeki kadar hatta daha da fazladır. Yapılan in vitro çalışmalarda büyük koloniler oluşturabildiği, farklı büyüme faktörleri gerektiği ve daha uzun süre kültüre edilmesi gerektiği gösterilmiştir. Hücreleri tarafından sentezlenen yüksek interlökin-10 veya salgılanan düşük beta-2-mikroglobülin sayesinde grefte karşı konak reaksiyonu kemik iliğine göre daha az olmaktadır. Kordon kan kök hücrelerinin nöronlara ve karaciğer hücrelerine dönüşebilen multipotent hücreler olduğu gösterilmiştir (Bongso ve Lee, 2005).

2.11.1.4. Yetişkin Kök Hücreleri

Kök hücrelerin temel fonksiyonu yerleştikleri dokunun onarım ve rejenerasyonunu sağlamasıdır. Kök hücreler kendilerini yenileyebilme ve en az bir tip olgun hücreye dönüşebilme kabiliyetine sahiptir. Yetişkin kök hücreler en çok kemik iliğinde bulunmaktadır. Kemik iliği hematopoetik ve mezenkimal orijinli kök hücreleri içermektedir (Grove ve ark, 2004).

2.11.1.4.1. Hematopoetik Kök Hücreler

Hematopoesis kan kök hücrelerinin üretimi, korunması, çoğalması ve periferel kan hücrelerine başkalaşmasıdır. Hematopoetik kök hücreler embriyo gelişimi sırasında mezodermden kaynaklanmakta ve embriyo içindeki çok özel hematopoetik alanlarda depolanmaktadır. Bu alanların içinde kemik iliği ve karaciğer de bulunmaktadır. Kemik iliği kök hücreleri multipotent oluşları ile in vitro ve in vivo birçok hücre tipine başkalaşabildiği için beklendiğinden çok daha esnek ve çok yönlü olabilmektedir (Bongso ve Lee, 2005).

2.11.1.4.2. Mezenkimal Kök Hücreler (Kemik İliği Stroması) (MKH)

Kemik iliği stromal dokusu retiküler hücreler, adipoz hücreleri, osteojenik hücreler, düz kas hücreleri, endotelial hücreler ve makrofajlar gibi heterojen hücre popülasyonlarından oluşmuştur (Fibbe, 2002). Herhangi bir yaralanma durumunda stromal dokuda bulunan kök hücrelerin katılımıyla tamir meydana gelmektedir. Kemik iliği stroması dışında MKH'ler periost, yağ dokusu ve deriden de elde edilebilmektedir. MKH'ler kırıldak, kemik, kas, tendon, ligament ve yağ dokusuna dönüşebilen multipotent hücrelerdir (Bongso ve Lee, 2005). MKH'lerin in vivo ve in vitro olarak osteoblastlara dönüşebildiği birçok çalışmada gösterilmiştir (Taguchi ve ark., 2005). Literatürde MKH'ler içinde nadir de olsa sadece mezodermal değil, aynı zamanda endodermal dokulara dönüşebilen pluripotent hücrelerin de bulunduğu rapor edilmiştir (Bongso ve Lee, 2005).

İzole edilmesinin kolay oluşu ve geniş başkalaşım potansiyeli ile MKH'ler klinik kullanım açısından diğer kök hücrelere oranla daha avantajlıdır. Yetişkin MKH'lerin çok yönlü potansiyelinin yanında allojenik transfer sonrası immün reaksiyonun çok az olması MKH'yi hücre terapi uygulamalarındaki doku tamir ve rejenerasyonlarında kullanılan ideal hücre tipi olmasını sağlamaktadır. Sistemik hastalıklar ve lokal doku defektlerinin tedavisinde MKH'lerin kullanılabileceği birkaç çalışmada gösterilmiştir. İn vivo olarak çok az sayıda olduğu için MKH'ler in vivo uygulama öncesinde otolog serum desteğinde in vitro olarak çoğaltılması gerekmektedir (Fehrer ve Lepperdinger, 2005)

2.11.1.4.3. Kemik ve Kıkırdak Kök Hücreleri

Bazı durumlarda kemik iliğindeki MKH'ler kemik ve kıkırdak dokuya dönüşebilmektedir. Kemik dokusunda hem farklılaşmamış hem de farklılaşmış osteoprogenitör hücrelerin bulunduğu gösterilmiştir. Buna ek olarak kemik kırıldığında kemik iliği açılmakta ve bol miktarda kanama sonucu hematoma oluşmakta, sonuçta iyi bir tamir potansiyeli meydana gelmektedir. İn vivo olarak eklem kıkırdağı yaralanırsa tamir için çok limitli kapasiteye sahiptir. Günümüzde kıkırdakta kondrosit progenitör hücrelerin bulunup bulunmadığı kesinleşmemiştir. Kıkırdak yaralanmalarında kök hücreler tamir işleminde görev almaktadır, ancak sayıları ve düzenleyici faktörler limitlidir. Bu hücrelerin çevredeki kas, kemik ve diğer kıkırdaksız dokulardan geldiği düşünülmektedir (Bongso ve Lee, 2005).

2.11.1.4.4. Diğer Yetişkin Kök Hücreleri

İnsan derisinde bulunan kök hücreler keratinosit ve sebositlere dönüşerek saçın uzamasını ile derinin sürekli kendini yenilemesini sağlamaktadır. Sindirim sistemi epiteli de yaşam boyu devamlı ve hızlı yenilenme içindedir. Sindirim sisteminin değişik bölgelerinde kök hücreler ilgili hücreye dönüşmektedir. Santral sinir sisteminde de bazı limitli bölgelerde nörojenik yenilenme olduğu ileri sürülmektedir. İki tip nöral kök hücre bulunduğu; ependimal hücrelerin unipotent olduğu ve sadece glial hücrelere farklılaştığı, astrositlerin ise nöronlara ve glial hücrelere farklılaşan multipotent hücreler olduğu gösterilmiştir (Bongso ve Lee, 2005).

Yapılan çalışmalarda üçüncü büyük azı dişlerinin pulparlarından, çekilmiş süt dişlerinden ve periodontal ligamentten MKH elde edilerek kemik iliğinden elde edilen kök hücrelerle aynı laboratuvar koşullarında çoğaltılmıştır (Shi ve ark, 2005).

Memelilerin karaciğer dokusunun en az %75'inin cerrahi olarak alınmasına rağmen rejenerasyon gösterdiği bilinmektedir. Orijinal doku iki-üç haftada kendini yenilemektedir. Son kanıtlar değişik hücre tipleri ve mekanizmalarının karaciğer yaralanmasının tipine göre organın yeniden yapılmasında görev aldığını göstermektedir. Pankreasta da bezin kendisinde ya da kanallarda kök hücrelerin bulunduğu rapor edilmiştir. Yapılan bir çalışmada yetişkin farenin gözünden izole edilen kök hücrelerin in vitro olarak retinaya özel hücre tiplerine dönüştüğü gösterilmiştir (Bongso ve Lee, 2005).

2.11.2. Kemik Tamir ve Rejenerasyonunda Kök Hücre

Kırık iyileşmesi günümüzde bile bir kısmı çözülememiş bir çok karmaşık biyolojik olay sonucu gerçekleşmektedir. Bu olayların içinde kemik indüksiyonu ve kondüksiyonu için hücre içi ile hücre dışı sinyal sistemi de yer almaktadır. Kemik kırığında birinci gün hematoma oluşur, mezenkimal hücreler göç ederler ve kemik iliğindeki MKH'lerde osteojenik farklılaşma başlar. İntramembranöz kemikleşme için preosteoblastlar ve osteoblastların değişim ve başkalaşımı ile birlikte anjiyogenez üçüncü gün başlar. 7 ve 10. günler arasında intramembranöz kemikleşmede hücre proliferasyonu tepe noktasına ulaşmış, kırıkta oluşumu ve endokondral kemikleşme başlamıştır. 14. günde hücre proliferasyonu kesilir fakat osteoblastik aktivite devam eder. Yumuşak kallusun mineralizasyonu, kırıkta rezorbe olup yeni kemiğin oluşumu 21. güne kadar devam eder. Bu safha kemikleşmenin en aktif safhasıdır. 21. günde kemik remodelizasyonu başlar, lameller kemik oluşur (Dimitriou ve ark., 2005).

Serebral yaralanma, miyokardiyal iskemi/infarkt, kas distrofilileri ve kemik kırıkları ile ilgili yapılan hayvan çalışmaları MKH'lerin intravenöz enjeksiyonu veya lokal uygulamalarında yaralanma bölgesine ulaşarak gerekli hücre tipine dönüşebildiğini göstermiştir (Roberts, 2004). MKH'nin osteosit ve kondrosite dönüşebildiğini gösteren in vitro çalışmalar ışığında doku tamiri ile ilgili bir çok in vivo çalışma yapılmaktadır. Değişik cins birçok hayvanda kritik büyüklükte kemik defektlerinin tamirinde MKH kullanılmıştır. Mezenkimal dokuların genetik bir bozukluğu olan osteogenezis imperfektalı radyasyona maruz bırakılmış farelere sağlıklı kemik iliğinden alınmış stromal hücreler aşılandığında transplante edilen hücrelerden fonksiyonel kemik ve kırıkta formasyonu olduğu tespit edilmiştir (Pereira ve ark., 1995). Benzer şekilde osteogenezis imperfektalı çocuklara kemik iliği hücreleri aşılandığında yan etki görülmemesi bir yana üç ay sonra osteoblast sayısında, yeni lameller kemik oluşumunda ve tüm vücut mineral içeriğinde artış sağlanmıştır. Bunlara ek olarak kırık frekansı azalmış, vücut büyüme oranı artmıştır (Krampera ve ark., 2006).

Shirley ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada florasana ile işaretledikleri kök hücreleri tavşanlara sistemik olarak vermişler, bu hücrelerin kemik kırığının iyileşmesinde rol aldıklarını tespit etmişlerdir. Bu çalışma, iyileşmeye katılan bazı osteoblastların kemik kırığından uzak bölgelerdeki kemik iliğinden göç ederek kırık

bölgesine gelen kök hücrelerden kaynaklandığını kanıtlamaktadır. Ramirez ve ark. (2006) yaptıkları insan kas yaralanmaları ile ilgili çalışmada kas yaralanması sonrası MSC'lerin kan dolaşımına geçerek ilgili bölgeye göç ettiğini desteklemektedir.

2.11.3. Kök Hücrenin Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanımı

Tümör, travma ve deformitelere bağlı kemik defektleri oral ve maksillofasiyal cerrahlar için önemli bir problem olmaktadır (Ueda ve ark., 2000). Büyük ve kompleks morfolojideki alveoler defektler özellikle büyük diş soketleri gibi vertikal komponenti de mevcutsa klinik zorluklara neden olmaktadır (Yamada ve ark., 2004). Her ne kadar otojen greftler altın standartta da olsa yetersiz kemik hacmi, donör saha komplikasyonları, deformiteleri ve rahatsızlıkları nedeniyle limitleri kısıtlıdır (Li ve Li, 2005).

Hücre biyolojisi; gelişimsel biyoloji ve biyomateryal bilimleri prensiplerine dayanır (Vacanti ve ark., 1991; Langer ve Vacanti, 1993; Narem ve Sambanis, 1995; Reddi, 1998). Doku mühendisliği ile bir doku üretmek için gerekenler; düzenleyici sinyallerin uygun seviyelerde ve sıralamalarla gerçekleşmesi, ilgili progenitör hücrelerin varlığı ve uygun bir ekstrasellüler matriks veya taşıyıcı yapıdır.

Doku mühendisliği; bilimsel prensipleri uygulayarak biyomateryaller, hücreler ve faktörleri birlikte veya ayrı ayrı kullanarak yaşayan dokuların tasarımı, yapımı, modifikasyonu ve gelişimini sağlamaktadır (Rose ve Oreffo, 2002). Osteogenezisi artırmak için hücreler verici sahada herhangi bir olumsuzluğa yol açmadan bir çok otolog kaynaktan alınabilmektedir. Alınan az sayıda hücre doku mühendisliği yöntemleri ile çok büyük sayılara ulaştırılabilmektedir. Günümüzde kraniofasiyal rejenerasyonda kök hücre kullanımı ile ilgili birçok hayvan çalışması yapılmaktadır (Risbud ve Shapiro, 2005). Köpek ve domuzlarda oluşturulan alveol kemiği defektlerinde MKH uygulamasının kemik rejenerasyonunu arttırdığı saptanmıştır (Abukawa ve ark., 2003; 2004; De Kok ve ark., 2005). Yamada ve ark. tarafından köpekler üzerinde yapılan bir çalışmada kemik içinde oluşturulan diş çekim boşluklarında, MKH/TZP kombinasyonunun kemik rejenerasyonunu otojen kemik grefti kadar iyi sağladığı belirtilmiştir (Yamada ve ark., 2004b). Ayrıca köpeklerde oluşturulan mandibular alveol defektlerinde immünsüpresif tedavi uygulamadan allojenik MKH tranplantasyonu ile başarılı kemik rejenerasyonu elde edilmiştir (De

Kok ve ark., 2003). KİM KH'lerin in vivo ortamda osteogenezinin önemli bir özelliği; alıcının hücrelerinden köken alan organize kemik iliği elemanlarının oluşumunu kolaylaştırmasıdır (Ashton ve ark., 1980; Goshima ve ark., 1991; Cassiede ve ark., 1996; Krebsbach ve ark., 1997). Warnke ve ark. tarafından fonksiyonel bir mandibula yapmak için KMP-7 ve otojen kemik iliği içeren bir yapı iskelesi geliştirilmiştir (Warnke ve ark., 2004). Mandibulanın rejenerasyonu için sorumlu hücrelerin kaynağı belirlenmese de (KİM KH'ler olduğu farz edilmiştir), hasta çiğneme fonksiyonu geliştirmiş ve estetik sonuçlardan memnun kaldığı bildirilmiştir.

Alhadlaq ve Mao (2005b) tarafından hayvan modelinde artiküler kondil şeklinde bir osteokondral yapı üretilmiştir. Yüksek kalitede hücre preparatları, büyüme faktörleri ve ideal yapı iskelelerinin gerekliliği hücre esaslı tedaviler için pek çok zorluk oluştursa da, KİM KH'lerin kıkırdak defektlerinin tamirinde büyük bir potansiyel taşıdığı gösterilmiştir.

Ohazama ve ark. (2004) tarafından doku mühendisliğiyle embriyonik diş tomurcukları yaratmak konusunda kayda değer gelişmeler gösterilmiştir.

Ayrıca embriyonik diş primordiasının yetişkin çenesine transfer edilmesiyle diş yapısı geliştiği de gözlenmiştir (Modino ve Sharpe, 2005).

Çalışmamızda amaç, implant cerrahisinde kemik defektlerini elimine etmek için yeni bir yaklaşım olan kök hücre transplantasyonu metoduyla kemik ogmentasyonunda hedeflenen miktarda yeni kemik oluşturmaktır.

3.1. Cerrahi Seçimi

Bu çalışmada Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Hayvancılık Çiftliğinden temin edilen, sakız F-1 melezi olarak adlandırılan, ortalama ağırlıkları 40 kg civarlarında, ortalama yaşları 3 civarında olan, toplam 5 adet erkek koyun, deney hayvanı olarak kullanıldı. Deney hayvanları veteriner hekim tarafından sağlık kontrolünden geçirilerek çalışmaya dahil edildi. Deneklere toplamda 30 adet SLA (Sand-blasted, Large grit, Acid etched) yüzeye sahip ITI (Straumann®, İsviçre) dental implantlar yerleştirildi.

Deneklere intramusküler (im) olarak 20 mg/kg ketamin (Alfamylne®, Egevet, İzmir, Türkiye) ve 2 mg/kg ksilazin (Rompun®, Bayer, İstanbul, Türkiye) kombinasyon anestezi uygulandı. Sedasyon sağlandıktan sonra denekler endotrakeal entübasyon yapılarak genel anestezi altına alındı. Genel anestezi olarak Isoflurane (Forane Likit Abbott, İngiltere) kullanıldı(Şekil 4).



Şekil 4: Deneklere genel anestezi uygulaması

İmplantlar deney hayvanlarının keser ve molar dişleri arasındaki dişsiz sağ, sol mandibular interalveoler kısımlarına yerleştirildi. Her bir deney hayvanının interalveoler boşluklarına sağ, sol toplam 6 adet implant yerleştirildi. İmplantlar ekstraoral yaklaşımla mandibula korpusa yerleştirildi. Seçilen implantlar 3,3x8mm boyutlarında olup, bunlar için hazırlanan yuvalar normalde 2,8 mm çapında olması gerekirken, bu yuvalar koronal 4mm'lik kısımda 4,1mm çapında hazırlanarak implant ile kemik yüzeyi arasında bir defekt oluşturuldu. Her bir yarım çenedeki 3 implant çevresindeki bu defektlere sırasıyla boş, trombositten zengin plazma ve plateletten zengin plazma+osteoblast hücre kültürü karışımı konuldu. Uygulamada hücreler 1×10^7 /ml olacak şekilde hesaplandı. Uygulama sırasında bistüri ile istenen porsiyonda kesilen jel

künt bir alet yardımıyla implant kavitesine yerleştirildi. Cilt, cilt altı dokusu suture edilerek iyileşmeye bırakıldı (Şekil 5-12). Cerrahi sonrası 5 gün amoksisilin+klavulonik asit kombinasyonu (Synulox, Pfizer[®], Türkiye) 2x1 im uygulandı. İyileşme periyodunda denekler normal bakım şartları altında bakılıp, diyetlerinde herhangi bir değişiklik yapılmadı. Sekiz haftalık bekleme süresini takiben hayvanlar boğazlanarak sakrifiye edildikten sonra mandibulaları çıkartıldı (Şekil 13-14).

1. Grup: Cerrahi olarak oluşturulan dental implant çevresindeki kemik defekti boş bırakılan grup

2. Grup: Cerrahi olarak oluşturulan dental implant çevresindeki kemik defekti trombositten zengin plazma ile doldurulan grup

3. Grup: Cerrahi olarak oluşturulan dental implant çevresindeki kemik defekti TZP+Osteoblast hücre kültürü kombinasyonu ile doldurulan grup.

Bu deneysel çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi (OMÜ) Deney Hayvanları Etik Kurulu onayı (protokol no: 2005/107) alınarak gerçekleştirildi.



Şekil 5: Cerrahi alanın hazırlanması



Şekil 6: Mandibula korpusa ekstraoral yaklaşım için insizyonların yapılması



Şekil 7: İmplant sahalarının görünümü



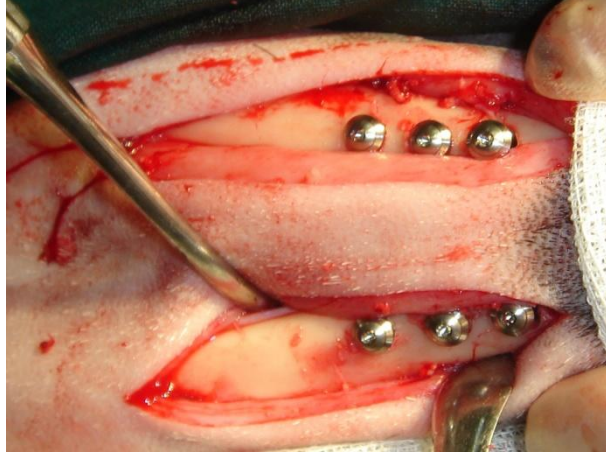
Şekil 8: İmplant yuvalarının görünümü



Şekil 9: Trombositten zengin plazmanın jel formu



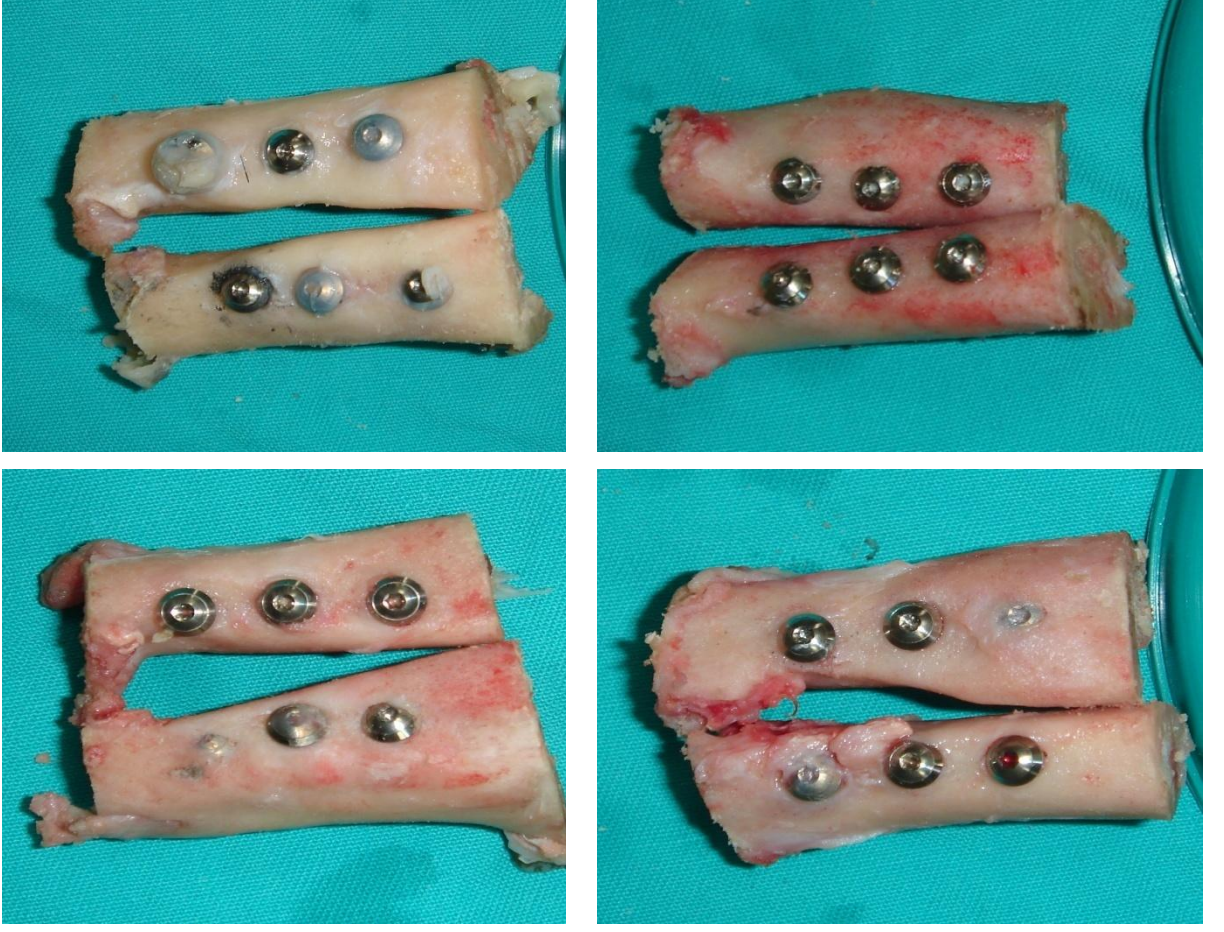
Şekil 10: TZP jel uygulaması



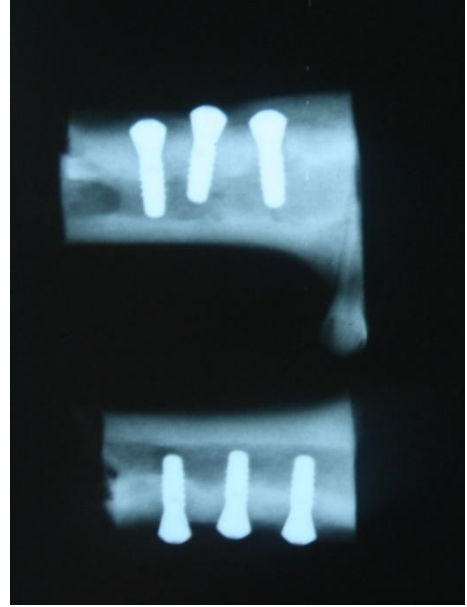
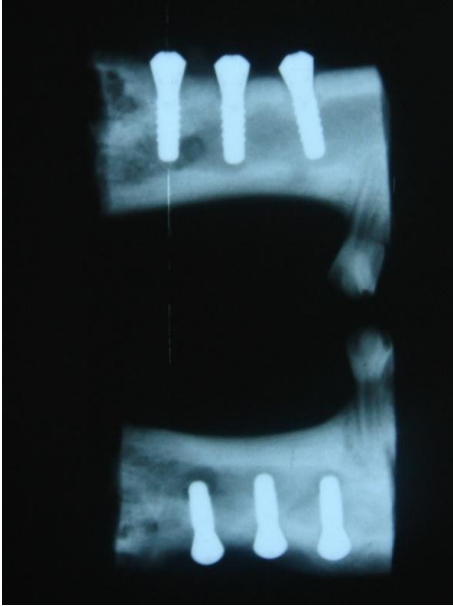
Şekil 11: İmplantların yerleştirilmesi

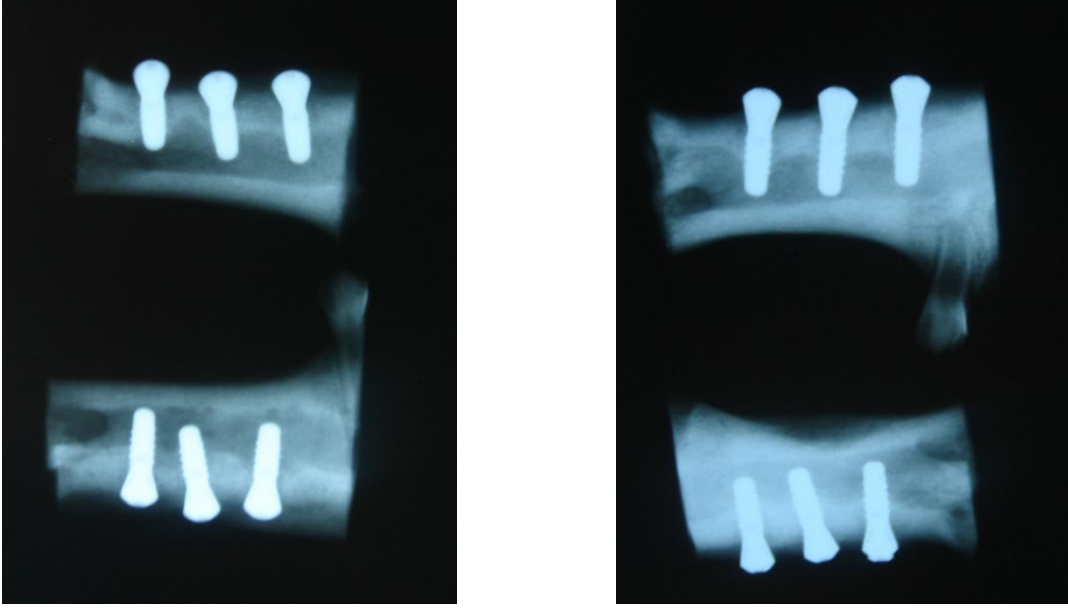


Şekil 12: Fleplerin suture edilmesi



Şekil 13: Sakrifikasyon sonrası mandibulanın ilgili bölgelerinin görünümü





Şekil 14: Sakrifikasyon sonrası mandibulaların direk radyografi görüntüleri

3.2. Osteoblast Hücre Kültürünün Hazırlanması

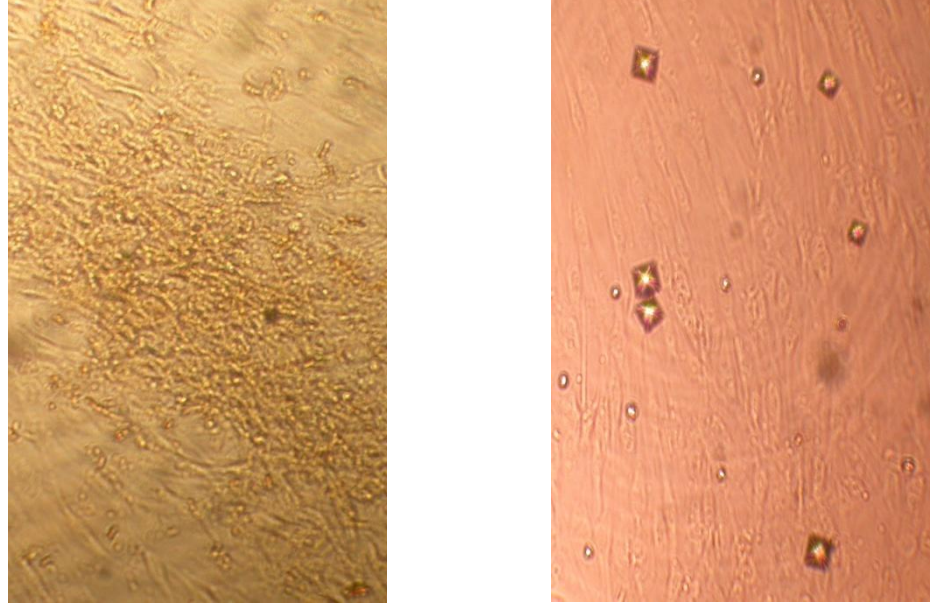
Osteoblast hücre kültürü Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı laboratuvarında hazırlandı. Deney hayvanlarının iliyak kemiğinden yaklaşık 10 ml kadar kemik iliği, heparinli enjektör ile alındı. Alınan kemik iliği materyali PBS (Phosphate Buffered Saline) ile 1:1 oranında seyreltildikten sonra 50ml'lik santrifüj tüpünde fikol (Ficoll) yardımıyla (Şekil 15) dansitegradient yöntemine göre mononükleer hücre (MNH) ayrımı yapıldı. Bu amaçla bir tüpe 1 hacim kemik iliği materyali üzerine 45° eğimle 2 hacim fikol ilave edildi ve 800 g devirde 20 dakika santrifüj edilerek santrifüj sonrası interfazda yer alan MNH tabakası bir pipet yardımıyla toplandı. Daha sonra ayrı bir santrifüj tüpüne alınan MNH üzerine, PBS çözeltisi eklenip tekrar santrifüj edilerek fikolun ortamdan uzaklaştırılması sağlandı. Dipte kalan hücre çökeltisi %20-30 oranında fetal bovine serum (FBS) ve %1 antibiyotik (Penicilin10000U -10mg Sytreptomycin -Sigma Sıp4333) içeren DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) (SIGMA SID8437) içerisinde süspanse edilip hücre kültür flasklarına kondu ve 48-72 saat süresince standart kültür koşullarında (37°C sıcaklıkta, %5 CO₂ içeren humidifiye inkübatörde) inkübe edildi. 48-72 saat sonunda kültür süpernatantı ve plastiğe yapışmayan hücreler aspire edilerek uzaklaştırılıp plastiğe yapışan kalan hücreler üzerine %10-20 oranında FBS içeren taze besiyeri eklenerek inkübasyona devam edildi.



Şekil 15: Fikol muamelesi

Her 72 saatte bir, inverted mikroskop altında hücrelerin kontaminasyon ve canlılık açısından kontrolü yapıldı ve hücreler tek tabakalı olarak flask tabanının %75'ini kaplayana kadar (yaklaşık 14 gün) kültüre devam edildi. Hücrelerin flask tabanını %75 oranında kapladığının görülmesinden sonra tripsinizasyon (SIT4174-Trypsin-EDTA Solution) işlemi yapılarak hücrelerin tabandan ayrılması sağlandı. Hücrelerin tabandan ayrılıp tabandan kalktığı gözlendikten sonra serum içeren besiyeri veya PBS eklenerek tripsin nötralize edildi. Nötralizasyon sonrası hücreler 350 g devirde 10 dakika santrifüj edildi ve üstteki süpernatant atılarak taze besiyeri eklendi. Bir kez daha tekrarlanan santrifüj işlemi sonrası taze besiyerinde süspansiyon haline getirilen hücreler yeni flasklara bölünerek kültüre devam edildi. Ortalama 2-6 pasaj sonra yeterli sayıda hücre elde edildi. Kullanıma hazır hale gelen hücreler toplanıp çalışmak üzere dondurularak -80°C veya -196°C 'de saklandı.

Elde edilen MHK'nün osteoblastlara diferansiyonu için ilk pasaj sonrası elde edilen hücreler osteojenik diferansiyasyon besiyeri olarak nitelendirilen ve içeriğinde $0,1\mu\text{M}$ deksametazon (Sigma Sıd6645), $10\mu\text{M}$ β -gliserofosfat, $0,05\text{ mM}$ askorbat ve serum içeren besiyeri (Fluka FL49752) ilavesi ile kültüre edildi. Yaklaşık 3 haftalık kültür sonucunda osteoblast oluşumu, kalsiyum birikimi (Kalsiyum oksalat kristalleri) ve alkalen fosfataz aktivitesinin biyokimyasal teşhisiyle doğrulandı (Şekil 16).



Şekil 16: İverted mikroskopta MKH'lerin ve kalsiyum oksalat kristallerinin görünümü

3.3. TZP'nin Hazırlanması

TZP, Ondokuz Mayıs Üniversitesi tıp Fakültesi kan bankasında hazırlandı. Cerrahi operasyonların yapılacağı gün, cerrahi işlem uygulanacak olan koyunun internal juguler veninden alınan tam kan, pıhtılaşmasını önlemek için 4,5 ml antikoagülan sitrat dekstroz fosfat (ACDA) içeren tüpe konuldu. Cam tüpler içerisine alınan kan, santrifüj cihazı kullanılarak, 1250 rpm devirde 15 dakika santrifüj edildi, trombosit içeren plazma alyuvarlardan ayrıldı. Elde edilen plazma 4000 rpm devirde 10 dakika santrifüj edilerek trombositler ayrıldı, üstte kalan plazma uzaklaştırıldı ve böylece TZP elde edildi. Bu işlemler sırasında kan elemanlarının sayılması için hematoloji analizörü kullanıldı. Elde edilen TZP içindeki trombosit konsantrasyonlarının $1,5-2,3 \times 10^9$ arasında değiştiği gözlemlendi.

Uygulama sırasında TZP, kalsiyum klorid ile kombine edilip sıvı haldeyken enjektör yardımıyla implant yuvasına uygulandı ve trombosit jel elde edildi. Osteoblast Hücre kültürü TZP ile bir enjektör içerisinde karıştırıldı, kalsiyum klorid ile kombine edilip sıvı halde implant yuvasında jel haline gelmesi beklendi.

3.4. Histolojik Değerlendirme ve Histomorfometri için Kesitlerin Hazırlanması

Dekalsifiye edilmemiş histolojik örneklerin hazırlanması Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Sert Doku Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Deney hayvanlarının mandibulalarına yerleştirilen dental implantlar çevresindeki kemik defektleri ile birlikte çıkarıldıktan sonra dekalsifiye edilmemiş kesit hazırlama metoduna göre hazırlandı. Dental implantlar ve çevrelerindeki defektler blok halinde çıkarıldıktan sonra % 4 'lük tamponlanmış formalin solüsyonunda en az 24 saat süreyle bekletildi. Bu fiksasyon işleminden sonra tüm örnekler sırasıyla % 70, % 80, % 90, % 96 ve % 99 derişimindeki alkol havuzlarında birer gün süreyle bekletilerek dehidratasyon işlemi gerçekleştirildi (Şekil 17). Örnekler dehidrate edildikten sonra metil metakrilat resin (Technovit 7200 VLC, Kulzer & Co, Wehrheim, Almanya) içerisinde 24 saat bekletilerek vakum altında infiltre edildi. İnfiltrasyonu tamamlanmış örnekler metil metakrilat (Technovit 7200 VLC, Kulzer & Co, Wehrheim, Almanya) ile doldurulmuş şeffaf plastik kalıplara hava kabarcığı kalmayacak şekilde teker teker gömüldü. Her birinde bir örnek içeren kalıplar 40°C'da 450 nm dalga boyundaki ışık altında 8 saat süreyle polimerize edildi (Şekil 18). Polimerizasyon işlemi tamamlandıktan sonra örnekler şeffaf kutucuklardan çıkartıldı. Örnekleri içeren şeffaf metil metakrilat resin blokların düz olan alt yüzeyleri pleksiglas lam üzerine Technovit 7210 VLC (Kulzer & CO. GmbH, Friedrichsdorf, Almanya) kullanılarak vakum altında yapıştırıldı (Şekil 19).



Şekil 17: Vakumlu dehidratasyon ve infiltrasyon ünitesi.



Şekil 18: Işıklı polimerizasyon ünitesi



Şekil 19: Örnekleri lama yapıştırma ünitesi

Pleksiglas lam üzerindeki örnekler hassas kesme cihazına bağlı elmas testere (Exakt 300 CL, Exakt Apparaturbau, Norderstad, Almanya) ile 300 μ m kalınlığında kesildi (Şekil 20). Bu ilk kesme işlemleri bloklar içindeki dental implantların merkezinden geçen longitudinal doğrultuda yapıldı. Bu kesitler mikro aşındırma sisteminde (Exakt 400 CS, Exakt Apparaturbau, Norderstad, Almanya) sırasıyla 1000, 1200 ve 2500 gridlik zımparalar kullanılarak 50 μ m'ye kadar inceltildi (Şekil 21). Bu yöntemle her bir örnekten ikişer adet histolojik kesit elde edildi. Bu kesitler Donath ve Breuner'in (2002) önerdiği yöntemle ilgili kalınarak toludin mavisi ile boyandı. Boyanan histolojik preparatlar bir gece kuruma için bekletildikten sonra örnek yüzeyleri metil metakrilat kullanılarak lamel ile örtüldü.



Şekil 20: Hassas kesme cihazı



Şekil 21: Mikro aşındırma yüzeyi

Işık mikroskobuna (Nikon Eclipse E 600, Tokyo, Japan) bağlı dijital kamera (Nikon L-1 DS5M, Tokyo, Japan) ile tüm örneklerin 4x büyütmede dijital görüntüleri alındı. Image J (Wayne Rasband National Institutes of Health, USA) programından yararlanılarak KİK ölçümleri yapıldı.

4. BULGULAR

Cerrahi işlemlerin tüm deney hayvanları tarafından iyi tolere edildiği görüldü. Deney periyodu boyunca operasyon bölgelerinde herhangi bir şiddetli inflamasyon, ödem veya flebin bütünlüğünün bozulması gibi komplikasyonlarla karşılaşılmadı.

Daha önce bahsi geçen yöntemlerle hazırlanan histolojik kesitlerin kemik implant kontağı oranları hesaplanarak incelemeler tamamlandı. Deney protokolü boyunca tüm implantların başarılı şekilde osseoentegre oldukları gözlemlendi.

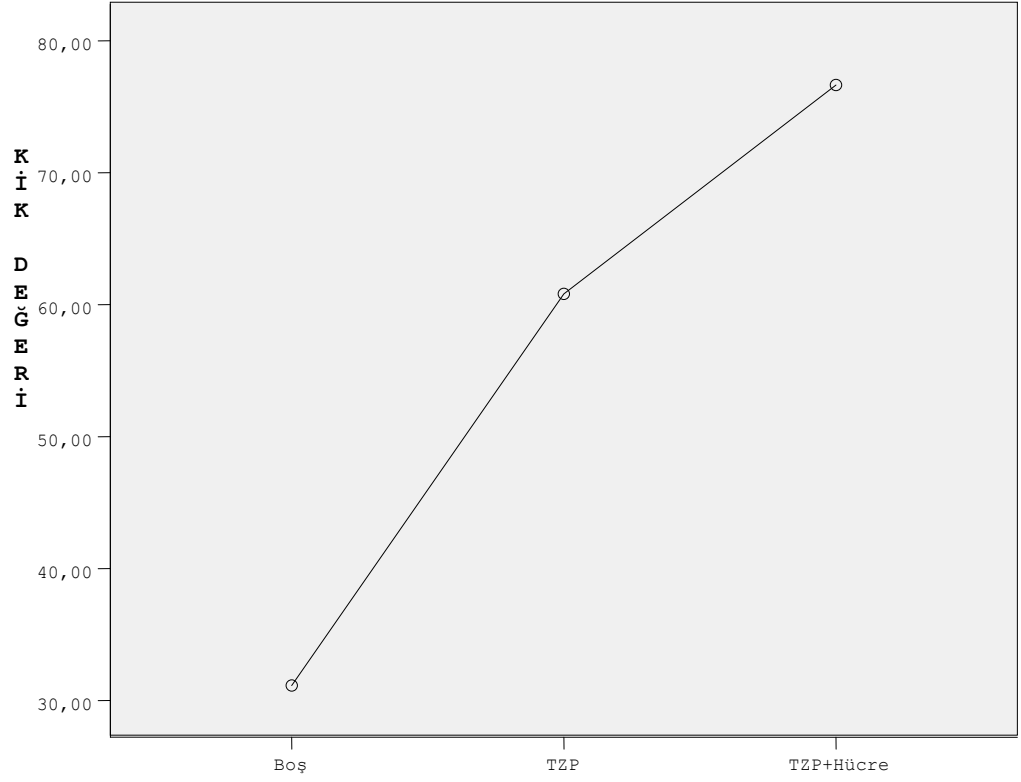
4.1. Verilerin İstatistiksel Analizi

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 13.0 (Software package programme Inc. Chicago, Illinois, ABD) programı kullanıldı. Çalışmada Boş, TZP ve TZP+Hücre kültürü için KİK oranlarının istatistiksel olarak farklı olup olmadığı araştırıldı. Kullanılan tüm istatistiksel analizlerde birinci tip hata değeri olan ve yaygın olarak kullanılan $\alpha = 0.05$ değeri esas alındı. Uygulanacak hipotez testine karar vermek için ilk olarak her üç verinin normal dağılımlı olup olmadığı Shapiro-Wilk testi ile araştırıldı. Shapiro-Wilk testine göre boş için $p=0,246>0.05$, TZP için $p=0,999>0.05$ ve TZP+Hücre kültürü için $p=0,051>0.05$ olduğundan tüm grupların KİK oranlarının normal dağılımlı olduğu sonucuna varıldı (Tablo 1). Veriler normal dağılımlı olduğundan mod, medyan ve ortalama birbirine eşit kabul edildi. Bu nedenle sadece ortalama için elde edilen sonuçların yorumlanmasına karar verildi.

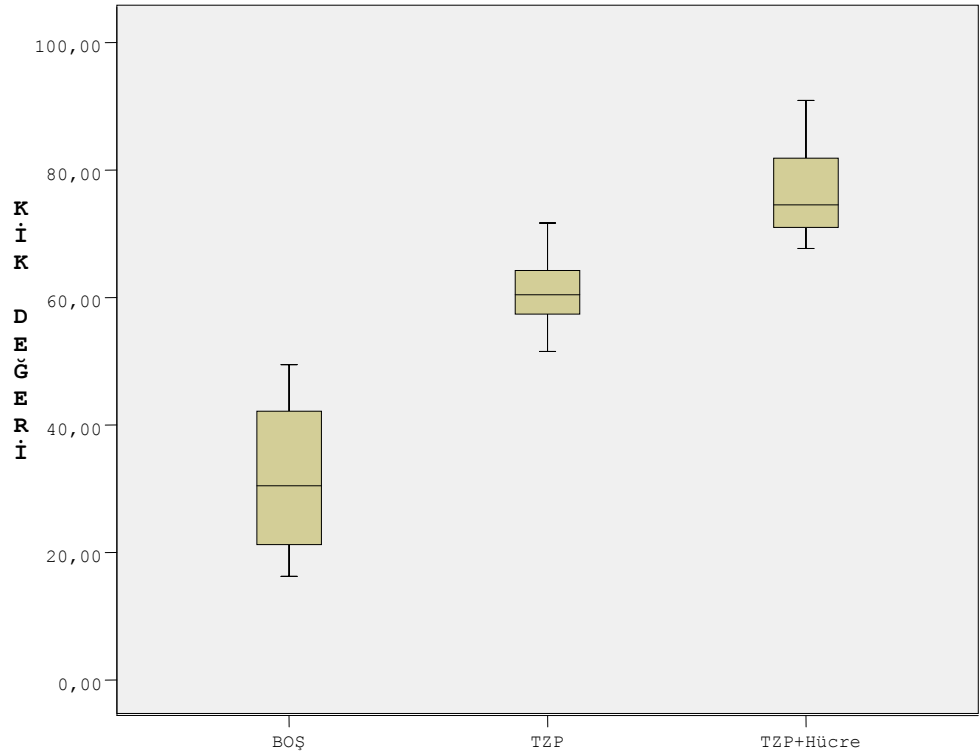
	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Boş	,176	14	,200(*)	,923	14	,246
TZP	,077	20	,200(*)	,991	20	,999
TZP +H.K	,164	20	,164	,905	20	,051

Tablo 1: Normallik Test Sonuçları

Histolojik değerlendirme için tüm implantların çevrelerindeki kemik defektlerindeki KİK yüzdesi ortalamaları hesaplandı (Şekil 22-23)(Tablo 2). Yapılan istatistiksel analizde gruplar normal dağılım koşulu sağlandığından, grup içi ve gruplar arası bağımsızlık bulunduğu için ANOVA testi ile ortalamalar karşılaştırıldı.



Şekil 22: KİK ortalamaları grafiği



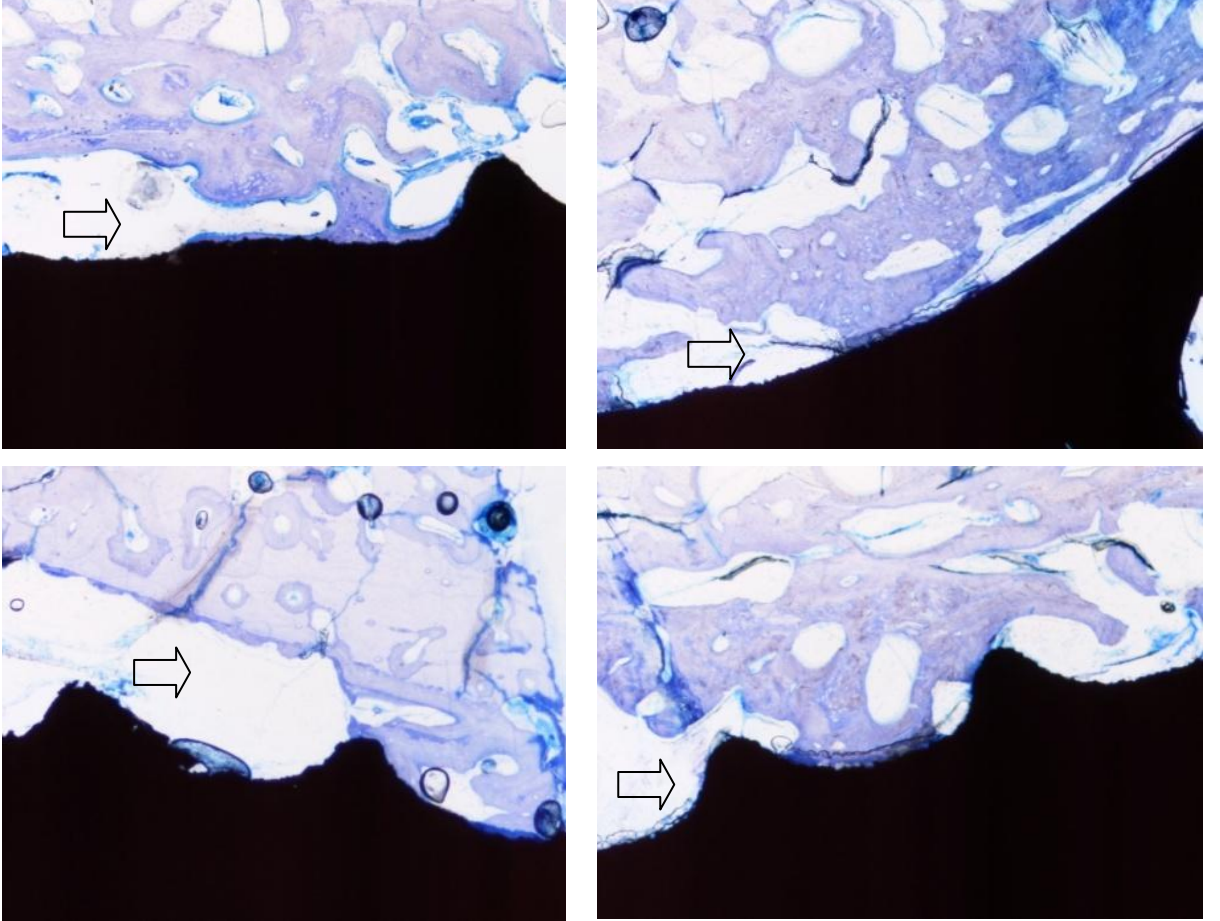
Şekil 23: KİK ortalamalarının dağılım grafiği

	Boş	Tzp	Tzp+hücre
Ortalama	31,1357	60,8205	76,6455
Aralığı (%95 güvenle)	24,5148 - 37,7566	58,4350 - 63,2060	73,1599 - 80,1311
En küçük KİK oranı	16,27	51,53	67,60
En büyük KİK oranı	49,47	71,68	90,93
Min-max KİK oranı aralığı	33,20	20,16	23,23
P değerleri	0,246	0,999	0,051

Tablo 2: KİK oranlamaları

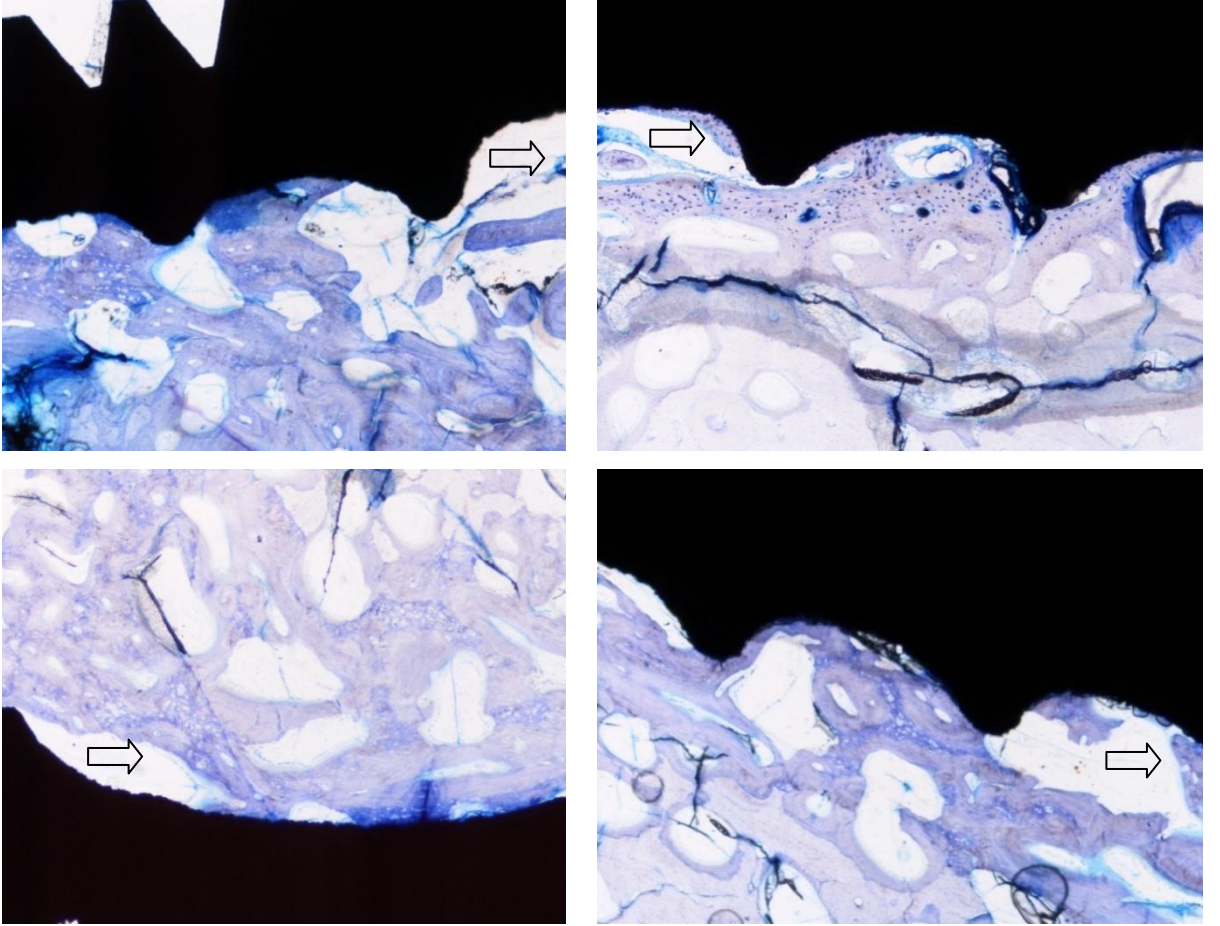
4.2. Histomorfometrik değerlendirme

Boş implant için ortalama KİK oranı 31,1358 olarak hesaplandı. KİK oranının %95 güvenle 24,5148 ile 37,7566 aralığında yer aldığı görüldü. Boş için en küçük KİK oranı 16,27, en yüksek KİK oranı ise 49,47 birim olarak, en yüksek ve en düşük KİK oranları arasındaki fark ise 33,20 birim olarak hesaplandı (Şekil 24).



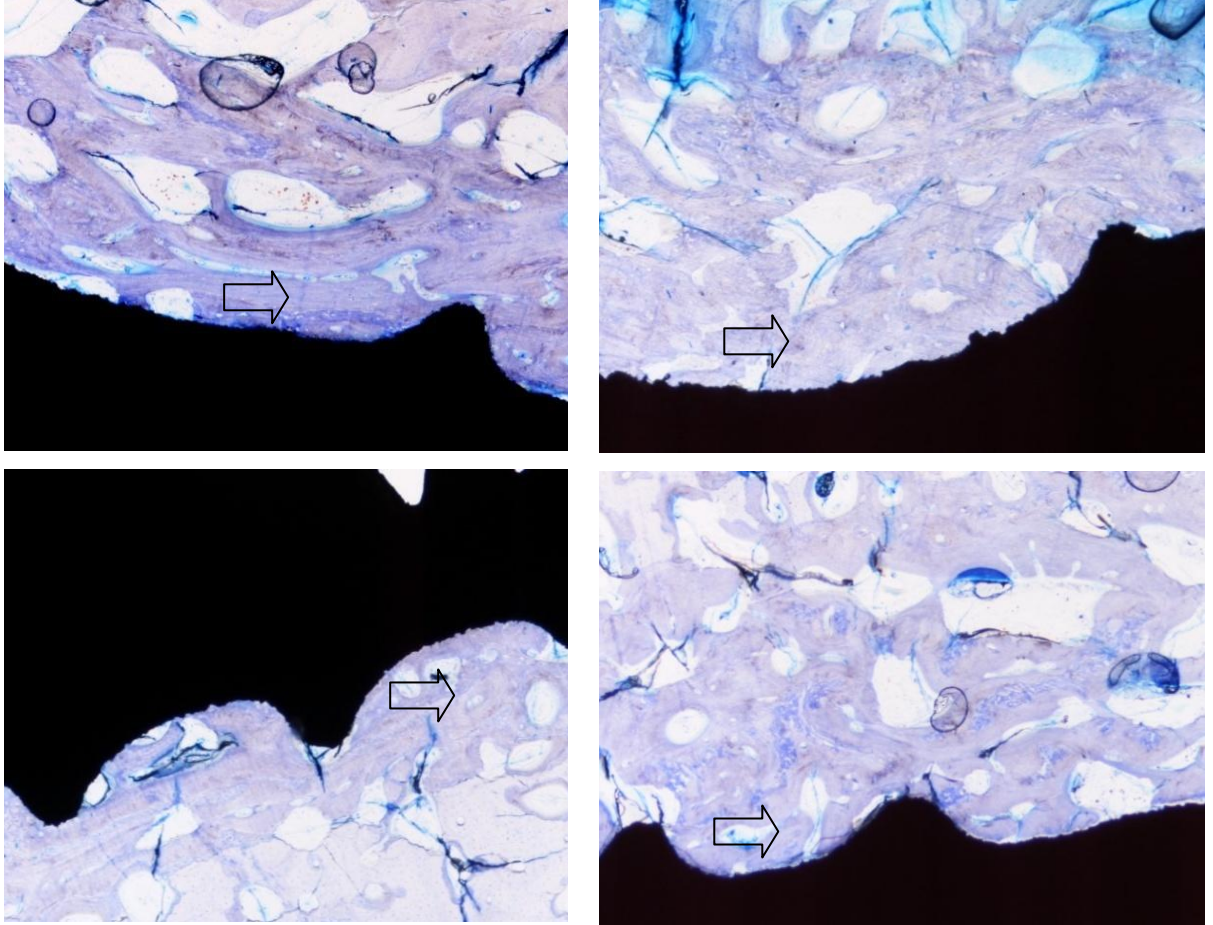
Şekil 24: Boş defekt grubunun KİK görünümü

TZP için ortalama KİK oranı 60,8205 olarak hesaplandı. KİK oranının %95 güvenle 58,4350 ile 63,2060 aralığında yer aldığı tesbit edildi. TZP için en küçük KİK oranı 51,53, en yüksek KİK oranı ise 71,69, en yüksek ve en düşük KİK oranları arasındaki fark 20,16 birim olarak hesaplandı (Şekil 25).



Şekil 25: TZP uygulanan defekt grubunun KİK görünümü

TZP+Hücre için ortalama KİK oranı 76,6455 olarak hesaplandı. KİK oranının %95 güvenle 73,1599 ile 80,1311 aralığında yer aldığı görüldü. TZP+Hücre için en küçük KİK oranı 67,70, en yüksek KİK oranı ise 90,93 birim, en yüksek ve en düşük KİK oranları arasındaki farkın ise 23,23 birim olarak hesaplandı (Şekil 26).



Şekil 26: TZP+Hücre Kültürü uygulanan defekt grubunun KİK görünümü

Grupların KİK oranları arasında fark olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirildi. ANOVA testinin sonuçlarının değerlendirilmesinde ilk olarak Levene testi ile grupların homojenliği araştırıldı. Levene testine göre $p=0,001 < 0.05$ olduğu için grup varyansları eşit değildir sonucuna ulaşıldı. Bu durumda standart F değeri yerine Welch istatistiğinden yararlanıldı. Welch istatistiğine göre ANOVA sonucunda $p=0,0000 < 0.05$ olduğundan grupların KİK ortalmalarının en az iki tanesi arasında fark olduğu sonucuna ulaşıldı. Hangi grubun ortalama KİK değerinin diğerinden farklı olduğunu görmek için çoklu karşılaştırma testleri uygulandı. Gruplar

homojen olmadığından Tamhane testi kullanıldı. Tamhane testine göre aşağıdaki sonuçlar elde edildi;

- Boş ile TZP'nin KİK oranları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p=0,0000<0.05$). TZP'nin KİK oranının daha fazla olduğu açıkça görüldü. TZP ile Boş KİK ortalamaları arasındaki fark 29,68479 olarak hesaplandı.
- Boş ile TZP+Hücre Kültürü'nün KİK oranları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ($p=0,0000<0.05$). TZP+Hücre Kültürü'nün KİK değerinin daha fazla olduğu tespit edildi. TZP+Hücre ile Boş'un KİK ortalamaları arasındaki fark 45,50979 bulundu.
- TZP ile TZP+Hücre Kültürü'nün KİK oranları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu anlaşıldı ($p=0,0000<0.05$). TZP+Hücre Kültürü'nün KİK oranının daha fazla olduğu görüldü. TZP ile TZP+Hücre KİK ortalamaları arasındaki fark 15,82500 olarak hesaplandı.

Sekiz haftalık iyileşme periyodu sonunda kemik iplant kontağı oranının en fazla hücre kültürü+TZP uygulanan defektlerde olduğu görüldü. TZP uygulanan defektlerdeki oranında boş olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi.

5. TARTIŞMA

Maksillo-mandibular alveoler yapılarda karşılaşılan kemik yetersizlikleri; konjenital, gelişimsel ya da kazanılmış olabilirler. Kazanılmış alveoler kemik yetersizlikleri en sık karşılaşılan gruptur ve dişlerin, periodontal hastalıklar, tedavi edilemeyen derin çürükler, travmalar, travmatik diş çekimleri ve tümör rezeksiyonları ile ortaya çıkar (Kostopoulos ve Karring, 1995; Rachmiel ve ark., 2001; Soydan, 1993; Yoshikawa ve ark., 1996). Kaybedilen fonksiyon, fonasyon ve estetiğin iadesi için konvansiyonel protezler ya da implant destekli protezler yapılabilir. Ancak başarılı konvansiyonel protetik restorasyonlar ya da implant uygulamaları için bu uygulamaların yapılacağı bölgelerde yeterli kemik yüksekliği ve genişliği olması şarttır (Rachmiel ve ark., 2001). Maksillofasiyal bölgede rastlanan bu kemik yetersizliklerinin rekonstrüksiyonu için otojen, homojen, ksenojen, alloplastik kemik greftleri, yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu ve distraksiyon osteogenezisi teknikleri kullanılmaktadır (Grant ve ark., 1990; Güven ve Keskin, 1996; Kostopoulos ve Karring, 1995; Lynch, 1999; Sandallı, 2000; Şimşek, 1998).

Greft materyalleri içinde osteoindüktif etkisi kesinleşmiş “altın standart” olarak tabir edilen otojen kemik greftleri ilk seçenektir (Nkenke ve ark., 2001; Schenck ve ark., 2000; Schultze-Mosgau ve ark., 2001).

Otojen kemik greftinin, kemik rejenerasyon potansiyeli olduğu histolojik değerlendirmelerle gösterilmiştir ve greft materyalleri arasında ideal materyal olarak kabul edilmektedir (Marx, 1994; Yamada, 2004a). Greftleme yöntemlerinin altın standardı olarak kabul edilen otojen greftlerin bile, ikinci bir cerrahi saha oluşturmaları, greftte rezorpsiyon gözlenmesi ve donör saha rahatsızlıklarının kaçınılmaz olması gibi dezavantajları vardır (Grant ve ark., 1990; Güven ve Keskin, 1996; Rachmiel ve ark., 2001; Schlegel, 1996; Wiltfang ve ark., 2002). Ayrıca bu yöntemin, verici bölgede yarattığı infeksiyon, malformasyon, ağrı ve fonksiyon kaybı ile alıcı bölge dişlerinde sebep olabileceği kök rezorpsiyonu veya ankiloz gibi dezavantajları da vardır (Laurie ve ark., 1984; Kim ve ark., 2005). Otojen greftlerin bilinen dezavantajları nedeniyle implant çevresi defektlerin rejeneratif tedavisinde kemik oluşumunu stimüle eden bazı büyüme faktörleri ve materyaller önem kazanmaya başlamıştır. İzojen greftler, alıcı ile olan genetik yakınlığa bağlı olarak zayıf antijenik özelliğe sahiptirler. Rekonstrüksiyonda alloplastik greftler kullanıldığında, enfeksiyon ve yabancı cisim

reaksiyonu gelişme riski vardır. Osteojenik özellikleri zayıftır ve kemik oluşumu uzun zaman alır. Bunların yanı sıra alloplastik greftler implant işlemleri için de çok uygun değildir (Lynch, 1999; Rachmiel ve ark., 2001).

İlizarov ve ark. (1980) tarafından tanımlanan distraksiyon osteogenezi, kuvvet yardımıyla kemik fragmanlarının birbirlerinden uzaklaştırılıp arada yeni kemik oluşturulması prensibine dayanır. Distraksiyon osteogeneziste gerekli kemik miktarının elde edilmesi uzun süren bir işlemdir. Tüm bu olumsuzluklar çene kemiği rekonstrüksiyonlarında hekimi ve hastayı zorlamakta, buna bağlı olarak hastanın sosyal yaşama dönmesinde, tedaviye uyumunda ve sosyo-ekonomik durumunda problemlere neden olmaktadır. Ayrıca hastanın yaşı ve genel sistemik durumu bu operasyon işleminin yapılmasına her zaman müsaade etmemektedir (Murugan ve Ramakrishna, 2005).

İmplantların direkt kemik greftlerine yerleştirilmeleri ile ilgili olarak Nyström ve ark. (1993) yaptıkları çalışmada, en ideal greft materyallerinden biri olarak kabul edilen iliyak kemik otogreftinin bile implant çevresinde fibröz iyileşmeye neden olduğunu ve implantasyonun zayıf osteoentegrasyonla sonuçlandığını bildirmişlerdir. Nishibori ve ark. (1994) yaptıkları histolojik çalışmada sinüs tabanı yükseltme işlemlerinde postoperatif altıncı ayda bile kemiğin içerisinde allogreft elemanlarının kemikleşmeden kaldığını göstermiştir. Palmer ve ark. (1994) yaptıkları çalışmada kemik dehissenslerinin tedavisi sonucunda defekt bölgesinde oluşan kemik benzeri dokunun implant yüzeyine sağlıklı kemik kadar iyi bağlanmadığını bulmuşlardır. Bu sonuçlar implant öncesi kemik ogmentasyonlarında kullanılan greft materyallerinin otojen olsa bile sağlıklı kemik kadar iyi bir osseointegrasyon oluşturmadığını göstermektedir. Bu nedenle çalışmamızda otojen olarak elde edilen osteoblast hücre kültürünün osseointegrasyon üzerine etkisini araştırdık.

Kemik defektlerinin tamirinde, büyüme faktörlerinin etkisi ve kemiğin iyileşme aşamalarının in vivo incelenmesinde fareden maymuna kadar birçok değişik hayvan türleri kullanılmaktadır. Çalışmaların sağlıklı sonuçlar vermesi öncelikle deney hayvanı seçimi üzerinde durmayı gerektirir. Fare ve rat gibi fizyogenetik olarak küçük olan hayvanlar temel kemik fizyolojisi ile ilgili çalışmalarda yoğun olarak kullanılmaktadır. Bu hayvanlar ile çok sayıda grup ve homojen popülasyonların oluşturulabilmesi, maliyetinin düşük olması ve uygulamalarda sağladıkları kolaylıklar

nedeni ile deney hayvanı olarak kullanılmaları avantajdır. Klinik ile ilgili çalışmalarda fare ve ratlar kemik yeniden şekillenmeleri ile ilgili fizyolojilerinin ve kemik iyileşmelerinin insandan farklı olmaları ve ayrıca uygulamalar için gerekli olan kemik miktarlarının azlığı sebebiyle dezavantaj oluştururlar. Köpek, domuz, koyun ve maymun gibi büyük hayvanlar kemik iyileşme mekanizmalarının insana benzemesinden ve ileri deneysel cerrahi uygulamalara olan uygunluklarından ötürü denek olarak seçilmektedirler (Lings, 1994; Yamamuro, 1994; Einhorn ve ark., 1994). Cerrahi uygulamamıza yatkınlığından, insan kemik iyileşmesine olan benzerliğinden, yapılan uygulamalara olan direncinden, bakım şartları ve imkanlarımızın bu denek türüne müsaade etmesinden ötürü koyun bu çalışma için tercih edilen denek türü olmuştur.

Kök hücreler; insan vücudunda bulunan, farklı hücelere dönüşebilen ve her biri yeni özelleştiği hücre fonksiyonlarına sahip, başkalaşım geçirmemiş hücrelerdir (Bongso ve Lee, 2005). Birçok doku ve organda bulunan kök hücrelerin hücre biyolojisi günümüzde çok daha iyi anlaşılmaktadır. İn vitro kültür metotlarındaki gelişmeler eskiden imkansız olarak görülen değişik hücre tiplerinin çoğaltılmasını rutin hale getirmiştir (Otto ve Rao, 2004).

Literatürde kemik iliğinin osteojenik potansiyeli ile ilgili ilk bilgiler 1869 yılında Goujon tarafından yayınlanmıştır. İlk defa kemik oluşturmak için otolog kemik iliği kullanılabilirliği rapor edilmiştir. Yirminci yüzyılın başlarında Chutro (1918) kemik iliği içeren kemik greftinin uzun kemik kırığında kullanılabileceğini göstermiştir. Daha sonra Mc Gaw ve Harbin (1934) osteojenik rejenerasyonda kemik iliğinin rolünü tespit etmiştir.

Yetişkin kemik iliğinde güçlü osteojenik potansiyeli olan hücre popülasyonunu ilk olarak 1976'da Friedenstein tanımlamıştır. Görünümü fibroblast hücrelerine benzeyen ve aktif olarak çoğalan hücrelerin oluştuğunu gözlemlemiştir.

Kök hücreler gelişimsel olarak embriyonik kök hücre ve post-natal kök hücre (organa spesifik, dokuya spesifik veya erişkin kök hücre de denir) olarak ikiye ayrılmaktadırlar (Maria, 2007). Embriyonik kök hücreler (EKH'ler) gelişmekte olan blastositin iç kitlesinden köken alırlar ve vücuttaki tüm hücre çeşitlerine (endoderm, mezoderm ve ektoderm) dönüşebildikleri için pluripotent hücre olarak kabul edilmektedirler. Erişkin kök hücreler özelleşmiş doku ve organlardan elde edilirler, tüm

bir doku veya dokuları oluşturan çeşitli hücre türlerine dönüşebildikleri için multipotent olarak kabul edilmektedirler (Smith, 2006). Kök hücrelerin temel fonksiyonu yerleştikleri dokunun onarım ve rejenerasyonunu sağlamasıdır (Grove ve ark., 2004). Son çalışmalar kemik iliği stroma hücrelerinin; osteoblast, kondrosit, adipozit, myoblast, hepatosit, kardiyomyozit ve nöral hücrelere dönüşebildiğini göstermektedir (Kortesidis ve ark 2005). Çalışmamızda osseointegrasyonun arttırılmasına yönelik, MKH'lerin farklılaşabilme özelliğinden faydalanılarak osteoblast hücre kültürü eldesi yöntemi tercih edildi.

EKH'ler pek çok dokunun tamiri veya rejenerasyonu için önemli hücre kaynakları olsalar da; etik sorunlar, kontrol edilemeyen farklılaşmalar ve verici-alıcı arasındaki immünite problemleri yüzünden klinik kullanımları sınırlıdır. Ayrıca in vivo ortamda kullanıldığında gelişebilecek kromozomal değişkenlik ve tümörleşme olasılıklarını elimine edebilmek için uzun dönem klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. EKH'lerin farelere injekte edildiklerinde teratom oluşturabildikleri gösterilmiştir. In vitro ortamda daha yavaş büyüme oranları ve daha az telomeraz aktivitelerinin olmasına bağlı olarak mezenkimal kök hücrelerin EKH'lere göre tümör oluşumu açısından nisbeten daha az risk taşıdığı düşünülmektedir (Rosenthal, 2003).

Erişkin kök hücreler, kemik iliği, sinir dokusu, kas, deri, barsak, karaciğer, dental pulpa, periodontal ligament, alveoler kemik ve çekilmiş daimi dişler gibi pek çok organ ve dokudan elde edilmiştir (Lechner ve Huss, 2006; Baum ve ark., 1992; Alison ve ark., 1997; Prockop, 1997; Pittenger ve ark., 1999; Johansson ve ark., 1999; Janes ve ark., 2002; Marshman ve ark., 2002; Chen ve Goldhamer, 2003; Miura ve ark., 2003; Seo ve ark., 2004; Matsuura ve ark., 1995). Bu kanıtlar tedavi uygulamaları için MKH'lerin birçok organdan elde edilebileceğini göstermektedir. Bununla birlikte organ veya dokuya özgü nitelikler kök hücre davranışını etkileyebileceği için tedavi amaçlı kök hücre kaynağının seçiminde dikkatli olmak gereklidir (Phinney ve ark., 1999; Gronthos ve ark., 2001; Shi ve ark., 2005; Akintoye ve ark., 2006). Örneğin; son çalışmalarda kraniyofasiyal kemiklerden ve uzun kemiklerden elde edilen kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin (KMKH'lerin), proliferasyon ve farklılaşma açısından farklı oldukları gösterilmiştir (Matsubara ve ark., 2005; Akintoye ve ark., 2006). Kraniyofasiyal kemiklerden elde edilen KMKH'lerin uzun kemiklerden alınan hücreler gibi organize bir hematopoetik ilik organı oluşumunu destekleyemediği

belirlenmiştir (Akintoye ve ark., 2006). Yukarıda sayılan nedenler göz önüne alındığında, yüksek kalite ve miktarda osteoblast elde etmek için çalışmamızda kemik iliği aspirasyonu için koyunun iliyak kemiği tercih edildi.

Erişkin insan yağ dokusundan elde edilen MKH'lerin uzun dönem kültürde bulunmaları sonucu spontan transformasyona uğradığı ve osteosarkom geliştiği bildirilmiştir (Rubio ve ark., 2005). Bunun aksine, kemirgen KİMKG'si ve insan yağ dokusu kaynaklı MKH'lerin spontan transformasyonunu indükleyen kültür ortamında, insan KİMKG'leriyle yapılan dikkatli değerlendirmelerde herhangi bir transformasyon potansiyeli gözlenmemiştir (Miura ve ark., 2005). Yağ dokusu kaynaklı MKH'lerin osteosarkoma potansiyelleri ve düşük farklılaşma oranları nedeniyle, çalışmamızda kök hücre eldesinde yağ dokusu kaynaklı MKH'ler tercih edilmedi.

Literatür bilgisine göre kemik iliğinde hematopoetik kök hücre (HKH) ve mezenkimal kök hücre (MKH) olmak üzere iki ayrı erişkin kök hücre popülasyonu vardır (Prockop, 1997; Pittenger ve ark., 1999). HKH'ler tüm kan hücrelerini oluşturabilirler ve sürekli kendini yenileme kapasiteleri sayesinde kan hücresi üretimini hayat boyu sürdürebilirler. Kemik iliği kaynaklı MKH'lerin (KİMKG'lerin) osteoblast, kondrosit, adiposit, hepatosit, nöron, astrosit, tenosit, miyoblast, epitel ve endotel hücreleri gibi çok çeşitli hücrelere farklılaşma kapasitesine sahip oldukları gösterilmiştir (Pereira ve ark., 1995; Eglitis ve Mezey, 1997; Ferrari ve ark., 1998; Gerson, 1999; Makino ve ark., 1999; Petersen ve ark., 1999; Pittenger ve ark., 1999; Deans ve Moseley, 2000; Krause ve ark., 2001; Kuznetsov ve ark., 2001; Tsutsumi ve ark., 2001; Jiang ve ark., 2002; Ianus ve ark., 2003; Mezey ve ark., 2003). Bu bulgular; osteoporoz, artrit, kardiyak hastalıklar ve dejeneratif sinir hastalıklarının rejeneratif tedavisi için büyük umut doğurmuş ve hücre esaslı klinik tedaviler için faydalanılabileceği düşünülerek son yıllarda kök hücre plastisitesiyle ilgili oldukça fazla çalışma yapılmıştır (Fuchs ve ark., 2003; Peterson ve ark., 2005; Hughes ve ark., 2006). Plastisite, erişkin kök hücrenin köken aldığı germ tabakasının veya başka bir germ tabakasının olgun ve fonksiyonel hücrelerine dönüşebilme yeteneği olarak tarif edilmektedir (Maria ve ark., 2007).

İzole edilmesinin kolay oluşu ve geniş başkalaşım potansiyeli ile MKH'ler klinik kullanım açısından diğer kök hücrelere oranla daha avantajlıdır. Yetişkin MKH'lerin çok yönlü potansiyelinin yanında allojenik transfer sonrası immün

reaksiyonun çok az olması MKH'nin hücre terapi uygulamalarındaki doku tamir ve rejenerasyonlarında kullanılan ideal hücre tipi olmasını sağlamaktadır. Son zamanlarda sistemik hastalıklar ve lokal doku defektlerinin tedavisinde MKH'lerin kullanılabileceği birkaç çalışmada gösterilmiştir. İn vivo olarak çok az sayıda olduğu için MKH'lerin in vivo uygulama öncesinde otolog serum desteğinde in vitro olarak çoğaltılması gerekmektedir (Fehrer ve Lepperdinger, 2005). Yetişkin kök hücreler en çok kemik iliğinde bulunmaktadır (Grove ve ark., 2004). Dental implant uygulamalarında mevcut kemik defektlerini ogmente etmek amacıyla kullanılan KİMKH'ler yapılan çalışmaların ışığında tercih edildi.

KİMKH'lerin sinir, kemik, kırık ve kas dokularının hastalıkları ve konjenital defektlerinde kullanımlarını araştıran hayvan çalışmaları yapılmıştır (Haynesworth ve ark., 1992; Azizi ve ark., 1998; Fuchs ve ark., 2003). KİMKH'lerin en iyi bilinen farklılaşma özelliği in vivo ortama transplante edildiğinde kemik ve kemikle ilişkili hematopoetik ilik oluşturmalarıdır (Ashton ve ark., 1980; Bab ve ark., 1988; Goshima ve ark., 1991; Cassiede ve ark., 1996; Krebsbach ve ark., 1997). MKH'ler karmaşık bir süreç olan kırık iyileşmesini kolaylaştırabilir. Travma, osteoradyonekroz veya tümörlerin çıkartılması sonucu oluşan kemik defektlerinde önceden boyutu ve şekli defekte uyacak şekilde belirlenmiş yapı iskelelerine yüklenen veya injekte edilen MKH'ler osteogenezi arttırabilirler (Kon ve ark., 2000; Alhadlaq ve ark., 2005a; Oshima ve ark., 2005; Park ve ark., 2005; Peterson ve ark., 2005). MKH'ler kırık defektlerinin tedavisinde önemli rol oynayabilirler (Chiang ve ark., 2005; Oshima ve ark., 2005). MKH'lerin lokal invazyonu sayesinde osteokondral defektlerin spontan iyileşmesinde avantajlı olduğu gösterilmiştir (Shapiro ve ark., 1993; Murphy ve ark., 2003). MKH'lerin eklem içine injeksiyonu ile menisküs iyileşmesinin arttığı ve avasküler bölgelerde dahi ekstrasellüler matriks üretiminde artış görüldüğü kaydedilmiştir (Abdel-Hamid ve ark., 2005; Izuta ve ark., 2005). Bu tür çalışmalar gelecekte maksillofasiyal cerrahide azımsanmayacak sayıdaki TME kapsül içi hastalığı problemi olan hastaların tedavilerinde ve TME kartilaj formasyonlarının düzenlenmesinde yeni bir ufuk kazandırması açısından da anlamlıdır.

Literatürler incelendiğinde, birçok tıp alanında olduğu gibi çene yüz cerrahisi uygulamalarında da kök hücre çalışmalarının son zamanlarda hızla arttığı gözlenmektedir (Kadiyala ve ark., 1997; Miyamoto ve ark., 2004; Ohgushi ve ark.,

1989; Yamada ve ark., 2004). Lokal çalışmaların yanı sıra sistemik kemik bozukluklarında da kök hücrelerin kullanılması ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Pereira ve ark. (1995) konuyla ilgili yaptıkları çalışmada radyasyona maruz bırakılmış farelerde sistemik dolaşıma verilen MKH'lerin kemik ve kıkırdak dokusunda iyileşmeyi sağladığını göstermişlerdir. Krampera ve ark. (2006)'nın yaptıkları çalışmada osteogenezis imperfektalı çocuklara kemik iliği hücreleri aşılandığında yan etki görülmemesi bir yana üç ay sonra osteoblast sayısında, yeni lameller kemik oluşumunda ve tüm vücut mineral içeriğinde artış sağlandığını tespit etmişler. Bunlara ek olarak kırık frekansı azalmış, vücut büyüme oranı artmıştır. Kraniofasial doku; burun, kulak ve temporomandibular eklem gibi kıkırdak içeren yapılara sahiptir. KİMKH'ler TEBF- β varlığında kültür ortamında kondrositlere farklılaşabilirler (Pittenger ve ark., 1999; Gronthos ve ark., 2003). Ek olarak Fuchs ve ark. (2003) koyundan elde edilen KİMKH'leri, fetal trakeye implante ettiklerinde, belirgin bir kondrojenik farklılaşma göstermişlerdir.

Kadiyala ve ark. (1997) ratlar üzerinde yaptıkları çalışmalarda deneysel olarak oluşturdukları kemik defektlerine MKH ile birlikte pöröz seramik implante etmişlerdir. Ohgushi ve ark. (1989) ise benzer bir çalışmada kemik iliği kullanmışlardır. Çalışmaların sonucunda yalnız seramik uygulanmış olan defektlerde çok az miktarda yeni kemik oluşurken diğer defektler kemikle dolmuştur. Literatür ışığı altında, çalışmamızda da kemik iliğinden elde edilen MKH'lerden farklılaştırılan osteoblastların sağlanmasının sanıldığı kadar güç olmadığını gördük. Bu çalışmaların sayısının artmasının bu uygulamanın rutin hale gelmesinde büyük avantaj sağlayacağını düşünmekteyiz.

Elde etmesi kolay ve ucuz olduğundan kemik ogmentasyonu için TZP kullanımına yönelik çalışmalar da yapılmaktadır. Wilson ve ark. (2006) Yeni Zelanda tavşanları üzerinde yaptıkları bir çalışmada deneysel olarak oluşturdukları defekte bir gruba TZP, diğer gruba da biyomateryal yerleştirmiştir. 12 haftanın sonunda kontrol grubu ile biyomateryal konulmuş olan grupta kısmi kemikleşme olmuş, TZP grubunda ise anlamlı derecede daha fazla kemik oluşumu gözlenmiştir. Çalışmanın sonucunda TZP'nin kemik yapımını indüklediği görüldü.

Yamada ve ark. (2004) köpeklerde yaptıkları çalışmada MKH ile TZP karışımını; TZP, otojen kansellöz kemik ve boş defekt ile karşılaştırmışlar. Köpek mandibulasının her iki tarafında trefin frezlerle deneysel defektler oluşturmuşlar, daha sonra da greftleri implante etmişlerdir. İki ay sonra defekt bölgelerine dental implantlar yerleştirilmiştir. Dental implantların yerleştirilmesinden iki ay sonra sakrifiye edilen deneklerden hazırlanan preparatlar ile histolojik ve histometrik değerlendirme yapılmıştır. Değerlendirmenin sonucunda MKH-TZP ve kansellöz kemik gruplarında istenen formda ve yeni damarlanmaya sahip matür kemik oluştuğu tespit edilmiştir. MKH-TZP grubunda alveoler kemiğin kansellöz kemik grubuna göre daha fazla genişlediği ve implant-kemik bağlantısının daha sıkı olduğu görülmüştür. Sadece TZP uygulanan grupta kemik rejenerasyonu tamamlanmamıştır. Bu sonuçlara göre boş defekte göre diğer gruplarda kemik oluşumu mevcut olmakla beraber yalnız TZP uygulanan grupta daha az miktarda kemik oluştuğu gözlenmiştir. TZP kemik oluşumunu indüklemektedir fakat bu indüksiyon MKH kadar olmamaktadır.

Ohya ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada ise MKH ile kansellöz kemik partiküllerinin sinüs tabanı yükseltme operasyonlarında yeni kemik oluşumuna etkisini karşılaştırmıştır. Bunun için MKH ve kansellöz kemik TZP ile karıştırılarak 18 yetişkin Japon tavşanına uygulanmıştır. Çalışmada MKH'ler iliak kemikten izole edilmiş, TZP ise periferel kandan elde edilmiştir. Deneklerin her iki taraftaki maksiller sinüslerinden birine kansellöz kemik partikülleri-TZP karışımı, diğerine MKH-TZP karışımı implante edilmiştir. Sekiz hafta sonra denekler sakrifiye edilmiştir. Çalışmanın sonucunda MKH-TZP karışımının osteogenezis ve kemik hacmi açısından otojen kemik-TZP karışımından üstün olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada TZP her iki grupta da kullanıldığından MKH'lerin osteojenik potansiyelinin ve oluşan yeni kemik miktarı açısından otojen kemik greftinden üstün olduğu anlaşılmaktadır. Bizim çalışmamızda yukarıdaki çalışmaların sonuçları ile benzer olarak, MKH ve TZP uygulamaları implantların yerleştirilmesi ile aynı seansta olmasına rağmen MKH-TZP karışımının, boş ve yalnızca TZP uygulananlara göre kemik implant kontaklarının daha başarılı olduğu görüldü.

Li, ve Li. (2005) tavşanların mandibulasında deneysel olarak oluşturdukları defektlerin tamirinde allojenik demineralize kemik kullanmışlardır. Öncelikle kemik iliğinden izole ettikleri ve kültürde osteoblasta dönüştürdükleri hücreleri

hazırlamışlardır. Deney grubunda demineralize kemiğin üzerinde bu hücreleri kültüre etmişler, daha sonra da deneysel olarak oluşturulan defekte implante etmişlerdir. Kontrol grubunda ise sadece demineralize kemik grefti implante edilmiştir. 12 hafta sonunda kontrol tarafında kısmi defekt mevcutken deney tarafında tamamen iyileşme olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç hücre ile kültüre edilmiş veya tek başına kullanılmış demineralize kemik greftinin mandibula defektinin tamirinde başarılı olduğunu göstermektedir. Ancak hücre kültürlü demineralize kemik grefti ile daha yüksek kalite ve miktarda kemik elde edilmiştir.

Miyamoto ve ark. (2004) 12 Japon tavşanı üzerinde yaptıkları çalışmada titanyum ve poli-L-laktik asit (PLLA) kapsüller kullanmıştır. Çalışmada tibianın proksimalinden periost dokusu alınarak doku kültür ortamına taşınmıştır. Kültürde çoğaltılarak bir milyon adet hücre kollajen taşıyıcı kullanarak kapsüller ile deneklere implante edilmiştir. Operasyon sırasında tavşanların kalvaryumunun korteksinde trefin frez ile 6 mm çapında defektler oluşturularak hücreler kapsüller içinde uygulanmıştır. Operasyondan 12 hafta sonra sakrifikasyon yapılmıştır. Yapılan histopatolojik inceleme sonucunda kollajen taşıyıcı ihtiva eden gruplarda değişen derecelerde boş, ölü alanlar tespit edilmiştir. Kapsülün içinde hiçbir madde konmayan grupla karşılaştırıldığında kollajen taşıyıcının kemik oluşumu üzerinde negatif etkisinin bulunduğu ortaya konmuştur. Çalışma sonucunda titanyum ve PLLA kapsüller altında oluşan kemik miktar ve kalitesinde herhangi bir fark olmadığı görülmüştür. Tüm kapsüllerin altında değişen derecelerde kemik oluştuğu tespit edilmiştir. Periosttan alınan hücrelerin implante edildiği kapsüllerin altında diğer gruplardan daha yüksek oranda proliferasyon aktivitesi tespit edilmiştir. Çalışmamızda MKH'lere ostokondüktif etki ve uygulamada kolaylık sağlamak amacıyla PLLA kapsül yerine TZP kullanıldı.

Sert doku rejenerasyonu amaçlayan kök hücre uygulamalarında yapı iskelesi olarak biyoaktif HA, β -TKF (β -trikalsiyum fosfat) seramikler, cam seramikler ve alüminyum seramikleri de içeren bir dizi seramikler, kalsiyum karbonat ve polilaktik asit gibi polimerler kullanılmıştır; çünkü bu materyaller yapay kırıkta veya kemik üretimi için yeterli biyouyumluluğa ve yıkılabilirliğe sahiptirler (Ohgushi ve ark., 1992; 1996b; Kitamura ve ark., 2003; Yamada ve ark., 2003). Ancak porlarının olmaması, seramiğin yavaş rezorpsiyonu ve osteoindüktif özelliklerinin olmaması yüzünden yeni kemiğin defekt içine invaze olmasını güçleştirirler (Yamada ve ark., 2004b). Bu nedenle

kemik defektlerinde otojen kemik oluşumunu sağlayacak jel benzeri kıvama sahip bir materyal uygulanması daha uygun olabilir düşüncesiyle son yıllarda, kemik defektlerinin doku mühendisliği yöntemleriyle rejeneratif tedavisini araştıran çalışmalarda kök hücrelerle birlikte yapı iskelesi olarak TZP kullanılmaya başlanmıştır (Yamada ve ark., 2004a; 2004b; 2006). Bu çalışmalarda MKH'lerle birlikte uygulanan TZP'nin, MKH'lerin adezyonunu, proliferasyonunu ve kemik oluşturmak üzere farklılaşmasını destekleyebileceği belirtilmiştir. KİMKG'nin TZP içerisindeki büyüme faktörleri için reseptörler taşıdığı ve in vitro çalışmalarda TZP eklenmesinin KİMKG'lerin proliferasyonunu belirgin ölçüde arttırmaya yettiği gösterilmiştir (Lucarelli ve ark., 2003).

Dallari ve ark (2006) tarafından, tavşanlarda oluşturulan kemik defektlerinin tedavisinde kemik iliği stroma hücrelerinin; periost tabakası üzerinden tek başına direkt defekte injekte edilmesine oranla, TZP ile kombine şekilde uygulanmasının kemik iyileşmesini istatistiksel olarak anlamlı arttırdığı bildirilmiştir. Bu bulgunun, TZP içerisindeki büyüme faktörlerinin, özellikle trombosit kaynaklı büyüme faktörünün stroma kök hücreleri üzerindeki mitozu uyarıcı etkisine ve TZP'nin bir yapı iskelesi olarak osteokondüktif etkisine bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (Yamada ve ark., 2004a). Buna karşılık, tek başına TZP kullanımının 12 hafta sonunda defektin tamamen iyileşmesine yol açmadığı da belirtilmiştir (Dallari ve ark., 2006). Bu bulgular göz önünde bulundurularak, çalışmada osteokondüktif etkisinden faydalanmak için TZP kullanıldı.

Yamada ve ark. (2004a) tarafından köpeklerde yapılan bir çalışmada, dental implant yerleştirmeden önce kemik rejenerasyonu amacıyla MKH+TZP, TZP, kansellöz kemik ve kemik iliği uygulanan ve kontrol amacıyla boş bırakılan bölgelerden 8 hafta sonra kemik trefin frezle çıkartılıp implant yerleştirildikten 8. hafta sonra osseointegrasyonun değerlendirilmesi yapılmıştır. Sekizinci haftada yapılan histolojik incelemede TZP-MKH karışımının partikül kansellöz kemik (PCBM) kadar olgun, yapısal olarak uygun bir kemik rejenerasyonu sağladığı bulunmuştur. Ayrıca, defektin tek başına TZP ile doldurulmasının osteogenezi arttırmadığı da görülmüştür. Bu yüzden defekt içerisinde yalnızca TZP'nin kemik iyileşmesine olumlu katkısının olmadığı düşünülmüştür. Çalışmamızda ise TZP uygulanan defektlerin boş olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı KİK'na sahip olduğu görüldü.

Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilen olumlu sonuçlar büyüme faktör kombinasyonlarının insanlarda kullanımını gündeme getirmiştir. Pfeilcher ve arkadaşlarının (1990) yaptıkları bir başka in vitro çalışmada; IBF-I, TBF ve TKBF kombine olarak veya tek başlarına kültüre edilmiş osteoblastlara uygulanmış ve bu üç büyüme faktörünün kombine veya ikişer ikişer uygulanmasının tek başına uygulanmasına göre daha fazla kemik oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir. Piche ve ark. (1989)'nın yaptığı bir çalışmada ise en fazla osteoblast proliferasyonunun IBF-I, TBF- β , TKBF ve EBF kombinasyonu ile sağlanabileceği savunulmuştur. Tüm bu büyüme faktörlerinin yarı ömürlerinin kısa olması, hedef hücrelerde yeterli konsantrasyonda bulunamamaları, çok pahalı olmaları ve etkin olmaları için kullanım sıklıklarının fazla olması gereksinimi bu büyüme ve farklılaşma faktörlerinin lokal ve kombine kullanımlarını oldukça zorlaştırmaktadır (Lynch ve ark., 1999). Ayrıca, bu büyüme ve farklılaşma faktörlerinin önemli bir kısmını içeren ve hastanın kendi kanından elde edilebilen TZP'nin direkt olarak veya başka bir materyalle karıştırılarak kemik rejenerasyonunda kullanılması son dönemlerde birçok araştırmacı tarafından incelenmektedir. Çalışmamızda, boş ve TZP uygulanan defektlerin KİK değerleri karşılaştırıldığında, TZP uygulanan defektlerin KİK değerlerinin boş olanlardan fazla olması, TZP'nin kemik rejenerasyonunda etkin olduğu ve bu sonucun literatürü desteklediği görülmektedir.

Literatür incelendiğinde, TZP hazırlanmasında pek çok farklı tekniğin kullanıldığı görülmektedir. Kullanılan santrifüj cihazının özelliği, uygulanan merkezkaç kuvvetinin değeri ve süresi, santrifüj sayısı ve jelasyon ve trombosit aktivasyonunda kullanılan ajanların farklılığı da araştırma sonuçlarını etkilemektedir. Santrifüj sırasında, trombositlere içlerindeki büyüme faktörlerinin aktivasyonlarını ve salınımlarını önleyecek şekilde zarar verilmemeli ve kırmızı kan hücrelerinden trombositlerin tamamen ayrımı sağlanmalıdır (Marx, 2004). Marx (2004) TZP'nin yara iyileşmesi üzerine negatif etkisinin elde edildiği çalışmalarda, yeterli miktarda terapötik trombosit konsantrasyonunun kontrolünün gerektiğini bildirmiştir. Çalışmamızda santrifüj sonrası çıkarılan plazmada da trombosit sayımı yapılarak trombosit olup olmadığı kontrol edildi. TZP hazırlanmadan önce kandaki ve daha sonra TZP'deki trombosit sayıları ölçüldü. Sonuçta TZP'deki trombosit sayısının kandakine göre 5.27 kat fazla olduğu saptandı. Weibrich ve ark.'nın (2004) tavşanlar üzerinde yaptığı

çalışmada, TZP içindeki trombosit konsantrasyonunun optimal sonuç için belli sınırlarda olması gerektiği bildirilmiştir. Trombosit konsantrasyonunun 2-6 kat artmasının gerekli olduğu, bu değerlerden daha düşük seviyelerdeki artışlarda herhangi bir pozitif etki gözlenmezken, daha fazla seviyelerdeki artışlarda TBF- β 'dan kaynaklanan inhibitör etkisinin olabileceği belirtilmiştir. TZP hazırlanması esnasında sterilizasyona dikkat edilmeli, hazırlayan kişi, teknik hakkında bilgili ve tecrübeli olmalıdır. Çalışmamızda koyundan alınan kan ya da plazma tekrar koyunun dolaşımına verilmedi. Kan alındıktan sonra, kan ve pıhtılaşmayı önleyici maddenin iyice karışması için enjektör birkaç kez ters çevrildi ancak hemolize yol açabileceği düşüncesiyle çalkalanmadı.

Kanın pıhtılaşmasını önlemek için kullanılan antikoagülan seçimi bakımından literatür incelendiğinde büyük çoğunlukla sitrat gruplarının kullanıldığı görülmektedir. Sitrat fosfat dekstroz adenozin, trisodyum sitrat, sodyum sitrat bu amaçla kullanılmaktadır. Landesberg ve ark. (2000) çalışmalarında sodyum sitratla beraber etilendiamintetraasetik asit (EDTA) kullanmışlar ve EDTA grubunda daha yüksek sayıda trombosit elde etmelerine rağmen, ışık mikroskobu incelemesi yapıldığında, bu gruptaki trombositlerin zarar gördüğünü, parçalandığını ve çok sayıda hücresele olmayan artık bulunduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda kullandığımız sodyum sitrat 0.105 M'dir. Bu karışım uygulanan tekniğin gerektirdiği sürede kanın pıhtılaşmasını engellemektedir.

TZP hazırlandıktan sonra antikoagülan inhibitörü olarak kalsiyumun kullanılması ortak noktadır. Kalsiyumun kullanılmasının nedeni, başlangıçta antikoagülan amaçlı kullanılan sitratın görevini, pıhtılaşma mekanizmasında rol alan kalsiyumun inhibe etmesidir. Sonuçta, hazırlanan preparata kalsiyum eklenerek başlangıçtaki inhibisyon ortadan kaldırılmış olmaktadır. TZP jeli hazırlığının son aşamasını, jelasyonu başlatacak ve trombositleri aktive edecek ajanın eklenmesi oluşturmaktadır. ITA jel ajanı, Tisseel fibrin, sığır kaynaklı trombin, hastanın kendi kanı ve otojen kemik bu amaçla kullanılan maddeleri oluştururken, literatürde en sık kullanılan ajanın sığır kaynaklı trombin olduğu göze çarpmaktadır. Sığır kaynaklı trombin kullanımının kan koagülopatilerine yol açabildiği belirtilmiştir (Cmolik ve ark., 1993). Landesberg (2000) koagülopatilerin problem yaratmayacağını, bu vakalarda taze trombinin direkt olarak kanama bölgesinde kullanıldığını ve bu hastaların aktif

antikoagülan tedavisi aldığını belirterek sığır trombininin güvenilirliğini savunmaktadır. Bununla beraber, hastanın kendi kanında ve kemiğinde trombin bulunması bu sorunu ortadan kaldırmaktadır ve hastanın kendi kanının kullanılabilmesini savunan yazarlar mevcuttur (Kassolis ve ark., 2000; Robiony ve ark., 2002; Gonshor., 2002). Su ve ark. (2004) trombin ve insan kanı ile elde edilen TZP arasındaki farkları incelemişler ve TZP'nin son aşamada insan kanı ile karıştırılmasının pıhtılaşma zamanını 3 saniye daha kısalttığını gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar aynı zamanda insan kanı ve trombin ile elde edilen TZP'den salınan PDGF-AB ve TGF- β 1 salınımını incelemişler ve insan kanı ile hazırlanan TZP'nin, PDGF-AB salınımını trombin ile hazırlanana göre 10 kat, TGF- β 1 salınımını ise 300 kat arttırdığını göstermişlerdir. Çalışmamızda jelasyonu sağlamak ve trombositleri aktive etmek amacıyla CaCl_2 'nin yanı sıra operasyon bölgesinden elde edilen otojen kan kullanıldı. Hiçbir vakada jelleşme ile ilgili bir problem yaşanmadı ve sadece TZP uygulanan defektlerde KİK oranının başarılı olması uygulama sırasında gösterilen titizlik ve tecrübe ile ilgilidir.

Dental implant çevresinde cerrahi olarak oluşturulan kemik defektleri immedat implantasyonda özellikle taze çekim soketini temsil etmektedir. Diş çekimi soketine immedat yerleştirilen implantların konvansiyonel uygulamalara benzer klinik sonuçları olduğu bilinmektedir (Brose ve ark., 1989; Krump ve Barnett, 1991; Tolman ve Keller, 1991).

İmplantın tüm boyunun yarısının kemik ile direkt temasta olması primer stabilizasyon için ön koşuldur (Polyzois ve ark., 2007; Botticelli ve ark., 2004; Veis ve ark., 2007). Benzer cerrahi yöntemin kullanıldığı çalışmalarda yerleştirilen implantların minimum 4 mm'lik bölümünün direkt kemik içine yerleştirilmesi gerektiği belirtilmiştir. Abushahba ve ark. (2008) köpeklerde yaptıkları çalışmada 3.3 mm çapında 13 mm boyundaki implantların 8 mm'lik bölümünü direkt alıcı kemiği ile temasta bırakarak 5 mm'lik koronal bölümde histolojik değerlendirme yapmışlardır. Botticelli ve ark. (2004) köpeklerde yaptıkları çalışmada 10 mm boyundaki implantları 5 mm'si defekt içinde 5 mm'si direkt kemik içinde kalacak şekilde yerleştirmişlerdir. Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak implantların primer stabilizasyonunu sağlamak için, yerleştirilen implantların yüksekliklerinin yarısı kadar ki kısım olan apikal 4 mm'si kemik içine konurken, defektler koronal 4 mm'sinde hazırlandı.

İmplant çevresindeki defekt genişlikleri KİK değerlerini doğrudan etkilemektedir (Boticelli ve ark., 2004). Ito ve ark. (2006) benzer cerrahi yöntemi uyguladıkları köpeklerde yaptıkları çalışmada test grubunda rejeneratif ajan olarak MKH kullanmışlardır. 8. haftadaki KİK sonuçları % 53 olarak bildirilmiştir. Jung ve ark. (2007) benzer cerrahi yöntemi kullandıkları çalışmalarında test grubunda PTH₍₁₋₃₄₎ uygulamışlar ve 12. hafta sonunda % 63.5-67.3 arasında KİK sonuçları bildirmişlerdir. Ito ve ark. (2006) MKH'nin KİK yüzdesini anlamlı şekilde arttırdığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen ortalama KİK değerleri ise boş defekt grubunda %31,1357, TZP grubunda %60,8205 ve TZP-MKH grubunda %76,6455 olarak hesaplandı.

Günümüzde rejeneratif terapi amacıyla hayvan ve insanda yapılan deneylerde osseoindüktif etkisi kanıtlanmış ürünlerden biri rhBMP2'dir (Jung ve ark., 2003; Boyne ve ark., 1997; Howell ve ark.,1997). Salata ve ark. (2007) köpeklerde yaptıkları benzer cerrahi yöntemi kullandıkları çalışmada rhBMP2'nin implant çevresi defektlerde yeni kemik oluşumu ve kemik implant kontağına etkisini incelemişlerdir. 12 haftalık iyileşme periyodu sonunda kontrol ve test grupları arasında total KİK değerleri açısından anlamlı bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Bu bulgular yeni kemik oluşumunu tetiklediği farklı klinik ve deneysel modellerde gösterilmiş rhBMP2'nin, KİK'e katkısı olmadığını göstermektedir (Boyne ve ark., 1997; Margolin ve ark., 1998; Mcallister ve ark., 1998; Tamura ve ark., 2001). Ancak rhBMP2'nin implant çevresi defektlerde KİK'i arttırdığını bildiren bir çalışma da bulunmaktadır (Cochran ve ark., 1998). Her iki çalışmada da bariyer membran kullanılmamıştır. Ancak Cochran ve ark. (1998)'nin çalışmasında kullanılan SLA yüzeyli implantların KİK yüzdesini arttıran farkı yarattığı düşünülebilir. Çalışmamızda hazırlanan karışımların mevcut defektleri tamamen dolduracak şekilde yerleştirilmeleri ve ayrıca kullandığımız implantın boyun kemik içine yerleşen kısmından daha geniş olmasının sağladığı mekanik bariyer görevi nedeniyle membran kullanılmadı.

İmplant materyali ve yüzey topografisi KİK'i etkileyen kritik faktörlerdendir (Wennerberg ve ark., 1995; Wennerberg ve ark., 1996; 1997; Cochran ve ark., 1998). Yapılan klinik ve histomorfometrik çalışmalar asit ile pürüzlendirilmiş implantların pürüzlendirilmemiş titanyum implantlardan daha iyi KİK değerlerine sahip olduğunu göstermektedir (Veis ve ark., 2007); Sullivan ve Sherwood 1997; Lazzara ve ark., 1998; 1999; Davies 1998).

Salata ve ark. (2007) çalışmasında 12. hafta sonunda defekt içindeki KİK değerleri BMP grubunda okside yüzeyli implantlar için % 32.3, pürüzlendirilmemiş implantlarda ise % 22.6 olarak bildirilmiştir. İmplant yüzeylerinin pürüzlendirilmesinde çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Cochran ve ark. (1998) köpeklerde yaptıkları deneysel çalışmada titanyum plazma sprey ve SLA (Sand-blasted, Largegrit, Acid-etched yüzeyler) yüzeyli titanyum implantları karşılaştırmışlardır. 3. aydaki sonuçlar iki yüzey arasında anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir. Göransson (2003) tavşan femur ve tibiasında pürüzlendirilmemiş, okside edilmiş ve NaOH ile pürüzlendirilmiş implantları karşılaştırmış, 4 haftalık iyileşme sonunda bir fark olmadığını rapor etmiştir. Çalışmalarda kullanılan implantlar farklı hayvan modellerinde, farklı implant yüzeyleri kullanılarak farklı alıcı sahalara yerleştirilmiş olmasına rağmen KİK verileri birbirine yakındır. Bununla beraber yüzey pürüzlülüğünün osteoblast adezyonunu etkileyerek osseointegrasyon hızını ve miktarını arttırabileceği düşünülmektedir (Schwartz ve ark., 1996a). Yüzey pürüzlülüğü oluşturulan kemik defektlerindeki serbest kemik hücrelerinin implant yüzeyine tutunma şansını arttırabilir (Davies, 1998). SLA yüzeyli implantlar oldukça başarılı klinik sonuçlar vermektedir (Abrahamsson ve ark., 2004; Buser ve ark., 2004). Li ve ark. (2002) SLA yüzeylerle, asit uygulanmış torna yüzeylerin biyomekanik olarak osseointegrasyonunu kıyaslamışlar ve SLA yüzeylerin tork direncini daha yüksek bulmuşlardır. Buser ve ark. (1991) farklı implant yüzeylerinde kemik-implant temasını histolojik olarak incelemişler ve Cilalı Orta Dereceli-kumlanmış-asitlenmiş, Titanyum Plazma Spray, Large-grid kumlanmış, HA kaplama, SLA yüzeyleri kıyaslandığında, HA kaplı yüzeylerden sonra en çok kemik-implant temasının SLA yüzeylerde olduğunu bulmuşlardır.

Çalışmamızda kullanılan dental implantlar da SLA yüzey özelliklerine sahiptir. Özellikle greftlenmiş sinüs, çekim soketi gibi zayıf kemik kalitesinin olduğu durumlarda pürüzlendirilmiş yüzeye sahip implantların erken dönemde daha başarılı KİK değerleri gösterdiği bildirilmiştir (Novaes ve ark., 2002; Khoury, 1996; Wilson ve ark., 1998). Çalışmamızdaki amacımız MKH'lerin osteojenik etkisini ortaya koymak olduğundan implant dizayn ve yüzey özelliklerinin aynı olmalarına dikkat edildi.

Çalışmamızda TZP+Hücre Kültürü kombinasyonunun iyileşme üzerine olumlu etkileri net bir şekilde gözlemlendi. Osseointegrasyonun başarısında osteoblast hücre kültürünün KİK oranını istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığı saptandı.

Sonuç olarak, diş hekimliği ogmentasyon uygulamalarında güncel bir tedavi yaklaşımı olan doku mühendisliğinin gelişmesine katkı sağladığını düşündüğümüz bu çalışma gelecekte yapılacak ileri çalışmalara ışık tutacaktır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Uygulanan cerrahiye olan yatkınlığı, kemik iyileşmesinin insana olan benzerliği nedeniyle koyun bu tür çalışmalar için uygun bir denek modeli olarak kabul edilebilir.
- Denek modeli olarak koyun seçilen dental implant çalışmalarında koyun mandibulası sahip olduğu interalveoler boşluğu nedeniyle kemik cerrahisi için geniş ve rahat bir çalışma alanı sağlar. Ayrıca ekstraoral yaklaşımla iyileşme sırasında oral bölge enfeksiyöz ajanlarından bağımsız çalışma imkanı sağladığından avantajlıdır.
- Koyunun tercih edilme sebeplerinden bir diğeri büyük hacimde TZP eldesini gerektiren çalışmalarda, sağladığı büyük miktardaki otojen kan ihtiyacına cevap vermesidir.
- TZP hazırlanması esnasında sterilizasyona dikkat edilmeli, hazırlayan kişi, teknik hakkında bilgili ve tecrübeli olmalıdır.
- MKH hazırlanmasında laboratuvar şartları gerekli uygulamalara cevap verecek nitelikte olmalı ve hazırlanması sırasında hassas bir çalışma gerektirmektedir.
- İn vitro ortamda istenilen miktarda ve zamanda gerekli olan hücre kültürü materyalinin hazırlanabileceği görüldü.
- MKH'lerin farklılaşabilme özelliğinden faydalanılarak osteoblast hücre kültürünün elde edilebildiği görüldü.
- MKH'lerin transferleri sonrası herhangi bir immün yanıt veya enfeksiyon tespit edilmedi.
- Sekiz haftalık iyileşme periyodu sonunda kemik implant kontağı oranının en fazla Hücre Kültürü+TZP uygulanan defektlerde olduğu görüldü. TZP uygulanan defektlerdeki oranında boş olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi.
- Dental implant cerrahisinde uygulanacak rejenereatif yaklaşımlardan olan doku mühendisliği ile mevcut veya kazanılmış defektlerin başarılı bir şekilde tedavi edilebildiği görüldü.

- Bu çalışmaların sayısının artmasının, bu uygulamanın rutin hale gelmesinde buyk fayda sağlayacağını ve bu amaçla ileri yeni çalışmaların yapılmasına gerek olduğunu dşunmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

- Abdel-Hamid, M., Hussein, M.R., Ahmad, A.F., Elgezawi, E.M. (2005). Enhancement of the repair of meniscal wounds in the redwhite zone (middle third) by the injection of bone marrow cells in canine animal model. *International Journal of Experimental Pathology*, **86(2)**, 117-123.
- Abrahamsson, I., Berglundh, T., Linder, E., Lang, N.P., Lindhe, J. (2004). Early bone formation adjacent to rough and turned endosseous implant surfaces. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res*, **15(4)**381–392.
- Abukawa, H., Micheal, S., Williams, W.B., Vacanti, J.P., Kaban, L.B., Troulis, M.J. (2004). Reconstruction of mandibular defects with autologous tissue engineered bone. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, **62(5)**, 601–606.
- Abukawa, H., Terai H., Hannouche, D., Vacanti, J.P., Kaban, L.B., Troulis, M.J. (2003). Formation of a mandibular condyle in vitro by tissue engineering. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, **61(1)**, 94–100.
- Abushahba, F., Renvert, S., Polyzois, I., Claffey, N. (2008). Effect of grafting materials on osseointegration of dental implants surrounded by circumferential bone defects. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res*, **19(4)**, 329–334.
- Aghaloo, T.L., Moy, P.K., Freymiller, E.G. (2002). Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A pilot study. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, **60(10)**, 1176-1181.
- Akintoye, S.O., Lam, T., Shi, S., Brahim, J., Collins, M.T., Robey, P.G. (2006). Skeletal site-specific characterization of orofacial and iliac crest human bone marrow stromal cells in same individuals. *Bone*. **38(6)**, 758-68.
- Alhadlaq, A., Tang, M., Mao, J.J. (2005). Engineered adipose tissue from human mesenchymal stem cells maintains predefined shape and dimension: implications in soft tissue augmentation and reconstruction. *Tissue Engineering*, **11(3-4)**, 556-566.
- Alhadlaq, A., Mao, J.J. (2005b). Tissue-engineered osteochondral constructs in the shape of an articular condyle. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American volume*, **87(5)**, 936-944.
- Alison, M.R., Golding, M., Sarraf, C.E. (1997). Liver stem cells: when the going gets tough they get going. *International Journal of Experimental Pathology*, **78(6)**, 365–381.
- Alpar, K. (1980). *Ortopedi İlkeleri ve Uygulamaları*. Yargıçoğlu Matbaası, Ankara.

- Altmeppen, J., Hansen, E., Bonnländer, G.L., Horch, R.E., Jeschke, M.G.(2004). Composition and characteristics of an autologous thrombocyte gel. *The Journal of Surgical Research*, **117(2)**, 202-207.
- Andrew, J.G., Hoyland, J.A., Freemont, A.J., Marsh, D.R. (1995). Platelet-derived growth factor expression in normally healing human fractures. *Bone*, **16(4)**, 455-460.
- Anitua, E. (1999). Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, **14(4)**, 529-535.
- Anitua, E. (2001). The use of plasma-rich growth factors (PRGF) in oral surgery. *Practical Procedures & Aesthetic Dentistry: PPAD*, **13(6)**, 487-493.
- Ashton, B.A., Allen, T.D., Howlett, C.R., Eaglesom, C.C., Hattori, A., Owen, M. (1980). Formation of bone and cartilage by marrow stromal cells in diffusion chambers in vivo. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, (**151**), 294-307.
- Ataoğlu, T., Gürsel, M. (1999). *Periodontoloji*. III. Baskı,. Damla Ofset AŞ, Konya.
- Aukhil, I. (2000). Biology of wound healing. *Periodontology 2000*, **22(1)**, 44-50.
- Azizi, S.A., Stokes, D., Augelli, B.J., DiGirolamo, C., Prockop, D.J. (1998). Engraftment and migration of human bone marrow stromal cells implanted in the brains of albino rats—similarities to astrocyte grafts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **95(7)**, 3908-3913.
- Bab, I., Passi-Even, L., Gazit, D., Sekeles, E., Ashton, B.A., Peylan-Ramu, N., Ziv, I., Ulmansky, M. (1988). Osteogenesis in in vivo diffusion chamber cultures of human marrow cells. *Bone and Mineral*, **4(4)**, 373-386.
- Barry, F.P., Murphy, J.M. (2004). Mesenchymal stem cells: Clinical applications and biological characterization. *The Int. Journal of Biochem. & Cell Biol*, **36**, 568-584.
- Bartold, P.M., Mcculloch, C.A.G., Narayanan, A.S., Pitaru, S. (2000). Tissue engineering: a new paradigm for periodontal regeneration based on molecular and cell biology. *Periodontology 2000*, **24(1)**, 253-269.
- Bartold, P.M., Shi, S., Gronthos, S. (2006). Stem cells and periodontal regeneration. *Periodontology 2000*, **40(1)**, 164-172.
- Bartold, P.M., Narayanan, A.S., Page, R.C. (1992). Platelet-derived growth factor reduces the inhibitory effects of lipopolysaccharide on gingival fibroblast proliferation. *Journal of Periodontal Research*, **27(5)**, 499-505.

- Baum, C.M., Weissman, I.L., Tsukamoto, A.S., Buckle, A.M., Peault, B. (1992). Isolation of a candidate human hematopoietic stem-cell population. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **89**(7), 2804–2808.
- Bayar, G. R. (2004) Ooferektomi Uygulanmış Tavşanlarda Periosteal Distraksiyon ile Elde Edilen Yeni Kemik Dokuların Değerlendirilmesi. *Dişhekimliği Bilimleri Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Programı Doktora Tezi*, GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Becker, W. (2003). Treatment of small defects adjacent to oral implants with various biomaterials. *Periodontology 2000*, **33**, 26–35.
- Becker, W., Urist, M.R., Tucker, L.M., Becker, B.E., Ochsenein, C. (1995). Human demineralized freeze-dried bone: inadequate induced bone formation in athymic mice. A preliminary report. *Journal of Periodontology*, **66**(9), 822–828.
- Becker, J.C., Beckbauer, M., Domschke, W., Herbst, H., Pohle, T. (2005). Fibrin glue, healing of gastric mucosal injury and expression of growth factors: results from a human in vivo study. *Gastrointestinal Endoscopy*, **61**(4), 560–566.
- Becker, K. L. (1990). Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism. J.B. Lippincott Co, Philadelphia.
- Bergmann, J.E., Kupper, A., Singer, S.J. (1983). Membrane insertion at the leading edge of motile fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci*, **80**(5), 1367–1371.
- Bolander, M.E. (1992). Regulation of fracture repair by growth factors. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)*, **200**(2), 165–170.
- Bongso, A., Lee, E. H. (2005). Stem Cells: Their Definition, Classification and Sources, Stem Cells from Bench to Bedside. *World Scientific Publishing Co.*, Singapur.
- Botticelli, D., Berglund, T, Lindhe, J. (2004). The influence of a biomaterial on the closure of a marginal hard tissue defect adjacent to implants. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res*, **15**(3), 285–292.
- Boyne, P.J., Marx, R.E., Nevins, M., Triplett, G., Lazaro, E., Lilly, L.C., Alder, M., Nummikoski, P. (1997). A feasibility study evaluating rhBMP-2/ absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. *Int Journal Periodontics Restorative Dent*, **17**(1), 11–25.
- Branemark, P-I., Breine, U., Adell, R., Hansson, B.O., Lindström, J., Olsson, A. (1969). Intraosseous anchorage of dental prostheses. 1. Experimental studies. *Scand Journal Plast Reconstr Surg*, **3**(2), 81–100.

- Branemark, P-I., Hansson, B.O., Adell, R., Breine, U., Lindström, J., Hallen, O., Ömann, A. (1977). Osseo-integrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand Journal Plast Reconstr Surg*, (suppl 16).
- Branemark, P-I. (1965). Capillary form and function. The microcirculation of granulation tissue. *Bibl Anat*, **7**, 9-28.
- Brose, M.O., Michney, R., Rieger, M.R., Tranquist, R.A. (1989). Titanium alloy implants for fixed and removable prostheses. *Journal Dental Research*, **68**, 377.
- Brown, G.L., Curtsinger, L.J., White, M., Mitchell, R.O., Pietsch, J., Nordquist, R., von Fraunhofer, A., Schultz, G.S. (1988). Acceleration of tensile strength of incisions treated with EGF and TGF- β . *Annals of Surgery*, **208(6)**, 788-794.
- Bruce, R., Dziewitkowsi, D. (1987). Differentiation of the organic matrix in bone repair. *Journal Oral Maxillofacial Surgery*, **45(11)**, 939-944.
- Buck, B.E., Malinin, T.L. (1994). Human bone and tissue allografts. *Clin Orthop*, **303**, 8-17.
- Bucknall, T.E., Ellis, H. (1984). In: *Wound Healing for Surgeons*, Bailliere Tindall, London, UK, 42-74.
- Burwell, R.G. (1966). Studies in the transplantation of bone. Treated composite homograft-autografts of cancellous bone: An analysis of inductive mechanisms in bone transplantation. *Journal Bone Joint Surg*, **48B(3)**, 532-566.
- Buser, D., Broggin, N., Wieland, M., Schenk, R.K., Denzer A.J., Cochran, D.L., Hoffmann, B., Lussi, A., Steinemann, S.G. (2004). Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface. *Journal Dent Res*, **83(7)**, 529-533.
- Buser, D., Schenk, R.K., Steinemann, S., Fiorellini, J.P., Fox, C.H., Stich, H. (1991). Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. *Journal Biomed Mater Res*, **25(7)**, 889-902.
- Callan, D.P., Salkeld, S.L., Scarborough, N.L. (2000). Histologic analysis of implant sites after grafting with demineralized bone matrix putty and sheets. *Implant Dent*, **9(1)**, 36-42.
- Camargo, P.M., Lekovic, V., Weinlaender, M., Vasilic, N., Madzarevic, M., Kenney, E.B. (2002). Platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. *Journal of Periodontal Research*, **37(4)**, 300-306.

- Canalis, E., McCarthy, T., Centrella, M. (1988). Isolation of growth factors from adult bovine bone. *Calcified Tissue International*, **43(6)**, 346-351.
- Canalis, E., Pash, J., Gabbitas, B., Rydziel, S., Varghese, S. (1993). Growth factors regulate the synthesis of insulin-like growth factor-I in bone cell cultures. *Endocrinology*, **133(1)**, 33- 38.
- Caranza, F. A., Newman, M. G. (1996). *Clinical Periodontology*. 8. Baski, W.B. Saunders Company, USA.
- Carmeliet, P. (2000). Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nature Medicine*, **6(3)**, 389-395.
- Carpio, L., Loza, J., Lynch, S., Genco, R. (2000). Guided bone regeneration around endosseous implants with anorganic bovine bone mineral. A randomized controlled trial comparing bioabsorbable versus non-resorbable barriers. *Journal Periodontology*, **71(11)**, 1743-1749.
- Carter, C.A., Jolly, D.G., Worden, Sr C.E., Hendren, D.G., Kane, C.J.M. (2003). Platelet Rich Plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. *Experimental and Molecular Pathology*, **74(3)**, 244-255.
- Cassiede, P., Dennis, J.E, Ma, F., Caplan, A.I. (1996). Osteochondrogenic potential of marrow mesenchymal progenitor cells exposed to TGF-beta 1 or PDGF-BB as assayed in vivo and in vitro. *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, **11(9)**, 1264–1273.
- Centrella, M., McCarthy, T.L., Kusmik, W.F., Canalis, E. (1991). Relative binding and biochemical effects of heterodimeric and homodimeric isoforms of platelet-derived growth factor in osteoblast-enriched cultures from fetal rat bone. *Journal of Cellular Physiology*, **147(3)**, 420-426.
- Chen, J.C., Goldhamer, D.J. (2003). Skeletal muscle stem cells. *Reproductive Biology and Endocrinology*, **1**, (101), 1-7.
- Chiang, H., Kuo, T.F., Tsai, C.C., Lin, M.C., She, B.R., Huang, Y.Y., Lee, H.S., Shieh, C.S., Chen, M.H., Ramshaw, J.A., Werkmeister, J.A., Tuan, R.S., Jiang, C.C. (2005). Repair of porcine articular cartilage defect with autologous chondrocyte transplantation. *Journal of Orthopaedic Research: Official Publication of the Orthopaedic Research Society*, **23(3)**, 584-593.
- Chutro, P. (1918). Greffe osseuse du tibia, *Bulletins et Mémoires de Société des Chirugiens de Paris*, 44, 570.

- Cmolik, B.L., Spero, J.A., Magovern, G.J., Clark, R.E. (1993). Redo cardiac surgery: late bleeding complications from topical thrombin-induced factor V efficiency. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, **105**(2), 222-227.
- Cochran, DL, Schenk, RK, Lussi, A, Higginbottom, FL, Buser, D. (1998). Bone response to unloaded and loaded titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: a histometric study in the canine mandible. *Journal Biomed Mater Res*, **40**(1), 1-11.
- Cochran, D.L., Wozney, J.M. (1999). Biological mediators for periodontal regeneration. *Periodontology 2000*, **19**(1), 40-58.
- Colville-Nash, P.R., Willoughby, D.A. (1997). Growth factors in angiogenesis: current interest and therapeutic potential. *Molecular Medicine Today*, **3**(1), 14-23.
- Currie, L.J., Sharpe, J.R., Martin, R. (2001). The use of fibrin glue in skin grafts and tissueengineered replacements: A Review. *Plastic and Reconstructive Surgery*, **108**(6), 1713-1726.
- Dallari, D., Fini, M., Stagni, C., Torricelli, P., Nicoli, Aldini, N., Giavaresi, G., Cenni, E., Baldini, N., Cenacchi, A., Bassi, A., Giardino, R., Fornasari, P.M., Giunti, A. (2006). In vivo study on the healing of bone defects treated with bone marrow stromal cells, platelet-rich plasma, and freeze-dried bone allografts, alone and in combination. *Journal of Orthopaedic Research: Official Publication of the Orthopaedic Research Society*, **24**(5), 877-888.
- Daughaday, W.H., Rotwein, P. (1989). Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum, and tissue concentrations. *Endocrine Reviews*, **10**(1), 68-91.
- Davarpanah, M., Martinez, H. (2004). *Clinical Manual of Implant Dentistry*. First Ed, Quintessence, London.
- Davies, JE. (1998). Mechanisms of endosseous integration. *International Journal Prosthodont*, **11**(5), 391-401.
- De Kok, I.J., Peter, S.J., Archambault, M., van den Bos, C., Kadiyala, S., Aukhil, I., Cooper, L.F. (2003). Investigation of allogeneic mesenchymal stem cell-based alveolar bone formation: preliminary findings. *Clinical Oral Implants Research*, **14**(4), 481-489.
- de Vicente, JC., Recio, O., Martin-Villa, L., Junquera, L.M., Lopez-Arranz, J.S. (2006). Histomorphometric evaluation of guided bone regeneration around implants with SLA surface: an experimental study in beagle dogs. *International Journal Oral Maxillofacial Surg*, **35**(11), 1047-1053.
- Deans, R.J., Moseley, A.B. (2000). Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses. *Experimental Hematology*, **28**(8), 875-884.

- Derubeis, A. R., Cancedda, R. (2004). Bone Marrow Stromal Cells (BMSCs) in bone engineering: Limitations and recent advances. *Annals of Biomedical Engineering*, **32(1)**, 160-165.
- Dimitriou, R., Tsiridis, E., Giannoudis, P. V. (2005). Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury, Int. Journal Care Injured*, **36(12)**, 1392-1404.
- Distler, O., Neidhart, M., Gay, R.E., Gay, S. (2002). The molecular control of angiogenesis. *International Reviews of Immunology*, **21(1)**, 33-49.
- Donath, K, Breuner, G. (1982). A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. *Journal Oral Pathology*, **11**, 318–326.
- Dugrillon, A., Eichler, H., Kern, S., Klüter H. (2002). Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, **31(6)**, 615-619.
- Eglitis, M.A., Mezey, E. (1997). Hematopoietic cells differentiate into both microglia and macroglia in the brains of adult mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **94(8)**, 4080–4085.
- Einhorn, T.A., Glowacki, J., Brighton, C.T., Lane, J.M., Freidlander, G. (1994). Bone formation and repair. *American Academy of Orthopedic Surgeons*, Distraction osteogenesis, 235-270.
- Fehrer, C., Lepperdinger, G. (2005). Mesenchymal stem cell aging. *Experimental Gerontology*, **40(12)**, 926-930.
- Ferrari, G., Cusella-De Angelis, G., Coletta, M. (1998). Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science*, **279(5356)**, 1528–1530.
- Ferreira, C.F., Carriel, Gomes, M.C., Filho, J.S., Granjeiro, J.M., Oliveira, Simoes, C.M., Magini, R.S. (2005). Platelet-rich plasma influence on human osteoblasts growth. *Clinical Oral Implants Research*, **16(4)**, 456-460.
- Fibbe, W. E. (2002). Mesenchymal Stem Cells: A potential source for skeletal repair. *An. Rheum. Dis*, **61(Suppl 2)**, 29-31.
- Fonseca, J. R. (2000). *Oral and Maksillofacial Surgery*. 3.Baskı, W.B. Saunders Company. Philadelphia.
- Frank, J., Carroll, C.M., Aaranson, K., Ogden, L., Kim, M., Anderson, G.L., Swietzer, L., Bond, S.J., Uhl, E., Barker, J.H. (1996). Ischemia increases the angiogenic potency of basic fibroblast growth factor (FGF-2). *Microsurgery*, **17(8)**, 452-456.

- Freilich, M.M., Sandor, G.K. (2006). Ambulatory in-office anterior iliac crest bone harvesting. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod*, **101(3)**, 291-298.
- Friedenstein, A. J. (1976). Precursor cells of mechanocytes. *Int. Rev. Cytol*, **47**, 327-359.
- Furusaw, T., Mizunuma, K. (1997). Osteoconductive properties and efficacy of resorbable bioactive glass as a bone-grafting material. *Implant Dent*, **6(2)**, 93-101.
- Fuchs, J.R., Hannouche, D., Terada, S., Vacanti, J.P., Fauza, D.O. (2003). Fetal tracheal augmentation with cartilage engineered from bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells. *Journal of Pediatric Surgery*, **38(6)**, 984–987.
- Gellrich, NC., Held, U., Schoen, R., Pailing, T., Schramm, A., Bormann, KH. (2007). Alveolar zygomatic buttress: a new donor site for limited preimplant augmentation procedures. *Journal Oral Maxillofacial Surgery*, **65(2)**, 275-280.
- Gerson, S.L. (1999). Mesenchymal stem cells: no longer second class marrow citizens. *Nature Medicine*, **5(3)**, 262–264.
- Giannobile, W.V. (1996). Periodontal tissue engineering by growth factors. *Bone* **19(1.Suppl)**, 23S–37S.
- Gonshor, A. (2002). Technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate: background and process. *International Journal of Periodontics Restorative Dentistry*, **22(6)**, 547-557.
- Goshima, J., Goldberg, V.M., Caplan, A.I. (1991). The osteogenic potential of culture-expanded rat marrow mesenchymal cells assayed in vivo in calcium phosphate ceramic blocks. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, **262**, 298–311.
- Gottrup, F., Fogdestam, I., Hunbt, T.K. (1982). Delayed primary closure: An experimental and clinical review. *Journal Clin Surg*, **1**, 113-124.
- Goujon, E. (1869). Recherches expérimentales sur les propriétés, *Journal Anat*, **6**, 399-412.
- Göransson, A., Jansson, E., Tengvall. P., Wennerberg, A. (2003). Bone formation after 4 weeks around blood-plasma-modified titanium implants with varying surface topographies: an in vivo study. *Biomaterials*, **24**, 197–205.
- Grageda, E., Lozada, J.L., Boyne, P.J., Caplanis, N., Mcmillan, P.J. (2005). Bone Formation in the Maxillary Sinus by Using Platelet–Rich Plasma: An Experimental Study in Sheep. *Journal of Oral Implantology*, **31(1)**, 2 -17.

- Grant, D.A., Stern, J.B., Listgarten, M.A. (1990). *Periodontics*. 6. Baskı, The C.V. Mosby Company, St. Louis, Baltimore, Philadelphia, Toronto.
- Graves, D.T., Valentin-Opran, A., Delgado, R., Valente, A.J., Mundy, G., Piche, J. (1989). The potential role of platelet-derived growth factor as an autocrine or paracrine factor for human bone cells. *Connective Tissue Research*, **23(2-3)**, 209-218.
- Gronthos, S., Franklin, D.M., Leddy, H.A., Robey, P.G., Storms, R.W., Gimble, J.M. (2001). Surface protein characterization of human adipose tissue-derived stromal cells. *Journal of Cellular Physiology*, **189(1)**, 54–63.
- Gronthos, S., Zannettino, A.C., Hay, S.J., Shi, S., Graves, S.E., Kortessidis, A., Simmons, P.J. (2003). Molecular and cellular characterisation of highly purified stromal stem cells derived from human bone marrow. *Journal of Cell Science*, **116(Pt 9)**, 1827–1835.
- Grotendorst, G.R., Martin, G.R., Pencev, D., Sodek, J., Harvey, A.K. (1985). Stimulation of granulation tissue formation by Platelet-derived Growth Factor in normal and diabetic rats. *Journal of Clinical Investigations*, **76(6)**, 2323-2329.
- Grove, J. E., Bruscia, E., Krause, D. S. (2004). Plasticity of bone marrow – derived stem cells. *Stem Cells*, **22(4)**, 487-500.
- Grzesik, W.J., Narayanan, A.S. (2002). Cementum and periodontal wound healing and regeneration. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, **13(6)**, 474-84.
- Güven, O., Keskin, A. (1996). *Çağdaş Preprotetik Cerrahi*. Irmak Matbaacılık, Ankara.
- Halvorsen, Y.D., Franklin, D., Bond, A.L., Hitt, D.C., Auchter, C., Boskey, A.L., Paschalis, E.P., Wilkison, W.O., Gimble, J.M. (2001). Extracellular matrix mineralization and osteoblast gene expression by human adipose tissue-derived stromal cells. *Tissue Engineering*, **7(6)**, 729–741.
- Hauschka, P.V., Mavrakos, A.E., Iafrati, M.D., Doleman, S.E., Klagsbrun, M. (1986). Growth factors in bone matrix. Isolation of multiple types by affinity chromatography on heparin-Sepharose. *The Journal of Biological Chemistry*, **261(27)**, 12665-12674.
- Haynesworth, S.E., Goshima, J., Goldberg, V.M., Caplan, A.I. (1992). Characterization of cells with osteogenic potential from human marrow. *Bone*, **13(1)**, 81-88.
- Hiramatsu, T., Okamura, T., Imai, Y., Kurosawa, H., Aoki, M., Shin'oka, T., Takanashi, Y. (2002). Effects of autologous platelet concentrate reinfusion after open heart surgery in patients with congenital heart disease. *The Annals of Thoracic Surgery*, **73(4)**, 1282-1285.

- Horch, H.H., Sader, R., Pautke, C., Neff, A., Deppe, H., Kolk, A. (2006). Synthetic, pure-phase beta-tricalcium phosphate ceramic granules (Cerasorb[®]) for bone regeneration in the reconstructive surgery of the jaws. *International Journal Oral Maxillofacial Surgery*, **35(8)**, 708-713.
- Howell, T.H., Fiorellini, J.P., Jones, A., Alder, M., Nummikoski, P., Lazaro, E., Lilly, L.C., Cochran, D.L. (1997). A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge device for local alveolar ridge preservation or augmentation. *International Journal Periodontics Restorative Dent*, **17**, 125–139.
- Hudson-Goodman P., Girard N., Jones M.B. (1990). Wound repair and the potential use of growth factors. *Heart & Lung: The Journal of Critical Care*, **19(4)**, 379-384.
- Hughes, F.J., Turner, W., Belibasakis, G., Martuscelli, G. (2006). Effects of growth factors and cytokines on osteoblast differentiation. *Periodontology 2000*, **41(1)**, 48-72.
- Hughes, I. A. (2004). A Perspective on stem cells by a clinician. *European Journal of Endocrinology*, **151**, 3-5.
- Ianus, A., Holz, G.G., Theise, N.D., Hussain, M.A. (2003). In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion. *Journal of Clinical Investigation*, **111(6)**, 843–850.
- Iizarov, G.A., Devyatov, A.A., Kamerin, V.K. (1980). Plastic reconstruction of longitudinal bone defects by means of compression and subsequent distraction. *Acta Chir Plast (Prague)*, **22**,32.
- Ito, K., Yamada, Y., Naiki, T., Ueda, M. (2006). Simultaneous implant placement and bone regeneration around dental implants using tissue-engineered bone with fibrin glue, mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma. *Clinical Oral Implants Research*, **17(5)**, 579–586.
- Izuta, Y., Ochi, M., Adachi, N., Deie, M., Yamasaki, T., Shinomiya, R. (2005). Meniscal repair using bone marrow-derived mesenchymal stem cells: experimental study using green fluorescent protein transgenic rats. *The Knee*, **12(3)**, 217-223.
- Janes, S.M., Lowell, S., Hutter, C. (2002). Epidermal stem cells. *The Journal of Pathology*, **197(4)**, 479–491.
- Jensen, O. T. (2006). Stromal Stem Cell Preparation from Iliac Bone Marrow Aspirate for Sinus Bone Grafting, *The Sinus Bone Graft*. 2.Bask1, Quintessence Publishing Co, Inc, Chicago.
- Jiang, Y., Jahagirdar, B.N., Reinhardt, R.L., Schwartz, R.E., Keene, C.D., Ortiz-Gonzalez, X.R., Reyes, M., Lenvik, T., Lund, T., Blackstad, M., Du, J.,

- Aldrich, S., Lisberg, A., Low, W.C., Largaespada, D.A., Verfaillie, C.M. (2002). Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*, **418(6893)**, 41–49.
- Johansson, C.B., Svensson, M., Wallstedt, L., Janson, A.M., Frisen, J. (1999). Neural stem cells in the adult human brain. *Experimental Cell Research*, **253(2)**, 733–736.
- Jung, R.E., Glauser, R., Scharer, P., Hammerle, C.H.F., Weber, F.E. (2003). The effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans. A randomized, controlled clinical and histomorphometric study. *Clinical Oral Implants Research*, **14**, 556–568.
- Jung, R.E., Cochran, D.L., Domken, O., Seibl, R., Jones, A.A., Buser, D., Hammerle, C.H.F. (2007). The effect of matrix bound parathyroid hormone on bone regeneration. *Clinical Oral Implant Research*, **18(3)**, 319–325.
- Jungueira, L. C., Carneriro, J., Kelley, R. O. (1989). *Basic Histology*. 6. Baskı, A Lange Medical Book. Londra.
- Kadiyala, S., Jaiswal, N., Bruder, S. P. (1997). Culture-expanded, bone marrow-derived mesenchymal stem cells can regenerate a critical-sized segmental bone defect. *Tissue Engineering*, **3**, 173-185.
- Kano, T., Takahashi, T., Tsujisawa, T., Ariyoshi, W., Nishihara, T. (2005). Platelet Rich Plasma Enhances Human Osteoblast-Like Cell Proliferation and Differentiation. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, **63**, 362-369.
- Kassolis, J.D., Rosen, P.S., Reynolds, M.A. (2000). Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series. *Journal of Periodontology*, **71(10)**, 1654–1661.
- Kawaguchi H., Hirachi A., Hasegawa N., Iwata T., Hamaguchi H., Shiba H., Takata T., Kato Y., Kurihara H. (2004). Enhancement of periodontal tissue regeneration by transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells. *Journal of Periodontology*, **75(9)**, 1281-1287
- Kawamura, M., Urist, M.R. (1988). Induction of callus formation by implants of bone morphogenetic protein and associated bone matrix noncollagenous proteins. *Clin Orthop Relat Res*, **236**, 240-248.
- Kawase, T., Okuda, K., Wolff, L.F., Yoshie, H. (2003), Platelet-rich plasmaderived fibrin clot formation stimulates collagen synthesis in periodontal ligament and osteoblastic cells in vitro. *Journal of Periodontology*, **74(6)**, 858-864.
- Khouri, R.K., Brown, D.M., Leal-Khouri, S.M., Tark, K.C., Shaw, W.W. (1991). The effect of basic Fibroblast Growth Factor on the neovascularization process:

skin flap survival and staged flap transfers. *British Journal of Plastic Surgery*, **44(8)**, 585-588.

- Khoury, F. (1996). Augmentation of the sinus floor with mandibular bone block and simultaneous implantation: a 6-year clinical investigation. *International Journal Oral Maxillofacial Implants*, **14**, 557-564.
- Kıbrıck, M., Murır, Z.A., Lash, H., Fox, S.S. (1975). The Development of a Material System for an Endosteal Tooth Implant. *Journal Oral Implatology*, **6**, 172.
- Kim, C.S., Choi, S.H., Cho, K.S., Chai, J.K., Wikesjö, U.M., Kim, C.K. (2005). Periodontal healing in one-wall intra-bony defects in dogs following implantation of autogenous bone or a coral-derived biomaterial. *Journal of Clinical Periodontology*, **32(6)**, 583-589.
- Kim, S.G., Chung, C.H., Kim, Y.K., Park, J.C., Lim, S.C. (2002). Use of particulate dentin-plaster of Paris combination with/without platelet-rich plasma in the treatment of bone defects around implants. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, **17(1)**, 86-94.
- King, G.N., Cochran, D.L. (2002). Factors that modulate the effects of bone morphogenetic protein-induced periodontal regeneration: a critical review. *Journal of Periodontology*, **73(8)**, 925-936.
- Kitamura, S., Ohgushi, H., Hirose, M., Funaoka, H., Takakura, Y., Ito, H. (2003). Osteogenic differentiation of human bone marrow derived mesenchymal cells cultured on alumina ceramics. *Artificial Organs*, **28(1)**, 72-92.
- Klagsbrun, M., D'amore, P.A. (1991). Regulators of angiogenesis. *Annual Reviews of Physiology*, **53**, 217- 239.
- Kneser, U., Schaefer, D. J., Polykandriotis, E., Horch, R. E. (2006). Tissue engineering of bone: The reconstructive surgeon's point of view. *Journal Cell Mol. Med*, **10(1)**, 7-19.
- Kon, E., Muraglia, A., Corsi, A., Bianco, P., Marcacci, M., Martin, I., Boyde, A., Ruspantini, I., Chistolini, P., Rocca, M., Giardino, R., Cancedda, R., Quarto, R. (2000). Autologous bone marrow stromal cells loaded onto porous hydroxyapatite ceramic accelerate bone repair in critical-size defects of sheep long bones. *Journal of Biomedical Materials Research*, **49(3)**, 328-337.
- Kortesidis, A., Zannettino, A., Isenmann, S., Shi, S., Lapidot, T., Gronthos, S. (2005). Stromal-derived factor-1 promotes the growth, survival, and development of human bone marrow stromal stem cells, *Blood*, **105(10)**, 3793-3801.
- Kostopoulos, L., Karring, T. (1995). Role of periosteum in the formation of jaw bone. *Journal Clinical Periodontology*, **22(3)**, 247-254.

- Krampera, M., Pizzolo, G., Aprili, G., Franchini, M. (2006). Mesenchymal stem cells for bone, cartilage, tendon and skeletal muscle repair. *Bone*, **39(4)**, 678-683.
- Krause, D.S., Theise, N.D., Collector, M.I., Henegariu, O., Hwang, S., Gardner, R., Neutzel, S., Sharkis, S.J. (2001). Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell*, **105(3)**, 369-377.
- Krebsbach, P.H., Kuznetsov, S.A., Satomura, K., Emmons, R.V., Rowe, D.W., Robey, P.G. (1997). Bone formation in vivo: comparison of osteogenesis by transplanted mouse and human marrow stromal fibroblasts. *Transplantation*, **63**, 1059–1069.
- Krebsbach P.H., Mankani M.H., Satomura K., Kuznetsov S.A., Robey P.G. (1998). Repair of craniotomy defects using bone marrow stromal cells. *Transplantation*, **66(10)**, 1272-1278.
- Krump, J.L., Barnett, B.G. (1991). The immediate implant: a treatment alternative. *International Journal Oral Maxillofacial Implants*, **6**, 19–23.
- Ksander, G.A., Sawamura, S.J., Ogawa, Y., Sundsmo, J., McPherson, J.M. (1990). The effect of platelet releasate on wound healing in animal models. *Journal of the American Academy of Dermatology*, **22(5)**, 781-791.
- Kuznetsov, S.A., Krebsbach, P.H., Satomura, K., Kerr, J., Riminucci, M., Benayahu, D., Robey, P.G. (1997). Single-colony derived strains of human marrow stromal fibroblasts form bone after transplantation in vivo. *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, **12(9)**, 1335-1347.
- Landesberg, R., Roy, M., Glickman, R.S. (2000). Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, **58(3)**, 297-300.
- Langer, R., Vacanti, J.P. (1993). Tissue engineering. *Science*, **260(5110)**, 920-926.
- Lapidot, T., Dar, A., Kollet, O. (2005). How do stem cells find their way home?. *Blood*, **106(6)**, 1901-1909.
- Laurie, S.W.S., Kaban, B., Mulliken, J.B., Murray, J.E. (1984). Donor site morbidity after harvesting rib and iliac bone. *Plastic and Reconstructive Surgery*, **73(6)**, 933-938.
- Lazzara, R.J., Porter, S.S., Testori, T., Galante, J., Zetterqvist, L. (1998). A prospective multicenter study evaluating loading of osseotite implants two months after placement: one-year results. *Journal Esthet Dent*, **10**, 280–289.

- Lazzara, R.J., Testori, T., Trisi, P., Porter, S.S., Weinstein, R.L. (1999). A human histologic analysis of osseotite and machined surfaces using implants with 2 opposing surfaces. *International Journal Periodontics Restorative Dent*, **19**, 117–129.
- Lechner, S., Huss, R., (2006). Bone engineering: Combining smart biomaterials and the application of stem cells. *Artificial Organs*, **30(10)**, 770-774.
- Lee, C.Y. (2005). A new method to harvest ramus bone using the erbium, chromium: yttrium-scandium-gallium-garnet laser. *Journal Oral Maxillofacial Surgery*, **63(6)**, 879-882
- Lee, J.Y., Qu-Petersen, Z., Cao, B., Kimura, S., Jankowski, R., Cummins, J., Usas, A., Gates, C., Robbins, P., Wernig, A., Huard, J. (2000). Clonal isolation of muscle-derived cells capable of enhancing muscle regeneration and bone healing. *The Journal of Cell Biology*, **150(5)**, 1085–1100.
- Lekovic, V., Camargo, P.M., Weinlaender, M., Vasilic, N., Kenney, E.B. (2002). Comparison of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral, and guided tissue regeneration versus platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects: a reentry study. *Journal of Periodontology*, **73(2)**, 198-205.
- Lekovic, V., Camargo, P.M., Weinlaender, M., Vasilic, N., Alecsic, Z., Kenney, E.B. (2003). Effectiveness of a combination of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration in the treatment of mandibular grade II molar furcations in humans. *Journal of Clinical Periodontology*, **30(8)**, 746-751.
- Li, Z., Li, Z. B. (2005). Repair of mandible defect with tissue engineering bone in rabbits. *ANZ Journal Surgery*, **75(11)**, 1017-1021.
- Li, D., Ferguson, S.J., Beutler, T., Cochran, D.L., Sittig, C., Hirt, H.P., Buser, D. (2002). Biomechanical comparison of the sandblasted and acid-etched and the machined and acid-etched titanium surface for dental implants. *Journal Biomedical Material Res*, **60(2)**, 325-332.
- Lindhe, J., Branemark, P-I. (1970). Observations on vascular proliferation in a granulation tissue. *Journal Periodontal Research*, **5**, 276-292.
- Lindhe, J., Karring, T., Lang, N.P. (2003). *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. 4th Ed., Oxford: Blackwell Publishing Company.
- Lindholm, T.S., Nilsson, O.S. (1982). Extraskkeletal and intraskkeletal new bone formation induced by demineralized bone matrix combined with marrow cells. *Clinical Orthop Relat Res*, **171**, 251-255.

- Lings, R.S. (1994). Femoral reconstruction with morcelized bone graft and cemented stem. *Chir Organi Mov*, **79(4)**, 305-311.
- Lucarelli, E., Beccheroni, A., Donati, D., Sangiorgi, L., Cenacchi, A., Del Vento, A.M., Meotti, C., Bertoja, A.Z., Giardino, R., Fornasari, P.M., Mercuri, M., Picci, P. (2003). Platelet derived growth factors enhance proliferation of human stem cells. *Biomaterials*, **24(18)**, 3095–3100.
- Lynch, S.E., Genco, R.J., Marx, R.E. (1999). Platelet-Rich Plasma: A source of multiple autologous growth factors for bone grafts. In: *Tissue Engineering, Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics*. Ed: Carol Stream, Quintessence Publishing Co, Illinois,:71-83.
- Lynch, S.E., Ruiz de Castilla, G., Williams, R.C., Kiritsy, C.P., Howell, T.H., Reddy, M.S., Antoniades, H.N. (1991a). The effects of short-term application of a combination of platelet-derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing. *Journal of Periodontology*, **62**, 458–467.
- Lynch, S.E., Buser, D., Hernandez, R.A., Weber, H.P., Stich, H., Fox, C.H., Williams, R.C. (1991b). Effects of the platelet-derived growth factor/insulin-like growth factor-I combination on bone regeneration around titanium dental implants. Results of a pilot study in beagle dogs. *Journal of Periodontology*, **62**, 710-716.
- Machens, H.G., Salehi, J., Weich, H., Münch, S., Siemers, F., Krapohl, B.D., Herter, K.H., Krüger, S., Reichert, B., Berger, A., Vogt, P., Mailänder, P. (2003). Angiogenic effects of injected VEGF165 and sVEGF-1 (sFLT-1) in a rat flap model. *The Journal of Surgical Research*, **111(1)**, 136-142.
- Makino, S., Fukuda, K., Miyoshi, S. (1999). Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *Journal of Clinical Investigation*, **103(5)**, 697-705.
- Malmquist, J.P., Sennerby, L. (1991). Clinical report on the success of 47 consecutively placed core-vent implants followed from 3 months to 4 years. *International Journal Oral Maxillofacial Implants* **5**, 53.
- Man, D., Plosker, H., Winland-Brown, J.E. (2001). The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plastic and Reconstructive Surgery*, **107(1)**, 229-237.
- Margolin, M.D., Cogan, A.G., Taylor, M., Buck, D., Mcallister, T.N., Toth, C., Mcallister, B.S. (1998). Maxillary sinus augmentation in the non-human primate: a comparative radiographic and histologic study between recombinant human osteogenic protein-1 and natural bone mineral. *Journal Periodontol*, **69**, 911–919.

- Maria, O.M., Khosravi, R., Mezey, E., Tran, S.D. (2007). Cells from bone marrow that evolve into oral tissues and their clinical applications. *Oral Diseases*, **13(1)**, 11-16.
- Marshman, E., Booth, C., Potten, C.S. (2002). The intestinal epithelial stem cell. *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology*, **24(1)**, 91–98.
- Marx, R.E. (1994). Clinical application of bone biology to mandibular and maxillary reconstruction. *Clinics in Plastic Surgery*, **21(3)**, 377-392.
- Marx, R.E., Carlson, E.R., Eichstaedt, R.M., Schimmele, S.R., Strauss, J.E., Georgeff, K.R. (1998). Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology & Endodontics*, **85(6)**, 638–646.
- Marx, R.E., Smyder, R.M., Kline, S.N. (1979). Cellular survival of human marrow during placement of marrow-cancellous bone grafts. *Journal Oral Surgery*, **37**, 712-718.
- Marx, R.E. (2000). Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, **58(3)**, 300-301.
- Marx R.E. (2001). Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dentistry*, **10(4)**, 225-228.
- Marx, R.E. (2004). Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, **62**, 489-496.
- Matras, H. (1985). Fibrin seal: The state of the art. *Journal of Oral Maxillofacial Surgery*, **43(8)**, 605-611.
- Matsubara, T., Suardita, K., Ishii, M., Sugiyama, M., Igarashi, A., Oda, R., Nishimura, M., Saito, M., Nakagawa, K., Yamanaka, K., Miyazaki, K., Shimizu, M., Bhawal, U.K., Tsuji, K., Nakamura, K., Kato Y. (2005). Alveolar bone marrow as a cell source for regenerative medicine: differences between alveolar and iliac bone marrow stromal cells. *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, **20(3)**, 399-409.
- Matsuura, M., Herr, Y., Han, K.Y., Lin, W.L., Genco, R.J., Cho, M.I. (1995). Immunohistochemical expression of extracellular matrix components of normal and healing periodontal tissues in the beagle dog. *Journal of Periodontology*, **66(7)**, 579-593.

- Mc Gaw, W. H., Harbin, M. (1934). The role of bone marrow and endostium in bone regeneration: An experimental study of bone marrow and endosteal transplants. *Journal Bone Joint Surgery*, **16**, 816-821.
- Mcallister, B.S., Margolin, M.D., Cogan, A.G., Taylor, M., Wollins, J. (1998). Residual lateral wall defects following sinus grafting with recombinant human osteogenic protein-1 or Bio-Oss in the chimpanzee. *International Journal Periodontics Restorative Dent*, **18(3)**, 227–239.
- McCain, J.P., Marx, R.E. (1978). A retrospective study of the donor site in bone grafts from the ilium. Paper presented at: *The AAOMS 60th Annual Meeting*
- McCarthy, T.L., Centerlla, M. (1989). Regulatory effects of insulin-like growth factor-I and II on bone collagen synthesis in rat calvarial cultures. *Endocrinology*, **124**, 301-309.
- McGaw, W.H., Harbin, M. (1934). The Role of Bone Marrow and Endosteum in Bone Regeneration. An Experimental Study of Bone Marrow and Endosteal Transplants, *Journal of Bone and Joint Surgery*, **16**, 816-821.
- Mezey, E., Key, S., Vogelsang, G., Szalayova, I., Lange, G.D., Crain, B. (2003). Transplanted bone marrow generates new neurons in human brains. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100(3)**, 1364–1369.
- Minuth, W. W., Strehl, R., Schumacher, K. (2005). *Tissue Engineering Essentials for Daily Laboratory Work*. Wiley-VCH Verlag GmbH&Co. KgaA, Weinheim.
- Misch, C.E. (1999). Bone augmentation for implant placement: Keys to bone grafting. In: Misch CE Ed. *Contemporary Implant Dentistry*, 451-469, St. Louis: Mosby.
- Miura, M., Gronthos, S., Zhao, M., Lu, B., Fisher, L.W., Robey, P.G., Shi, S. (2003). SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100(10)**, 5807–5812.
- Miura, M., Miura, Y., Padilla-Nash, H.M., Molinolo, A.A., Fu, B., Patel, V., Seo, B.M., Sonoyama, W., Zheng, J.J., Baker, C.C., Chen, W., Ried, T., Shi, S. (2005). Accumulated chromosomal instability in murine bone marrow mesenchymal stem cells leads to malignant transformation. *Stem Cells*, **24(4)**, 1095–1103.
- Miura, M., Miura, Y., Sonoyama, W., Yamaza, T., Gronthos, S., Shi, S. (2006). Bone marrow-derived mesenchymal stem cells for regenerative medicine in craniofacial region. *Oral Diseases*, **12(6)**, 514–522.

- Miyamoto, I., Tsuboi, Y., Takahashi, K., Hyon, S. H., Iizuka, T. (2004). Enhancement of bone volume in guided bone augmentation by cell transplants derived from periosteum: An experimental study in rabbit calvarium bone. *Clinical Oral Implants Research*, **15**(3), 308–314.
- Modino, S.A.C., Sharpe, P.T. (2005). Tissue engineering of teeth using adult stem cells. *Archives of Oral Biology*, **50**(2), 255–258.
- Mohan, S., Baylink, D.J. (1991). Bone growth factors. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, **263**, 30-48.
- Moy, P. K., Lundgren, S., Holmes, R. E., (1993). Histomorphometric analysis of graft materials for maxillary sinus floor augmentation. *Journal Oral Maxillofacial Surgery*, **51**(8), 857-862.
- Murugan, R., Ramakrishna, S. (2005). Development of nanocomposites for bone grafting. *Composites Science and Technology*, **65**(15-16), 2385-2406.
- Mutlu, İ. (2005). Distraksiyon Osteogenezisi Uygulanan Tavşanlarda Hiperbarik Oksijen Tedavi Etkinliğinin Değerlendirilmesi. *Dişhekimliği Bilimleri Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Programı Doktora Tezi*, GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Nagatomo, K., Komaki, M., Sekiya, I., Sakaguchi, Y., Noguchi, K., Oda, S., Muneta, T., Ishikawa, I. (2006). Stem cell properties of human periodontal ligament cells. *Journal of Periodontal Research*, **41**(4), 303-310.
- Nall, A.V., Brownlee, R.E., Colvin, C.P., Schultz, G., Fein, D., Cassisi, N.J., Nguyen, T., Karla, A. (1996). Transforming Growth Factor- β 1 improves wound healing and random flap survival in normal and irradiated rats. *Archives of Otolaryngology, Head and Neck Surgery*, **122**, 171-177.
- Narem, R., Sambanis, A. (1995). Tissue engineering: from biology to biological structures. *Tissue Engineering*, **1**, 3-13.
- Nasr, H.F, Aichelmann-Reidy, M.E., Yukna, R.A. (1999). Bone and bone substitutes. *Periodontology 2000*, **19**(1), 74-86.
- Nishibori, M., Betts, N.J., Salama, H., Listgarten, M. A. (1994). Short term healing of autogenous and allogeneic bone grafts after sinus lifting: A report of two cases. *Journal Periodontology*, **65**, 958-966.
- Nkenke, E., Schultze-Mosgau, S., Radespiel-Tröger, M., Kloss, F., Neukam, F.W. (2001). Morbidity of harvesting of chin grafts: a prospective study. *Clinical Oral Implants Research*, **12**(5), 495-502.

- Norton, M.R., Wilson, J. (2002). Dental implants placed in extraction sites implanted with bioactive glass: human histology and clinical outcome. *International Journal Oral Maxillofacial Implants*, **17**(2), 249-257.
- Novaes, A.B., Souza, S.L.S., Oliveira, P.T., Souza, A.M.M.S. (2002). Histomorphometric analysis of the bone-implant contact obtained with 4 different implant surface treatments placed side by side in the dog mandible. *International Journal Oral Maxillofacial Implants*, **17**, 377–383.
- Nyström, E., Kahnberg, K. E., Albrektsson, T. (1993). Treatment of the severely resorbed maxilla with bone graft and titanium implants: Histologic review of autopsy specimens. *International Journal Oral Maxillofacial Implants*, **8**, 167-172.
- O’Toole, G., MacKenzie, D., Buckley, M.F., Lindeman, R., Poole, M. (2001). A review of therapeutic angiogenesis and consideration of its potential applications to plastic and reconstructive surgery. *British Journal of Plastic Surgery*, **54**(1), 1-7.
- Obarrio, J.J., Araúz-Dutari, J.I., Chamberlain, T.M., Croston, A. (2000). The use of autologous growth factors in periodontal surgical therapy: platelet gel biotechnology-case reports. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, **20**(5), 486-497.
- Oesterle, L.J., Cronin, R.J., Ranly, D.M. (1993). Maxillary implants and the growing patient. *International Journal Oral Maxillofacial Implants*, **8**, 377.
- Ohazama A., Modino S.A.C., Miletich I., Sharpe P.T. (2004). Stem-cell-based tissue engineering of murine teeth. *Journal of Dental Research*, **83**(7), 518–522.
- Ohgushi, H., Dohi, Y., Kaduda, T., Tamai, S., Tabata, S., Suwa, Y. (1996a). In vitro bone formation by rat marrow cell culture. *Journal of Biomedical Materials Research*, **32**(3), 333–340.
- Ohgushi, H., Dohi, Y., Yoshikawa, T., Tamai, S., Tabata, S., Okunaga, K., Shibuya, T. (1996b). Osteogenic differentiation of cultured marrow stromal stem cells on the surface of bioactive glass ceramics. *Journal of Biomedical Materials Research*, **32**(3), 341–348.
- Ohgushi, H., Okumura, M., Yoshikawa, T., Inoue, K., Senpuka, N., Tamai, S. (1992). Bone formation process in porous calcium carbonate and hydroxyapatite. *Journal of Biomedical Materials Research*, **26**(7), 885–895.
- Ohgushi, H., Goldberg, V. M., Caplan, A. I. (1989). Repair of bone defects with marrow and porous ceramic (experiment in rats). *Acta Ortho. Scand*, **60**(3), 334-339.

- Ohya, M., Yamada, Y., Ozawa, R., Ito, K., Takahashi, M., Ueda, M. (2005). Sinus floor elevation applied tissue-engineered bone. *Clinical Oral Implants Research*, **16(5)**, 622-629.
- Okuda, K., Kawase, T., Momose, M., Murata, M., Saito, Y., Suzuki, H., Wolff, L.F., Yoshie, H. (2003). Platelet-rich plasma contains high levels of platelet-derived growth factor and transforming growth factor-beta and modulates the proliferation of periodontally related cells in vitro. *Journal of Periodontology*, **74(6)**, 849-57.
- Oshikawa, T., Ohgushi, H., Akahane, M., Tamai, S. (1996). Immediate bone forming capability of prefabricated osteogenic hydroxyapatite. *Journal Biomed. Mater. Research*, **32**, 481-492.
- Oshima, Y., Watanabe, N., Matsuda, K., Takai, S., Kawata, M., Kubo, T. (2005). Behavior of transplanted bone marrow-derived GFP mesenchymal cells in osteochondral defect as a simulation of autologous transplantation. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society*, **53(2)**, 207-216.
- Otto, W. R., Rao, J. (2004). Tomorrows skeleton staff: Mesenchymal stem cells and the repair of bone and cartilage. *Cell Prolif*, **37(1)**, 97-110.
- Özdemir, T. (1998). *Oral İmplantoloji*, In; Tam Protezler, Çalikkocaoglu, S. Protez Akademisi ve Gnatoloji Derneği Yayınları, **3. Baskı**, İstanbul.
- Palacci, P. (2001). *Esthetic Implant Dentistry Soft and Hard Tissue Management*. Quintessence Publishing Co, Inc. Illinois.
- Palmer, R.M., Floyd, P.D., Palmer, P.J., Smith, B.J., Johansson, C.B., Albrektsson, T. (1994). Healing of implant dehiscence defects with and without expanded polytetrafluoroethylene membranes: A controlled clinical and histological study. *Clinical Oral Implants Research*, **5(2)**, 98-104.
- Parfitt, A. M., Duncan, H. (1975). *The Spine*. W.B. Saunders Company. Philadelphia.
- Park, J.S., Choi, S.H., Moon, I.S., Cho, K.S., Chai, J.K., Kim, C.K. (2003). Eight-week histological analysis on the effect of chitosan on surgically created one-wall intrabony defects in beagle dogs. *Journal of Clinical Periodontology*, **30(5)**, 443-453.
- Park, J.B., Matsuura, M., Han, K.Y., Norderyd, O., Lin, W.L., Genco, R.J., Cho, M.I. (1995). Periodontal regeneration in class III furcation defects of beagle dogs using guided tissue regenerative therapy with platelet-derived growth factor. *Journal of Periodontology*, **66**, 462-477.

- Pereira, R.F., Halford, K.W., O'Hara, M.D., Leeper, D.B., Sokolov, B.P., Pollard, M.D., Bagasra, O., Prockop, D.J. (1995). Cultured adherent cells from marrow can serve as long-lasting precursor cells for bone, cartilage, and lung in irradiated mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **92**(11), 4857–4861.
- Petersen, B.E., Bowen, W.C., Patrene, K.D. (1999). Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science*, **284**(5417), 1168–1170.
- Peterson, B., Zhang, J., Iglesias, R., Kabo, M., Hedrick, M., Benhaim, P., Lieberman, J.R. (2005). Healing of critically sized femoral defects, using genetically modified mesenchymal stem cells from human adipose tissue. *Tissue Engineering*, **11**(1-2), 120-129.
- Petrungaro, P.S. (2002) Treatment of the infected implant site using platelet-rich plasma. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, **23**, 363-376.
- Pfeilschifter, J., Oechsner, M., Naumann, A., Gronwald, R.G., Mine, H.W., Ziegler, R. (1990). Stimulation of bone matrix apposition in vitro by local growth factors: a comparison between insulin-like growth factor I, platelet-derived growth factor, and transforming growth factor beta. *Endocrinology*, **127**, 69-75.
- Phillips, G.D., Whithead, R.A., Knighton, D.R. (1991). Initiation and pattern of angiogenesis in wound healing in rats. *Am Journal Anat*, **192**, 257-262.
- Phinney, D.G., Kopen, G., Righter, W., Webster, S., Tremain, N., Prockop, D.J. (1999). Donor variation in the growth properties and osteogenic potential of human marrow stromal cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, **75**(3), 424–436.
- Piche, J.E., Graves, D.T. (1989). Study of the growth factor requirements of human bone-derived cells: a comparison with human fibroblasts. *Bone*, **10**, 131-138.
- Pierce, G.F., Tarpley, J.E., Yanagihara, D., Mustoe, T.A., Fox, G.M., Thomason, A. (1992). Platelet-derived growth factor (BB homodimer), transforming growth factor-beta 1, and basic fibroblast growth factor in dermal wound healing. *American Journal of Pathology*, **140**, 1375-1388.
- Pittenger, M.F., Mackay, A.M., Beck, S.C., Jaiswal, R.K., Douglas, R., Mosca, J.D., Moorman, M.A., Simonetti, D.W., Craig, S., Marshak, D.R. (1999). Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* **284**(5411), 143–147.
- Polyzois, I., Renvert, S., Bosshardt, D.D., Lang, N.P., Claffey, N. (2007). The effect of Bio-Oss on osseointegration of dental implants surrounded by circumferential bone defects of different dimensions: an experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research*, **18**(3), 304–310.

- Position Paper. (1996). The potential role of growth and differentiation factors in periodontal regeneration. *Journal of Periodontology*, **67**, 545-553.
- Prockop D.J. (1997). Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. *Science*, **276(5309)**, 71-74.
- Quinones, C.R., Hürzeler, M.B., Schüpbach, P., Kirsch, A., Blum, P., Caffesse, R.G. (1997). Maxillary sinus augmentation using different grafting materials and osseointegrated dental implants in monkeys. Part II. Evaluation of porous hydroxyapatite as a grafting material. *Clinical Oral Implants Research*, **8**, 487-496.
- Rachmiel, A., Srouji, S., Peled, M. (2001). Alveolar ridge augmentation by distraction osteogenesis. *International Journal Oral Maxillofacial Surgery*, **30**, 510-517.
- Ramirez, M., Lucia, A., Gómez-Gallego, F., Esteve-Lanao, J., Pérez-Martínez, A., Foster, C., Andreu, A.L., Martín, M.A., Madero, L., Arenas, J, García-Castro, J. (2006). Mobilisation of mesenchymal cells into blood in response to skeletal muscle injury. *British Journal Sports Med*, **40**, 719-722.
- Rashid, M.A., Akita, S., Razzaque, M.S., Yoshimoto, H., Ishihara, H., Fujii, T., Tanaka, K., Taguchi, T. (1999). Coadministration of basic Fibroblast Growth Factor and Sucrose Octasulfate Sucralfate) facilitates the rat dorsal flap survival and viability. *Plastic and Reconstructive Surgery*, **103(3)**, 941-948.
- Reddi, A.H. (1998) Role of morphogenetic proteins in skeletal tissue engineering and regeneration. *Nature Biotechnology*, **16(3)**, 247-252.
- Reddi, A.H., Wientroub, S., Muthukumar, N. (1987). Biological principle of bone induction. *Orthop Clin North Am*, **18**, 207-212.
- Ribatti, D., Vacca, A., Presta, M. (2002). The discovery of angiogenic factors: A historical review. *General Pharmacology*, **35(5)**, 227-231.
- Risbud, M. V., Shapiro, I. M. (2005). Stem cells in craniofacial and dental tissue engineering, *Orthod. Craniofacial Res*, **8(2)**, 54-59.
- Roberts, E., Simmons, K. (1992). Bone physiology and metabolism in dental implantology: Risk factors for osteoporosis and other metabolic bone diseases. *Implant Dentistry*, **1(1)**, 11-21.
- Roberts, I. (2004). Mesenchymal stem cells. *Vox Sanguinis*, **87(2)**, 38-41.
- Robey, P.G., Young, M.F., Flanders, K.C., Roche, N.S., Kondaiah, P., Reddi, A.H., Temrine, J.D., Sporn, M.B., Roberts, A.B. (1987). Osteoblasts synthesize and respond to transforming growth factor-type beta (TGF-beta) in vitro. *The Journal of Cell Biology*, **105**, 457-463.

- Robiony, M., Polini, F., Costa, F., Politi, M. (2002). Osteogenesis distraction and platelet-rich plasma for bone restoration of the severely atrophic mandible: preliminary results. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, **60(6)**, 630-635.
- Rose, F. R., Oreffo, R. (2002). Bone tissue engineering: Hope vs Hype. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **292**, 1-7.
- Rosen, V., Theis, S. (1992). The BMP proteins in bone formation and repair. *Trends Genet*, **8**, 97-102.
- Rosenberg, E., Rose, LF. (1998). Biologic and clinical considerations for autografts and allografts in periodontal regeneration therapy. *Dental Clinics of North America*, **42**, 467-490.
- Rosenthal, N. (2003). Prometheus's vulture and the stem-cell promise. *The New England Journal of Medicine*, **349(3)**, 267-274.
- Rothman, R.H., Simeone, F.A. (1975). *The Spine*. 2. baskı, W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Rubio, D., Garcia-Castro, J., Martin, M.C., de la Fuente, R., Cigudosa, J.C., Lloyd, A.C., Bernad, A. (2005). Spontaneous human adult stem cell transformation. *Cancer Research*, **65(8)**, 3035-3039.
- Rummelhart, J.M., Mellonig, J.T., Gray, J.L. (1989). Bone allografts in periodontal therapy. *Journal Periodontol*, **60**, 655-663.
- Rutherford, R.B., Niekrash, C.E., Kennedy, J.E., Charette, M.F. (1992). Platelet-derived and insulin-like growth factors stimulate regeneration of periodontal attachment in monkeys. *Journal of Periodontal Research*, **27**, 285-290.
- Ryan, J.M., Barry, F.P., Murphy, J.M., Mahon, B.P. (2005). Mesenchymal stem cells avoid allogeneic rejection. *Journal of Inflammation*, **2**, 8-19.
- Sağlam, M. (1987). *Genel Histoloji*. 3. Baskı, Emel Matbaacılık Sanayi, Ankara.
- Salata, L.A., Burgos, P.M., Rasmusson, L., Novaes, A.B., Papalexiou, V., Dahlin, C., Sennerby, L. (2007). Osseointegration of oxidized and turned implants in circumferential bone defects with and without adjunctive therapies: an experimental study on BMP-2 and autogenous bone graft in the dog mandible. *International Journal Oral Maxillofacial Surgery*, **36(1)**, 62-71.
- Sanchez, A.R., Sheridan, P.J., Kupp, L.I. (2003). Is Platelet Rich Plasma the Perfect Enhancement Factor? A Current Review. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, **18**, 93- 103.

- Sanchez-Ramos, J., Song, S., Cardozo-Pelaez, F., Hazzi, C., Stedeford, T., Willing, A., Freeman, T.B., Saporta, S., Janssen, W., Patel, N., Cooper, D.R., Sanberg, P.R. (2000). Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro. *Exp. Neurol*, **164**(2), 247-256.
- Sandallı, P. (2000). *Oral İmplantoloji*. Erler Matbaacılık, İstanbul.
- Schenk, C., Schwarz, A., Kaupe, A.J.M., Wiltfang, J., Neukam, F.W. (2000). Erfahrungen mit autogenen Beckenkammtransplantationen im Ober- und Unterkiefer. *Vergleich der anterioren und posterioren Entnahmetechnik. Dtsch Zahnarztl Z*, **55**, 355–360.
- Schepers, E.J.G., Ducheyne, P., Barbier, L., Schepers, S. (1993). Bioactive glass particles of narrow size range: A new material for the repair of bone defects. *Implant Dentistry*, **2**(3), 151-156.
- Schlegel, K.A. (1996). Langzeitergebnisse mit dem Knochenersatzmaterial Bio-Oss. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, **7**, 535–542.
- Schliephake, H. (2002). Bone growth factors in maxillofacial skeletal reconstruction. *International Journal Oral and Maxillofacial Surgery*, **31**(5), 469-484.
- Schou, S., Holmstrup, P., Jørgensen, T., Skovgaard, L.T., Stoltze, K., Hjørting-Hansen, E., Wenzel, A. (2003). Anorganic porous bovine-derived bone mineral (Bio-Oss) and ePTFE membrane in the treatment of peri-implantitis in cynomolgus monkeys. *Clinical Oral Implants Research*, **14**(5), 535-547.
- Schroeder, A., Pohler, O., Sutter, F. (1976). Gewebsreaktion auf ein Titan-Hohlzylinderimplantat mit Titan-Spritzschichtoberfläche. *SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd*, **86**, 713.
- Schultze-Mosgau, S., Keweloh, M., Wiltfang, J., Kessler, P., Neukam, F.W. (2001). Histomorphometric and densitometric changes in bone volume and structure following avascular bone grafting in the extremely atrophic maxilla. *British Journal Oral Maxillofacial Surgery*, **39**(6), 439–447.
- Schwartz, Z., Martin, J.Y., Dean, D.D., Simpson, J., Cochran, D.L., Boyan, B.D. (1996a). Effect of titanium surface roughness on chondrocyte proliferation, matrix production, and differentiation depends on the state of cell maturation. *Journal Biomed Mater Res*, **30**, 145–155.
- Schwartz, Z., Mellonig, J.T., Carnes, D.L., de la Fontaine, J., Cochran, D.L., Dean, D.D., Boyan, B.D. (1996b). Ability of commercial demineralized freeze-dried bone allograft to induce new bone formation. *Journal Periodontol*, **67**(9), 918-926.

- Schwartz-Arad, D., Chaushu, G. (1997). The ways and wherefores of immediate placement of implants into fresh extraction sites: a literature review. *Journal Periodontol*, **68(10)**, 915-923.
- Seo, B.M., Miura, M., Gronthos, S., Bartold, P.M., Batouli, S., Brahimi, J., Young, M., Robey, P.G., Wang, C.Y., Shi, S. (2004). Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet*, **364(9429)**, 149-155.
- Shi, S., Bartold, P.M., Miura, M., Seo, B.M., Robey, P.G., Gronthos, S. (2005). The efficacy of mesenchymal stem cells to regenerate and repair dental structures. *Orthodontics & Craniofacial Research*, **8(3)**, 191-199.
- Shirley, D., Marsh, D., Jordan, G., McQuaid, S., Li, G. (2005). Systemic recruitment of osteoblastic cells in fracture healing. *Journal of Orthopaedic Research*, **23(5)**, 1013-1021.
- Siebrecht, M.A., De Rooij, P.P., Arm, D.M., Olsson, M.L., Aspenberg, P. (2002). Platelet concentrate increases bone ingrowth into porous hydroxyapatite. *Orthopedics*, **25 (2)**, 169-172.
- Smiler, D.G., Johnson, P.W., Lozada, J.L., Misch, C., Rosenlicht, J.L., Tatum, O.H., Wagner, J. (1992). Sinus lift grafts and endosseous implants. Treatment of the atrophic posterior maxilla. *Dental Clinic North America*, **36**, 151-186.
- Smiler, D.G. (1998). Bone grafting: Materials and modes of action. *Pract Periodontics Aesthet Dent*, **8**, 413-416.
- Smith, A. (2006). A glossary for stem-cell biology. *Nature*, **441(7097)**, 1060.
- Soydan, N. (1993). *Diş Hekimleri için Gelişim ve Büyüme*. Doyuran Matbaası, İstanbul.
- Stephan, E.B., Renjen, R., Lynch, S.E., Dziak, R. (2000). Platelet-derived growth factor enhancement of a mineral-collagen bone substitute. *Journal of Periodontology*, **71(12)**, 1887-1892.
- Su, C.Y., Chiang, C.C., Lai, W.F., Lin, K.W. (2004). Burnouf T. Platelet-derived growth factor-AB and transforming growth factor-beta 1 in platelet gels activated by single-donor human thrombin. *Transfusion*, **44**, 945.
- Sullivan, D.Y., Sherwood, R.L. (1997). Mai TN. Preliminary results of a multicenter study evaluating a chemically enhanced surface for machined commercially pure titanium implants. *Journal Prosthetic Dentistry*, **78(4)**, 379-386.
- Szabo, G., Huys, L., Coulthard, P., Maiorana, C., Garagiola, U., Barabas, J., Nemeth, Z., Hrabak, K., Suba, Z. (2005). A prospective multicenter randomized clinical trial of autogenous bone versus beta-tricalcium phosphate graft alone for bilateral sinus elevation: histologic and histomorphometric evaluation. *International Journal Oral Maxillofacial Implants*, **20(3)**, 371-381.

- Şentürk, M. (1999). Dişhekimliğinde Kemik Ogmantasyonu Uygulamaları, *Dişhekimliği Bilimleri Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Semineri*, GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Şimşek, A. (1998). Distraksiyon Osteogenezisi, *Dişhekimliği Bilimleri Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Semineri*, GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Smiler, D.G., Johnson, P.W., Lozada, J.L., Misch, C., Rosenlicht, J.L., Tatum, O.H., Wagner, J. (1992). Sinus lift grafts and endosseous implants. Treatment of the atrophic posterior maxilla. *Dental Clinic North America*, **36**, 151-186.
- Stein, J.I., Greenberg, A.M. (2002). Maxillary sinus grafting and osseointegration surgery. In: Greenberg AM, Prein J Eds. Craniomaxillofacial Reconstructive and Corrective Bone Surgery. *Principles of Internal Fixation Using the AO/ASIF Technique*, London: Springer. 174-197.
- Tabata Y. (2004). Tissue regeneration based on tissue engineering technology. *Congenital Anomalies*, **44(3)**, 111-124.
- Taguchi, K., Ogawa, R., Migita, M., Hanawa, H., Ito, H., Orimo, H. (2005). The role of bone marrow derived cells in bone fracture repair in a green fluorescent protein chimeric mouse model. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **331(1)**, 31-36.
- Tamura, S., Kataoka, H., Matsui, Y., Shionoya, Y., Ohno, K., Michi, K.I., Takahashi, K., Yamaguchi, A. (2001). The effects of transplantation of osteoblastic cells with bone morphogenetic protein (BMP)/carrier complex on bone repair. *Bone*, **29(2)**, 169-175.
- Tayapongsak, P., O'Brien, D.A., Monteiro, C.B., Arceo-Diaz, L.Y. (1994). Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, **52**, 161-165.
- The Academy of Prosthodontics. (2005). Glossary of Prosthodontic Terms. *Journal of Prosthetic Dentistry*. **94 (1)**, 10-92.
- Thibodeu, A.G., Patton, K.T. (2002). *Anatomy&Physiology*. 5.Baskı, Mosby, St Louis.
- Tolman, D.E., Keller, E.E. (1991). Endosseous implant placement immediately following dental extraction and alveoloplasty: preliminary report with 6-year follow-up. *Int Journal Oral Maxillofacial Implants*, **6**, 24-28.
- Tözüm, T.F., Demiralp, B. (2003). Platelet-Rich Plasma: A Promising Innovation in Dentistry. *Journal of Canadian Dental Association*, **69(10)**, 664.
- Tran S., Pillemer S., Dutra, A., Barrett, A., Brownstein, M., Key, S., Pak, E., Leakan, R., Kingman, A., Yamada, K. (2003). Differentiation of human bone marrow derived cells into buccal epithelial cells in vivo: a molecular analytical study. *Lancet*, **361(9363)**, 1084-1088.

- Tsutsumi, S., Shimazu, A., Miyazaki, K., Pan, H., Koike, C., Yoshida, E., Takagishi, K., Kato, Y. (2001). Retention of multilineage differentiation potential of mesenchymal cells during proliferation in response to FGF. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **288(2)**, 413-419.
- Tuli, R., Seghatoleslami, M.R., Tuli, S., Wang, M.L., Hozack, W.J., Manner, P.A., Danielson, K.G., Tuan, R.S. (2003). A simple, high-yield method for obtaining multipotential mesenchymal progenitor cells from trabecular bone. *Molecular Biotechnology*, **23(1)**, 37-49.
- Tunalı, B. (1996). *Multi-disipliner Bir Yaklaşımla Oral İmplantolojiye Giriş*, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Yayınları, Birinci Baskı, İstanbul.
- Türker, M., Yücebaş S. (1997). *Oral İmplantoloji*, In; Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi, Atlas Kitapçılık Tic. Ltd. Sti., Birinci Baskı, Ankara.
- Ueda, M. Sumi, Y., Mizumo, H., Honda, M., Oda, T., Wada, K. Boo, T. (2000). Tissue engineering applications for maxillofacial surgery, *Materials Science and Engineering*, **C13**, 7-14.
- Ünlü, F., Gürses, N. (1997). *Ana Hatlarıyla Periodontoloji* (Peter F. Fedi, jr.'dan çeviri). E. Ü. Dişhekimliği Fakültesi Yayınları, İzmir.
- Vacanti, C.A., Langer, R., Schloo, B., Vacanti, J.P. (1991). Synthetic polymers seeded with chondrocytes provide a template for new cartilage formation. *Plastic and Reconstructive Surgery* **88(5)**, 753-759.
- van den Dolder J., Farber E., Spauwen P.H., Jansen JA. (2003). Bone tissue reconstruction using titanium fiber mesh combined with rat bone marrow stromal cells. *Biomaterials*, **24(10)**, 1745-1750.
- Veis, A.A., Papadimitriou, S., Trisi, P., Tsirlis, A.T., Parissis, N.A., Kenealy, J.N. (2007). Osseointegration of Osseotites and machined-surfaced titanium implants in membranecovered critical-sized defects: a histologic and histometric study in dogs. *Clinical Oral Implants Research*, **18(2)**, 153-160.
- Wang, F.S., Kuo Y.R., Wang C.J., Yang K.D., Chang P.R., Huang Y.T., Huang H.C., Sun Y.C., Yang Y.J., Chen Y.C. (2004). Nitric oxide mediates ultrasound-induced hypoxia-inducible factor-1 α activation and vascular endothelial growth factor-A expression in human osteoblasts. *Bone*, **35**, 114-123.
- Warnke, P.H., Springer, I.N., Wiltfang, J., Acil, Y., Eufinger, H., Wehmöller, M., Russo, P.A., Bolte, H., Sherry, E., Behrens, E., Terheyden, H. (2004). Growth and transplantation of a custom vascularised bone graft in a man. *Lancet* **364(9436)**, 766-770.

- Weibrich, G., Hansen, T., Kleis, W., Buch, R., Hitzler, W.E. (2004). Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. *Bone*, **34(4)**, 665-671.
- Weibrich, G., Kleis, W.K.G., Hafner, G., Hitzler, W.E., Wagner, W. (2003). Comparison of platelet, leukocyte, and growth factor levels in pointofcare PlateletEnriched Plasma, prepared using a modified curasan kit, with preparations received from a local blood bank. *Clinical Oral Implants Research*, **14(4)**, 357-362.
- Wennerberg, A., Albrektsson, T., Andersson, B., Krol, J.J. (1995). A histo-metric and removal torque study of screw-shaped titanium implants with three different surface topographies. *Clinical Oral Implant Research*, **6(1)**, 24–30.
- Wennerberg, A., Albrektsson, T., Lausmaa, J. (1996). Torque and histo-metric evaluation of c.p. titanium screws blasted with 25- and 75- microns-sized particles of Al₂O₃. *Journal Biomed Mater Research*, **30**, 251–260.
- Wheeler, S.L. (1997). Sinus augmentation for dental implants: The use of alloplastic materials. *Journal Oral Maxillofacial Surgery*, **55**, 1287-1293.
- Whitman, D.H., Berry, R.L., Gren, D.M. (1997). Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with. applications in oral and maxillofacial surgery. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, **55**, 1294-1299.
- Wilson, T.G., Schenk, R., Buser, D., Cochran, D. (1998). Implants placed in immediate extraction sites: a report of histologic and histometric analyses of human biopsies. *International Journal Oral Maxillofacial Implants*, **13**, 333–341.
- Wilson, E. M. K., Barbieri, C. H., Mazzer, N. (2006). Bone healing stimulation by platelet-rich autogenous plasma. *Acta Ortop. Bras*, **14(4)**, 208-212.
- Wiltfang, J., Merten, H.A., Schlegel, K.A., Schultze-Mosgau, S., Kloss, F.R., Rupprecht, S. (2002). Degradation characteristics of a- and b-tricalcium-phosphate in minipigs. *Journal Biomed Material Research*, **63**, 115–121.
- Wiltfang, J., Schlegel, K.A., Schultze-Mosgau, S., Nkenke, E., Zimmermann, R., Kessler, P. (2003). Sinus floor augmentation with beta-tricalciumphosphate (beta-TCP): does platelet-rich plasma promote its osseous integration and degradation?. *Clinical Oral Implants Research*, **14(2)**, 213-218.
- Wirthlin, M.R. (1989). Growth substances: potential use in periodontics. *The Journal of the Western Society of Periodontology/Periodontal Abstracts*, **37**, 101-25.
- Wozney, J.M. (1992). The bone morphogenetic protein family and osteogenesis. *Mol Reprod Dev*, **32**, 160-167.

- Yamada, Y., Boo, J.S., Ozawa, R., Nagasaka, T., Okazaki, Y., Hata, K., Ueda, M. (2003). Bone regeneration following injection of mesenchymal stem cells and fibrin glue with a biodegradable scaffold. *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery: Official Publication of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery*, **31(1)**, 27-33.
- Yamada, Y., Ueda, M., Naiki, T., Nagasaka, T. (2004a). Tissue-engineered injectable bone regeneration for osseointegrated dental implants. *Clinical Oral Implants Research*, **15(5)**, 589-597.
- Yamada, Y., Ueda, M., Naiki, T., Takahashi, M., Hata, K., Nagasaka, T. (2004b). Autogenous injectable bone for regeneration with mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma: tissue-engineered bone regeneration. *Tissue Engineering*, **10(5-6)**, 955-964.
- Yamada, Y., Ueda, M., Hibi, H., Baba, S. (2006). A novel approach to periodontal tissue regeneration with mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma using tissue engineering technology: a clinical case report. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, **26 (4)**, 363-369.
- Yamamoto, T. (1994). AW Glass ceramics- development, characterization, modifications and clinic applications. *Kyoto University*, Kyoto.
- Yoo, J.U., Johnstone, B. (1998). The role of osteochondral progenitor cells in fracture repair. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, **(355 Suppl)**, 73-81.
- Yoshikawa, T., Ohgushi, H., Akahane, M., Tamai, S., Ichijima, K. (1998). Analysis of gene expression in osteogenic cultured marrow/hydroxyapatite construct implanted at ectopic sites: A comparison with the osteogenic ability of cancellous bone. *Journal Biomedical Material Research*, **41(4)**, 568-573.
- Yoshikawa, T., Ohgushi, H., Akahane, M., Tamai, S. (1996). Immediate bone forming capability of prefabricated osteogenic hydroxyapatite. *Journal Biomedical Material Research*, **32**, 481-492.
- Zarb, G., Lekholm, U., Albrektsson, T., Tenenbaum, H. (2002). *Aging Osteoporosis and Dental Implants*, Quintessence Publishing Co, Inc., Illinois.
- Zhang, L., Leeman, E., Carnes, D.C., Graves, D.T. (1991). Human osteoblasts synthesize and respond to platelet-derived growth factor. *The American Journal of Physiology*, **261**, 348-354.
- Zuk, P.A., Zhu, M., Mizuno, H., Huang, J., Futrell, J.W., Katz, A.J., Benhaim, P., Lorenz, H.P., Hedrick, M.H. (2001). Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Engineering*, **7(2)**, 211-228.

ÖZGEÇMİŞ

29 Ocak 1979 tarihinde Sakarya’da doğdum. İlkokulumu Adapazarı Atatürk İlköğretim Okul’unda bitirdim. Ortaokul eğitimimi Dr. Nuri BAYAR ortaokulunda tamaladıktan sonra, lise eğitimimi Adapazarı Atatürk Süper Lisesi’nde tamamladım. 1998 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’ne girdim ve Temmuz 2003’de mezun oldum. 2003 Eylül ayında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı’nda doktora eğitimime başladım. Ocak 2004’te aynı anabilim dalında atandığım Araştırma Görevlisi görevine halen devam etmekteyim.