



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**TROMBOSİTEN ZENGİN FİBRİN VE
ALLOPLASTİK GREFT UYGULAMALARININ
TAVŞAN KAFATASINDA OLUŞTURULAN
DENEYSEL KEMİK DEFEKTLERİNİN
İYİLEŞMESİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN
HİSTOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ**

Elif GÜVEN SOĞUKSULU

DOKTORA TEZİ

Dr. Öğr. Üyesi Erkan ŞÜKÜROĞLU

TRABZON-2023

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak yapıldığını ve yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih
Elif GÜVEN SOĞUKSULU
(İmza)

İthaf

Bu doktora tezimi, çalışkanlığını ve dürüstlüğünü hayatım boyunca kendime ilke edindiğim canım dedem Op. Dr. Ali Kemal TURAN'a ithaf ediyorum.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK SAYFASI	
ONAY	
BEYAN	
İthaf	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
RESİMLER DİZİNİ	xv
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	xvii
ÖZET	xxi
ABSTRACT	xxii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kemik Dokusu	4
2.1.1. Kemik Dokusunun Oluşumu	4
2.1.2. Kemik Yapısı	4
2.1.2.1. Kemiğin Mikroskopik Yapısı	4
2.1.2.2. Kemiğin Makroskopik Yapısı	5
2.1.2.3. Kemiğin Moleküler Yapısı	6
2.1.3. Kemik Dokusunun Hücresel Elemanları	7
2.1.3.1. Osteoprojenitör Hücreler	8
2.1.3.2. Osteoblastlar	8
2.1.3.3. Osteoklastlar	8
2.1.3.4. Osteositler	9
2.1.4. Kemik Zarları	9
2.1.5. Kemik Dokusunun Büyümesi ve Şekillenmesi	9
2.1.5.1. Kemiğin Yeniden Yapılanmasını Etkileyen Faktörler	9
2.1.6. Kemik Rezorpsiyonu	11
2.1.7. Kemik İyileşmesi	12

2.1.7.1. İnflamasyon Evresi	12
2.1.7.2. Onarım Evresi	13
2.1.7.3. Yeniden Şekillenme Evresi	13
2.2. Periodontal Hastalıklar	13
2.2.1. Periodontal Sağlık, Gingival Hastalık ve Durumlar	14
2.2.1.1. Periodontal Sağlık, Gingival Sağlık	14
2.2.1.2. Dental Biyofilme Bağlı Gingivitis	14
2.2.1.3. Dental Biyofilme Bağlı Olmayan Gingivitis	14
2.2.2. Periodontitis	15
2.2.2.1. Evre 1 Periodontitis	17
2.2.2.2. Evre 2 Periodontitis	18
2.2.2.3. Evre 3 Periodontitis	18
2.2.2.4. Evre 4 Periodontitis	18
2.2.3. Periodontal Hastalıklarda Kemik Yıkım Paternleri	19
2.2.4. Periodontal Kemik Defektlerinin Sınıflandırılması	19
2.2.5. Kemik Defektlerinin Tedavisinde Başarıyı Etkileyen Faktörler	22
2.2.6. Periodontal Kemik Defektlerinin Tedavisi ve İyileşme	23
2.2.6.1. Cerrahi Olmayan Periodontal Tedavi	23
2.2.6.2. Cerrahi Periodontal Tedavi	24
2.2.7. Rejeneratif Tedavi Yöntemlerinin Prognozunu Belirleyen Faktörler	27
2.2.7.1. Hasta ile İlişkili Faktörler	27
2.2.7.2. Defekt ile İlişkili Faktörler	27
2.2.7.3. Diş ile İlişkili Faktörler	27
2.3. Periodontal Kemik Defektlerinin Tedavisinde Kemik Greftleri	28
2.3.1. Greftin Başarısını ve Devamlılığını Etkileyen Faktörler	28
2.3.1.1. Vasküler Destek	28
2.3.1.2. Stabilite	28
2.3.1.3. Biyouyumluluk	28
2.3.2. Kemik Greftlerinin İyileşmesi	29
2.3.3. Kemik Greft Materyallerinin Sınıflandırılması	30
2.3.3.1. Otojen Greftler	30
2.3.3.2. Allogreftler	31
2.3.3.3. Ksenogreftler	32

2.3.3.4. Alloplastlar	32
2.4. Trombositler	35
2.4.1. Trombositlerden Salınan Büyüme Faktörleri	35
2.4.1.1. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü	36
2.4.1.2. Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta	36
2.4.1.3. Fibroblast Büyüme Faktörü	36
2.4.1.4. Damarsal Endotelial Büyüme Faktörü	37
2.4.1.5. Epidermal Büyüme Faktörü	37
2.4.1.6. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü	37
2.4.2. Trombosit Konsantrlerinin Gelişimi	38
2.4.2.1. Trombositten Zengin Plazma	38
2.4.2.2. Trombositten Zengin Fibrin	40
2.4.2.3. Geliştirilmiş Trombositten Zengin Fibrin	43
2.4.2.4. Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrin	44
3. GEREÇ ve YÖNTEM	47
3.1. Deney Hayvanı Seçimi ve Preoperatif Hazırlık	47
3.2. Kan Alınması, TZF Hazırlanması ve Cerrahi Yaklaşım	48
3.2.1. Kaviterlerin Cerrahi Olarak Hazırlanması	49
3.3. Postoperatif Takip ve Bakım	51
3.4. Sakrifikasyon	52
3.5. Histolojik Takip, Boyama ve Değerlendirme	52
3.5.1. Histomorfometrik Değerlendirme Kriterleri	56
3.6. İstatistiksel Analiz	57
4. BULGULAR	58
4.1. Genel Değerlendirme Bulguları	58
4.2. Histopatolojik Değerlendirme Bulguları	58
4.2.1. Dördüncü Hafta Histopatolojik Değerlendirme Bulguları	58
4.2.1.1. Grup 1 (e-TZF + β -TCP) HE Görüntüleme	58
4.2.1.2. Grup 1 SOFG Görüntüleme	59
4.2.1.3. Grup 2 (g-TZF) HE Görüntüleme	60
4.2.1.4. Grup 2 SOFG Görüntüleme	61
4.2.1.5. Grup 3 (β -TCP) HE Görüntüleme	62
4.2.1.6. Grup 3 SOFG Görüntüleme	63

4.2.1.7. Grup 4 (tedavi uygulanmayan) HE Görüntüleme	63
4.2.1.8. Grup 4 SOFG Görüntüleme	64
4.2.2. Sekizinci Hafta Histopatolojik Değerlendirme Bulguları	65
4.2.2.1. Grup 1 (e-TZF + β -TCP) HE Görüntüleme	65
4.2.2.2. Grup 1 SOFG Görüntüleme	66
4.2.2.3. Grup 2 (g-TZF) HE Görüntüleme	67
4.2.2.4. Grup 2 SOFG Görüntüleme	68
4.2.2.5. Grup 3 (β -TCP) HE Görüntüleme	69
4.2.2.6. Grup 3 SOFG Görüntüleme	70
4.2.2.7. Grup 4 (tedavi uygulanmayan) HE Görüntüleme	71
4.2.2.8. Grup 4 SOFG Görüntüleme	72
4.3. Histomorfometrik Değerlendirme Bulguları	72
4.3.1. İnflamasyon Derecelerinin Gruplar Arası ve Grup İçi Değerlendirilmesi	72
4.3.1.1. Dördüncü Hafta Gruplar Arası İnflamasyon Derecelerinin Değerlendirilmesi	72
4.3.1.2. Sekizinci Hafta Gruplar Arası İnflamasyon Derecelerinin Değerlendirilmesi	74
4.3.1.3. Dördüncü Hafta ile Sekizinci Hafta İnflamasyon Derecelerinin Grup İçi Değerlendirilmesi	75
4.3.2. Osteoklastik Aktivasyon Düzeylerinin Gruplar Arası ve Grup İçi Değerlendirilmesi	77
4.3.2.1. Dördüncü Hafta Gruplar Arası Osteoklastik Aktivasyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi	77
4.3.2.2. Sekizinci Hafta Gruplar Arası Osteoklastik Aktivasyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi	78
4.3.2.3. Dördüncü Hafta ile Sekizinci Hafta Osteoklastik Aktivasyon Düzeylerinin Grup İçi Değerlendirilmesi	80
4.3.3. Osteoblastik Aktivasyon Düzeylerinin Gruplar Arası ve Grup İçi Değerlendirilmesi	81
4.3.3.1. Dördüncü Hafta Gruplar Arası Osteoblastik Aktivasyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi	81
4.3.3.2. Sekizinci Hafta Gruplar Arası Osteoblastik Aktivasyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi	83

4.3.3.3. Dördüncü Hafta ile Sekizinci Hafta Osteoblastik Aktivasyon Düzeylerinin Grup İçi Değerlendirilmesi	84
4.3.4. Osteosit Hücrelerinin Aktivasyon Düzeylerinin Gruplar Arası ve Grup İçi Değerlendirilmesi	86
4.3.4.1. Dördüncü Hafta Gruplar Arası Osteosit Hücrelerinin Aktivasyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi	86
4.3.4.2. Sekizinci Hafta Gruplar Arası Osteosit Hücrelerinin Aktivasyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi	87
4.3.4.3. Dördüncü Hafta ile Sekizinci Hafta Osteosit Hücrelerinin Aktivasyon Düzeylerinin Grup İçi Değerlendirilmesi	89
4.3.5. Kollajen Lif Sentezi Düzeylerinin Gruplar Arası ve Grup İçi Değerlendirilmesi	90
4.3.5.1. Dördüncü Hafta Gruplar Arası Kollajen Lif Sentezi Düzeylerinin Değerlendirilmesi	90
4.3.5.2. Sekizinci Hafta Gruplar Arası Kollajen Lif Sentezi Düzeylerinin Değerlendirilmesi	92
4.3.5.3. Dördüncü Hafta ile Sekizinci Hafta Kollajen Lif Sentezi Düzeylerinin Grup İçi Değerlendirilmesi	93
4.3.6. Yeni Kemik Matriks Sentezi Düzeylerinin Gruplar Arası ve Grup İçi Değerlendirilmesi	95
4.3.6.1. Dördüncü Hafta Gruplar Arası Yeni Kemik Matriks Sentezi Düzeylerinin Değerlendirilmesi	95
4.3.6.2. Sekizinci Hafta Gruplar Arası Yeni Kemik Matriks Sentezi Düzeylerinin Değerlendirilmesi	96
4.3.6.3. Dördüncü Hafta ile Sekizinci Hafta Yeni Kemik Matriks Sentezi Düzeylerinin Grup İçi Değerlendirilmesi	98
5. TARTIŞMA	102
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	129
7. KAYNAKLAR	130
EKLER	155
EK 1. Etik Kurul Onay Belgesi	156
ÖZGEÇMİŞ	158

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa
Tablo 1. Sitokinler ve hormonların kemiğin yeniden şekillenmesi üzerine RANKL ve OPG sekresyonu yoluyla etkileri	11
Tablo 2. Periodontal ve Peri-implant hastalık ve durumların sınıflandırılması	15
Tablo 3. Periodontitis evrelerinin şematik olarak gösterilmesi	16
Tablo 4. Periodontitis derecelendirilmesi	17
Tablo 5. Trombositten Zengin Fibrin pıhtısında bulunan büyüme faktörlerinin salınım oranları (ng)	42
Tablo 6. Standart doku takip prosedürü	53
Tablo 7. Hematoksilen & Eozin (HE) boyama protokolü	54
Tablo 8. Deparafinizasyon programı	55
Tablo 9. Safranin O- Fast Green (SOFG) boyama protokolü	55
Tablo 10. Dördüncü hafta inflamasyon derecelerinin gruplar arası karşılaştırılması	73
Tablo 11. Sekizinci hafta inflamasyon derecelerinin gruplar arası karşılaştırılması	74
Tablo 12. Dördüncü hafta ile sekizinci hafta inflamasyon derecelerinin grup içi karşılaştırılması	76
Tablo 13. Dördüncü hafta osteoklastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması	77
Tablo 14. Sekizinci hafta osteoklastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması	79
Tablo 15. Dördüncü hafta ile sekizinci hafta osteoklastik aktivasyon ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılması	80
Tablo 16. Dördüncü hafta osteoblastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması	82

Tablo 17. Sekizinci hafta osteoblastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması	83
Tablo 18. Dördüncü hafta ile sekizinci hafta osteoblastik aktivasyon ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılması	85
Tablo 19. Dördüncü hafta osteosit hücrelerinin aktivasyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	86
Tablo 20. Sekizinci hafta osteosit hücrelerinin aktivasyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	88
Tablo 21. Dördüncü hafta ile sekizinci hafta osteosit hücrelerinin aktivasyon düzeylerinin grup içi karşılaştırılması	89
Tablo 22. Dördüncü hafta kollajen lif sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması	91
Tablo 23. Sekizinci hafta kollajen lif sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması	92
Tablo 24. Dördüncü hafta ile sekizinci hafta kollajen lif sentezi ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılması	94
Tablo 25. Dördüncü hafta yeni kemik matriks sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması	95
Tablo 26. Sekizinci hafta yeni kemik matriks sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması	97
Tablo 27. Dördüncü hafta ile sekizinci hafta yeni kemik matriks sentezi ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılması	98
Tablo 28. Tüm histomorfometrik verilerin gruplar arası değerlendirilmesi	100
Tablo 29. Tüm histomorfometrik verilerin grup içi değerlendirilmesi	101

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 1.	Kemik dokusunun morfolojisinin şematik olarak gösterilmesi	7
Şekil 2.	Periodontal kemik defektlerinin şematik olarak sınıflandırılması	20
Şekil 3.	Periodontal kemik içi defektlerin duvar sayılarına göre şematik olarak gösterilmesi	21
Şekil 4.	Furkasyon tutulumlarının horizontal olarak sınıflandırılmasının şematik gösterimi. (A) Derece 1. (B) Derece 2. (C) Derece 3	22
Şekil 5.	Furkasyon tutulumlarının vertikal olarak sınıflandırılmasının şematik gösterimi. (A) Alt sınıf A. (B) Alt sınıf B. (C) Alt sınıf C.	22
Şekil 6.	Trombositten Zengin Plazma'nın elde edilmesi	39
Şekil 7.	Trombositten Zengin Fibrin pıhtısında oluşan tabakalar	40
Şekil 8.	Rölatif santrifüj kuvvetinin değiştirilmesi sonucunda TZF matriksinde bulunan (A) Lökosit, lenfosit, nötrofil (B) Monosit (C) Trombosit hücrelerinin immünohistokimyasal olarak sayımları	42
Şekil 9.	TZF bazlı matriksler arasında TGF- β 1, VEGF ve PDGF-AA salınımlarının zamana göre karşılaştırılması	44
Şekil 10.	Dördüncü hafta inflamasyon derecelerinin gruplar arası karşılaştırılması	73
Şekil 11.	Sekizinci hafta inflamasyon derecelerinin gruplar arası karşılaştırılması	75
Şekil 12.	İnflamasyon derecelerinin grup içi karşılaştırılması	76
Şekil 13.	Dördüncü hafta osteoklastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması	78
Şekil 14.	Sekizinci hafta osteoklastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması	79
Şekil 15.	Osteoklastik aktivasyon ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılması	81

Şekil 16.	Dördüncü hafta osteoblastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması	82
Şekil 17.	Sekizinci hafta osteoblastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması	84
Şekil 18.	Osteoblastik aktivasyon ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılması	85
Şekil 19.	Dördüncü hafta osteosit hücrelerinin aktivasyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	87
Şekil 20.	Sekizinci hafta osteosit hücrelerinin aktivasyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	88
Şekil 21.	Osteosit hücrelerinin aktivasyon düzeylerinin grup içi karşılaştırılması	90
Şekil 22.	Dördüncü hafta kollajen lif sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması	91
Şekil 23.	Sekizinci hafta kollajen lif sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması	93
Şekil 24.	Kollajen lif sentezi ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılması	94
Şekil 25.	Dördüncü hafta yeni kemik matriks sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması	96
Şekil 26.	Sekizinci hafta yeni kemik matriks sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması	97
Şekil 27.	Yeni kemik matriks sentezi ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılması	99

RESİMLER DİZİNİ

Resim No		Sayfa
Resim 1.	Deneklerin standart postüre getirilip, cerrahi bölgenin traşlanması	50
Resim 2.	Cerrahi bölgede asepsi sağlanması ve insizyon hattının belirlenmesi	50
Resim 3.	Longitudinal yönde insizyon hattının oluşturulması	50
Resim 4.	Tam kalınlık flap kaldırılması ve Parietal kemiğin görünümü	50
Resim 5.	Standart bikortikal deneysel kemik defektlerinin oluşturulması	51
Resim 6.	Tüm biyomateryallerin ilgili kavitelere yerleştirilmesi	51
Resim 7.	Operasyon bölgesinin sutureasyonu ve Batticon uygulanması	51
Resim 8.	Bağ dokusu alanları içerisinde bazı alanlarda yeni kemik oluşumu (siyah ok) ve osteoblast hücreleri (mavi ok)	58
Resim 9.	Laküna formasyonu (siyah ok) ve osteoblast hücreleri (mavi ok)	59
Resim 10.	Yeni oluşan kemik trabeküllerinin en dış kısmında bulunan osteoblast hücreleri (siyah ok), orta kısma doğru ise az sayıda osteosit hücreleri (mavi ok)	59
Resim 11.	Yeni bağ dokusu (kırmızı ok) ve kemik trabekülü (siyah ok)	60
Resim 12.	Belirgin yeni kemik trabekülleri ve lakünalar (siyah ok) ve organize yapıda bağ doku yapısı (kırmızı ok)	61
Resim 13.	Yeni kemik trabekülleri oluşumu (yıldız)	61
Resim 14.	Kemik trabekülleri içerisinde yer alan osteosit hücreleri ve laküna yapıları (siyah ok), kollajen lif sentezinin artış gösterdiği bağ doku yapısı (kırmızı ok)	62
Resim 15.	Yeni oluşan bağ dokusu (kırmızı ok), lakünalara yerleşim gösteren osteosit hücreleri (siyah ok)	62
Resim 16.	Rezidüel greft partiküllerinin periferinde bulunan osteoklast hücreleri (siyah ok)	63
Resim 17.	Bağ dokusu içerisinde gözlenen, gelişmekte olan yeni kemik trabekülleri (siyah ok) ve osteoblastlar (mavi ok)	63

Resim 18.	Laküna formasyonları (siyah ok) ve osteoblastik hücreler (mavi ok)	64
Resim 19.	Yeni kemik oluşumuna ait parçacıkların etrafında bulunan osteoklast hücreleri (beyaz ok)	64
Resim 20.	Bağ dokusu alanları içerisindeki bazı alanlarda yeni kemik oluşumu (siyah ok) ve bağ doku alanı (mavi ok).	65
Resim 21.	Bağ dokusu alanları içerisindeki bazı alanlarda yeni kemik oluşumu (siyah ok), laküna formasyonu içerisindeki osteositler (beyaz ok) ve bağ doku alanı (mavi ok).	66
Resim 22.	Kemik trabeküllerinde bulunan osteoblastlar (siyah oklar) ve osteositler (mavi ok)	66
Resim 23.	Kemik iliği (mavi ok), yeni kemik trabekülleri, lakünalar (siyah ok) ve organize yapıda bağ doku yapısı (kırmızı ok)	67
Resim 24.	Kemik iliği (mavi ok), lakünalar (siyah ok) ve bağ doku yapısı (kırmızı ok)	67
Resim 25.	Belirginleşen lakünalar içinde yerleşim gösteren osteositler (siyah ok), genişleyen trabeküller etrafında bulunan osteoblastlar (mavi ok)	68
Resim 26.	Yeni kemikleşme bölgeleri (siyah ok) ve bağ dokusu formasyonu (kırmızı ok)	69
Resim 27.	Yeni kemik trabekülleri oluşumu, laküna yapıları (siyah ok) ve organize yapıda bağ dokusu (kırmızı ok)	69
Resim 28.	Greft alanının periferinde bulunan osteoblast hücrelerinin görünümü (siyah ok)	70
Resim 29.	Yeni kemik trabekülleri (siyah ok) ve yapısal olarak re-organize yapıda izlenen bağ dokusu (mavi ok)	71
Resim 30.	Bağ dokusu alanları içerisindeki bazı alanlarda yeni kemik oluşumu (siyah ok) ve yapısal olarak re-organize yapıda izlenen bağ dokusu (mavi ok)	71
Resim 31.	Yeni oluşan kemik dokusunda Havers Kanalı ve kan damarı etrafındaki osteosit gelişimi (siyah ok)	72

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ABD	Anabilim Dalı
ADP	Adenozin Di Fosfat
ark	Arkadaşları
ATP	Adenozin Tri Fosfat
BCP	Bifazik Kalsiyum Fosfat
BMP	Kemik Morfojenik Proteini
cc	Santimetre küp
cm	Santimetre
CRP	C-Reaktif Protein
dk	Dakika
DKA	Dondurulmuş Kemik Allogrefti
DKKA	Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti
DDKKA	Demineralize Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
E-TZF	Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrin
FACIT	Kesintili Üçlü Sarmallı Fibril İlişkili Kollajenler
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
G	Gauge
gr	Gram
G-TZF	Geliştirilmiş Trombositten Zengin Fibrin
HA	Hidroksiapatit
HbA1c	Glikolize Hemoglobin
HE	Hematoksilen Eozin
HIV	İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü
IGF	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IL-1	İnterlökin-1
IL-6	İnterlökin-6
IM	İntramuskuler
KAK	Klinik Ataçman Kaybı
kg	Kilogram

KTÜ	Karadeniz Teknik Üniversitesi
L	Litre
L-TZF	Lökosit ve Trombositten Zengin Fibrin
Maks	Maksimum
M-CSF	Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör
mg	Miligram
MGP	Matriks Gla Proteini
Mikro-BT	Mikro Bilgisayarlı Tomografi
Min	Minimum
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mm³	Milimetre Küp
N	Newton
N	Olgu Sayısı
NF	Nükleer Faktör
ng	Nanogram
nm	Nanometre
NSAII	Nonsteroid antiinflatuar
OP	Osteojenik Protein
OPG	Osteoprotegerin
ort	Ortalama
PDGF	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
pg	Pikogram
Pg	Prostaglandin
PMNL	Polimorf Nükleer Lökositler
PTH	Paratiroid Hormon
RANK	Nükleer Kappa B Reseptör Aktivatörü
RANKL	Nükleer Kappa B Ligandı Reseptör Aktivatörü
RCF	Göreceli Santrifüj Kuvveti

rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
SD	Sondalama Derinliği
sn	Saniye
SOFG	Safranin O Fast Green
SPSS	Sosyal Bilimler İçin İstatistik Programı
SS	Standart Sapma
TCP	Tri Kalsiyum Fosfat
TGF	Dönüştürücü Büyüme Faktörü
TNF- α	Tümör nekrozis faktör α
TZF	Trombositten Zengin Fibrin
TZP	Trombositten Zengin Plazma
vb.	Ve Benzeri
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
YDR	Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu
μl	Mikrolitre
μm	Mikromol
Simgeler	
<	Küçük
>	Büyük
%	Yüzde
=	Eşit
+	Artı
-	Eksi
$\pm$	Eksiği veya Fazlası
&	Ve
α	Alfa
β	Beta

? Soru işareti

* Yıldız işareti

“ Tırnak işareti

Formüller

Ca Kalsiyum

Ca/ PO₄ Kalsiyum Fosfat

Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ Hidroksiapatit Kristali

1.25(OH)₂ 1.25-Dihidroksivitamin (Kalsitrol)



ÖZET

Trombositten Zengin Fibrin ve Alloplastik Greft Uygulamalarının Tavşan Kafatasında Oluşturulan Deneysel Kemik Defektlerinin İyileşmesi Üzerindeki Etkilerinin Histolojik Olarak İncelenmesi

Bu çalışmanın amacı, sentetik kemik greftlerinin ve trombositten zengin fibrin bazlı matrikslerin greftle kombine şekilde veya membran olarak kullanımlarının tavşan kafatasında oluşturulan kemik defektlerinin iyileşmeleri üzerindeki etkilerini histolojik olarak değerlendirmektir. Çalışmaya 12 adet Yeni Zelanda türü dişi tavşan dahil edildi. Her bir hayvanın parietal kemiğinde sekiz milimetre çapında dörder adet bikortikal deneysel defektler oluşturuldu. Birinci defekte enjekte edilebilir trombositten zengin fibrin (e-TZF) ile Beta Trikalسيوم Fosfat (β -TCP) esaslı kemik grefti karışımı (Grup 1), ikinci defekte geliştirilmiş trombositten zengin fibrin (g-TZF) (Grup 2), üçüncü defekte β -TCP esaslı kemik grefti (Grup 3) uygulandı; dördüncü defekt ise boş bırakıldı (kontrol grubu). Denekler rastgele iki gruba ayrılarak dördüncü ve sekizinci haftalarda sakrifiye edildi. Defekt bölgelerinden alınan kesitler histopatolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirildi. Dördüncü hafta yapılan gruplar arası analize göre Grup 1'deki osteoblastik aktivasyon ve yeni kemik matriks sentezi ortalama değerlerinin Grup 4'e kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı ($p < 0.05$). Dördüncü haftada Grup 1'deki osteosit aktivasyonunun ortalama değerinin Grup 3'e kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu gözlemlendi ($p < 0.05$). Sekizinci haftada ise Grup 3'te görülen inflamasyon derecesinin Grup 4'e göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı ($p < 0.05$). Çalışmamızda kemik defektlerinin tedavisinde sadece β -TCP greft kullanımına kıyasla; e-TZF ile kombine şekilde kullanımının daha fazla ve hızlı bir şekilde yeni kemik formasyonu sağladığı, g-TZF kullanımında ise matür komponenti daha yoğun kemik dokusu elde edildiği saptandı. Elde ettiğimiz bulgular sonucunda, rejeneratif periodontal tedavilerde TZF bazlı biyomateryallerin tek başına veya greftle birlikte kombine kullanımıyla daha başarılı sonuçların elde edilebileceği düşünülmektedir. β -TCP, e-TZF ve g-TZF'nin kemik rejenerasyonuna olan etkilerinin immünohistokimyasal ve bilgisayarlı tomografik yöntemlerle değerlendirildiği ileri çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: Büyüme Faktörleri, Kemik Mineralizasyonu, Osseointegrasyon, Rejenerasyon, Yara İyileşmesi

ABSTRACT

Histological Examination of the Effects of Platelet-Rich Fibrin and Alloplastic Graft Applications on the Healing of Experimental Bone Defects Created in the Rabbit Skull

The aim of this study is to histologically evaluate the effects of the use of synthetic bone grafts and platelet rich fibrin based matrices in combination with the graft or as a membrane on the healing of bone defects created in the rabbit skull. Twelve New Zealand female rabbits were included in the study. Four bicortical experimental defects of eight millimeters in diameter were created in the parietal bone of each animal. Bone graft mixture based on injectable-platelet rich fibrin (i-PRF) and Beta Tricalcium Phosphate (β -TCP) in the first defect (Group 1), enhanced platelet rich fibrin (a-PRF) in the second defect (Group 2), β -TCP based bone in third defect graft (Group 3) was applied; the fourth defect was left blank (control group). The subjects were randomly divided into two groups and sacrificed at the fourth and eight weeks. Sections taken from the defect areas were evaluated histopathologically and histomorphometrically. According to the intergroup analysis performed at the fourth week, the mean values of osteoblastic activation and new bone matrix synthesis in Group 1 were found to be statistically significantly higher than in Group 4 ($p < 0.05$). In the fourth week, the mean value of osteocyte activation in Group 1 was observed to be significantly higher than in Group 3 ($p < 0.05$). In the eighth week, the degree of inflammation in Group 3 was found to be significantly higher than in Group 4 ($p < 0.05$). In our study, compared to the use of only β -TCP grafts in the treatment of bone defects; it was determined that the combined use of i-PRF provided more and faster new bone formation, while the use of a-PRF resulted in a more dense bone tissue with mature component. As a result of our findings, it is thought that more successful results can be obtained with use of PRF based biomaterials alone or in combination with graft in regenerative periodontal treatments. Further studies are needed to evaluate the effects of β -TCP, i-PRF and a-PRF on bone regeneration using immunohistochemical and computed tomographic methods.

Keywords: Bone Mineralization, Growth Factors, Osseointegration, Regeneration, Wound Healing

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Periodontal hastalıklar, mikrobiyal dental plak ile konak yanıtı arasındaki dengesizlik sonucu ortaya çıkan; periodontal dokuların ilerleyici kaybıyla karakterize kronik, inflamatuvar ve mikrobiyal hastalıklardır (1, 2). Dünyada yaklaşık olarak %90 oranında görülen bu hastalıklar, diş ve dişleri destekleyen dokularda yıkım yapmalarının yanı sıra fonksiyonel ve estetik sorunları da beraberinde getirerek bireyin yaşam kalitesini düşürmektedir. Ayrıca periodontal hastalıklar; kardiyovasküler, endokrin, üriner ve solunum sistemlerinde gelişen problemlerin patogeneğinde de büyük rol oynamaktadır. Bu nedenle periodontal hastalıkların klinik olarak başarıyla tedavi edilmesi günümüzdeki birçok araştırmanın temel konusu haline gelmiştir (3).

Periodontal tedavilerin sonucunda asıl hedeflenen, enfeksiyonu kontrol altına almak ve periodontal dokuların hastalıktan önceki yapı ve işlevlerini tekrar kazandırmaktır. Bu beklentiye en yakın sonuçlar ise hastalık sebebiyle kaybedilen periodontal ligament, sement, diş eti ve alveol kemiğin orijinal haliyle yeniden oluşmasını sağlayan rejeneratif tedavi yöntemleriyle elde edilebilmektedir (4–6).

Travma, tümör, enfeksiyon, konjenital malformasyon, dejeneratif hastalıklar ve benzeri sebeplerle (7) meydana gelen kemik defektlerinin tedavisinde birbirinden farklı güncel yöntemler bulunmasına rağmen, kemik dokusunun tamamıyla onarımında halen klinik problemlerle karşı karşıya kalınmaktadır (8). Bu amaçla son yıllarda periodontal hastalık sonucuyla yıkıma uğrayan destek dokuların geri kazanılmasında kemik greftleri ve alloplastik materyallerin kullanıldığı geleneksel periodontal cerrahi yöntemlere ek olarak rejenerasyonu artırmak amacıyla büyüme faktörleri ve trombosit konsantratları gibi çeşitli biyolojik mediyatörler kullanılmaktadır (9).

Kemik greftleri; canlı dokuların transplantasyonu ve kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda yeni kemik yapımını uyarabilmelerinin yanı sıra yer tutucu özelliği de olan materyallerdir (10). Oral cerrahilerde kullanılan otojen kemik greftlerin osteojenik, osteoindüktif ve osteokondüktif özelliklerin üçüne de sahip olmaları sebebiyle (11) halen altın standart olarak kabul edilmektedirler. Ancak; cerrahi süresinin uzunluğu, donör saha morbiditesi, enfeksiyon oluşturma riski gibi birtakım dezavantajlara sahiptirler. Otojen greftlerin olumsuz yönlerine karşın alternatif olarak allogreftler ve ksenogreftler geliştirilmiştir. Bu materyallerin, istenilen miktarda elde edilebilmeleri ve ikinci bir cerrahi alan oluşturmamaları gibi avantajlarına rağmen hastalık transferi ve antijenik yanıtı yol

açabilmeleri gibi önemli dezavantajlara da sahiptirler. Mevcut greft materyallerinin olumsuz yönlerini ortadan kaldırmak amacıyla doğal kemiğin biyolojik özelliklerini taklit eden alloplastik (sentetik) greft materyalleri geliştirilmiştir (12, 13). Sentetik greft materyalleri içinde günümüzde sıklıkla kullanılan Beta-trikalsiyum fosfat (β -TCP), kemik dokusunun yapım ve yıkım döngüsündeki hızına benzer rezorpsiyon hızı göstermektedir (14). Pörözlü yapısı sayesinde hücrelerin diferansiyasyonunu, proliferasyonunu arttırmakta (15), kemiğin vaskülarizasyonunu, yeniden şekillenme mekanizmasını stimüle etmekte ve osteokondüktif etki göstermektedir (14, 16).

Trombosit konsantreleri, içeriklerinde iyileşmeyi olumlu yönde etkileyen trombositleri, lökositleri ve sitokinleri barındırmaları sebebiyle rejeneratif periodontal tedavilerde yaygın olarak kullanılmaktadırlar (17). Migrasyon, proliferasyon, diferansiyasyon gibi iyileşme süreci safhalarının kontrolünü sağlayan endojen sinyal molekülleri olan büyüme faktörlerini (18) serbestlemeleri ve pıhtı oluşturmaları sayesinde yara iyileşmesinde kritik rol oynamaktadırlar (19).

Trombosit konsantratlarının diş hekimliği alanındaki ilk kullanımı Whitman ve arkadaşları tarafından açıklanmıştır (20). Geliştirmiş oldukları Trombositten Zengin Plazma (TZP), tam kanın santrifüjü yöntemiyle elde edilen ve içeriğinde yoğun miktarda trombosit bulunduran birinci nesil trombosit konsantratıdır (21, 22). TZP materyalinin oluşturulmasında; sığır trombin ve antikoagülan gibi yabancı maddelerin kullanılması sebebiyle doğal içeriğini kaybetmesi ve rejeneratif kapasitesindeki limitasyonlarından dolayı Choukroun ve ark. tarafından “Trombositten zengin fibrin (TZF)” formülasyonu geliştirilmiştir (20, 21). TZF, üç boyutlu fibrin matriksine trombositlerin, büyüme faktörlerinin ve granülositlerin tutunduğu ikinci nesil trombosit konsantratıdır (23, 24). Bu fibrin iskelet, büyüme faktörlerini yedi günden daha fazla sürede, yavaş ve kademeli bir şekilde ortama salarak, yara iyileşmesinin erken ve geç evrelerinde etkinlik göstermektedir. Uygulandığı alanda doku yenilenmesini hızlandırarak, osteokondüktif etki de sağlamaktadır (25-27).

Ghanaati ve ark. tarafından tanımlanan “düşük hızda santrifüj konsepti” yöntemiyle fibrin yapısındaki rejeneratif potansiyelli hücrelerin sayılarındaki artışla beraber (28, 29) aynı zamanda bu hücrelerin TZF matriksinde homojen olarak dağılımları sağlanmıştır (17, 24). Ayrıca bu konsept sayesinde matrikste yoğun miktarda bulunan büyüme faktörlerine doğrudan etki edilerek uzun ve sürekli şekilde salınımlarının sağlandığı bildirilmiştir (30).

Yapılan bu modifikasyonla “Geliştirilmiş trombosit zengin fibrin (g-TZF)” ve “Enjekte edilebilir trombosit zengin fibrin (e-TZF)” olmak üzere iki farklı form elde edilmiştir (24, 31).

g-TZF, venöz kanın 10 mL’lik steril, “clot” aktivatör içeren vakumlu cam tüplerde 1500 rpm’de (200 G) 14 dakika santrifüjü ile elde edilmektedir (24, 32). Elde edilen bu jel yapı, fibrin matriksindeki trombositlerin, lökositlerin, dolaşımdaki kök hücrelerin ve endotel hücrelerinin yoğunlaşması ile karakterizedir (17). Yapısında bulunan monositlerin makrofajlara hızla farklılaşmasıyla, yeni kemik stimülasyonu üzerindeki pozitif yönlü etkinin arttığı düşünülmektedir (33).

Sıvı formülasyondaki e-TZF; venöz kanın, antikoagülan içermeyen 10 mL’lik plastik tüplerde 700 rpm’de (60 G) 3 dk süreyle santrifüjüyle elde edilmektedir (31). Bu yapı, diğer TZF formülasyonlarına göre daha fazla rejeneratif hücre içermesiyle öne çıkmaktadır (30). e-TZF, kemik greft materyali ile birlikte kullanıldığında, yaklaşık 15 dk içerisinde polimerizasyon sağlanmaktadır. Greft partikülleri bir araya gelerek “yapışkan kemik (sticky bone)” adı verilen kitlesel bir yapı oluşturmaktadır (30, 34). Bu homojen oluşum sayesinde hem fibrinin greft partikülleri arasına difüze olması hem de greftin, uygulandığı cerrahi bölgedeki stabilizasyonu artarak sert doku iyileşmesinin desteklendiği düşünülmektedir (35).

Kemik defektlerinde estetik ve fonksiyonel olarak tam bir onarımın sağlanması oldukça zordur. Çalışmamızın amacı; literatürde kemik defektlerinin tedavisinde kullanılan biyomateryallerin halen ideal rejeneratif ortamı sağlayamamasından dolayı, β -TCP, g-TZF ve e-TZF + β -TCP kullanımlarının sonucunda meydana gelen hücresel olayların ve yeni kemik dokusunun oluşum hızının histolojik olarak değerlendirilmesidir.

Çalışmamızdan elde edilecek bulgular doğrultusunda kullanılan TZF biyomateryallerinin; yeni oluşacak olan kemiğin kalitesini arttırabileceğini, iyileşme dönemindeki kemik rezorpsiyon miktarını azaltarak kemik iyileşme periyodunu kısaltabileceğini ve böylece mevcut periodontal rejeneratif yöntemlere yeni bir yaklaşım getirebileceğini öngörmekteyiz. Ek olarak; hastanın otolog kanının kullanılması, uygulanacak rejeneratif tedavilerin maliyetini azaltarak ülke ve hasta ekonomisine de katkı sağlanacağını düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik Dokusu

Kemik dokusu; hücrelerden ve mineralize ekstrasellüler matriksten oluşan, canlılık aktivitesi yüksek, kompleks bir bağ dokusudur (36–38). Viskoelastik ve anizotropik bir yapıdadır. Çevredeki mekanik ve fizyolojik uyaranlara karşı adaptasyon kabiliyetine sahip olmakla beraber kendi kendini onarabilme özelliği de mevcuttur (39). İçeriğinde; hidroksiapatit kristalleri, kollajen lifleri, kollajen olmayan proteinler, su ve az miktarda proteoglikan molekülleri bulunmaktadır (40). Kemik dokusunu diğer bağ dokularından farklı kılan özelliği; sert ve sıkı formda olmasını sağlayan mineralize matriksle karakterize olmasıdır. Mineral yapısını ise hidroksiapatit kristalleri $[Ca_{10}(PO_4)_6.(OH)_2]$ şeklinde bulunan kalsiyum fosfat molekülü oluşturmaktadır (36).

Kemik dokusunun mekanik, koruyucu ve metabolik olmak üzere üç ana fonksiyonu vardır. Mekanik fonksiyonuyla vücut hareketlerine destek sağlamaktadır. Koruyucu fonksiyonu ile vital organları korumakta ve kemik iliği gelişimi için gereken biyolojik ortamı sağlamaktadır. Kalsiyum, fosfat ve diğer iyonları depolaması ise metabolik fonksiyonunu oluşturmaktadır (41). İlâveten büyüme faktörleri ve sitokinler için rezervuardır (42).

2.1.1. Kemik Dokusunun Oluşumu

Kemik dokusu, endokondral ve intramembranöz kemikleşme olmak üzere iki şekilde oluşmaktadır: Endokondral kemikleşmede, mezenşimal kök hücreleri kondrositlere farklılaşır ve bir kıkırdak yapısı meydana gelir. Oluşan bu kıkırdak yapısı yerini yeni kemik oluşumuna bırakmaktadır. İntramembranöz kemikleşmede ise kıkırdak formasyonu gözlenmemektedir (43). Bağ dokusu bir kalıp oluşturarak yeni kemik birikimini sağlar ve mezenkim hücreleri, osteoblastlara farklılaşarak doğrudan kemiği oluşturmaktadır (44).

2.1.2. Kemik Yapısı

Kemik yapısı; mikroskobik, makroskopik ve moleküler olmak üzere üç boyutta incelenmektedir.

2.1.2.1. Kemiğin Mikroskopik Yapısı

Primer Kemik Dokusu (Faz 1 Kemik, İmmatür, Woven)

Primer kemik dokusu, fötal gelişim ve kemik onarımı esnasında şekillenen henüz olgunlaşmamış kemik dokusudur. İçeriğinde bulunan kollajen liflerin yönelimlerine göre non-lamellar ya da örgümsü kemik olarak adlandırılmaktadırlar. Hızla sentezlenirler ve

mekanik dayanımları zayıftır. Bu form geçici olarak görülür ve zamanla yerini olgun kemik dokusuna (sekonder kemik) bırakmaktadır. Alveoler sokette sıklıkla bulunduklarından dolayı yetişkinlerdeki ortodontik tedavilerin uygulanabilmesini mümkün kılmaktadır.

Sekonder Kemik Dokusu (Faz 2 Kemik, Matür, Lamellar)

Yapısını “Osteon” ya da “Havers” adlı silindirik birimler oluşturmaktadır. Primer kemiğe göre daha az hücre içerir. Hücrelerin uzun aksları lamellerle aynı doğrultuda uzanarak düzenli bir şekilde organize olmuşlardır ve mineralizasyonu tamamlanmıştır. Süngerimsi ve kompakt kemik olmak üzere iki şekilde bulunmaktadır (36, 37).

2.1.2.2. Kemiğin Makroskopik Yapısı

Kemik dokusunun makroskopik görüntüsü incelendiğinde; pöröz, anizotropik ve homojen olmayan bir yapının hâkim olduğu görülmektedir. Pörözlü yapısı %5-%95 arasında değişebilmektedir. Çoğu kemik dokusu ya çok düşük ya da çok yüksek pöröziteye sahiptir.

Trabeküler (Kansellöz, Süngerimsi, Spongiyöz) Kemik

Genellikle yassı kemiklerin iç yüzlerinde ve kemiğin uç kısımlarında bulunmaktadır. Yapısı %50-95 oranında gözenekliliğe sahiptir. Bu gözenekler birbirleriyle bağlantı halindedir ve içleri kemik iliği ile doludur (40). Metabolik hızı kortikal kemiğe göre yüksektir ancak; yapısal olarak az yoğun ve elastik bir form göstermektedir (45).

Kortikal (Kompakt, Sert, Lameller) Kemik

Mikroskopik olarak incelendiğinde kortikal kemik, “Havers sistemi” ya da “Osteon” olarak adlandırılan, merkezi bir kan damarı çevresinde sıralanmış silindirik kemik yapılarından oluşmaktadır (40). Bu kan damarları, silindirik üniteleri perforasyona uğratan kanallar aracılığı ile kemik yüzeyinde bulunan damarlarla anastomoz yapmaktadır. Yapısındaki kanalların her biri “lamel” adlı, fazla sayıda bulunan kemik tabakalarının oluşturduğu eş halkalar ile çevrilidir. Kemiğin ana hücreleri olan osteositler ise matriks halkaları arasında bulunan lakün boşluklarında yerleşim göstermektedir. Kollajen fibrillerin düzenli dizilim göstermeleri sebebiyle, erişkinlerin kemik dizilimlerinin çoğu lamellar yapıdadır (37). Kortikal kemik ile trabeküler kemik hücresel ve moleküler kompozisyon olarak birbirlerine benzeseler de işlevleri ve mekanik özellikleri birbirlerinden oldukça farklıdır (41).

2.1.2.3. Kemiğin Moleküler Yapısı

Kemiğin İnorganik Yapısı

Hidroksiapatit

Kemiğin inorganik matriksinin ana yapısını 20-80 nanometre (nm) boyunda ve 20 nm çapındaki HA kristalleri $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ oluşturmaktadır. Diğer apatitlere göre dört kat daha küçüktür. Yapıca daha düzensiz olması nedeniyle daha reaktif ve çözünebilir özelliktedir. Bu özelliği kemik tamiri açısından önem taşımaktadır. Eğer kristallerin dizilimi düzenli ise kemik rezorpsiyonu zorlaşarak matriks tamiri aksar. HA; kemik dokusunun dayanıklılığının, sertliğinin ve baskı tipi streslere karşı gösterdiği direncin en önemli belirleyicisidir.

Kemiğin Organik Yapısı

Organik matriks, osteoblastlar tarafından sentezlenmektedir (37). Organik yapının %90'ını tip 1 kollajenler, kalan %10'luk kısmını ise non-kollajenöz proteinler, glikoproteinler, proteoglikanlar, peptidler, karbonhidratlar ve yağlar oluşturmaktadır (46).

Kollajen

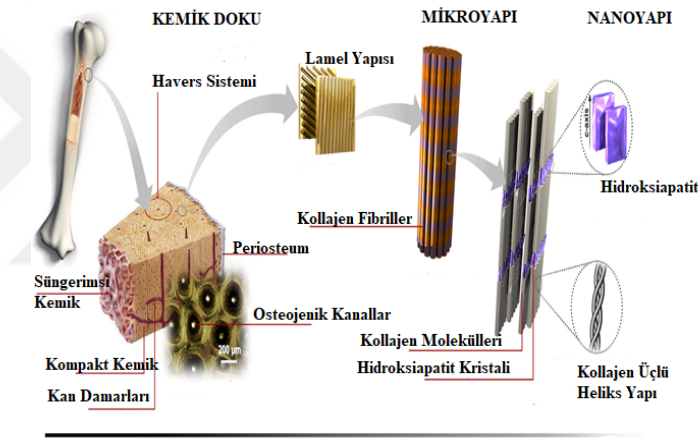
Tip 1 kollajen insan vücudunda en fazla bulunan proteindir. Hücre yüzeyleri ile olan etkileşimleri sayesinde birçok dokunun bütünlüğünü sağlamaya yardımcı olmaktadır. Bugüne kadar Tip 1 kollajen ile etkileşime giren yaklaşık 50 farklı molekül tanımlanmıştır. Yapısında bulunan iki adet α_1 polipeptid ve bir adet α_2 polipeptid zinciri üçlü sarmal yapı oluşturmaktadır. Daha sonra bu yapı organize olarak kollajen liflerini oluşturmaktadır (Şekil 1). Tip 1 kollajen, kemik, tendon gibi yük taşıyan dokular için anahtar bir yapısal bileşendir (47). Kollajen molekülü, kemiğe elastisite direnci sağlamaktadır. Mineraller ve büyüme faktörleri için rezervuar görevi görmektedir (48).

Kemik matriksi ilaveten eser miktarda tip III, V ve FACIT kollajen içermektedir. FACIT kollajenler; fibril-associated kollajen ailesine mevcuttur. Bu kollajen yapıların, fibriller kollajen ile ekstrasellüler komponent arasındaki etkileşimde rol aldığı düşünülmektedir (37).

Kollajen Olmayan Proteinler

Kemik matriksi, kemiğin ara maddesini oluşturan non-kollajenöz proteinlerini de yapısında bulundurmaktadır. Bu proteinler, toplam kütleinin %10'unu oluşturmaktadırlar.

Kemiğin tadilatı, büyümesi, yeniden şekillenmesi vb. mekanizmalarda görevlidirler. Matriks içinde bulunan ve kollajen olmayan proteinler dört ana gruba ayrılmaktadır. Bu grupta olan çoklu yapışkan glikoproteinler, kemik dokusu hücrelerinin ve kollajen liflerin mineralize ara maddeye adezyonundan sorumludurlar. Büyüme faktörleri ve sitokinler ise küçük ve düzenleyici proteinlerdir. Bu grubun en spesifik üyesi olan kemik morfojenik proteinleri (BMP); mezenkimal hücrelerin, osteoblastlara dönüşümünü sağlamaktadırlar. Osteojenik protein- 1 (OP- 1) olarak adlandırılan BMP- 7; günümüzde geniş kemik defektleri ya da greft implantasyonları ile ilgili cerrahiler sonrasında yeni kemik oluşumunu stimüle etmek için kullanılmaktadır. Proteoglikan makromolekülleri, merkezde bir protein ve bu proteine kovalent bağlanmış çeşitli sayıdaki glikozaminoglikan yan zincirlerini içermektedir. Kemiğin basınca karşı dayanıklılık sağlamasına yardımcıdırlar.



Şekil 1. Kemik dokusunun morfolojisinin şematik olarak gösterilmesi (Shojai'den, 48)

2.1.3. Kemik Dokusunun Hücresel Elemanları

Kemik dokunun fonksiyonel kabiliyeti çok sayıda ve birbirlerinden farklı özelleşmiş hücre grupları ile kontrol edilmektedir. Kemiğin hücresel komponenti toplam kemik hacminin %90'ını oluşturmaktadır. Mezenşimal kök hücre ve hematopoetik hücre hattı olmak üzere iki farklı hücre hattından orijin almaktadır. Kemik dokusu içinde bulunan hücreler ya kemik dokusunun içinde ya da kemik iliği stromasında yerleşim göstermektedirler (37). Kemiğin hücresel komponentleri; osteoblastlar, osteoklastlar, osteositler, osteoprogenitör hücrelerdir.

2.1.3.1. Osteoprojenitör Hücreler

Osteoprojenitör hücreler, pre-osteoblastlar olarak da adlandırılmaktadırlar. Osteosit ve osteoblast hücrelerinin öncüleri olarak bilinmektedirler. Mezenşim kaynaklıdır ve kemiğin rezorpsiyon göstermeyen tüm yüzeylerinde bulunmaktadır. Mitoz bölünme ile çoğalabilme ve yenilenme kapasitelerine sahiptirler. Gelişmekte olan kemiklerde sayıca fazladır ve yaşla beraber bu sayı giderek azalmaktadır. İnaktif periyodlarında kemik iliğinde konumlanmaktadır. Osteojenik farklılaşmada büyük rol oynamalarından dolayı bu hücrelerdeki işlev bozukluğu kemikleşmeyi geciktirmektedir. Osteoprojenitör hücreler, yeni kemik dokusu oluşumu, kemiğin büyümesi, kırık onarımı ve anjiyogenezisin düzenlenmesine katkı sağlayan kök hücrelerdir. Periostun derin tabakasını ve internal medullar yüzeydeki endosteumu oluşturmaktadırlar (46, 49, 50).

2.1.3.2. Osteoblastlar

Osteoblastlar, mezenşimal hücre kaynaklıdır (7). Endokondral kemik gelişimi boyunca osteoprojenitör hücrelerden salınım göstermektedirler (51, 52). Mononükleer hücrelerdir ve şekilleri hücre içindeki aktivitelerine göre değişkenlik göstermektedir. Olgun ve metabolik olarak aktiftirler. Kemik matriksi sentezi ve kalsifikasyonu, osteoklastların regülasyonu, osteoid sentezi ve kemik yapımından sorumludurlar (36, 42).

Osteoblastik hücreler; büyüme faktörleri ve sitokinlere cevap vererek hücrel fonksiyonlara, mekanik uyarılara yanıt verebilmelerine yardımcı olan özgül hormon reseptörlerine sahiptirler. Ayrıca; kollajen ve non-kollajen proteinlerin sentezi, özgül sitokinlerin sentezlenmesi ile osteoklastlara farklılaşması, osteoklast aktivasyonunda rol oynamaktadırlar (37).

2.1.3.3. Osteoklastlar

Osteoklastlar, hematopoetik kök hücrelerden orijin alan multi-nükleer hücrelerdir (53). Hormonal ve hücrel mekanizmalar tarafından kontrol edilmektedirler. Kemiğin fizyolojik olarak şekillenmesinde, Ca regülasyonunda, dişlerin erüpsiyonunda, ortodontik diş hareketlerinin sağlanmasında ve kemik tamirinde önemli rolleri bulunmaktadır (37). Sadece kemik gelişimi sırasında değil; aynı zamanda kemik kütlelerinin düzenlenmesinde de merkezi bir rol oynamaktadır (54). Kemik rezorpsiyonundan sorumludurlar ve bunu içerdikleri asit ve proteolitik enzimler (Katepsin C vb.) aracılığı ile sağlamaktadırlar. Kemik rezorpsiyonu sürecinde, bu asit ve enzimler kollajen ve diğer matriks proteinlerini

ayrıştırmaktadırlar. İskelet formasyonunda kritik rol oynamaktadırlar ve kemik kütlesinin düzenlenmesindeki yapım ve yıkım olaylarında osteoblastlar ile eşit öneme sahiptirler (55).

2.1.3.4. Osteositler

Osteositler kemiğin esas hücreleridirler. Osteoid matriks içine hapsedilmiş osteoblastlar olarak da tanımlanmaktadırlar. Fonksiyonel aktiviteleri ve morfolojileri bulundukları hücrenin yaşına göre değişebilmektedir. Genç osteositler, osteoblastların yapısal olarak birçok özelliğine sahiptir ancak; osteoblastlara göre daha az protein sentezi yapmaktadırlar (45). Her osteosit, hücrenin şekline uygun bir lakünada bulunmaktadır. Asıl görevleri, kemiğe gelen kuvvetlerin değişimini algılayarak, yeniden şekillenme sürecini kontrol etmektir. Kemik matriksinin devamlılığında sorumludurlar. Yeni matriks sentezleyebilirken aynı zamanda osteoklastların migrasyonunu ve farklılaşmasını düzenleyerek matriksin yıkım sürecini de düzenleyebilmektedirler. Yapım ve yıkım sürecinde rol almaları, Ca dengesinin sağlanmasına da yardımcı olmaktadır (36, 37).

2.1.4. Kemik Zarları

Periosteum kemiği dış yüzünden çevreleyen, kalın ve özelleşmiş bir bağ dokusudur. Sharpey lifleri ile kemiğe sıkıca bağlanırlar ve bu lifler periostun devamlılığını sağlamaktadır (56). Periosteum hem kemik yapımında hem de kemik defektlerinin tamirinde olmazsa olmaz bir yapıdır (57). Endosteum ise kemik iliği boşluğunun astarı olarak bilinir. Yapıca periosteumdan daha incedir. Kemiğin beslenebilmesi, büyümesi, yeniden şekillenmesi için periosteum ve endosteum şarttır (58).

2.1.5. Kemik Dokusunun Büyümesi ve Şekillenmesi

Kemik dokusu, büyüme ve gelişim dönemindeki değişken kuvvetlere adaptasyon sağlayabilmek için “şekillenme (modeling)” ve hasarlı kemiğin yerine organize kemiğin geçmesini sağlayan “yeniden yapılanma (remodeling)” kapasitesine sahip aktif bir yapıdır (37). Bu döngü lokal, sistemik ve mekanik faktörlerle dengede tutulmaktadır.

2.1.5.1. Kemiğin Yeniden Yapılanmasını Etkileyen Faktörler

Mekanik Faktörler

Fiziksel aktivite, kemiğin formasyonu açısından kritik değere sahiptir. Mekanik yüklerde oluşan herhangi bir değişim, kemiğin kütlesinde ve hacminde farklılığa sebebiyet vermektedir. Kemiğin anatomisi, sertliği, dayanıklılığı gibi mekanik özellikler, hayat boyu

mekanik uyaranlara karşı uyum sağlamaktadır. “Form fonksiyonu takip eder” kuralı Wolff Yasası olarak adlandırılır ve kemiğin mekanik adaptasyonunu ifade etmektedir. Kemik dokusu bu süreç içinde en az hacim ile en çok dayanıklılığa adapte olur ve mekanik ihtiyaçlarına karşı bu şekilde cevap vermektedir. Yeniden yapılanma sürecinde kemik dokusunun düzeni, lokal yükleme yönünde oluşmaktadır. Bu şekildeki düzenleme ile kemik formasyonunun mekanik uyaranlarla yönlendirildiğini düşündürmektedir.

Osteositler, mekanik uyaranlara karşı cevap olarak osteoblast ve osteoklastların aktivitelerini düzenlemeleri sayesinde mekanik uyarıları hücrel uyaranlara dönüştüren sinyal moleküllerini sentezlemektedirler. Bu yüzden osteositler, kemik yapımından ve kemik yıkımından sorumlu hücrelere bilgi ulaştırma kapasitesine sahip hücre grubudur. Osteositler, gerilim tipindeki kuvvetlerin az olduğu bölgelerde osteoklastik aktiviteyi artırır, gerilimin yüksek olduğu bölgelerde ise kemik yapımını artırıcı etkiye sahiptirler (38).

Lokal Faktörler

Kemik dokusunun osteoklastogenez ve yeniden şekillenme süreçleri Tümör nekrozis faktör (TNF) ailesine bağlı olan Osteoprotegerin (OPG) / Nükleer Kappa B Ligandı Reseptör Aktivatörü (RANKL)/ Nükleer Kappa B Reseptör Aktivatörü (RANK) sistemleri ile sağlanmaktadır. Preosteoblastik/stromal hücre yüzeylerinde bulunan RANKL ile RANK etkileşimi, pre-osteoklastik hücrelerin, osteoklast hücrelerine diferansiyasyonunu sağlayarak bu hücreleri aktive etmektedir. OPG ise osteoblast yüzeyindeki RANKL’ı bağlayarak RANKL-RANK etkileşimini bloklamaktadır ve böylece pre-osteoklastların osteoklasta farklılaşmasını önlemektedir. OPG ve RANKL, osteoklastogenezis olayında görev alan hormonların, büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin uyarılması için aracılırlar (Tablo 1) (37, 45).

Tablo 1. Sitokinler ve hormonların kemiğin yeniden şekillenmesi üzerine RANKL ve OPG sekresyonu yoluyla etkileri (Dimitrios'tan, 45)

Sitokin ve Hormonlar	RANKL	OPG
TGF- β	-	↑
PTH	↑	↓
1.25 (OH) ₂ vitamin D ₃	↑	-
Glukokortikoid	↑	↓
Östrojen	-	↑
Fibroblast büyüme faktörü	↑	↓
Prostaglandin E ₂	↓	↑

Sistemik Faktörler

Paratiroid hormon (PTH), Ca regülasyonunun en önemli belirleyicisidir. Kemik rezorpsiyonunu uyarır ve böylece renal tübüllerden Ca geri Emilimi sağlamaktadır. Ayrıca PTH, RANKL yapımını stimüle etmektedir. Yapılan genetik çalışmalarda, östrojenin osteoblastik hücrelerden İnterlökin-6 (IL-6) gibi osteoklastik aktiviteyi artırıcı faktörlerin salınımını değiştirerek veya PTH'nin rezorbe edici etkilerini düzenleyerek indirekt yolla etkilediği göstermektedir. Östrojenin osteoblastlar üzerinde anabolik etkili olduğunu ve osteoklastlarda ise apoptozis olayını artırdığı gözlenmiştir. Kalsitonin, kemiğin yeniden şekillenme mekanizmasını etkiler ve farmakolojik dozda uygulandığı zaman osteoklastların hareketlerini azaltarak proteolitik enzimlerin sekresyonunu inhibe etmektedir. 1,25(OH)₂ ve vitamin D₃, kemik gelişimi ve mineralizasyonundaki temel unsurlardandır ancak bununla beraber kemik rezorpsiyonunu da uyarmaları sonucunda kemiğin yeniden şekillenmesi üzerine olan etkileri çelişkilidir. Büyüme hormonları kemik üzerinde anabolik etkilidir ve insülin büyüme faktörlerinin (IGF-1, IGF-2) kemik gelişiminin en önemli regülatörlerindendir.

2.1.6. Kemik Rezorpsiyonu

Kemik dokusunun yapım ve yıkım mekanizmaları birbirlerinden bağımsız olaylar gibi gözükseler de aslında birbirlerine bağımlı olaylar örgüsüdür. Kemiğin yapımı ile yıkımı arasındaki denge osteoblastik ve osteoklastik hücrelerin uyumlu çalışmasıyla

sağlanmaktadır (54). Dengenin osteoklastlar lehine bozulmasıyla patolojik kemik rezorpsiyonu meydana gelmektedir. Osteoklast hücreleri kemiği yıkarken, osteoblastik hücreler rezorpsiyon bölgesine gelerek yıkılan kemiği onarırlar. Osteoblastlar, osteoklastların diferansiye olmasını sağlayan, osteoklastogenezin uyarılmasına kritik rol oynayan RANKL ve makrofaj koloni stimüle edici faktör (M-CSF) olmak üzere iki önemli sitokini açığa çıkarırlar.

Osteoblastlardan RANKL salınması vitamin D₃, PgE₂ gibi hormonların varlığına bağlıdır. RANKL aynı zamanda gingival fibroblastlar ve periodontal ligament fibroblastları gibi hücrelerden de açığa çıkmaktadır. M-CSF ise monosit/ makrofaj hattındaki osteoklastik prekürsör hücrelerin çoğalmasından sorumludur. M-CSF ya da RANKL aktivasyonu ile kemik yıkım süreci başlamaktadır. Osteoblastlar, çeşitli mediyatörler tarafından uyarılarak, yüzeylerinde bulunan RANKL seviyesini arttırırlar ve osteoklastogenezis mekanizması stimüle olur. Rezorpsiyonun başlangıcındaki en önemli nokta ise osteoklastların kemik matriksine adheze olmalarıdır. Osteoklast hücreleri integrinler aracılığıyla kemik matriksine tutunur ve bu birleşmeyle asidik bir ortam yaratılarak kemik matriksin inorganik komponenti çözünmeye uğrar. Organik komponentinin çözünmesi ise katepsin gibi proteolitik enzimlerle gerçekleşmektedir.

2.1.7. Kemik İyileşmesi

Kemik dokusunun iyileşmesi; inflamasyon, onarım (proliferasyon) ve kemik remodelizasyonu olmak üzere 3 major aşamayla sağlanmaktadır (59).

2.1.7.1. İnflamasyon Evresi

Kemik dokusunda travmatik bir yaralanma oluştuğunda, iyileşmenin ilk aşaması olarak bölgede kanama ve sonrasında pıhtı (hematom) formasyonu meydana gelmektedir. Pıhtı, mezenşimal hücrelerle etkileşime girer ve hücrel aktivasyonları indükleyen büyüme faktörleriyle birlikte iyileşme mekanizmasını organize etmektedir (60). İnflamatuar hücrelerin (makrofaj, polimorfonükleer hücreler ve lenfositler) ve fibroblastların ilgili bölgeye gelmesiyle pıhtı, osteojenik potansiyeli olan granülasyon dokusuna dönüşmektedir (46). Bu doku, kollajen lif ve hücre bakımından zengin olan geçici bağ dokusu matriksiyle kademeli olarak yer değiştirmektedir ve iyileşme sürecinin proliferatif evresine geçiş sağlanmaktadır (61).

2.1.7.2. Onarım Evresi (Proliferatif Faz)

Hasarlı dokunun onarımı ve hücresel aktivitenin en baskın olduğu bu evre, yaralanmadan birkaç gün sonra başlayarak yaklaşık olarak üç hafta sürmektedir. Onarım aşaması; mezenşimal hücrelerin hızla kondrogenezise uğrayıp (kartilaj gelişimi), ossifikasyon mekanizmasının stimüle olmasıyla başlamaktadır (60, 62). Güçlü hücre çoğalmasıyla, defekt alanındaki damarlanma artarak revaskülarizasyon ve anjiyogenezis mekanizmaları stimüle olmaktadır (34). Yeni kan damar ağının oluşumu yara iyileşmesinin başarılı olduğunun işareti olduğundan; anjiyogenezis, proliferatif fazın ön koşuludur. Endotelial hücrelerden proteolitik enzimler, kollajenaz ve plazminojen aktivatörleri salınmasıyla epitelin bazal membranında proliferasyon, migrasyon ve yeni damarlanma gibi hücresel fonksiyonlar indüklenir (62, 63). Fibroblastların otokrin ve parakrin sinyalleriyle trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) sekresyonu artırılır ve kollajen molekülü miyofibroblastlara dönüşmektedir. Böylece migrasyon başlamaktadır ve bu işlem epitellerin karşılıklı olarak bir araya gelmesine kadar sürmektedir. Miyofibroblastlar aynı zamanda kontraksiyon prosesini de başlatmaktadırlar (64). Yoğun ve hızlı doku oluşumuyla karakterize olan bu safhada, osteoprojenitör hücreler defekt bölgesine göç ederek osteoblastlara diferansiye olurlar. Bu olay örgüsü sonucunda kollajen lif sentezi ve mineralizasyon sürecinin de indüklenmesiyle beraber woven kemik meydana gelir. Bu kemik yapısı, defekt meydana geldikten sonra yaklaşık 14 gün civarı gibi erken bir sürede iyileşme soketinde oluşum gösterebilmektedir (61).

2.1.7.3. Yeniden Şekillenme Evresi (Remodelling Fazı)

Kemik onarımının son fazı olan yeniden şekillenme sürecinde, kemik dokusu yapısal ve mekanik dayanımı daha güçlü olan kortikal ve trabeküler kemik yapılarına dönüşmektedir. Bu dönüşüm, woven kemiğin matrikste osteoklastik bozulmaya uğramasıyla başlar. Osteoblastlar, osteoklast hücrelerinin rezorpsiyona uğrattığı boşluklara göç ederek kemik yapımını başlatırlar ve sekonder kemik dokusunu oluştururlar (60, 61). Kemik dokusu iyileşme sürecinde mineral matriks üretimi ve tamamıyla hücresel yenilenme ile gösterirken, diğer bağ dokuları kollajen birikimiyle skar bırakarak iyileşmektedir (65).

2.2. Periodontal Hastalıklar

Periodontal hastalıklar, dental plak biyofilmi ile başlayan, dişetinde enflamasyon oluşturarak dişi destekleyen dokuların bütünlüğündeki değişimle kendini gösteren patolojik durumlardır (1, 2).

Periodontal hastalıklar ve durumların sınıflandırılması; hastalığın etiyolojisini, patogenezi, doğal seyrini bilerek klinisyenlerin uygun tanı ve tedavi prosedürü uygulamaları açısından önemlidir. Bu nedenle Avrupa Periodontoloji Federasyonu ve Amerikan Periodontoloji Akademisi tarafından yapılan değerlendirmeler sonucunda 1999 sınıflandırması yetersiz bulunarak, 2017 yılında yeni bir sınıflama gündeme gelmiştir. Yapılan yeni sınıflamadaki amaç periodontal sağlık, hastalığın şiddeti, evresi, ilerleme hızı, hastalığa yatkınlığı arttıran durumların tanımlanmasıdır.

2.2.1. Periodontal Sağlık, Gingival Hastalık ve Durumlar

2.2.1.1. Periodontal Sağlık, Gingival Sağlık

Periodontal sağlık, kişinin normal fonksiyon ve işlevlerini konforlu bir şekilde gerçekleştirebilmesini sağlayan, inflamatuvar periodontal hastalıkların bulunmadığı stabil durumdur. Periodontal ve gingival sağlığın klinik olarak tespitinde sondalanabilir cep derinliğinin 3 mm'den küçük olması, sondalamada kanama görülmemesi, ataçman kaybı olmaması, dişetinde kızarıklık, şişlik, pü formasyonu olmaması gibi parametreler kullanılmaktadır (66–68).

2.2.1.2. Dental Biyofilme Bağlı Gingivitis

Gingivitis, mikrobiyal dental plakta bulunan mikroorganizmalar tarafından oluşturulan diş etinin lokalize iltihabi durumudur (69). Klinik olarak sondalamada ya da spontan kanama, hipertrofik, ödematöz ve kızarıklık dişeti dokusu ile karakterizedir. İnflamasyon diş eti dokusunda sınırlı kaldığından, radyografik olarak kemik kaybı görülmemektedir (70). Gingivitis reversible bir tablo olmasıyla periodontitisten ayrılmaktadır. Dental plak elimine edildikten sonra dokudaki inflamasyon çözülerek tüm klinik semptomlar geriye döndürülebilmektedir (68).

2.2.1.3. Dental Biyofilme Bağlı Olmayan Gingivitis

Dental plağa bağlı gingivitis tablosunun sıklıkla görülmesine rağmen; plağa bağlı olmayan gingivitis tablosu ise daha nadir görülmektedir. Gingivada görülen ve plak kaynaklı olmayan bu lezyonlar, diş etiyle sınırlı bir patoloji ya da sistemik hastalıklarla ilişkili olabileceklerinden dolayı tanımlanmaları hastalar açısından oldukça önemlidir. Bu hastalıklar; genetik/ gelişimsel malformasyonlar, spesifik enfeksiyonlar (viral/ fungal/ bakteriyel), inflamatuvar veya immün durumlarla alakalı lezyonlar, neoplazmlar, reaktif lezyonlar, çeşitli maligniteler, endokrin ve metabolik hastalıklar, travmatik lezyonlar ve

gingival pigmentasyonlardır (71).

2.2.2. Periodontitis

Periodontitis, spesifik mikroorganizmalar ile ilişkili olan, periodontal cep oluşumu, dişi destekleyen dokularının yıkımı ve diş kaybıyla karakterize multifaktöriyel, kronik bir hastalıktır (69, 72).

1999 sınıflandırmasına göre periodontitis; kronik-agresif periodontitis, nekrotizan periodontal hastalıklar ve sistemik hastalıkların göstergesi olan periodontitis olmak üzere dört alt başlığa ayrılmıştır (73). Ancak; 2017’de yapılan sınıflamaya göre hastalığın patofizyolojisi göz önünde bulundurularak periodontitis; nekrotizan periodontal hastalıklar, periodontitis ve sistemik hastalıklarla ilişkili olarak periodontitis olmak üzere üç alt başlık halinde değerlendirilmektedir (Tablo 2). Hastalığın şiddeti ise evreleme (Tablo 3) ve derecelendirmeye göre (Tablo 4) kategorize edilmiştir (74).

Tablo 2. Periodontal ve Peri-implant hastalık ve durumların sınıflandırılması (Caton’dan, 74)

PERİODONTAL ve PERİ-İMLANT HASTALIK ve DURUMLARIN 2017 SINIFLAMASI			
A. Periodontal Hastalık ve Durumlar			
Periodontal Sağlık, Gingival Hastalık ve Durumlar		Periodontitis	Periodonsiyumu Etkileyen Diğer Durumlar
- Periodontal Sağlık, Gingival Sağlık - Dental Biyofilme Bağlı Gingivitis - Dental Biyofilme Bağlı Olmayan Gingivitis		- Nekrotizan Periodontal Hastalıklar - Periodontitis - Sistemik Hastalıkların Bir Göstergesi Olan Periodontitis	- Periodontal Destek Dokuları Etkileyen Sistemik Hastalık ve Durumlar - Periodontal Apseler ve Endodontik-Periodontal Lezyonlar - Mukogingival Deformiteler ve Durumlar - Travmatik Oklüzal Kuvvetler - Diş ve Protezlere Bağlı Durumlar
B. Peri-implant Hastalıklar ve Durumlar			
Peri-implant Sağlık	Peri-implant Mukozitis	Peri-İmplantitis	Peri-İmplant Yumuşak ve Sert Doku Yetersizlikleri

Tablo 3. Periodontitis evrelerinin şematik olarak gösterilmesi (Tonetti'den, 75)

Periodontitis Evreleri		Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4
Şiddeti	En derin interproksimal KAK miktarı	1-2 mm	3-4 mm	≥ 5 mm	
	Radyografik olarak kemik kaybı	Koronal üçlüde %15'ten az kemik kaybı	Koronal üçlüde %15-%33 arasındaki kemik kaybı	Kökün ortasına veya apikal üçlüsüne kadar uzanan	
	Diş kaybı (periodontal hastalık ile ilişkili)	Diş kaybı yok		≤ 4 diş	≥ 5 diş
Hastalığın Kompleksliliği	Lokal	Maks. SCD ≤ 4 mm Çoğunlukla Horizontal yıkım	Maks. SCD ≤ 5 mm Çoğunlukla Horizontal yıkım	Evre 2'nin kompleksliliğine ilaveten; SCD ≥ 6 mm Vertikal kemik kaybı ≥ 3 mm Sınıf 2 veya Sınıf 3 furka tutulumu Orta seviyede kret defekti	Evre 3'ün kompleksliliğine ilaveten; Çiğneme disfonksiyonu Sekonder oklüzal travma (mobilité derecesi ≥ 2) Şiddetli düzeyde kemik kaybı Malokluzyon 20'den az sayıda kalan diş (10 çift karşıt diş)
Genişlik ve Yayılım	Evrelendirmeye tamamlayıcı olarak eklenir	Her bir evre için dağılımın, Lokalize (etkilenen diş $< \%30$), Generalize molar/ insizör dağılım paterni olarak tanımlanmaktadır			

KAK: klinik ataçman kaybı, SCD: Sondalama cep derinliği

Tablo 4. Periodontitis derecelendirilmesi (Tonetti'den, 75)

Periodontitis Derecesi			Derece A: Yavaş Hızla İlerleme	Derece B: Orta Hızla İlerleme	Derece C: Hızlı İlerleme
- Öncelikli Kriter	Direkt ilerlemenin kesin kanıtı	Radyolojik olarak kemik kaybı veya klinik ataçman kaybı	Son 5 yıl içinde kayıp yok	Son 5 yıl içinde < 2 mm kayıp	5 yılı aşan sürede >2 mm kayıp
	İndirekt ilerlemenin kanıtı	Kemik kaybı / yaş %'si	< 0.25	0.25- 1	> 1
		Vaka fenotipi	Yoğun biyofilm ile birlikte düşük seviyede yıkım	Biyofilmle orantılı yıkım	Mevcut biyofilme göre beklenilenden daha fazla yıkım
- Sınıflandırmayı Modifiye Edenler	Risk Faktörleri	Sigara kullanımı	Yok	< 10 sigara /gün	≥ 10 sigara /gün
		Diabet	Yok	HbA1c < 7	HbA1c ≥ 7
- Periodontitisin Sistemik Etkisi	İnflamatuar yük	Yüksek hassasiyetli CRP	< 1mg/L	1-3 mg/L	> 3mg/L
- Biyolojik Belirteçler	KAK/Kemik Kaybı Göstergeleri	Tükürük, Diş eti oluşu sıvısı, Serum	?	?	?
HbA1c: Glikolize Hemoglobin, CRP: C-reaktif protein, KAK: klinik ataçman kaybı					

2.2.2.1. Evre I Periodontitis

Evre I periodontitis başlangıç aşamasıdır ve gingivitis ile periodontitis arasındaki sınırı temsil etmektedir. İnterdental klinik ataşman kaybı 1-2 mm olmak üzere minimal düzeydedir. Alveoler kemik kaybı horizontal seyirlidir ve koronal üçlünün %15'inden daha

azdır.

Periodontitis tablosu sonucuyla diş kaybı görülmemekte ve sondalanabilir cep derinliği 4 mm veya daha azdır. Bu aşamada ataçman kaybını tahmin edebilmek ve periodontitis tablosunu tanımlayabilmek amacıyla tek başına periodontal sondalama yöntemini kullanmak yanlış tanı konulmasına sebep olabilir. Bu amaçla; tükürük biyomarkerlerinin ya da yeni görüntüleme tekniklerinin kullanılması erken teşhisin doğruluğunu arttırabilmektedir.

2.2.2.2. Evre II Periodontitis

İnterdental klinik ataşman kaybı 3-4 mm'dir. Kemik kaybı koronal üçlünün %15-33'ü arasında değişmektedir ve çoğunlukla horizontal kemik kaybı şeklinde görülmektedir. Periodontitis tablosu sonucuyla diş kaybı görülmemekte ve sondalanabilir cep derinliği 5 mm veya daha azdır. Hastalık sürecinin bu safhasında hekim tedavisi ve hastanın optimal ağız bakımı sonucunda bakterilerin eliminasyonunu içeren tedavi prosedürünün uygulanmasıyla hastalığın progresyonunun önlenmesi gerekmektedir.

2.2.2.3. Evre III Periodontitis

Hastalığın bu safhasında, epitelyal ataçmanda ileri derecede hasar mevcuttur ve bu sebeple ileri tedavi yöntemleri uygulanmadığı takdirde periodontitis kaynaklı diş kayıpları görülebilmektedir. Sondalanabilir cep derinliği 5 mm veya daha fazladır. Kemik kaybı kökün ortasına veya apikaline kadar uzanarak 3 mm veya daha fazla olmak üzere vertikal kayıp olarak izlenebilmektedir. Ek olarak bu safhada kemik içi defektler, furkasyon defektleri, alveoler krette defektler görülerek tablo daha kompleks hale gelebilir.

2.2.2.4. Evre IV Periodontitis

Evre IV periodontitiste periodonsiyumda önemli ölçüde hasar olduğundan, bu yıkımla ilişkili olarak çok sayıda diş kaybı ve çiğneme disfonksiyonu meydana gelmektedir. Bu sebeple çiğneme fonksiyonlarının stabilizasyonu ya da restorasyonu gerekmektedir. Kökün apikaline kadar uzanan derin periodontal lezyonlar ile karakterizedir. Evre III'ün kompleksliliğine ek olarak; sekonder oklüzal travmaya bağlı gelişen hipermobilité, ileri derecede kret defekti, patolojik migrasyon ve ağızda 20'den az sayıda diş varlığı görülebilir (74, 75).

2.2.3. Periodontal Hastalıkta Kemik Yıkım Paternleri

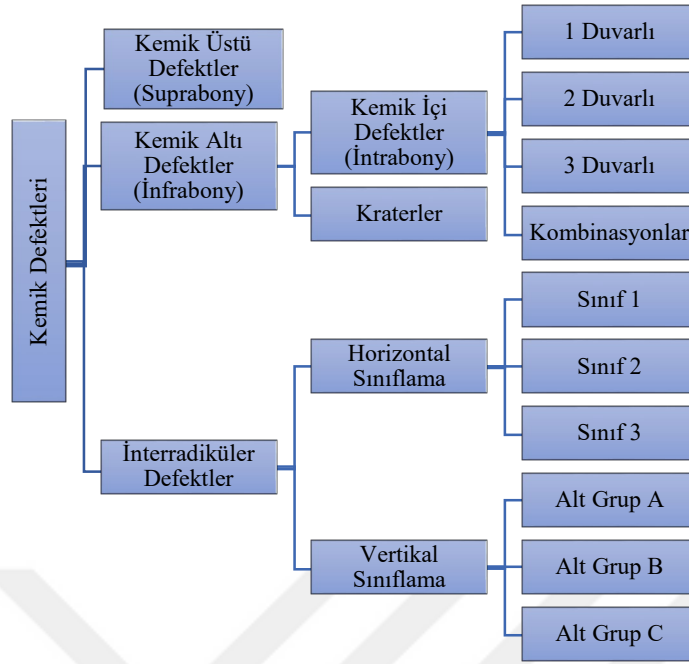
Çeşitli travmatik olaylar, konjenital malformasyon, diş kaybı, sinüs pnömatizasyonu, periodontal hastalıklar, dentoalveoler travma, odontojenik ve nonodontojenik kistler, tümörler, endodontik lezyonlar, oral patolojik lezyonlar gibi birçok durum alveol kemiğinde kayba ve kemik defekti oluşumuna sebebiyet vermektedir (76, 77). Dişin asıl destekleyici yapısı olan alveol kemiğindeki yıkımın derecesi, dişin ağızda kalması açısından büyük önem arz etmektedir. Ağız içinde anatomik ve fizyolojik değişiklikler haricinde kemik ve üzerinde bulunan yumuşak doku muntazam bir uyum içerisindeydirler. Periodontal hastalık sebebiyle kemiğin hacminde ya da morfolojisinde oluşan değişiklikler sebebiyle bu uyum bozulabilmektedir (78).

Periodontal kemik yıkım paterni her bireyde birbirinden farklı olduğu gibi aynı bireyde dahi derece, dağılım ve şekil açısından farklılık gösterebilir (79). Periodontal hastalık sonucuyla gözlenen ve enflamasyonun marjinal diş etinden destekleyici periodontal dokular yönünde ilerlemesi sonucuyla gelişen alveoler kemikteki yıkımın şeklini etkileyen birçok faktör bulunmaktadır: Dişlerin arasında bulunan kemiğin kalınlığı ve genişliği, fasiyal ve lingual bölgedeki kemiğin kalınlığı, dişlerin ağız içi pozisyonu, diğer kök yüzeyi ile olan mesafe, alveol kemik içinde kalan kökün pozisyonu, dişlerin çevresinde fenestrasyon veya dehisens mevcudiyeti, dişlerin kök ve gövde formu (80).

2.2.4. Periodontal Kemik Defektlerinin Sınıflandırılması

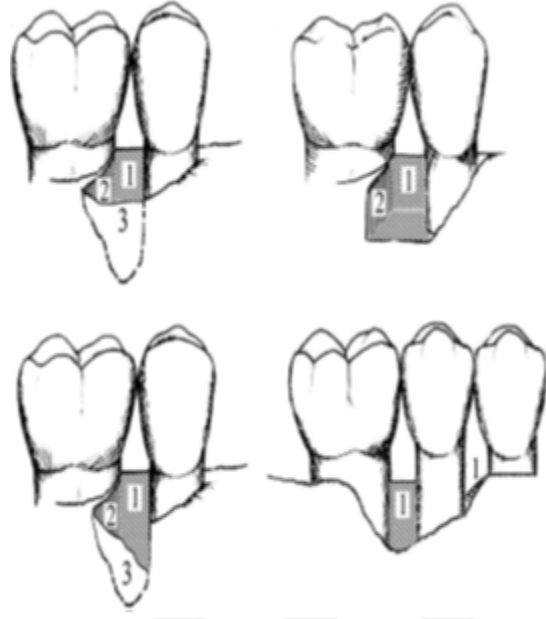
Periodontal kemik defektleri üç başlıkta sınıflandırılmaktadır (Şekil 2):

1. Kemik üstü ya da kret üstü defektler
2. Kemik içi ya da kret altı defektler
3. İnterradiküler veya furkasyon defektleri (81).



Şekil 2. Periodontal kemik defektlerinin şematik olarak sınıflandırılması (Papapanou'dan, 81)

Marjinal kemik seviyesinin apikalinde bulunanlara “kemik altı defekt (infrabony)” adı verilirken, marjinal kemik seviyesinin koranalindekilere ise “kemik üstü (suprabony)” defektler denilmektedir (82). İki komşu dişin kökleri arasında kalan kemikte yıkım görülüp, bukkal ve palatinal/ lingual kemiğin daha koronalde konumlandığı defektlere ise krater (çanak) adı verilmektedir. Defekte komşu olan her iki dişte de benzer tipte yıkım görülür. Kemik içi defektler, kemiğin sağlam kalan duvar sayısına, defektin çapına ve dişin çevresindeki topografik yayılımlarına göre gruplandırılırlar. Dişin kendisi rejenerasyona olumlu bir katkı sağlamadığından duvar sayısına dahil edilmemektedir. Bir duvarlı defekt, etrafında yalnızca bir kemik duvarı bulunmaktadır. Çoğunlukla fasiyal ve palatinal/ lingual tarafta defektin etrafını çevreleyen kemik duvarı mevcuttur. “Hemiseptal defekt” olarak da adlandırılmaktadırlar. Rejeneratif tedaviye elverişli değildirler. İki duvarlı defekt, defektin etrafında (bukkal veya palatinal/ lingual) iki kemik duvarı ile çevrelenmektedir. Üç duvarlı defekt, bir tarafında etkilenmiş diş yüzeyi bulunurken, defektin diğer tarafında ise, kemik duvarı ile çevrelenmiştir (Şekil 3). Bu tipteki defektlerin tedavisinde rejeneratif tedavi uygulamalarla başarılı sonuçlar elde edilmektedir. Kombine defekte ise, Şekil 3’te gösterildiği üzere defekt içindeki duvar sayıları değişkenlik göstermektedir (78, 81).



Şekil 3. Periodontal kemik içi defektlerin duvar sayılarına göre şematik olarak gösterilmesi (Reynolds'tan, 82)

Horizontal yıkımın sınıflandırılmasındaki birinci derece furkasyon defektinde; furkasyon bölgesindeki kemik kaybı minimal düzeydedir. Kemik üstü cep mevcuttur ve genellikle radyografik bulguya rastlanmaz. İkinci derece furkasyon defektinde; diş köklerindeki bir ya da birden fazla furkasyon etkilenmiş olabilmektedir. Lezyon, “cul de sac” (çıkamaz sokak) tipindedir ve radyografik olarak izlenebilir. Tüm furkasyonu kapsamayan ancak birinci dereceye göre daha belirgin bir horizontal yıkım mevcuttur. Horizontal yıkıma ilaveten vertikal kemik kaybı da görülebilir. Lezyon, bir furka girişinden diğer furka girişine ulaşmamaktadır. Üçüncü derece furkasyon defektinde, rezorpsiyon tüm furkasyon bölgesini içine almaktadır. Lezyon bir furkasyondan diğer furka girişine dek uzanmakta ancak; furkasyon bölgesi yumuşak doku ile örtülüdür. Horizontal ve vertikal yönde kemik kaybı mevcuttur. Dördüncü derece kemik defektinde ise, yumuşak dokunun apikale doğru migrasyonu ile furkasyon girişi açıktadır ve furka girişleri arasında karakteristik olarak “tünel” formasyonu mevcuttur (83).

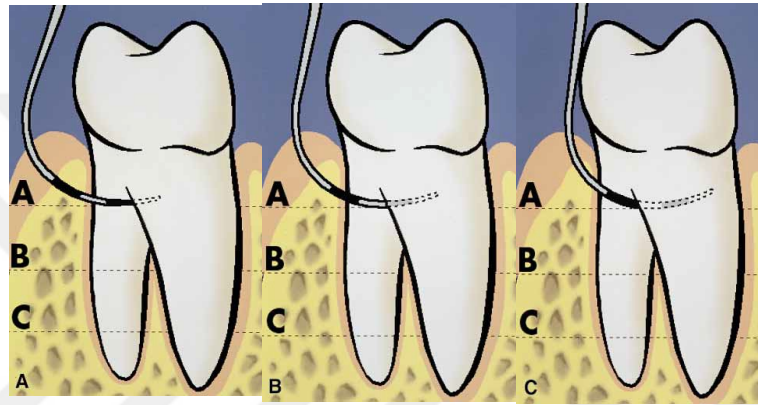
Hamp ve ark. yaptıkları çalışmada, furkasyon bölgesinde horizontal yönde oluşan periodontal doku yıkımını değerlendirmişlerdir (Şekil 4) ve ilgili bölgedeki yıkımın derecesine sayısal değer vererek sadeleştirmişlerdir. Buna göre;

Derece 1: Horizontal yönde 3 mm'den daha az periodontal destek doku kaybını,

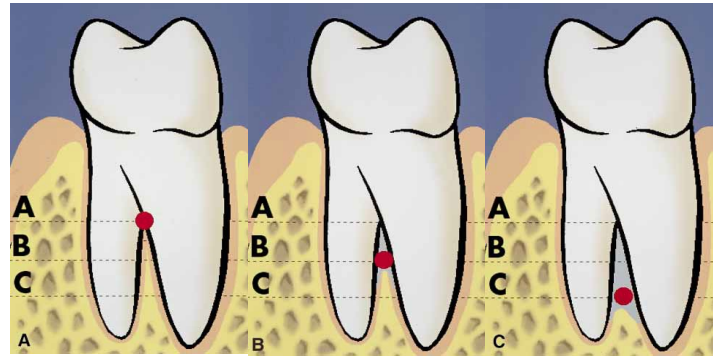
Derece 2: Horizontal yöndeki periodontal doku kaybının 3 mm'den fazla olduğu ancak furkasyonun tamamını içermeyen kemik kaybını,

Derece 3: Furkasyonun tamamını kapsayan kemik kaybını tanımlamaktadır (84).

Tarnow ve Fletcher'in sondalanabilir derinliğe göre yaptıkları vertikal sınıflandırmada ise alt sınıf A: 0- 3 mm arası vertikal kemik kaybını, alt sınıf B: 4- 6 mm vertikal kemik kaybını, alt sınıf C ise 7 mm ve daha fazla vertikal kemik kaybını temsil etmektedir (Şekil 5) (85).



Şekil 4. Furkasyon tutulumlarının horizontal olarak sınıflandırılmasının şematik gösterimi. (A) Derece 1. (B) Derece 2. (C) Derece 3. (Papapanou'dan, 81)



Şekil 5. Furkasyon tutulumlarının vertikal olarak sınıflandırılmasının şematik gösterimi. (A) Alt sınıf A. (B) Alt sınıf B. (C) Alt sınıf C. (Papapanou'dan, 81)

2.2.5. Kemik Defektlerinin Tedavisinde Başarıyı Etkileyen Faktörler

1. Bakteriyel kontaminasyon
2. Plak kontrolü
3. Antibakteriyel kullanımı

4. Diyabet
5. Sigara
6. Genetik faktörler
7. Yaş
8. Bölgenin özellikleri
9. Diş anatomisi
10. Kök yüzeyi
11. Oklüzyon
12. Defekt morfolojisi
13. Yaranın iyileşme potansiyeli
14. Pulpal durum
15. Cerrahi yaklaşım
16. Hekimin başarısı (78).

2.2.6. Periodontal Kemik Defektlerinin Tedavisi ve İyileşme

Periodontal hastalıklar uygun şekilde tedavi edilmediğinde ilerleyerek, bağ dokusu ataşmanında tahribata yol açar ve bu durum diş kaybıyla sonuçlanır (86). Bu bağlamda periodontal tedavilerin genel amacı; subgingival biyofilm tabakasının kaldırılarak periodontal inflamasyonun çözülmesi, sondalanabilir cep derinliğinin azaltılması ve klinik ataşman kaybının önlenerek hastalığın ilerleyişinin durdurulmasıdır. Bu amaç doğrultusunda günümüze kadar cerrahi ve cerrahi olmayan yöntemler kapsamında birçok tedavi metodolojisi geliştirilmiştir (87).

2.2.6.1. Cerrahi Olmayan Periodontal Tedavi

Cerrahi olmayan periodontal tedavilerin temel amacı gingival ve periodontal hastalıklara zemin oluşturan patojenik floranın, sağlıklı flora haline dönüştürülmesi ve hastalığın kontrol altında tutulmasıdır. Bu tedavi, “başlangıç periodontal tedavi” ya da “faz 1 periodontal tedavi” olarak da adlandırılmaktadır. Cerrahi olmayan periodontal tedavi ile etkin plak kontrolü ve beraberinde kusursuz oral hijyen sağlanması, diş yüzeyindeki supra ve subgingival eklemlerin uzaklaştırılması, periodontal hastalığın ilerleyişinin ve nüks etme ihtimalinin azaltılması, uyumsuz restorasyonların düzeltilmesi, çürük lezyonlarının tedavisi, oklüzal ilişkilerin stabil hale getirilmesi, bruksizm gibi parafonksiyonel alışkanlıkların düzeltilebilmesi mümkündür (88).

Periodontal tedavilerin hem kısa hem de uzun dönemlerdeki başarısı biyofilm

tabakasının mekanik olarak kaldırılmasına bağlıdır. Bu nedenle, supragingival, subgingival temizlik periodontal tedavinin temel taşıdır ve altın standart olarak kabul edilmektedir. Cerrahi olmayan periodontal tedavi, diş yüzeyi temizliği ve kök yüzey düzleştirilmesi olmak üzere iki farklı prosedürden oluşmaktadır. Diş yüzeyi temizliği, supragingival ve subgingival bölgelerdeki diş taşının veya mikrobiyal dental plağın el aletleri ya da sonik-ultrasonik vb. cihazlar yardımıyla uzaklaştırılması işlemidir. Kök yüzeyi düzleştirme ise subgingival alandaki kök yüzeyinin yeniden şekillendirilmesi işlemidir. Bu tedavi plak, diş taşı veya mikroorganizmaları içeren hastalıklı kök sementinin uzaklaştırılmasını sağlamaktadır. Yapılan çalışmalara göre 5 mm'ye kadar olan periodontal ceplerde, cerrahi olmayan periodontal tedavilerin başarıyla uygulandığı ve yumuşak dokudaki inflamasyonun, sondalanabilir cep derinliğinin ve sondalamadaki kanamanın azaldığı, klinik ataşman düzeyinin arttığı gösterilmiştir (89–91).

2.2.6.2. Cerrahi Periodontal Tedavi

Etkin şekilde gerçekleştirilen faz 1 periodontal tedavilerde mevcut inflamasyonun tamamıyla uzaklaştırılması sağlanabilse de bazı durumlarda subgingival eklentilerin oluşturduğu patolojik ortamın yeterince temizlenerek sağlıklı gingival floraya dönüşmesi mümkün olamamaktadır. Fazla sayıda ve derin ceplerin mevcudiyeti, komplike kök anatomisi, ulaşılması güç furkasyon bölgeleri ve yoğun miktarda diş taşının olduğu durumlarda kök yüzeyi düzleştirme işlemi sonrasında ilgili bölgelerde rezidüel diş taşları kalabilmektedir (92). Böyle bir durumla karşı karşıya kalındığında kök bölgesinde düzgün, pürüzsüz bir yüzey oluşturabilmek amacıyla cerrahisiz yöntemlere ek olarak flap operasyonları uygulanarak tedavilerin etkinliği artırılabilir (91).

Rezektif Kemik Cerrahisi Yöntemleri

Patolojik periodontal cebin oluşmasıyla birlikte yıkılan kemiğin yerine yumuşak dokular geçmektedir. İlgili bölgede rejenerasyon umudu yoksa; kemiğin patojenik mikrofloradan arındırılabilmesi ve üzerindeki dişetiyle uyum sağlayabilmesi amacıyla rezektif kemik cerrahisi yöntemleri uygulanmaktadır. Rezektif kemik cerrahisi yöntemleri, apikale yerleştirilen mukoperiosteal flap + kemik cerrahisi, tünel operasyonu, kron boyunun uzatılması ve rezektif kök cerrahisi işlemleridir (78).

“Modifiye Widman Flep”, yumuşak dokudan olabildiğince az doku kaybedilerek kök yüzeyine rahatça erişim sağlamayı ve bu bölgeye kolonize olan eklentilerin uzaklaştırmasını hedeflemektedir. Bu cerrahi sonucunda uzun bağlantı epiteli veya yeni

ataşmanla iyileşme sağlanmaktadır (93).

Apikale pozisyone flap cerrahisiyle de cerrahi bölgeye direkt olarak erişim sağlanabilmekte, tüm mukogingival kompleks korunarak daha apikal pozisyonda konumlandırılabilir. Bu işlemde gerekliyse kemik cerrahisi de uygulanabilmektedir (94). Tünel operasyonu; kökleri çevresinde yeterli düzeyde kemik desteği olan, rejeneratif tedavinin uygun olmadığı, ileri derecede sınıf 2 ve sınıf 3 furkasyon problemlili mandibular molar dişlere uygulanan cerrahi işlemdir. Bu operasyon ile dişin furkasyon bölgesi ağız ortamına açılarak, bu bölge yapay olarak dördüncü dereceye yükseltilmektedir. Bu yöntemdeki amaç, plak kontrolünün etkin bir şekilde sağlanmasıdır. Çok köklü dişlerde periodontal hastalığın furkasyon bölgelerine ilerlemesi ciddi komplikasyonlar doğurmaktadır. Özellikle aşırı kemik kaybı bulunan sınıf 2 ve sınıf 3 furkasyon defektleri bulunan dişlerde kökün cerrahi olarak uzaklaştırılmasıyla problem çözülebilmektedir. Kron boyu uzatılması işleminde yumuşak dokulara yapılan cerrahi yetersiz kaldığı takdirde; rezektif kemik cerrahisi prosedürleri devreye girerek ilgili dişin destek kemiğinden de bir miktar kaldırılmaktadır. Böylece yumuşak doku ve kemiğin fizyolojik konturları yeniden oluşturulmaktadır (78, 95).

Rezektif kemik cerrahisi, cep derinliğinde hızlı ve tahmin edilebilir azalmanın sağlandığı en garanti yöntemdir. Hastalar bu tedavi sonrasında oral bakımını kolaylıkla sağlayabilmektedirler. Kök yüzeyine direkt olarak tam bir erişim sağlandığından tüm granülasyon dokularının uzaklaştırılması, kemik dokusunda uyumsuzluk yaratan dokuların düzeltilebilmesi, gerekiyorsa kök hemiseksiyonu ve amputasyonu işlemlerinin kolaylıkla yapılabilmesi, restorasyonların uyumlandırılması ve gerektiğinde kron boyu uzatma işlemi yapılabilmesi bu cerrahi yöntemlerinin öne çıkan avantajlarıdır (78).

Periodontal hastalıkların cerrahi olarak tedavi edilmesinde rezektif yöntemlerin uygulanması sonucuyla kemik içi defektlerin tedavi edilerek, ilgili bölgedeki enfeksiyonun kontrol altına alınmasında başarı sağlanmıştır. Fakat dokuların onarımında istenilen uzun vadeli klinik etki sağlanamamıştır (86).

Rejeneratif Periodontal Cerrahi Yöntemleri

Rejeneratif cerrahi yaklaşımında dokulardaki enfeksiyonun kontrol altına alınarak, periodontal hastalık sonucunda kaybedilen periodontal ligamentin, sementin, diş etinin, alveol kemiğinin yapı ve işlevlerini orijinal haliyle tekrar geri kazandırılması amaçlanmaktadır (5, 6).

Rejenerasyonun başarılı sayılabilmesi için dişin kök yüzeyinde yeni sement oluşumu, yeni sement ve yeni kemik arasında uzanan periodontal ligament fibrilleri ile rezidüel alveoler interdental septumdan koronale doğru uzanan yeni suprakrestal kemik oluşumu, kaybedilen bağ dokusunun rejenerasyonu, açık kök yüzeyi üzerine bağ dokusu liflerinin tutunarak yeniden ataçmanın oluşması ve keratinize doku ile alveol mukozası arasındaki uyumun sağlanabilmesi gerekmektedir (4, 96).

Son dönemlerde, periodontal hastalık sonucuyla yıkılan diş destek dokularının geri kazanılması amacıyla klasik periodontal cerrahi yöntemlere ek olarak kemik greftleri, alloplastik materyaller, büyüme faktörleri veya bu materyallerin kombinasyonları sıklıkla kullanılmaktadır (2). Bu mediyatörler, dokuların kendi üzerinde oluşmasına ve bağlanmasına imkân sağlamaktadır. Ayrıca, periodontal yara bölgesinde yeniden oluşan hücrelerin aktivitesi üzerine seçici etki göstererek; bu hücrelerin adezyonunu, proliferasyonunu ve hücreler arası matriks sentezini düzenlemektedirler (97).

Rejenerasyonu sağlayabilmek amacıyla kullanılan tüm bu materyallerin olumlu etkilerine rağmen halen ideal bir rejenerasyon sağlanamamıştır. Araştırmacılar bu sınırlı rejenerasyonun nedenini oral çevrede bulunan bazı faktörlere bağlamışlardır:

1. Periodonsiyumdaki yara bölgesinin, dişlerin üzerinde bulunan biyofilm tabakasının içindeki anaerobik bakteriler tarafından kontamine olması,
2. Oklüzal yüklerin hem aksiyal hem de transversal olarak dişler üzerine gelmesi,
3. Transmukozal sert-yumuşak doku yapısı sebebiyle patojenlerin yara bölgesine infiltre olmasını daha kolay hale getirmesi,
4. Periodontal doku içerisinde bulunan çoklu kavşak komplekslerin ve stromal-hücrel etkileşimlerin bulunmasının, dokuların yeniden oluşmasını zorlaştırmasıdır (örneğin; diş-periodontal ligament-kemik, epitel-bağ dokusu kemik bağlantı kompleksleri) (2).

Literatürde, periodontal rejenerasyonun sağlanması ve periodonsiyumun gelişimi esnasında birbirine benzer olayların gerçekleştiği gösterilmiştir. Bu süreçlerinin her ikisinde de hücrelerde migrasyon, proliferasyon, diferansiyasyon ve biyosentez izlenmektedir. Periodontal dokuların gelişmesini sağlayan molekül ve proteinler periodontal tamir ve rejenerasyonda da etkilidir. Hem periodontal dokuların gelişimi hem de rejenerasyonun sağlanmasındaki kritik nokta, uygun hücrelerin gelişim ve tamir alanına çekilmeleridir (19).

2.2.7. Rejeneratif Tedavi Yöntemlerinin Prognozunu Belirleyen Faktörler

2.2.7.1. Hasta ile İlişkili Faktörler

Etkin plak kontrolü ve düzenli kontroller sağlanamadığı halde sonuç başarısız olmaktadır. Yapılan bir çalışmaya göre, rejeneratif tedavi uygulanan ve plak skoru %10'un altında olan bireylerle plak skoru %20'den yüksek olan bireyler karşılaştırılmış ve plak skoru düşük olanlarda ataşman kazancının daha yüksek olduğu gösterilmiştir.

Tedavi sonucunu etkileyebilecek diğer faktörler arasında genetik, yaş, stres, sigara kullanımı ve sistemik hastalıkların mevcudiyeti bilinmektedir. Diyabetteki mikrovasküler değişimler de (damar duvarı yapısı) diyabetik periodontitis hastalarında monosit/ makrofaj yanıtını değiştirerek yara iyileşmesini geciktirmektedir.

2.2.7.2. Defekt ile İlişkili Faktörler

Defekt, kemik içi ve sınıf 2 furkasyon problemleri ise rejeneratif cerrahi yöntemleri uygun görülmektedir. Hastada horizontal kemik kaybı ya da sınıf 3 furka problemi mevcutsa rejeneratif yöntemler elverişli değildir (98). Özellikle üç duvarlı kemik içi defektlerin cerrahi olarak tedavi edilmesinde, rejeneratif yöntemlerle önemli gelişmeler sağlanmaktadır. Ancak; duvar sayısının daha az olduğu kemik içi defektlerde ise en etkin tedavi yöntemi, yönlendirilmiş doku rejenerasyonu (YDR) uygulamaları olarak gösterilmektedir. YDR yönteminde, defekt bölgesine bağ dokusunun göçü engellenerek bu alanda sement, periodontal ligament ve alveol kemiğini oluşturabilme kapasitesi yüksek hücrelerin çoğalması hedeflenmektedir. Bu amaçla, rezorbe olan ya da olmayan bariyer membranlar, kemik greft materyalleri veya başka mediyatörler birlikte ya da tek başına kullanılabilir (3). Defektin derinliği ve genişliği de sonucu etkileyen faktörlerdendir. Derin kemik defektlerinde, geniş defektlere nazaran daha fazla klinik ataşman kazancı olduğu rapor edilmiştir.

2.2.7.3. Diş ile İlişkili Faktörler

Başarılı yapılan bir kanal tedavisi uygulamasının, rejeneratif prosedürlerinin sonuçlarını etkilemediği, vital dişlere yapılan tedavilerle kıyaslandığında herhangi bir fark tespit edilmediği bildirilmiştir. Diş stabilitesinin rejeneratif tedavi üzerindeki etkisine dair sınırlı bilgi olmakla beraber; mobilitenin 1 mm'den daha fazla olduğu durumlarda ise iyileşme sürecinin olumsuz etkilendiği bildirilmiştir (98, 99).

2.3. Periodontal Kemik Defektlerinin Tedavisinde Kemik Greftleri

Kemik dokusu diğer dokulardan farklı olarak kendi kendini onarabilme yeteneğine sahiptir. Ancak bu olayın gerçekleşebilmesindeki kritik nokta yeni kemik formasyonunun sağlanabileceği ölçüde yeterli boşluğun mevcut olmasıdır. Kemik greftleri, bu boşluğun oluşmasını sağlarken, yeni oluşan kemik doku ile yer değiştirerek kemiğin gelişimine de izin veren materyallerdir (100).

Kemik greft materyalleri; rejeneratif periodontal cerrahi, implant cerrahisi, sinüs augmentasyonu, pre-protetik hazırlık, temporomandibuler eklem ameliyatı, inflamatuvar kistik ve neoplastik oluşumların rekonstrüksiyonu gibi birçok maksillofasiyal cerrahi prosedürlerde sıklıkla kullanılmaktadır (101).

Klinik olarak başarılı bir şekilde kullanılmalarını sağlamak için greft materyalinin taşıdığı özellikler çok önemlidir. Greft materyalinin immünolojik potansiyelde olmamalı, toksik olmamalı, osteoindüktif ve osteokondüktif özellikte olmalı, tek aşamalı cerrahi ile kısa sürede yerleştirilebilmeli, termal olarak iletken olmamalı, yeterli mekanik dayanıklılıkta olmalı ve kontrollü biyorezorpsiyon sağlamalıdır (10, 102).

2.3.1. Greftin Başarısını ve Devamlılığını Etkileyen Faktörler

2.3.1.1. Vasküler Destek

Damarlanması iyi olan kemik yatağı, kemik greftleri için en uygun yeniden damarlanma ortamını sağlamaktadır. Alıcı kemik ile temas eden greft yüzey alanı yetersiz olduğu durumda iyileşme süreci olumsuz yönde etkilenmektedir.

2.3.1.2. Stabilitate

Yeni kemiğin oluşumunda, kemik-kemik, kemik-greft, kemik-implant ara yüz stabilitesi büyük önem taşımaktadır. İyileşme sırasında stabilizasyon sağlanamadığı takdirde mezenşimal hücreler fibroblastlara ya da kondroblastlara dönüşerek yeni kemik yapımı engellenebilir.

2.3.1.3. Biyouyumluluk

Organizmaya yerleştirilen herhangi bir yabancı cisim dolayısıyla doku reaksiyonu oluşabilir. Bu yanıt spesifik ya da non-spesifik immünolojik yanıt şeklinde gelişmektedir. Spesifik yanıt; T lenfositleri ve yabancı hücreler arasındaki direkt etkileşim sonucunda transplant alıcı tarafından kabul edilmeyebilir. Non-spesifik yanıt ise daha çok implante

edilen materyalin yüzeyi ile ilgilidir ve implant-kemik arasındaki biyomoleküller bu cevabı tetiklemektedir (10).

Greft materyallerinin yeni kemik oluşumundaki klinik başarısını osteogenezis, osteoindüktif ve osteokondüktif özellikleri belirlemektedir (103). Osteogenezis: Otolog greftlerin özelliğidir. Greft materyalinin içinde bulunan canlı osteoblastlar tarafından yeni kemiğin sentezlenmesidir. Osteoindüksiyon: Konakçı kök hücrelerinin osteoblastlara dönüşümüyle yeni kemik formasyonunun sağlandığı bir süreçtir. Kemik morfojenik proteinleri, büyüme faktörleri vb. hücreler vasıtasıyla gerçekleşmektedir (104). Osteokondüksiyon: Alıcı kemikle, vasküler yapıların greftle eş zamanlı olarak ilerleyebilmesi için greftin çatı görevi üstlenerek, üç boyutlu iskelet bir yapı sağlamasıdır. Bu yapı, greftin alıcı saha ile olan osseointegrasyon hızını tayin etmektedir. Bu mekanizma kemik oluşumunu stimüle etmez ya da engellenmez (100).

2.3.2. Kemik Greftlerinin İyileşmesi

Greft materyali ile konak dokunun etkileşebilmesi bir dizi mekanizma ile gerçekleşmekte ve bu olay “inkorporasyon” olarak adlandırılmaktadır. Kemik grefti uygulandıktan sonra cerrahi bölgede bir dizi olay gerçekleşmektedir. İlk olarak, inflamatuvar bir yanıt gelişmektedir. Bu yanıtı takiben pıhtı formasyonu oluşmakta; sitokin ve büyüme faktörlerinin salınımları gerçekleşmektedir. Mezenşimal hücreler migrasyon, diferansiyasyon ve proliferasyona uğrayarak greftin etrafında fibrovaskasküler bir doku ortaya çıkarmaktadır. Oluşan bu doku sayesinde greft-kemik kontağı kurulmaktadır. Vasküler oluşumların, Havers ve Volkmann kanalları vasıtasıyla greftin içine invaze olmasıyla revaskülarizasyon gerçekleşmektedir. Bu aktivasyon sonucunda greftin, osteoklastik hücreler tarafından fokal rezorpsiyona uğramasıyla mevcut hacmi azalır ve intramembranöz ya da endokondral kemikleşme yöntemiyle greftin yerini yeni kemik dokusu alarak remodelizasyon gerçekleşir (105, 106).

Greftin rezorpsiyona uğrayarak yeni kemiğe dönüşmesi yani rekonstrüksiyon işleminin başarıyla gerçekleşmesi için gereken süre bazı faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Bu faktörler lokal olarak; defektin boyutu, defekti çevreleyen duvar sayısı ve greftin yapısal özellikleridir. Örneğin; partiküler greftler blok greftlere göre geniş osteoindüktif bölgeler oluşturma, hızlı damarlanma, daha fazla büyüme faktörü salınımı sağlama vb. avantajlara sahiptir. Ancak, geniş defektlerin rekonstrüksiyonunda yeterince rijit olmamaları sebebiyle, düşük mekanik destek sağlayamamaları gibi dezavantajları da

mevcuttur. Sistemik olarak ise diabetes mellitus, hiperparatiroidizm, hipertroidi, paget hastalığı, kortikosteroid kullanımını gerektiren sistemik hastalıklar olarak sıralanabilir (100).

2.3.3. Kemik Greft Materyallerinin Sınıflandırılması

Periodontal cerrahilerde kullanılan kemik greftleri dört ana gruba ayrılmaktadır (107):

1. Otogreftler
2. Allogreftler
3. Ksenogreftler
4. Alloplastik (sentetik) greftler

2.3.3.1. Otojen Greftler

Bireyin vücudunun bir bölgesinden (verici) elde edilip, başka bir bölgeye (alıcı) transplante greft çeşitidir. İçerisinde canlı osteoblastik hücreler, farklılaşmamış mezenşimal hücreler, osteoklast prekürsör hücreler, monositler ve büyüme faktörleri mevcuttur. Bu hücreler yeni kemik oluşumu süreçlerine aktif olarak katılmaktadırlar (108).

İntraoral ya da ekstraoral kaynaklı olabilirler. İntraoral donör olarak maksiller tüber bölgesi, mandibular retromolar bölge, simfiz, iyileşmekte olan çekim soketi, kemik çıkıntıları, ekzostozlar, implant yuvalarının kemik içinde freze edilmesi sırasında elde edilen kemikler kullanılabilir (107, 109, 110). Ekstraoral olarak iliak krest, kafatası, tibia gibi birçok yoldan da elde edilebilirler (107). Bu greftler sıklıkla maksillofasiyal defektlerin tedavisinde veya ileri derecede rezorbe olmuş çenelere uygulanacak implant tedavisi öncesinde kullanılmaktadır (111).

Osteojenik, osteoindüktif ve osteokondüktif özelliklerin üçüne de sahip olan yegâne greft materyali olmaları, immünolojik reaksiyon göstermemeleri gibi öne çıkan özellikleri sebebiyle altın standart olarak kabul edilmektedirler. Ancak, donör saha morbiditesi riski, artan ameliyat süresi, istenilen miktarda elde edilememeleri, yara bölgesinde enfeksiyona sebebiyet vermeleri gibi sınırlamaları otojen greftlerin kullanımları açısından problem yaratmaktadır (112, 113). Bunlara ek olarak otojen kemik greftlerinin uygulandıkları alan yaygınlaştıkça %8.5-20 oranında hematoma görülmekte ilaveten; sinir hasarı, kanama, arteriyel yaralanma, donör alanda insizyon hattının açılması, kronik postoperatif ağrı, çene ucu sarkması ve iyileşme döneminde %25 hacim kaybı ile sonuçlanabilecek kemik rezorpsiyonu gibi komplikasyonların artış gösterdiğini bildiren çalışmalar da mevcuttur (110, 114).

2.3.3.2. Allogreftler (Homogreftler)

Aynı tür içinde fakat farklı bireyler arasında transfer edilerek kullanılan greft çeşitidir. Greftin sağlandığı donörler canlı kişiler ya da kadavralar olabilir. Yapılarında osteojenik hücre bulundurmamaları haricinde otojen kemik greftleriyle aynı özelliklere sahiptirler (10, 107). Allojenik kemikte bulunan BMP vb. büyüme faktörleri, komşu kemikteki mezenşimal hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasını indüklemektedir (11).

Allogreftler, otolog kemik greftlerine alternatif olarak en sık kullanılan greft materyali çeşitidir (82). En önemli avantajları, donör alan gereksinimine ihtiyaç duyulmamasıdır (12). Otolog kemik alımı sırasında meydana gelen morbiditenin önlenmesi, otojen kortikal greftlere nazaran daha büyük ebatlarda allojen kortikal kemik grefti sağlanabilmesi gibi avantajları cerrahi uygulamalardaki tercih edilme sebeplerindendir.

Çeşitli işlenebilir fiziksel formlarda bulunabilirler (115, 116). Mineralize formda olanlar korunması gereken boşluğu idame ettirmede daha yüksek başarı sağlamaları nedeniyle, diş hekimliği alanındaki cerrahi prosedürlerde daha sık kullanılmaktadır (107). Antijenik özelliğe sahip olmaları, HIV- Hepatit gibi hastalıkların geçişine zemin hazırlamaları önemli dezavantajları arasındadır (12). Dokuya yerleştirildiklerinde meydana getirdikleri antijenik komplikasyonları ortadan kaldırmak amacıyla içeriğinde bulunan canlı hücrelerin uzaklaştırılması sonucunda greftin osteojenik potansiyeli zayıflamaktadır. Bu prosedür sonucu üç tipte bulunmaktadır: Bunlar; dondurulmuş kemik allogrefti (DKA), dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti (DKKA) ve demineralize dondurulmuş-kurutulmuş kemik allogreftidir (DDKKA) (10, 107).

Dondurulmuş Kemik Allogreftleri (DKA)

Hazırlanışı sırasında, kemik grefti dondurulma işleminden geçmektedir. Yapısında osteoindüktif proteinler bulunmasından dolayı dokuda immün yanıt oluşturma ve hastalık transferi riski yüksektir.

Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogreftleri (DKKA)

Greft ilk olarak dondurulup daha sonra vakum içindeki buzun direkt olarak buharlaştırılmasıyla elde edilmektedir. Bu yöntem ile greftte bulunan hücreler öldürülerek immün cevap oluşması engellenir. Osteoindüktif özellikleri yoktur.

Demineralize Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti (DDKKA)

Osteoindüktif olmaları, kolay elde edilebilmeleri gibi özellikleri nedeniyle tercih edilmektedirler. Kortikal kemikten elde edilenlerin oluşturduğu immün yanıtın, kansellöz kemiklere göre daha düşük olması ve daha yüksek oranda BMP içermeleri önemli özelliklerindendir (10, 117).

2.3.3.3. Ksenogreftler (Heterogreftler)

Farklı biyolojik türlerden elde edilen greft materyalleridir (118). Düşük ısıya maruz tutularak içeriğindeki organik yapı tamamıyla uzaklaştırılmış ve iç yüzey alanı, pörözite, kristalizasyon özellikleriyle kansellöz kemiğe benzer hale getirilmiştir (119). Ortaya çıkan bu gözenekli yapı; osteokondüktif özelliktedir ve bu sayede iyi düzeyde mekanik destek sağlamaktadır. Ek olarak, anjiyogenezisi stimüle ederek yeni kemik formasyonuna öncülük etmektedir (12). Düşük immünolojik potansiyele sahip olmaları (12, 120), bol miktarda elde edilebilmeleri ve allojenik kemik greftlerine göre daha az maliyetli olmaları klinik olarak tercih edilme sebepleri arasındadır (11). Ksenogreft materyallerinin umut verici görünümüne rağmen; değişken rezorpsiyon hızları, içeriğindeki canlı hücrelerin eksikliği, zoonotik enfeksiyon bulaş riski ve elde edilme yöntemlerindeki etik problemler kullanımlarını sınırlandırmıştır (12, 121).

Klinik periodontal uygulamalarda en sık deproteinize sıgır kemiği minerali kullanılmaktadır (118). Sinüs ogmentasyon işlemi, kret boyutu genişletilmesi, peri-implant defektler (12, 107), furkasyon defektleri ve vertikal kemik içi defektlerin onarımında kullanılmaktadırlar (119).

2.3.3.4. Alloplastik Greftler

Alloplastik kemik greftleri, sentetik malzemeden elde edilmektedirler (107). Otojen, allojenik ve ksenogreftlerin kullanımlarındaki komplikasyonları en aza indirmek amacıyla son yıllarda doğal kemiğin biyolojik özelliklerini taklit eden ve çeşitli yollarla elde edilen sentetik kemik greft materyalleri geliştirilmiştir (12, 118). Antijenik yanıtı sebep olmadan doku reaksiyonu göstermeleri, donör saha gerektirmemeleri, biyouyumlu olmaları, sınırsız elde edilebilmeleri ve hastalık bulaştırma risklerinin olmayışı en önemli avantajları arasındadır (107, 122, 123). Seramik, biyoaktif cam ya da polimer yapıda bulunabilirler (12). Periodontal defektlerde rejenerasyonu sağlayabilmek amacıyla genellikle seramik grubunun bir üyesi olan trikalsiyum fosfat mineralleri kullanılmaktadır.

Alloplastik bir materyalin başarısı; kimyasal kompozisyonuna, fiziksel özelliklerine ve mekanik dayanıklılığına bağlıdır (124). Alloplastlar genellikle osteokondüktif özelliğe sahiptirler. Herhangi bir osteoindüktif veya osteojenik potansiyelleri olmadan da implant cerrahisi, sinüs membran elevasyonu, periodontal kemik defektlerinin tedavilerinde tek başlarına sıklıkla kullanılmaktadırlar (12).

İdeal Alloplastik Kemik Greftlerinin Özellikleri

1. Biyouyumlu olmalı,
2. Minimal düzeyde fibrotik reaksiyon oluşturmali,
3. Yeni kemik oluşumunu ve kemiğin yeniden şekillenme mekanizmasını desteklemeli,
4. Sitotoksik olmamalı,
5. Mekanik olarak dayanıklı olmalı,
6. İmplant edildiği dokuya yapısal olarak benzemeli,
7. Uygulanma esnasında kolayca şekillenebilir olmalı
8. Uygulama sonrasında fiziksel ve yapısal özellikleri bozulmamalı,
9. Osteokondüktif ve osteoindüktif kapasiteleri olmalıdır (125).

Seramikler

Biyoseramikler, dokuya transplante edildiklerinde, doku ile kimyasal bağlanma meydana getirerek “birleşme osteogenezi” sağlamaktadırlar. Bu mekanizma ile hücrel aktiviteyi artırarak, yeni kemik formasyonunu indüklemektedirler.

Yüksek biyouyumlulukları sayesinde diğer kemik greftlerine alternatif olarak kullanılabilirler (122). Bu grubun en sık kullanılan iki formu olan HA ve TCP; seramik matriksler olarak adlandırılmaktadır (10, 109).

Sentetik Hidroksiapatit

HA, kemiğin inorganik matriksine yapısal ve kimyasal olarak benzerlik sağlamasından dolayı kemik greft malzemesi olarak kullanılmaktadır. Mükemmel biyouyumluluğa sahiptir (126). Yumuşak ve sert dokuya kolaylıkla adapte olabilmektedir (10). Basınç dayanımları vardır ancak çekme tipindeki kuvvetlere karşı düşük dirençtedirler (14). HA, kemik dokusunun en önemli mineral komponentidir. Sentetik apatitler osteojenik özellikte değildirler ancak; kemik defektleri için osteokondüktif bir yerine koyma materyali olarak işlev görürler (122). Periodontal kemik içi defektlerde, furkasyon defektlerinde, soket koruma prosedürlerinde, kullanımları sonucu başarılı klinik sonuçlar elde edilmektedir (12).

HA kullanımı ile donör saha morbiditesinin ortadan kalkması avantajlıdır ancak; granüler migrasyon ve tamamlanmayan kontrolsüz rezorpsiyon gibi uzun dönem komplikasyonları kullanımlarını sınırlandırmaktadır (10).

Trikalsiyum Fosfat Seramikler

İçeriklerindeki Ca/ P oranının insan kemiğine benzer oranda olmaları sebebiyle (10), sentetik greft materyalleri içinde günümüzde en fazla ve geniş alanda kullanım alanı olan kalsiyum fosfat grubu seramiklerdir. Biyolojik olarak kısmen çözünebilir formda olduklarından yeni kemikle kolaylıkla yer değiştirebilme özelliğine sahiptirler. Osteojenik hücre adezyonu sağlarlar ve kemikle bütünleşme gösterirler. Kemiğe direkt olarak uygulanabilir yapıda olmaları, kemikle greft arasındaki fibröz dokunun oluşmasını engellemekte ve bu sayede kemik oluşumu mekanizmasında optimal bir ortam sağlamaktadırlar.

Literatürde, TCP grubu seramiklerin osteoblastlara farklılaşmayı ve mezenşimal hücrelerin çoğalmalarını desteklediğine dair birçok çalışma mevcuttur (124). TCP, makropöröz yapıya sahiptir ve alfa, beta, gamma subtipleri mevcuttur. Alfa tipi trabeküler yapıdadır ve yavaş şekilde rezorbe olmaktadır. Beta tipi ise altı -18 ay arasında osteoklastlar tarafından tamamıyla rezorpsiyona uğrayarak yeni kemikle yer değiştirir. Alfa formundan daha kararlı bir yapıya sahiptir. Bu özelliğinden dolayı beta tipi daha çok tercih edilmektedir (12, 14, 109, 124). β -TCP; trabeküler kemiğe benzer oranda Ca/ P barındırmasıyla (124); kompozisyonu ve mikroyapısı doğal kemiğe yakın özellikte bir mineraldir (127).

HA materyalinin gecikmiş rezorpsiyonuna alternatif olarak geliştirilen β -TCP (14); HA materyaline göre kontrollü biyoaktivasyon ve daha hızlı rezorpsiyon gösterir. Çözünebilir özelliğe sahiptir ve bu esnada Ca ve P iyonlarını serbestleştirerek (123), kemik yapıcı hücreleri rejenerasyon bölgesine çekmektedir. Ortama salınan bu iki iyon sayesinde yeni oluşan kemik dokusunun yeniden şekillenmesiyle, greftin rezorpsiyonu arasındaki dengenin kurulmasına katkı sağlanır (126). Biyouyumludurlar ve osteokondüktiviteleri sayesinde kombine edildikleri materyallerle direkt olarak kontakt kurarak, fibrovasküler büyümeyi ve kemik apozisyonunu indüklerler (12, 128). Aynı zamanda düşük düzeydeki osteoindüktiviteleriyle hücre aracılı rezorpsiyona müsaade ederek, kemik defektlerinin onarımını sağlamaktadırlar (129). Küçük gözenekli yapıları; kemik remodelizasyon hücrelerinin, kapillerlerin, rezorpsiyondan sorumlu fagositik hücrelerin, büyüme faktörlerinin araya girmesini ve osteojenik hücre adezyonunu sağlayarak yeni kemik

oluşumunu indüklemektedir (10, 12). Kolay kullanılabilir ve radyopak olmaları, düşük immünolojik yanıt oluşturmaları öne çıkan diğer avantajları arasındadır. Sıkıştırıcı kuvvetlere karşı gösterdikleri direnç trabeküler kemikle aynıdır. Ancak; gerilim tipindeki kuvvetlere karşı gösterdiği düşük mekanik direnç ve kırılganlıkları bu materyallerin dezavantajı olarak bildirilmiştir (14). Rezorpsiyona uğrama miktarına nazaran daha düşük düzeyde yeni kemik oluşturmaları klinik kullanımlarını sınırlandırmıştır (125). Bazı araştırmacılara göre kemik greft materyalleri arasında otolog kemik altın standart olarak kabul edilse de; allojenik, alloplastik ya da ksenojenik greftler arasında hangi materyalin en iyi sonucu verdiğine dair tartışmalar halen devam etmektedir (130).

2.4. Trombositler

Trombositler, beyaz kan hücrelerinin bir tipi olan ve kemik iliğinde bulunan megakaryositlerin sitoplazmasından köken alırlar. Yaklaşık 2 µm çapındadırlar. Yuvarlak ya da oval şekillidirler. İçeriklerinde 30'dan fazla biyoaktif protein mevcuttur ve büyüme faktörlerinin depo havuzudurlar (131, 132). Trombositlerde üç tip salgı granülü bulunmaktadır; yoğun granüller, lizozomlar ve en fazla bulunan alfa granüller. Yoğun granüllerde iyileşme sürecine katkıda bulunan Ca, serotonin, adenosin tri fosfat (ATP), adenosin di fosfat (ADP) depo edilmektedir. Lizozomal granüllerde enzimler yer almaktadır. Alfa granülleri ise immünmodülatör maddeler içerir ve yara iyileşmesinin yara iyileşmesinin erken ve geç evrelerinde rol almaktadır (133). Lokal kan ve lenf kaybını pıhtıyı şekillendirerek önlerler. Yara iyileşmesini stimüle ederek, anjiyogenezi uyarabilme potansiyeline de sahiptirler (132). İlgili cerrahi bölgeye uygulandıkları andan itibaren mikroorganizmalar tarafından oluşturulan kontaminasyon riskini azaltarak; vaskülarize, koruyucu biyolojik kalkana dönüşmekte ve enfeksiyonun engellenmesinde üstün bir rol oynamaktadırlar (134).

Büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin ana kaynağı olmaları, elde edilme yöntemlerinin kolay oluşu ve immünolojik yanıtı sebep olmamaları trombositlere olan ilgiyi arttırarak, rejeneratif uygulamalarla yapılan periodontal tedavilerin potansiyel hücreleri arasında kabul edilmelerine neden olmuştur (135).

2.4.1. Trombositlerden Salınan Büyüme Faktörleri

Büyüme faktörü; proliferasyon, kemotaksis, diferansiyasyon gibi birçok hücresel olayda rolü olan hormonlara verilen isimdir (6). Rejenerasyonda ve doku onarımında kritik öneme sahiptirler (136).

2.4.1.1. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF)

Fibroblastların kemotaksisini ve mitogenezisini stimüle ederler. Kollajen sentezini uyarırlar (30). Tek başına ya da IGF- β ile uygulanmaları periodontal dokuların kısmi onarımı ile sonuçlanmaktadır. Dişi destekleyen periodontal ligament hücrelerinde kemotaksisi başlatarak matriks sentezi sağlarlar ve dişin dentin yüzeyine bağlanırlar. Periodontal ligament hücreleri ve osteoblastlar üzerinde rejeneratif etkiye sahip oldukları gösterilmiştir (2). Embriyonik gelişimde ve tüm dokuların yeniden şekillenmesinde etkin olmalarından dolayı ateroskleroz ve diğer birçok fibroproliferatif hastalıkta rol oynamaktadırlar (137). Cho ve ark. periodontal rejenerasyonu en etkin şekilde arttırabilen büyüme faktörünü tayin edebilmek ve rejeneratif uygulamalardaki en aktif hücre kaynağını saptayabilmek amacıyla yaptıkları çalışmalarında köpeklerde deneysel sınıf 3 furkasyon defektleri oluşturmuşlardır. Çalışmanın sonucunda yalnızca PDGF'nin dişlerde ankiloz riski olmadan periodontal ligament fibroblastlarının proliferasyonunu stimüle ettiğini saptamışlardır (138).

2.4.1.2. Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta (TGF- β)

Hücrelerin proliferasyon, diferansiyasyon, adezyon, migrasyon, apoptozis ve ekstrasellüler matriks sentezi vb. biyolojik mekanizmalarını düzenlemektedir. İmmün yanıtın regülasyonu ve epitelizasyon ile ilgili olduğu da düşünülmektedir (112, 139). İn vitro etkileri, uygulanan miktar, matriks ortamı ve hücre tipine göre çeşitlilik göstermektedir (137). Örneğin; kemik oluşumunun erken evrelerinde osteoprojenitör hücrelerin osteoblastlara dönüşümünü sağlayarak depo ederler. Buna karşılık osteoblast farklılaşmasının son aşamalarında diferansiyasyonu ve mineralizasyonu engellediği bilinmektedir.

TGF- β , kemik dokusunda büyüme faktörleriyle bir dizi etkileşime girerek ortaya kompleks bir yanıt çıkarır. Periodontal rejenerasyon ve yara iyileşmesi esnasında PDGF'nin rolünü netleştirmek ve PDGF ile osteoblast farklılaşmasının diğer aşamalarında etkileri olan farklı büyüme faktörleri arasındaki karşılıklı ilişkiyi saptayabilmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu düşünülmektedir (140).

2.4.1.3. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)

Tirozin kinaz enzimi, hücre içi voltaj bağımlı sodyum kanalları ve birçok molekül için kofaktör rolü oynayan proteinlerin fonksiyon görebilmesi için gereken sinyal proteinlerinden oluşmaktadır. Polipeptit yapıdadırlar ve çekirdeğe direkt olarak etki

edebilmektedirler. Hücreler üzerinde otokrin ya da parakrin etki göstererek, hücrelerin sağ kalımını ve metabolizmalarını kontrol edebilmektedirler. Embriyolojik gelişimde organogenez esnasında görev almaktadırlar. Yetişkinlerde ise kemik iyileşmesinin yeniden şekillenme evresinde, mezenşimal hücre mitogenezisinde ve anjiyogenezis mekanizmalarında önemli rol oynamaktadırlar (112, 140, 141). Aynı zamanda preosteoblastların ve fibroblastların proliferasyonunu ve farklılaşmasını uyarabilme potansiyeline sahiptirler (142). Periodontal dokuların onarımında görevli olan mezodermal kökenli hücreler üzerinde kemotaktik ve anjiyojenik etkilidirler. Matür periodontal ligament hücrelerinin gelişimlerini de stimüle ettiği düşünülmektedir (4).

2.4.1.4. Damarsal Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

Vasküler permeabilite faktörü (VPF) olarak da bilinmektedir. Endotel hücrelerine özgü spesifik mitojen olarak tanımlanmaktadır. En önemli proanjiyojenik stimulanlardan biridir. Tümör hücreleri, makrofajlar, trombositler gibi birçok hücre tipi tarafından üretilmektedir. Kemik dokusunun oluşumu, hematopoez, yara iyileşmesi gibi fizyolojik olaylarda merkezi rol oynamaktadır. Mikrovasküler geçirgenliği güçlendirir ve bu sayede anjiyogeneze eşlik eder Damar duvarında bulunan endotel hücrelerinin de geçirgenliğini arttırarak; bu hücreler üzerinde etkin rol oynamaktadır (143, 144). Literatürde yapılan birçok çalışmada VEGF'nin kemik biyomateriyalleri ile birlikte kullanımı sonucunda yeni kemik formasyonunun arttığı ve böylece güçlü bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (145).

2.4.1.5. Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)

Spesifik tirozin kinaz reseptörüne bağlanarak etki göstermektedirler. Mezenşimal kökenli hücrelerde mitoz bölünmeyi; endotel hücrelerinde ise kemotaksisi ve anjiyogenezi uyarabilme potansiyeline sahip olan küçük molekül ağırlıklı polipeptid moleküldür. Akut yaralanmalardan hemen sonra salınmaktadırlar. Bu sayede epitelizasyon hızlanmakta ve iyileşme süreci kısalmaktadır (146). Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada, EGF'nin periodontal ligament hücrelerindeki kemotaksisi teşvik edebileceği gösterilmiştir. Aynı zamanda periodontal dokuların rejenerasyonu ve onarımı esnasında fibronektin sentezi sağladıkları ve proliferasyonda önemli ölçüde rol aldıkları bildirilmiştir (147).

2.4.1.6. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF)

Birçok hücre türünde farklılaşmanın ve proliferasyonun sağlanabilmesi açısından pozitif bir düzenleyici olarak bilinmektedir. Hücresel çoğalma mediyatörleri olarak görevli

olmalarına rağmen, apoptotik uyarılardan da korunmayı sağlayan sinyaller üreterek, apoptozis mekanizmasını da düzenleyebilmektedirler. Trombositlerden salınmaktadırlar ve aynı zamanda dolaşımdaki kanda da yüksek oranda bulunmaktadırlar (23). Mezenşimal hücrelerin mitogenezisini uyararak, hücrel farklılaşmalarını sağlamaktadırlar. Osteoblastik hücreleri ve kemik matriks yapımını doğrudan uyararak kemik yapımını stimüle ederler. Bu özellikleriyle kemiğin mineral komponentinin azalmasının önüne geçildiği bildirilmektedir. Diğer yandan olgun osteoblastların çoğalmasında ve fonksiyonunda majör rol oynayarak kemik dokusunun yeniden şekillenmesinde de etkindirler. Literatüre göre IGF'nin lokal olarak uygulanması sonucunda periodontal dokuların rejenerasyonunda etkin oldukları gösterilmiştir (140, 148, 149).

2.4.2. Trombosit Konsantrlerinin Gelişimi

Otolog kan ürünlerinin yara yüzeylerini örtmesi ve iyileşmeyi stimüle etmesi amacıyla kullanımları, yaklaşık 40 yıl öncesinde konsantre edilmiş fibrinojenden oluşan fibrin yapıştırıcılarının kullanılması ile başlamıştır (27). Otolog fibrin yapıştırıcılarının kullanımlarındaki kontaminasyon riski, üretim protokollerinin zor ve maliyetlerinin yüksek oluşları klinik kullanımlarını sınırlandırmıştır. Bu olumsuzlukları ortadan kaldırmak amacıyla Whitman ve ark. TZP'yi geliştirmişlerdir ve bu uygulama fibrin yapıştırıcıların yerini almıştır (20, 21).

Zaman içinde üretim şartlarının ve santrifüj protokollerinin değiştirilmesiyle farklı trombosit konsantrleri geliştirilmiştir: L-TZF (lökosit içeren trombosit zengin fibrin), g-TZF, e-TZF (21, 150).

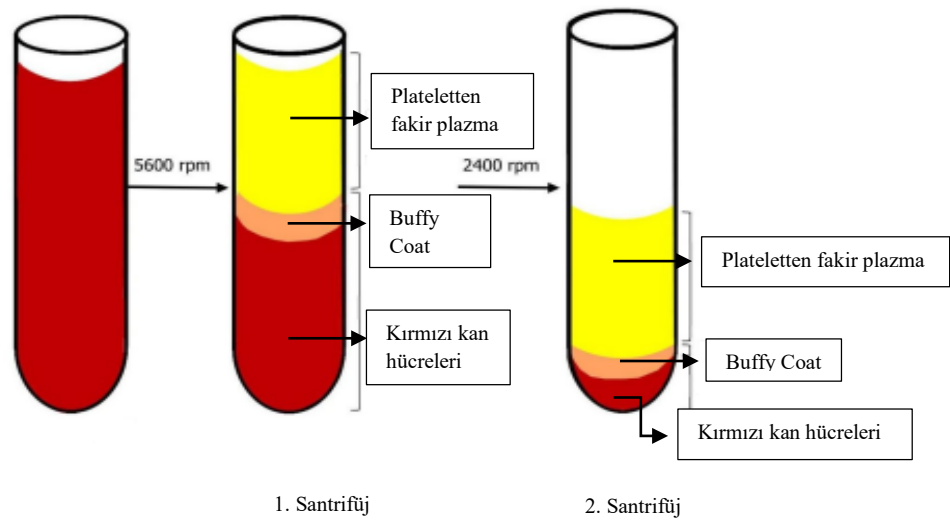
2.4.2.1. Trombosit Zengin Plazma

Oral cerrahide ilk olarak Whitman ve ark. tarafından kullanılan TZP, trombositlerin polimerizasyonu esasına dayanan, birinci nesil trombosit konsantratıdır (20, 22). TZP, tam kanın santrifüjü yöntemi ile elde edilen ve içeriğinde yüksek miktarda trombosit konsantrasyonu bulunduran hücrel plazmadır. Normal bir plazmanın hücrel komponentinde %94 eritrosit, %5 trombosit, %1 lökosit bulunmaktayken; TZP'de ise %95 oranında trombosit mevcuttur (21). Ayrıca içeriğinde fagositik hücreler, konsantre doğal fibrinojenler, büyüme faktörleri, vazoaktif ve kemotatik ajanlar da bulunmaktadır.

Venöz kan, ameliyat öncesinde ya da ameliyat esnasında alınarak sitrat dekstroza A içeren tüplere aktarılır. Biri hızlı diğeri daha yavaş olmak üzere birbirini takip eden iki

santrifüjden geçirilerek, trombositler polimerize edilir. Santrifüjün sonucunda tüpün en alt kısmında kırmızı kan hücreleri, tüpün en üst kısmında trombositten fakir plazma, orta kısımda ise trombositlerin konsantre olduğu, yoğunlaştığı “buffy coat” adı verilen beyaz kan hücrelerinin bulunduğu kısım olmak üzere kan üç ayrı tabakaya ayrılmaktadır. En üstteki trombositlerin az bulunduğu bölge ve alttaki kanın şekilli elementlerinin bulunduğu kesim atılarak, ortadaki buffy coat tabakasının ayrıştırılmasıyla TZP elde edilmektedir (Şekil 6). Buradaki hassas nokta ise, santrifüj sırasında trombositlere zarar verilmemesi amacıyla uygun kuvvet uygulamaktır. TZP birçok yolla elde edilse de hepsindeki ortak amaç buffy coat tabakasının elde edilmesidir. Elde edilen TZP, trombin veya kalsiyum klorid ile karıştırılarak trombositler aktive edilir ve TZP jeli hazırlanır (27). Bu yöntemle 8 mL kandan 1 mL TZP elde edildiği bildirilmiştir. İçeriğindeki büyüme faktörleri, hazırlandıktan itibaren 10 dk sonra salınmaya başlamakta ve bir saat içinde yaklaşık olarak %98’i serbestleşmektedir (21).

İçeriğindeki büyüme faktörlerinin proinflatuar ve antiinflatuar özelliklere sahip olmaları sebebiyle (135); sinüs ogmentasyonu prosedürleri (151), kret ogmentasyon yöntemleri (152), soket koruma teknikleri (153), kemik içi ve furkasyon defektlerinin tedavileri gibi oral cerrahilerde kullanılabilmektedir (154). Ayrıca kalp cerrahisi, plastik cerrahi, oftalmoloji, dermatoloji vb. medikal tıp alanlarında da kullanılmaktadırlar (155). TZP, yara iyileşmesinin erken safhalarında etkindir ancak; uzun vadede yarattığı sonuçlar ve kemik rejenerasyonuna olan etkileri ise hala tartışmalıdır (4, 22).

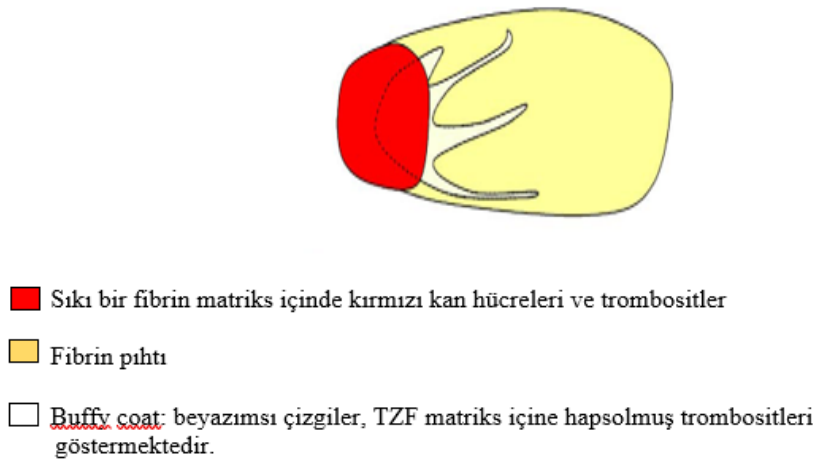


Şekil 6. Trombositten Zengin Plazma'nın elde edilmesi (Feigin'den, 21)

2.4.2.2. Trombositten Zengin Fibrin

TZP materyalinin, elde edilmiş prosedürlerindeki karışıklık ve içeriğinde sığır kaynaklı antikoagülan bulundurması sonucuyla gelişen rejeneratif potansiyelindeki sınırlılık sebebiyle (21, 31), 2001 yılında Joseph Choukroun ve ark. (156) tarafından trombosit ve büyüme faktörü yönünden oldukça zengin bir fibrin membran elde edilmesini sağlayan ikinci nesil trombosit konsantratu geliştirilmiştir. Kan, herhangi bir biyokimyasal modifikasyondan geçirilmeden ya da antikoagülan madde eklenmeden bir kez santrifüje edilmektedir. Bu işlem sonucunda doğal pıhtılaşma süreci gerçekleşerek; trombosit, lökosit ve sitokinlerden yoğun bir fibrin elde edilmektedir (157).

Choukroun tarafından tanımlanan TZF, “Lökosit ve trombosit zengin fibrin (L-TZF) olarak da bilinmektedir. Hastadan alınan venöz kanın 10 mL’lik cam tüplere konularak, protokol için özel tasarlanmış santrifüj cihazında 3000 rpm’de 10 dk santrifüjü sonucuyla TZF elde edilir (23, 158). Rodella ve ark. kanın 3000 rpm santrifüjüyle elde edilen TZF’nin üç boyutlu fibrin matriks yapısının daha yoğun ve sıkı formda olduğunu bildirmişlerdir (159). Tekniğin başarısı, kanın alınması ve santrifüj cihazına transfer edilmesi arasında geçen zamana bağlıdır. Çünkü trombositler, antikoagülan bulundurmayan tüpün duvarı ile temas ettiklerinde aktive olarak, fibrin polimerizasyonunu hızlı bir şekilde başlatmaktadır. Trombositler fibrin içinde sınırlandırıldığından, santrifüj işleminden sonra üç boyutlu fibrin tabaka belirmektedir (Şekil 7). Tüpün en alt kısmında kırmızı kan hücreleri, en üst kısmında hücresiz plazma ve ortada ise TZF pıhtı oluşmaktadır (157).



Şekil 7. Trombositten Zengin Fibrin pıhtısında oluşan tabakalar (Dohan’dan, 23)

Elde edilen fibrin, tüpten çıkarılıp, TZF hazırlama ve standardize etme kutusunda ya da iki spanç arasında ezildiğinde ise fibrin matriks içinde sıkışan sıvılar dışarı atılarak, dirençli bir otolog membran haline gelmektedir (158). Bu membranlar, periost iyileşmesinde oldukça etkilidirler (160) ve içeriklerinde yoğun miktarda trombosit, lökosit, sitokin, büyüme faktörü ve dolaşımdaki kök hücreleri barındırmaktadırlar (161). Membran, fibrinden oluşan basit bir yapılanma değildir; yara bölgesini koruyarak fiziksel bir bariyer görevi görmekte ve fibrin matriksine hapsolmuş rejeneratif kapasiteli molekül ve hücreler bileşenlerle optimal iyileşmeyi sağlamaktadır.

TZF matriks, kan örneğinde bulunan tüm bileşenleri içerdiğinden, fizyolojik konsantre olarak kabul edilebilen bir biyomateryaldir. Özellikle içinde bulundurduğu BMP'nin kademeli şekilde salınımı, anjiotropik, hemostatik ve osteokondüktif etki yarattığından kemik iyileşmesindeki varlığı son derece önemlidir (162).

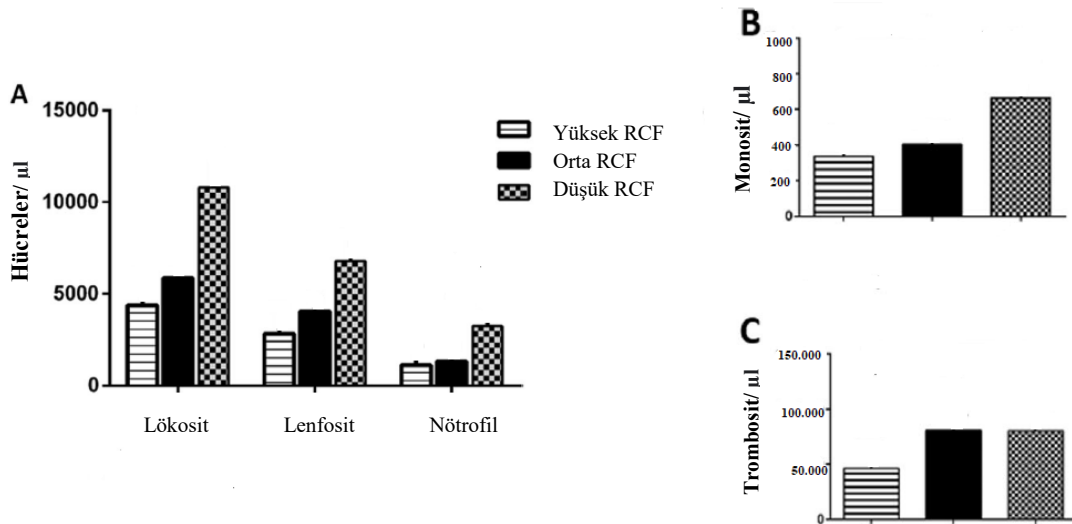
TZP'den farklı olarak TZF matriksinin fizyolojik rezorpsiyonu esnasında kesintisiz ve yavaş periyotlarda gerçekleşen sitokin ve büyüme faktörü salınımı sağlanmaktadır (Tablo 5). Son çalışmalar TGF- β , PDGF, VEGF salınımlarıyla beraber soket iyileşmesinin hızlandığını göstermiştir. Ek olarak EGF, IL- 1, IL- 6 ve TNF- α salınımlarıyla anjiyogenez, diferansiyasyon, modülasyon vb. hücreler aktiviteyi uyarılması sayesinde sert ve yumuşak doku iyileşmesinde uzun vadeli bir etki sağlanmaktadır (26, 163, 164). Simonpieri ve ark. fibrin matriksteki bu devamlı salınım sayesinde TZF pıhtısının, inflamatuvar yanıtı düzenleyebilme fonksiyonuna sahip olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmalarında, TZF matriksinde bulunan sitokinlerin kesintisiz salınımlarının, greft içerisindeki inflamatuvar olayların regülasyonunu sağladığını, hücreler aktivasyonların stimüle olduğunu ve yara iyileşmesinin hızlandığını bildirmişlerdir (165). İlave; TZF'nin yara iyileşmesini artırması sonucunda anjiyogenez mekanizması da hızlı bir şekilde aktive olarak ilgili alanda lokal perfüzyon sağlanmakta ve post-operatif ağrı azalmaktadır (33).

Araştırmaların çoğu, TZF materyalinin maksillofasiyal cerrahilerde (166) kullanımına odaklanırken, literatürde implant cerrahisinde (160), dişeti çekilmelerinin tedavisinde (167), periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde (168), kulak burun boğaz cerrahisinde (169) de yaygın olarak kullanıldıkları bildirilmiştir.

Tablo 5. Trombositten Zengin Fibrin pıhtısında bulunan büyüme faktörlerinin salınım oranları (ng) (Su'dan, 170)

TZF Salınımı	5. Dakika	1. Saat	2. Saat	3. Saat
PDGF	29,29	34,13	42,20	52,73
TGF- β	43,06	49,52	60,09	72,21
VEGF	0,38	0,42	0,71	1,04
EGF	0,18	0,86	1,72	3,23
IGF-1	257,40	247,82	244,62	249,16

TZF'nin elde edilirken santrifüj esnasında uygulanan rölatif santrifüj kuvvetinin (RCF) düşürülmesi ile g-TZF (24) ve e-TZF elde edilmekte ve bu prensip “düşük hızda santrifüj konsepti (low- speed centrifugation concept)” olarak adlandırılmaktadır (171). Hazırlık protokolünde yapılan bu değişimle fibrin matrikste optimal hücre aktivitesi, büyüme faktörü salınımında ise maksimum seviye hedeflenmiştir. Yapılan bu modifikasyon ile fibrin açısından zengin bir pıhtı elde edilerek, trombosit, lökosit hücre sayılarında ve büyüme faktörleri miktarında artış sağlanmıştır (Şekil 8) (24, 29). Fibrin matrikste bulunan sitokin seviyesindeki bu artışla beraber; monositlerin osteoblastlara farklılaşması stimüle olarak osteoindüktivitede artış sağlanmıştır (17, 172).



Şekil 8. RCF'nin değiştirilmesi sonucunda TZF matriksinde bulunan (A) Lökosit, lenfosit, nötrofil. (B) Monosit. (C) Trombosit hücrelerinin immünohistokimyasal olarak sayımları (Wend'den, 29)

2.4.2.3 Geliştirilmiş Trombositten Zengin Fibrin

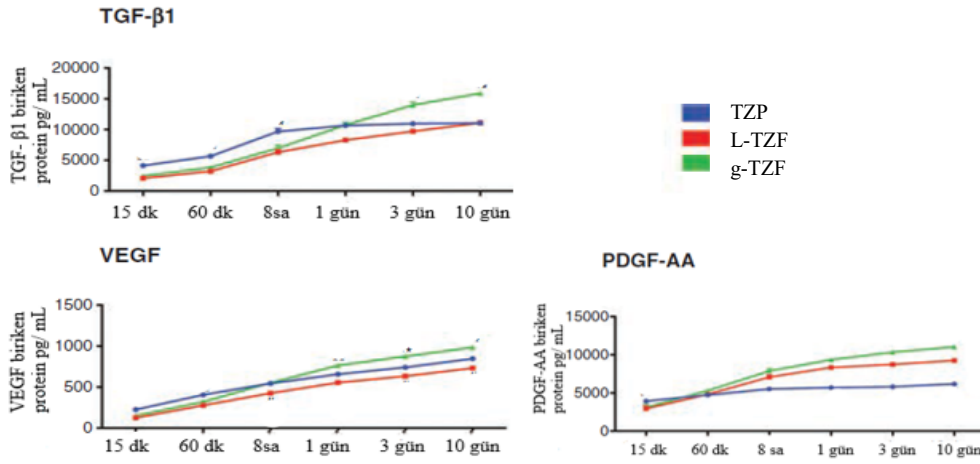
2014 yılında Dr. Joseph Choukroun ve ark. fibrin matriksinde daha fazla sayıda beyaz kan hücresi bulunduran TZF materyalinin başka bir formu g-TZF'yi tanımlamışlardır (24). Bu protokole göre venöz kan steril, vakumlu, içinde pıhtılaşma aktivatörü bulunan 10 mL'lik cam tüplere aktararak 1500 rpm'de (200 G) 14 dk santrifüje edilmesiyle g-TZF elde edilmektedir (24, 32).

Hücrel içerik bakımından g-TZF ile TZF birbirlerine benzerdir ancak; g-TZF pıhtısındaki trombosit ve beyaz kan hücrelerinin hücrel yoğunluğu önemli ölçüde daha fazladır ve elde edilen fibrin pıhtı, TZF'ye göre nispeten daha yumuşaktır (Şekil 9) (24, 173, 174). Matriks içeriğinde distal kısımda daha yoğun şekilde dağılım gösteren lökosit ve nötrofilik granülositlerin artmasıyla beraber monosit/ makrofaj yanıtı değiştirilerek sert ve yumuşak doku rejenerasyonunun hızlandırıldığı öne sürülmektedir (24, 28, 30). Araştırmacılar, santrifüj işleminde yapılan bu modifikasyon doğrultusunda TZF'ye göre g-TZF'nin fibrin matriksindeki TGF- β 1, PDGF, VEGF ve IGF'nin miktarlarının da artarak, daha uzun süreli salınımlarının sağlandığını bildirmişlerdir (175).

Kobayashi ve ark. TZP, L-TZF ve g-TZF materyallerinin büyüme faktörleri salınımlarını karşılaştırmıştır. Erken dönemde TZP'den salınan büyüme faktörü miktarı daha fazla bulunurken, 10 gün sonra yapılan ölçümde g-TZF'den kademeli olarak salınan büyüme faktörü miktarının TZP ve L-TZF'ye göre daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. g-TZF trombosit konsantrasyonu içinde en yüksek miktarda bulunan büyüme faktörünün PDGF-AA olduğu, bunu sırasıyla TGF- β 1, PDGF-BB, PDGF-AB, VEGF, EGF ve IGF'nin takip ettiği bildirilmiştir (173).

g-TZF, yara iyileşmesinin fizyolojik mekanizmasını taklit edebilme yeteneğine de sahiptir. Gözenekli yapısı sayesinde yara iyileşmesinin hemostaz ve inflamasyon aşamalarında sitokinlerin kesintisiz salınımlarını sağlayarak, ilgili bölgede yüksek oranda VEGF, PDGF, TGF ve antiinflamatuvar sitokin konsantrasyonu sağlamaktadır. Böylece ortaya çıkardığı doku sikatrizasyonu, hızlı anjiyogenezis ve kemik hücresi proliferasyonu ve farklılaşması gibi hücrel aktiviteleri hızlandırma kapasitesi, üstün olduğu bir diğer özelliğidir (28). Fibroblast göçü ve proliferasyonu, kollajen m-RNA düzeylerini direkt olarak arttırabilmeleri de rejenerasyondaki üstün kapasiteleri ile ilişkilendirilmektedir (175). İlâveten g-TZF'nin nötrofil, makrofaj ve kök hücreler ile uyumlu olarak etkileşim sağlaması, bu hücrelerin birbirini uyarmasına neden olmaktadır. Bu olumlu etkileri sebebiyle g-

TZF'nin sahip olduğu fibrin iskeleti doku iyileşme sürecinde ideal bir bileşen olarak görülmektedir (17, 24). Sinüs ogmentasyonu cerrahisinde, implant cerrahisinde, periodontal rekonstrüktif cerrahilerde, periodontal kemik içi defektlerde (28), sinüs membran perforasyonlarında, oroantral fistülün cerrahi olarak kapatılmasında (21), yara bölgesinde reepitelizasyonu sağlamak amacıyla g-TZF'nin kullanımları giderek yaygınlaşmaktadır (176, 177).



Şekil 9. TZF bazlı matrisler arasında TGF-β1, VEGF ve PDGF-AA salınımlarının zamana göre karşılaştırılması (Kobayashiden, 175)

2.4.2.4. Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrin

Choukroun ve ark. tarafından geliştirilmiş sıvı formülasyonda olan “enjekte edilebilir trombosit zengin fibrin (e-TZF)”, venöz kanın, antikoagülan içermeyen 10 mL’lik plastik, steril, vakumlu, boş tüplerde 700 rpm’de (60 G), 3 dk santrifüjüyle elde edilmektedir. Santrifüj işlemi tamamlandıktan sonra tüpün üst bölümünde e-TZF’nin bulunduğu alanda trombosit ve lökositler, alt bölümünde ise kan elemanları bulunmaktadır. Bu iki sıvının birbirlerine karışmalarını önlemek amacıyla tüp dikkatlice açılmalıdır ve 21 G’luk iğne yardımıyla e-TZF materyali tüpten çekilmelidir. Oluşan sıvı fibrin yapı, formunu yaklaşık 15 dk koruyabildiği ve sonrasında jel formuna dönüştüğü için bu süre zarfında kullanılması önerilmektedir (150, 178). Uygulanan G kuvvetinin azaltılmasının sonucunda; fibrin matris içeriğindeki trombositlerin, lökositlerin ve büyüme faktörlerinin salınım miktarları optimal seviyeye getirilmiştir. Bununla beraber rejeneratif hücrelerin aktivasyonları da indüklenerek

yara iyileşmesine önemli rol oynayan hücrelerin seviyelerinde diğer TZF tiplerine kıyasla daha fazla artış gözlenmektedir. Bu özellikleri ile diğer TZF formülasyonlarından daha üstün olduğu düşünülmektedir (30, 31).

TZF'nin fibrin iskelesinin yoğun kıvama sahip olması kemik biyomateriyalleriyle kombine şekilde kullanımlarını sınırlandırmıştır. Sıvı formdaki e-TZF'nin geliştirilmesiyle bu olumsuzluk ortadan kaldırılmıştır (31). Rejenerasyonu sağlayabilmek amacıyla e-TZF, kemik greftleriyle birlikte kullanıldığında greft partiküllerini bağlayarak homojen bir yapı oluşturmaktadır, bu yönüyle de kendisi gibi sıvı formda olan TZP'ye alternatif bir biyomateriyal olduğu bildirilmiştir (179). e-TZF, direkt olarak dişetine, dokuya enjekte edilerek (180) ya da kemik greft materyali ile karıştırılarak kullanılabilir. Kemik greftleriyle kombine kullanıldığında, yaklaşık 15 dk içerisinde polimerizasyon sağlanır. Greft partikülleri bir araya gelerek birleşir ve “yapışkan kemik (sticky bone)” adı verilen macun (putty) kıvamında, blok greft benzeri homojen bir kitle oluşturmaktadır (30, 179). Bu biyolojik materyal, fibrin bağlarını kemik greftinin içerisinde hapsedmektedir. Greftin makro ve mikro hareketlerini neredeyse minimuma indirerek, greftin defekt alanındaki stabilizasyonunu ve adaptasyonunu da arttırmaktadır. Bu sayede iyileşme periyodundaki kemik hacmi korunarak, doku iyileşmesinin hızlandığı ve rezorpsiyonunun azaldığı ileri sürülmektedir. Fibrin ağına hapsolmuş ve katılaşmış kemik grefti şeklinde olan bu yapının rejeneratif tedavilerde kullanımı, titanyum mesh ve blok kemik prosedürlerine bir alternatif olabileceği bildirilmektedir (35).

Kemik greftleriyle biyolojik bir yapıştırıcı olan e-TZF'nin karıştırılması sonucunda büyüme faktörleri hızla ortama salınmaktadır. Greft partiküllerinin arasında dolaşımdaki kök hücreler ve osteoprojenitör hücreler hızla migrasyona uğrayarak yara bölgesine doğru infiltre olmaktadır. Böylece anjiyogenezis mekanizması da hızla aktive olarak yara iyileşmesi süreci hızlanmaktadır (181).

Simonpieri ve ark. greftle TZF'nin karıştırılmasının belirli avantajlar sağladığı görüşündedirler. TZF'nin sahip olduğu fibrin pıhtı, kemik greftini stabilize ederek korumaktadır. Ek olarak kemik grefti partiküllerinin arasında biyolojik bağlayıcı rolü üstlenerek ortaya çıkardığı kohezyon kuvveti sayesinde, greft materyali erken iyileşme safhasında da yeterli biyokimyasal güce sahip olmaktadır. Fibrin ağı ve greft arasındaki kuvvetli birleşmenin sayesinde hücrelerin migrasyonu kolaylaşır. Bu durum özellikle neoanjiyogenezi sağlayan kök hücreler ve endotelial hücreler için oldukça önemlidir (165).

Kronik periodontitis tedavisinde (182), dişeti çekilmelerinin tedavisinde (183, 184), maksiller sinüs tabanı yükseltme cerrahisinde (185), mevcut kemiğın rejenerasyon kapasitesini arttırabilmek amacıyla kemik greftleri ile e-TZF materyali sıklıkla kombine olarak kullanılmaktadır (178, 185). İlaveten dermatolojik uygulamalarda (186), ortopedi cerrahilerinde (179), rinoplastik cerrahilerde (155) de yaygın şekilde kullanılmaktadır.

Literatürde kemik defektlerinin tedavisinde kullanılan biyomateryallerin halen ideal rejeneratif ortamı sağlayamaması sebebiyle, çalışmamızda TZF bazlı biyomateryallerin tek başına veya greft materyali ile birlikte kombine kullanımları sonucunda meydana gelen hücresel olayların ve kemik formasyon hızının histopatolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirilmesi amaçlandı.



3. GEREÇ ve YÖNTEM

Hayvan modelli deney çalışmamız, Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 28.01.2021 tarih ve 53488718- 125 sayılı karar ile onaylandı ve KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (TDK- 2021-9305 numaralı proje) tarafından desteklendi.

Araştırmamızın deneysel kısmı; KTÜ Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde operasyon odasında yapıldı. Kemik dokuların histopatolojik ve histomorfometrik incelemesi KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

Örneklem boyutunun tespit edilmesinde Rezuc ve ark. yaptığı çalışma baz alınarak Bi Power veri analiz programı kullanıldı. Yapılan güç analizinde α hata= 0.05, β hata= 0.20 alınacak şekilde hesaplama yapılarak toplamda 10 adet deney hayvanının araştırma için yeterli olduğu saptandı. Ancak muhtemel veri kayıpları göz önünde bulundurulduğunda (%30 kayıp), n= 13 adet deney hayvanının araştırmaya dahil edilmesi uygun görüldü (187, 188).

3.1. Deney Hayvanı Seçimi ve Preoperatif Hazırlık

Çalışmamızda deney hayvanı olarak 13 adet, 2500-3500 gr ağırlığında, ortalama altı aylık beyaz Yeni Zellanda cinsi dişi tavşanlar kullanıldı. Farklı cinsiyete bağlı metabolizma farklılıklarının yeni kemik oluşumu üzerine olası etkilerinden dolayı aynı cinsiyetteki tavşanlar tercih edildi.

Hayvanların çalışma ortamına uyum sağlamaları, enfeksiyondan korunmaları ve genel sağlık durumlarının kontrolleri amacıyla cerrahi operasyondan önce deneylerin gerçekleştirileceği laboratuvar ortamına nakledilerek herhangi bir işleme tabi tutulmadan iki hafta süreyle bekletildi. Cerrahi operasyonlar başlamadan üç gün önce antibakteriyel ve antikoksidial etkili Sulphamezathine (Sülfadimidin sodyum %16, Nobelfarma, Düzce, Türkiye) oral çözelti, her bir deney hayvanına kg başına 1 mL olmak üzere üç gün boyunca, içme sularına katılarak 1 x 1 şeklinde verildi. Operasyondan bir gün önce profilaktik Enrofloksasin (Baytril 10 mg/ mL, Bayer, Kansas, Amerika) IM uygulandı. Denekler, standart kuru pelet yemi ve su verilerek beslendirildi. Hayvanların su ve yiyeceğe rahat ulaşabilmeleri, yeterli hareket alanına sahip olmaları ve stressiz bir ortam sağlanabilmesi açısından her biri boyutlarına uygun ayrı ayrı kafeslerde barındırıldı.

3.2. Kan Alınması, TZF Hazırlanması ve Cerrahi Yaklaşım

Tüm cerrahi uygulamalar steril koşullar altında gerçekleştirildi. Kan alımında kolaylık sağlamak ve deney hayvanlarının kulak venlerinin vazodilatasyonu amacıyla ortalama sıcaklığı 35 °C olan ısınma odasında yaklaşık olarak yarım saat bekletilerek operasyon odasına alındı. Sırası ile opere edilecek tüm deney hayvanlarına literatüre uygun şekilde Ketamin hidroklorür (Ketalar 50 mg/ mL, Pfizer, İstanbul, Türkiye) ve Ksilazin hidroklorür (Ksilazol 10 mg/ mL, Bayer, İstanbul, Türkiye) karışımı IM enjeksiyon yöntemiyle uygulanarak genel anestezi sağlandı (189). Tüm cerrahi operasyon boyunca anestezi derinliği takip edildi. Anesteziyi takiben hayvanların gözleri Teramycin pomad (Polimiksin-B, Pfizer, İstanbul, Türkiye) ile izole edildi. Yeterli anestezi derinliği sağlandıktan sonra kan alımı planlanan deney hayvanının kulak bölgesindeki tüyler steril bistüri ucu ile traşlandı. Damarların daha belirgin hale gelmesi için ilgili bölge alkolle silindi. Tavşanın santral kulak venine takılan 0.70 mm çapındaki sarı intraketin ucuna 10 mL'lik steril enjektör takıldı ve 5 mL kan alınarak bekletilmeden antikoagülansız, steril, vakumlu, boş plastik tüpe aktarıldı. Eritrositlerin, trombositlerin içinde bulunduğu plazmadan ayrıştırılması ve santrifüj cihazı içindeki dengeyi sağlamak amacıyla cihaza konulan kanla dolu olan tüpün tam karşısına tüpteki kan miktarı kadar su ile doldurulmuş başka bir tüp yerleştirildi. Tüpteki kan, 700 rpm'de (60 G) 3 dk süreyle santrifüje edilerek (181) (Process for PRF, Nice, France) e-TZF elde edildi. Santrifüj işlemi tamamlandıktan sonra tüp dikkatli bir şekilde açılarak tüpün en üst kısmında bulunan e- TZF 20 mL'lik şırınga ile çekildi. 0.5-1 mm gren kalınlığındaki, β -TCP (Bonegraft, İzmir, Türkiye) serum fizyolojik ile dehidrate edildikten sonra üzerine e-TZF uygulanarak şekillendirildi. Yaklaşık 15 dk bekletilmesi sonucunda yapışkan kemik formundaki homojen yapı (sticky bone) elde edildi.

Aynı prensiple, 10 mL'lik steril enjektör, mevcut intrakete takılarak 10 mL kan alındı ve bekletilmeden, clot aktivatör içeren steril, vakumlu cam tüpe aktarıldı. 1500 rpm'de (208 G) 14 dk santrifüje edildikten sonra (190) tüpün üst kısmında oluşan jel formundaki g-TZF, ince penset ve makas yardımıyla kırmızı kan hücrelerinden ayrılarak çıkartıldı. Elde edilen materyal TZF şekillendirme kutusuna (PRF Box, Process Ltd, Nice, France) konularak, pıhtının daha yoğun ve sıkı bir hal alması amacıyla membran formu haline getirildi. TZF materyalleri hazır oldukları andan itibaren 3 dk içerisinde, defektlere konulacak şekilde sırasıyla hazırlandı.

Yaklaşık olarak 0.5-1 mm gren kalınlığındaki β -TCP metal gode içinde serum fizyolojik ile dehidrate edilip şekillendirildikten sonra kaviteye yerleştirilecek şekilde hazırlandı.

3.2.1. Kaviterin cerrahi olarak hazırlanması

Tüm deney hayvanlarına uygulanan standart cerrahi işlemlerin tamamı Arş. Gör. Elif Güven Soğuksulu tarafından gerçekleştirildi. Defektlere uygulanması planlanan TZF ve greft biyomateriyallerinin cerrahi işlemlerle eş zamanlı olarak hazırlanması işlemleri yardımcı araştırmacı tarafından gerçekleştirildi.

Cerrahi operasyon öncesinde hayvanlar standart postüre getirilerek sabitlendi. Kaviterin oluşturulması planlanan alanda, parietal kemik yüzeyindeki tüyler steril bistüri ucu ile traş edildi (Resim 1). Opere edilecek saha %10'luk Povidone iodine (Batticon®, Adeka, Samsun, Türkiye) ile silinerek asepsi sağlandı (Resim 2). Her deney hayvanı için ayrı ayrı olmak üzere steril cerrahi örtüler ile operasyon sahası açıkta kalacak şekilde cerrahi bölge izole edildi. Anesteziyi ve hemostazı sağlamak amacıyla defekt oluşturulacak bölgelere 2 mL Artikain Hidroklorür (Ultracain D-S forte, Sanofi Aventis, Türkiye) infiltratif olarak uygulandı. Her denek için aynı operasyon tekniği uygulandı (191). Cerrahi operasyona, kafatası orta hattındaki yumuşak doku üzerinde yaklaşık olarak 5 cm uzunluğunda insizyon atılarak başlandı (Resim 3). Cilt ve cilt altı dokuların bistüriyle diseksiyonu sonrası flap, periost elevatörü ile dikkatli bir şekilde tam kalınlık olarak kaldırıldı. Künt diseksiyon ile yumuşak dokular ekarte edildikten sonra parietal bölgeye ulaşıldı (Resim 4). Operasyon süresince, çevre anatomik yapılara zarar verilmesinden kaçınıldı. Kaviterin konumu, sagittal süturun her iki tarafında simetrik olacak şekilde planlandı. Kaviterler, 50 N/ cm tork kuvveti ve 900 rpm'deki serum fizyolojikli tur motoru (DTE Implant-X, Woodpecker, Almanya) ile 8 mm çapındaki trefan frez (Trephan, Meisinger, Almanya) kullanımıyla açıldı (Resim 5). Her bir hayvanda dörder adet standart bikortikal kemik defektleri planlandı. Deneysel defektlerin derinliği yaklaşık 2 mm olarak belirlendi. Defektlerin birbirinden uzaklığı yaklaşık olarak 4 mm, sagittal suture olan uzaklık ise 2 mm olarak ayarlandı. Defektler, lamina duraya direkt müdahaleden kaçınılarak kavite tabanlarında artık kemik bırakılmayacak şekilde oluşturuldu.

Gruplar şu şekilde planlandı:

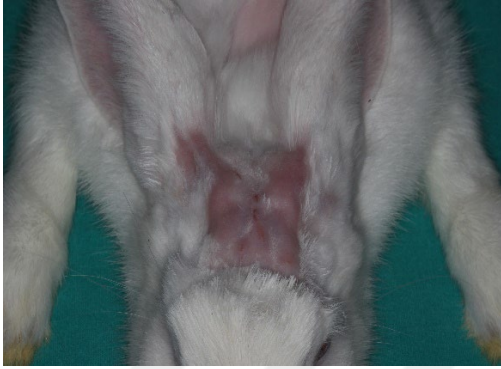
Grup 1: Oluşturulan deneysel defekte, e-TZF + β -TCP karışımı uygulandı.

Grup 2: Oluşturulan deneysel defekte, g-TZF uygulandı.

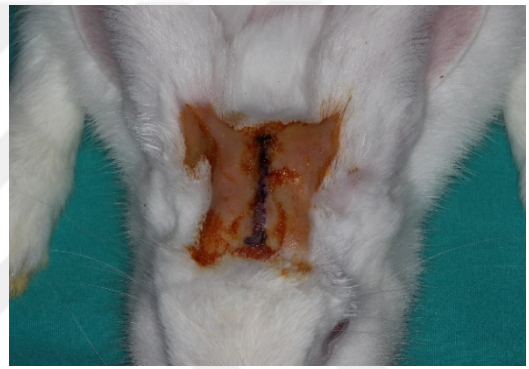
Grup 3: Oluşturulan deneysel defekte, β -TCP uygulandı.

Grup 4: Oluşturulan deneysel defekt, kendiliğinden iyileşmeye bırakılarak, kontrol grubunu oluşturdu.

Tüm biyomateryaller ilgili defektlere uygulandıktan sonra (Resim 6) cilt ve cilt altı dokular tabakalar halinde rezorbe olabilen 5.0 yarım yuvarlak 16 mm poli (glikolid-kolaktid) (Pegalak, Doğsan, Rize, Türkiye) suture materyaliyle primer şekilde kapatıldı. Yara bölgesi Povidone iodine (Batticon®, Adeka, Samsun, Türkiye) ile temizlendi (Resim 7).



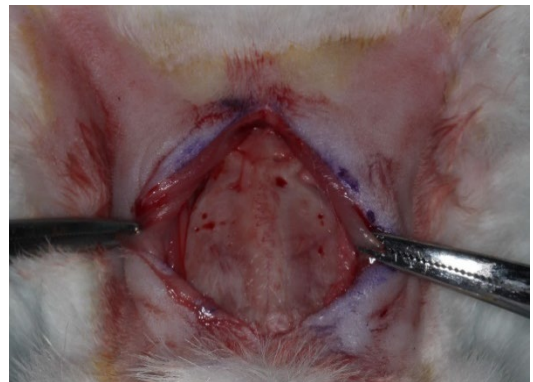
Resim 1. Deneklerin standart postüre getirilip, cerrahi bölgenin traşlanması



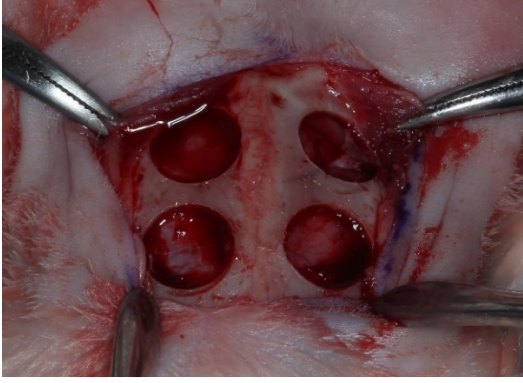
Resim 2. Cerrahi bölgede asepsi sağlanması ve insizyon hattının belirlenmesi



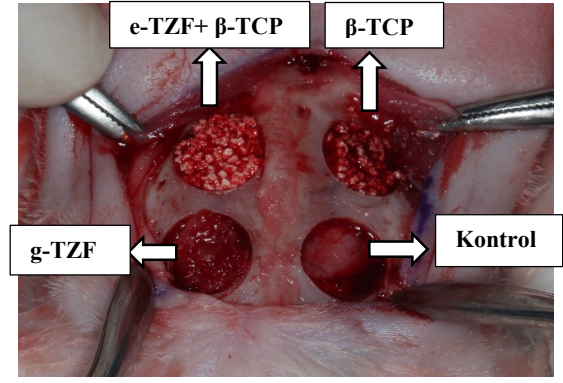
Resim 3. Longitudinal yönde insizyon hattının oluşturulması



Resim 4. Tam kalınlık flap kaldırılması ve Parietal kemiğin görünümü



Resim 5. Standart bikortikal deneysel kemik defektlerinin oluşturulması



Resim 6. Tüm biyomateryallerin ilgili kavitelere yerleştirilmesi



Resim 7. Operasyon bölgesinin sutureasyonu ve Batticon uygulanması

3.3. Postoperatif Takip ve Bakım

Operate edilen tüm deney hayvanlarının çalışma süresince bakımları KTÜ Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapıldı. Çalışmaya tabi tutulan her bir hayvan deney süresince 22 ± 2 °C sıcaklıkta, %50 nem ayarlı küçük hayvan bakım odalarında, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamın sağılandığı koşullarda, boyutlarına uygun olmak üzere kuru pelet yemine ve suya erişimi kolay olan kafeslerde ayrı ayrı barındırıldı. Hayvanların diyetlerinde herhangi bir değişiklik yapılmayarak standart rejim protokolü uygulandı.

Operasyondan hemen sonra postoperatif enfeksiyonu önlemek amacıyla beş gün boyunca Enrofloksasin (Baytril 10 mg/ kg IM, Bayer) 1x1, ağrı kontrolü amacıyla ise üç gün boyunca Meloksikam (Maxicam 0.2 mg/ kg IM, Sanovel, İstanbul, Türkiye) 1x1 şeklinde verildi (189).

Deney hayvanlarının operasyon sonrası dönemde genel sağlık durumları, yem ve su alımları, günlük bakımları yapılarak kafes temizlikleri kontrol edildi. Yara bölgelerinin sağlığı düzenli olarak kontrol edilerek bir hafta boyunca Povidone iodine (Batticon®, Adeka) ile yara bölgesinin bakımı yapıldı. Postoperatif birinci gün bir deney hayvanının enfeksiyondan dolayı kaybı nedeniyle çalışmanın kalan kısmı 12 adet deney hayvanı üzerinde yürütüldü.

3.4. Sakrifikasyon

Literatürde, hücresel değişiklikleri saptayabilmek amacıyla yapılan histolojik değerlendirmelerde, dördüncü haftanın tavşanlarda oluşan yeni kemiğin kalsifikasyon başlangıcının incelendiği erken iyileşme dönemi; sekizinci haftanın ise yeni kemik oluşumunun son değerlendirme dönemi olduğu bildirilmiştir (121, 192, 193). Çalışmamızdaki deney hayvanlarının rastgele seçilen altı tanesi dördüncü haftada ve kalan altı tanesi ise sekizinci haftanın sonunda intrakardiyak letal dozda Ketamin hidroklorür (Ketalar 50 mg/ mL, Pfizer, İstanbul, Türkiye) enjekte edilerek sakrifiye edildi. İlgili bölgelerdeki kavitelere ulaşmak için tam kalınlık flap kaldırılarak defekt bölgesine ulaşıldı. Serum fizyolojikli tur motoru ve karbon separe aracılığıyla kemik defektlerinin çevresinde 5 mm sağlam kemik olmak üzere defekt bölgeleri blok halinde çıkarıldı.

3.5. Histolojik Takip, Boyama ve Değerlendirme

Elde edilen örnekler diseke edilerek yumuşak dokuları uzaklaştırıldı ve ayrı ayrı olmak üzere %10'luk tamponlanmış izotonik formalin solüsyonuna alınarak bir hafta süreyle fıkse edildi. Dokuların fiksasyon işlemi tamamlandıktan sonra dekalsifikasyon işlemine başlandı. Bu amaçla hazırlanan dekalsifikasyon solüsyonunun bileşenleri ve bileşenlerin karışımdaki hacimsel oranları aşağıdaki gibidir:

- Distile su → %80
- %37'lik formaldehit → %10
- Formik asit → %10

Dokular hazırlanan dekalsifikasyon solüsyonunda, kesilmeye uygun hale gelene kadar bekletildi. Bu süreçte solüsyonlar iki günde bir yeniden hazırlanarak değerştirildi. Yaklaşık iki hafta süren dekalsifikasyon işleminin ardından yumuşayan ve kesilmeye uygun hale gelen kemik dokuları dört saat boyunca eşme suyunda yıkandıktan sonra plastik doku takip kasetleri ile kasetlendi. KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji ABD Mikropreparasyon Laboratuvarı'nda bulunan doku takip cihazına (Thermo Scientific

Excelsior AS, İngiltere) yerleştirilen kasetlere ayrıntıları Tablo 6’da verilen standart doku takip prosedürü uygulandı.

Tablo 6. Standart doku takip prosedürü

Uygulama	Süre
Formaldehit	1 saat
Alkol (30 °C)	50 dk
Alkol (30 °C)	1 saat
Alkol (30 °C)	1 saat
Alkol (30 °C)	1 saat
Alkol (30 °C)	1 saat
Alkol (30 °C)	1 saat
Alkol (30°C)	1.5 saat
Ksilen (30 °C)	1 saat
Ksilen (30 °C)	1 saat
Ksilen (30 °C)	1 saat
Parafin (58 °C)	1 saat
Parafin (58 °C)	1 saat
Parafin (58 °C)	1.5 saat

Standart doku takibinin ardından bloklama cihazında (Leica HistoCare Arcadia H, Çin) parafin bloklara gömülen dokulardan tam otomatik mikrotom cihazı (Leica RM 2255, Almanya) kullanılarak 5 µm’lik kesitler alındı. İçerisinde 37 °C sıcaklıkta su bulunan benmaride kırışıklıkları giderilen kesitler lamalar üzerine alındı. “Hematoksilen&Eozin (HE)” ve “Safranin O- Fast Green (SOFG)” ile boyanmak üzere iki ayrı lam takımı hazırlandı.

Zembillere dizilen ilk lam takımı otomatik boyama cihazında (Leica Autostainer XL, Almanya) Tablo 7’de verilen prosedürle HE ile boyandı ve kapama medyumunu damlatılarak lamelle kapatıldı.

Tablo 7. Hematoksilen & Eozin (HE) boyama protokolü

Uygulama	Süre
Fırın (60 °C)	45 dk
Ksilen	5 dk
Ksilen	5 dk
Ksilen	5 dk
%100 Alkol	5 dk
%96 Alkol	5 dk
%70 Alkol	5 dk
Distile Su (Yıkama)	1 dk
Hematoksilen	2 dk
Distile Su (Yıkama)	1 dk
Asit Alkol	1 sn
Distile Su (Yıkama)	1 dk
Amonyaklı Su	10 sn
Distile Su (Yıkama)	1 dk
Eozin	1.5 dk
Distile Su (Yıkama)	1 dk
%96 Alkol	5 sn
%100 Alkol	5 dk
Ksilen	5 dk
Ksilen	5 dk

Ardından ikinci lam takımı zembillere dizildi ve öncelikle otomatik boyama cihazında (Leica Autostainer XL, Almanya) Tablo 8'deki gösterildiği üzere deparafinize edildi.

Tablo 8. Deparafinizasyon programı

Uygulama	Süre
Fırın (60 °C)	45 dk
Ksilen	5 dk
Ksilen	5 dk
Ksilen	5 dk
%100 Alkol	5 dk
%96 Alkol	5 dk
%70 Alkol	5 dk
Distile Su (Yıkama)	30 sn

Deparafinize edilen kesitler Tablo 9’da verilen prosedür uygulanarak SOFG ile boyandı. Kapama medyumunu damlatıldıktan sonra lamelle kapatıldı.

Tablo 9. Safranin O- Fast Green (SOFG) Boyama Protokolü

Uygulama	Süre
Weigert’in Demirli Hematoksileni	15 sn
Çeşme Suyu (Yıkama)	10 dk
Fast Green	7 dk
%1’lik Asetik Asit Solüsyonu	Batır-çıkart
Safranin O	45 sn
%96’lık Etanol	5 sn
%100’lük Etanol	5 sn
Ksilen	5 dk

Elde edilen preparatlar KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji ABD Görüntüleme Laboratuvarı'nda dijital fotoğraf makinesi (Olympus, DP71, Japonya) ataçmanlı ışık mikroskopunda (Olympus BX51, Japonya) Analysis 5 Research (Olympus Soft Imaging Solution, Almanya) programı kullanılarak değerlendirildi ve fotoğraflandı. Kemik dokuların histomorfometrik değerlendirilmesinde puanlama sistemi kullanıldı.

3.5.1. Histomorfometrik Değerlendirme Kriterleri

Elde ettiğimiz tüm örneklerde, Deveci ve ark. uyguladığı yöntem baz alınarak; her bir kesitin üç farklı bölgesi incelendi ve aşağıdaki kriterler kullanılarak histomorfometrik olarak değerlendirildi (194).

1. İnflamasyonun şiddeti 0- 4 arasında derecelendirildi.

- 0: İnflamasyon tespit edilmedi
- 1: Düşük seviyede inflamasyon
- 2: Orta seviyede inflamasyon
- 3: Yüksek seviyede inflamasyon
- 4: Şiddetli seviyede inflamasyon

2. Yeni oluşan kemik dokusundaki osteoklast hücrelerinin aktivasyonu 0- 4 arasında derecelendirildi.

- 0: Osteoklast hücresi görülmedi
- 1: Düşük seviyede osteoklast hücre aktivasyonu
- 2: Orta seviyede osteoklast hücre aktivasyonu
- 3: Yüksek seviyede osteoklast aktivasyonu
- 4: Şiddetli seviyede osteoklast aktivasyonu

3. Yeni oluşan kemik dokusundaki osteoblast hücrelerinin aktivasyonu 0- 4 arasında derecelendirildi.

- 0: Osteoblast hücresi görülmedi
- 1: Düşük seviyede osteoblast aktivasyonu
- 2: Orta seviyede osteoblast aktivasyonu

- 3: Yüksek seviyede osteoblast aktivasyonu
 - 4: Şiddetli seviyede osteoblast aktivasyonu
4. Yeni oluşan kemik dokusundaki osteosit hücrelerinin aktivasyonu 0- 4 arasında derecelendirildi.
- 0: Osteosit hücresi görülmedi
 - 1: Düşük seviyede osteosit aktivasyonu
 - 2: Orta seviyede osteosit aktivasyonu
 - 3: Yüksek seviyede osteosit aktivasyonu
 - 4: Şiddetli seviyede osteosit aktivasyonu
5. Yeni oluşan kollajen lif sentezi 0- 4 arasında derecelendirildi.
- 0: Kollajen lif sentezi görülmedi
 - 1: Düşük seviyede kollajen lif sentezi
 - 2: Orta seviyede kollajen lif sentezi
 - 3: Yüksek seviyede kollajen lif sentezi
 - 4: Şiddetli seviyede kollajen lif sentezi
6. Yeni kemik matriks oluşumuyla beraber defekt dolumu 0- 4 arasında derecelendirildi.
- 0: Yeni kemik matriks sentezi görülmedi
 - 1: Düşük seviyede az kemik matriks oluşumu
 - 2: Orta seviyede kemik matriks oluşumu
 - 3: Yüksek seviyede kemik matriks oluşumu
 - 4: Şiddetli seviyede kemik matriks oluşumu

3.6. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizlerde SPSS for Windows 17.0 (IBM, New York, ABD) programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler frekans, ortanca, minimum ve maksimum değerler olarak verildi. Gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testi ve gerekli durumlarda Bonferroni düzeltmesi uygulandı. Grup içi karşılaştırmalarda Wilcoxon testi uygulandı. $P < 0.05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Genel Değerlendirme Bulguları

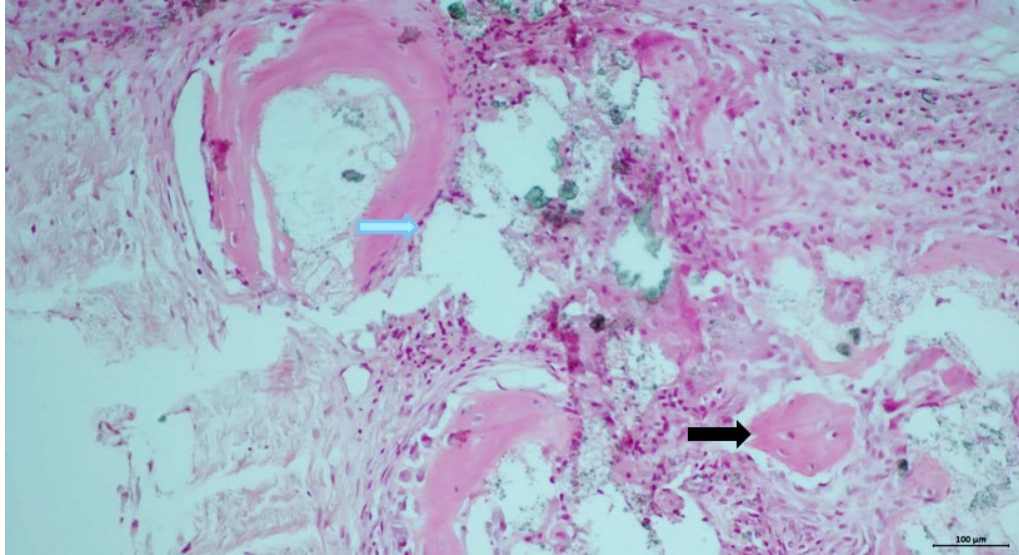
Histolojik incelemeye tabi tutulan 12 denekte, post-operatif süreçte yara bölgesinde enfeksiyon, deri nekrozu, enflamasyona bağlı greft kaybı ya da yara iyileşmesinde gecikmeye rastlanılmadı.

4.2. Histopatolojik Değerlendirme Bulguları

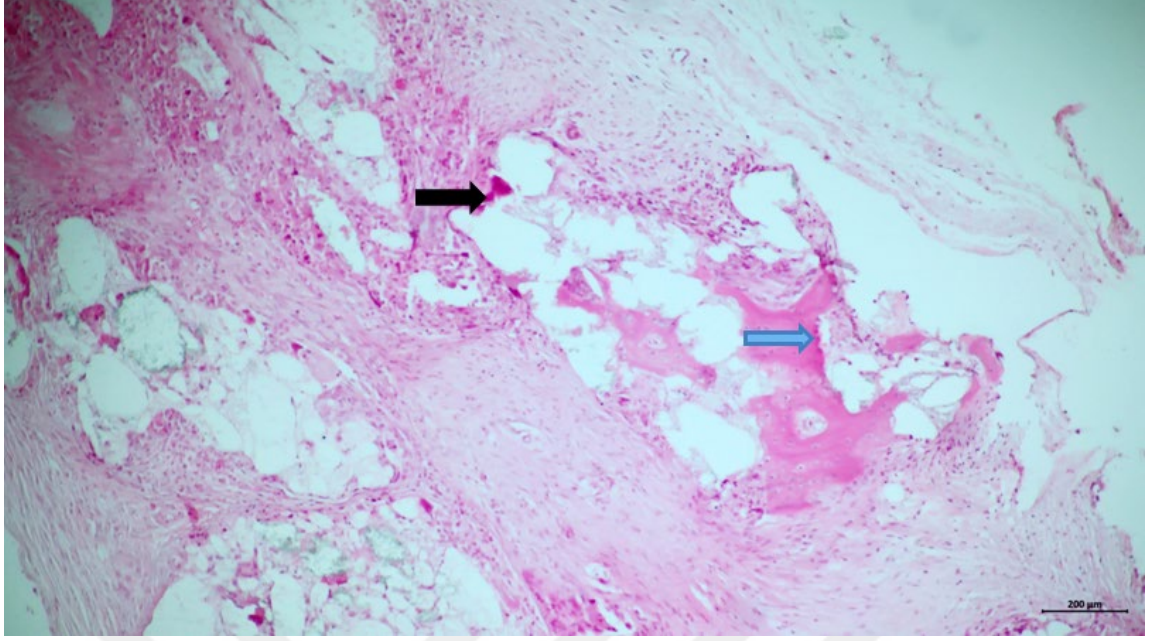
4.2.1. Dördüncü Hafta Histopatolojik Değerlendirme Bulguları

4.2.1.1. Grup 1 (e-TZF + β -TCP) HE Görüntüleme

Bu gruba ait kesitler incelendiğinde osteoklast hücrelerinin soliter tarzda olduğu görüldü. Yeni kemik trabeküllerinin periferinde mezenşimal hücrelerle birlikte osteoblastların da bir sıra şeklinde dizildiği (Resim 8) izlendi. Laküner yapıların belirginleşmeye başlamasıyla, osteosit hücreleri gelişiminin de stimüle olduğu gözlemlendi. Yeni kemik trabeküllerinin oluşumundaki hızlı artışla beraber osteoblastik kemik matriksin oluştuğu tespit edildi (Resim 9).



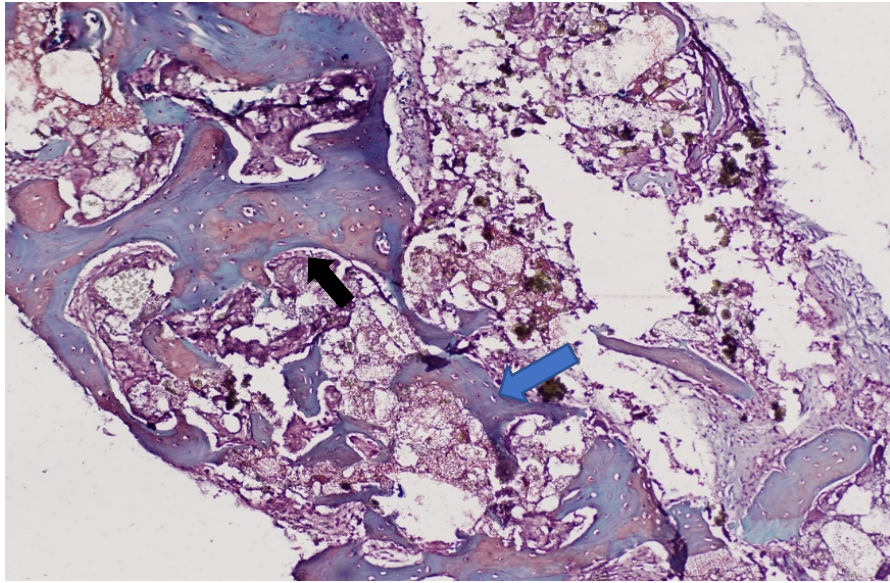
Resim 8. Bağ dokusu alanları içerisinde bazı alanlarda yeni kemik oluşumu (siyah ok) ve osteoblast hücreleri (mavi ok)



Resim 9. Laküna formasyonu (siyah ok) ve osteoblast hücreleri (mavi ok)

4.2.1.2. Grup 1 SOFG Görüntüleme

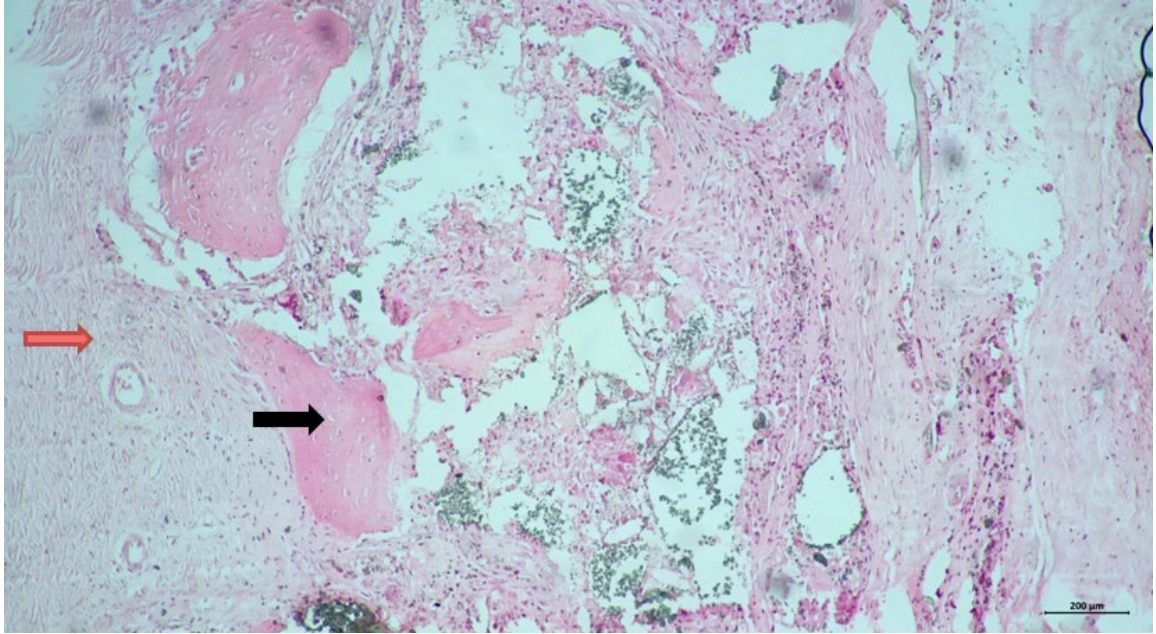
Ana kemik parçalarının arasında osteoklast hücre grubu görüldü (Resim 10). Oluşan yeni kemik trabeküllerinin en dış kısmında osteoblast hücreleri, orta kısma doğru ise az sayıda osteosit hücreleri tespit edildi. Kollajen lif organizasyonu düzenli olarak izlendi.



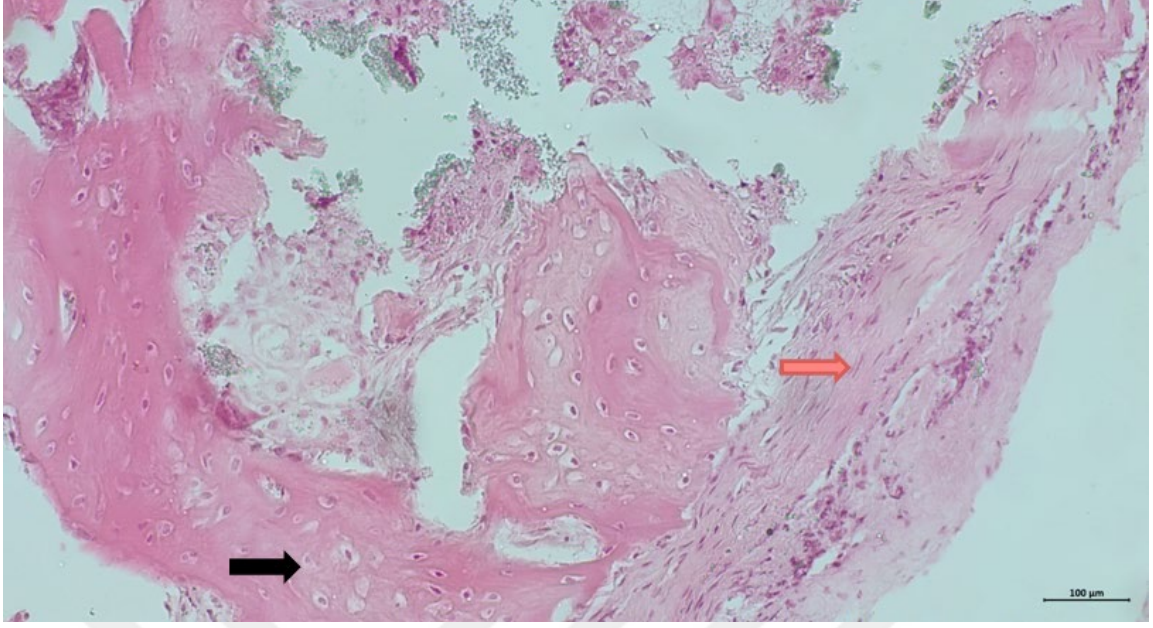
Resim 10. Yeni oluşan kemik trabeküllerinin en dış kısmında bulunan osteoblast hücreleri (siyah ok), orta kısma doğru ise az sayıda osteosit hücreleri (mavi ok)

4.2.1.3. Grup 2 (g-TZF) HE Görüntüleme

Bu gruba ait kesitlerin histolojik incelemesinde bağ doku hücrelerinde ve kollajen liflerde belirgin bir artış görülmekle birlikte (Resim 11) osteoklast hücrelerinin soliter tarzda dağıldığı gözlemlendi. Ayrıca yer yer küçük agregatlar şeklinde inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlendi. Genişleyen kemik trabeküllerinin dış kısmındaki osteoblastların düzgün ve yassı yapıda olduğu tespit edildi. Osteosit ve lakünaların belirgin olduğu ve bağ dokusu alanları içerisinde yeni kemik oluşumu gözlenmesi dikkat çekti (Resim 12).



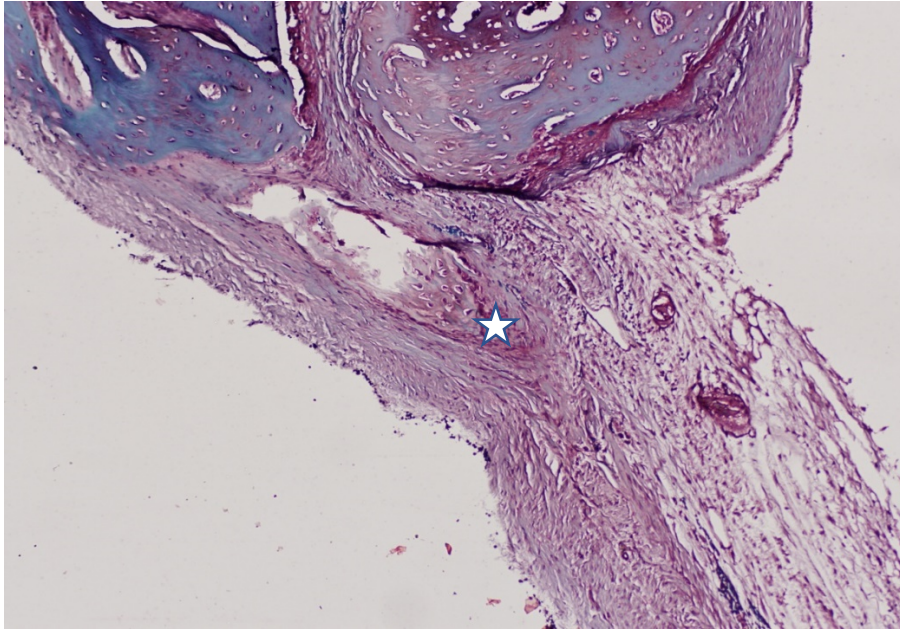
Resim 11. Yeni bağ dokusu (kırmızı ok) ve kemik trabekülü (siyah ok)



Resim 12. Belirgin yeni kemik trabekülleri ve lakünalar (siyah ok) ve organize yapıda bağ doku yapısı (kırmızı ok)

4.2.1.4. Grup 2 SOFG Görüntüleme

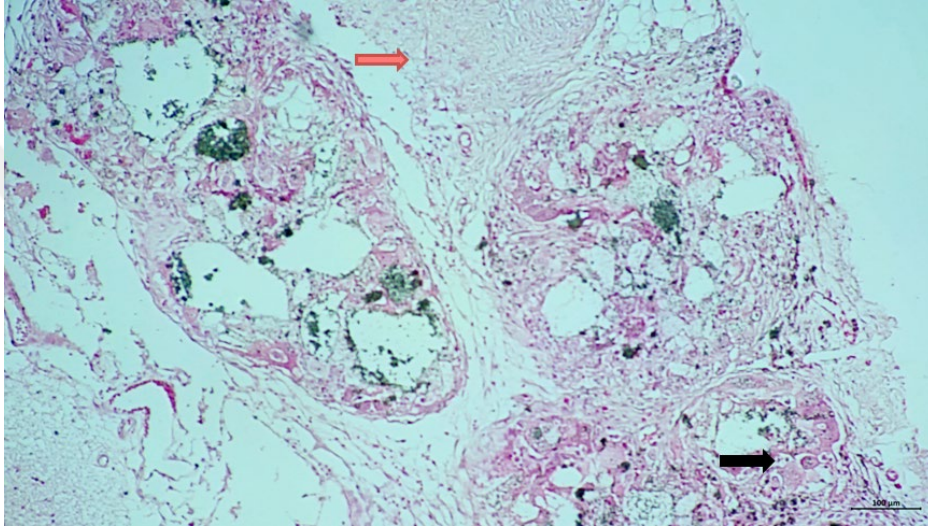
Osteoblast hücrelerinde ve osteosit hücrelerinde reorganizasyonla birlikte yeni kemik trabekülleri gözlemlendi (Resim 13).



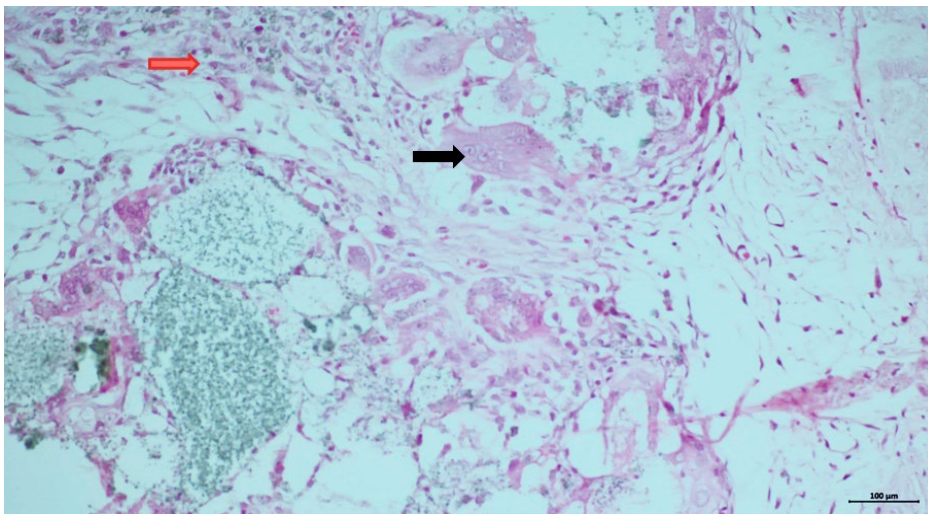
Resim 13. Yeni kemik trabekülleri oluşumu (yıldız)

4.2.1.5. Grup 3 (β -TCP) HE Görüntüleme

Bu gruba ait histolojik incelemede, greft alanı içerisinde inflamatuvar hücre infiltrasyonu olduğu görüldü. Bağ doku yapısında ise kollajen lif sentezinin artışı tespit edildi (Resim 14). Küçük greft alanlarının içerisinde osteoklast hücrelerinin belirgin olduğu görüldü. Bazı alanlarda az sayıda osteoblast hücresi içeren kemik trabeküllerine rastlandı. Özellikle kemik trabeküllerinde laküner yapıların ortaya çıktığı, içlerinde az sayıda osteositlerin var olduğu gözlemlendi (Resim 15).



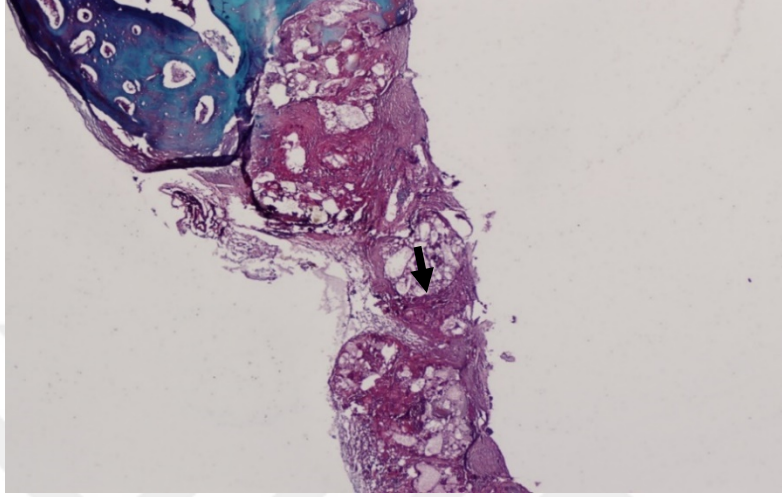
Resim 14. Kemik trabekülleri içerisinde yer alan osteosit hücreleri ve laküna yapıları (siyah ok), kollajen lif sentezinin artış gösterdiği bağ doku yapısı (kırmızı ok)



Resim 15. Yeni oluşan bağ dokusu (kırmızı ok), lakünalara yerleşim gösteren osteosit hücreleri (siyah ok)

4.2.1.6. Grup 3 SOFG Görüntüleme

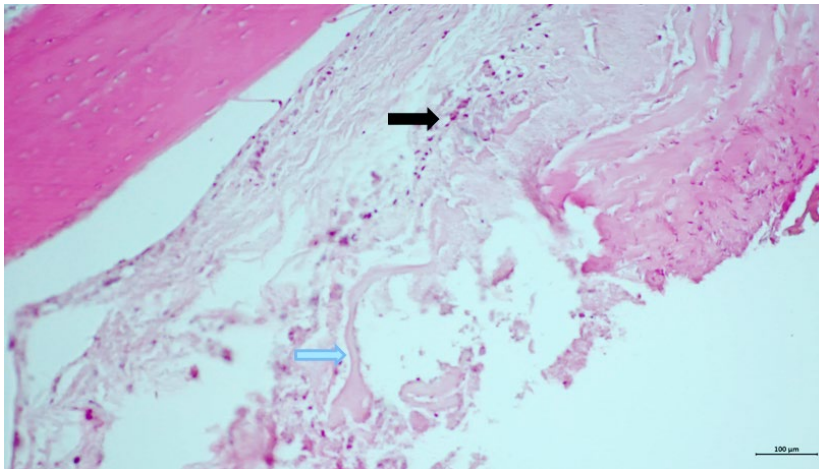
Greft alanı etrafındaki osteoklast aktivitesinde artış görülürken; küçük kemik trabeküllerinin dış kısmında ise, az sayıda osteoblast hücresi izlendi (Resim 16).



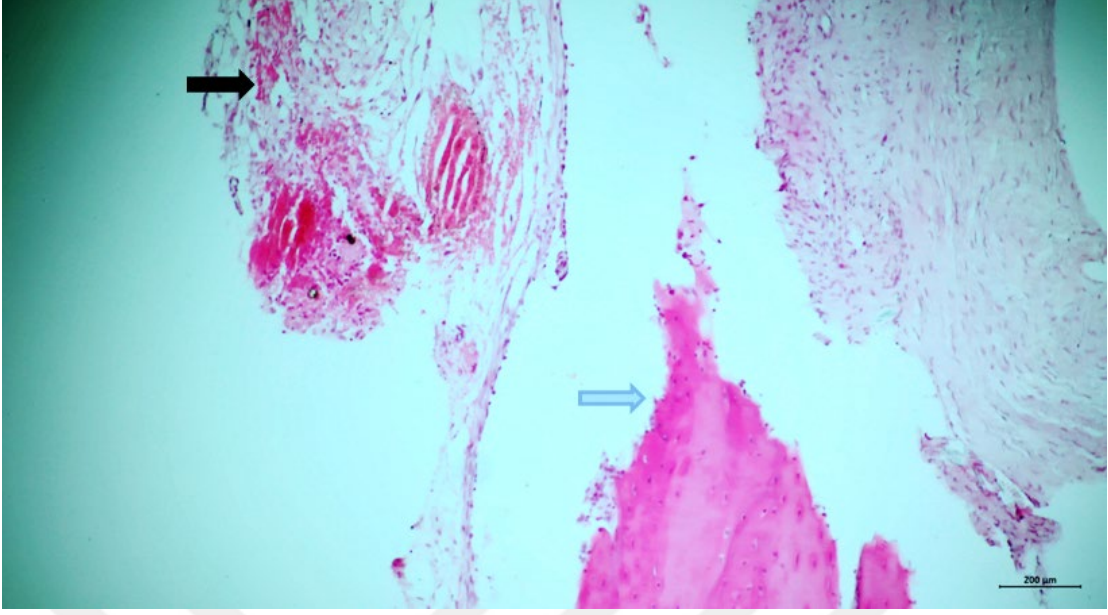
Resim 16. Rezidüel greft partiküllerinin periferinde bulunan osteoklast hücreleri (siyah ok)

4.2.1.7. Grup 4 (tedavi uygulanmayan) HE Görüntüleme

Bu gruba ait kesitlerde, gelişmekte olan trabekül yapılarının dış yüzünde bulunan bağ doku alanlarında bulunan kan damarlarında konjesyon ve dilatasyon tespit edildi. Osteoklast hücrelerinde artış görüldü. Ayrıca gelişmekte olan küçük kemik trabeküllerinin (Resim 17) dışında da az sayıda osteoblast hücreleri gözlemlendi (Resim 18).



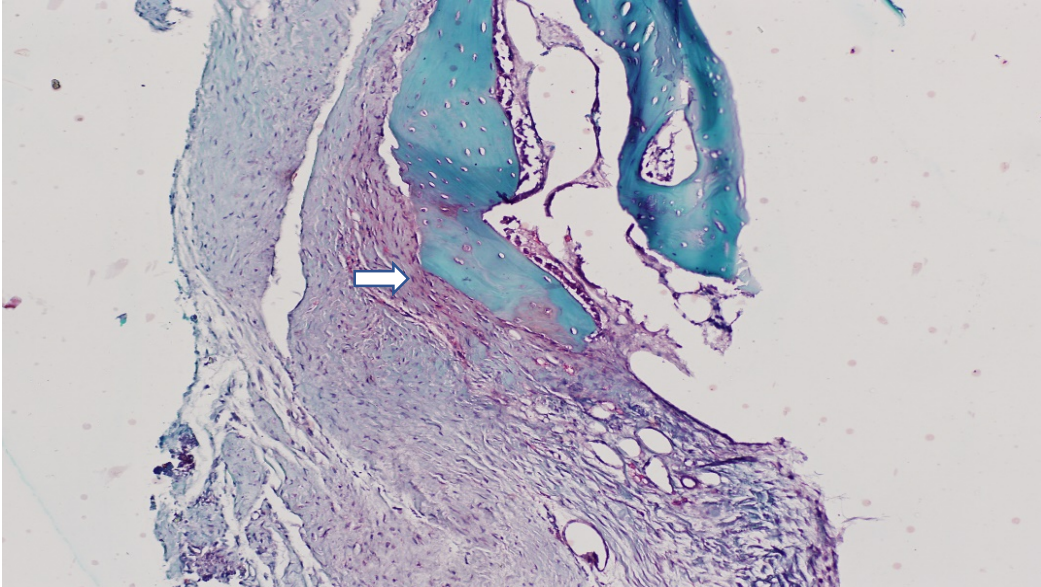
Resim 17. Bağ dokusu içerisinde gözlenen, gelişmekte olan yeni kemik trabekülleri (siyah ok) ve osteoblastlar (mavi ok)



Resim 18. Laküna formasyonları (siyah ok) ve osteoblastik hücreler (mavi ok)

4.2.1.8. Grup 4 SOFG Görüntüleme

Kan damarlarında dilatasyon tespit edildi. Yeni kemik oluşumuna ait küçük parçacıkların etrafında bulunan osteoklast hücrelerinde artış izlendi (Resim 19); az sayıda osteoblast hücreleri görüldü.

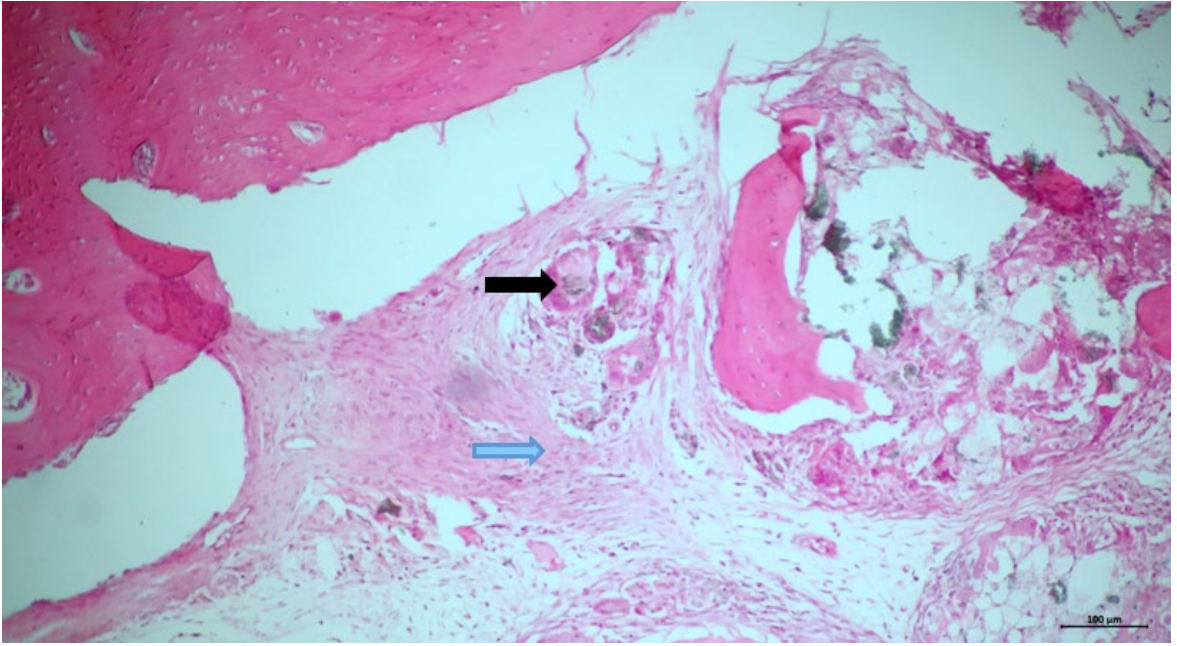


Resim 19. Yeni kemik oluşumuna ait parçacıkların etrafında bulunan osteoklast hücreleri (beyaz ok)

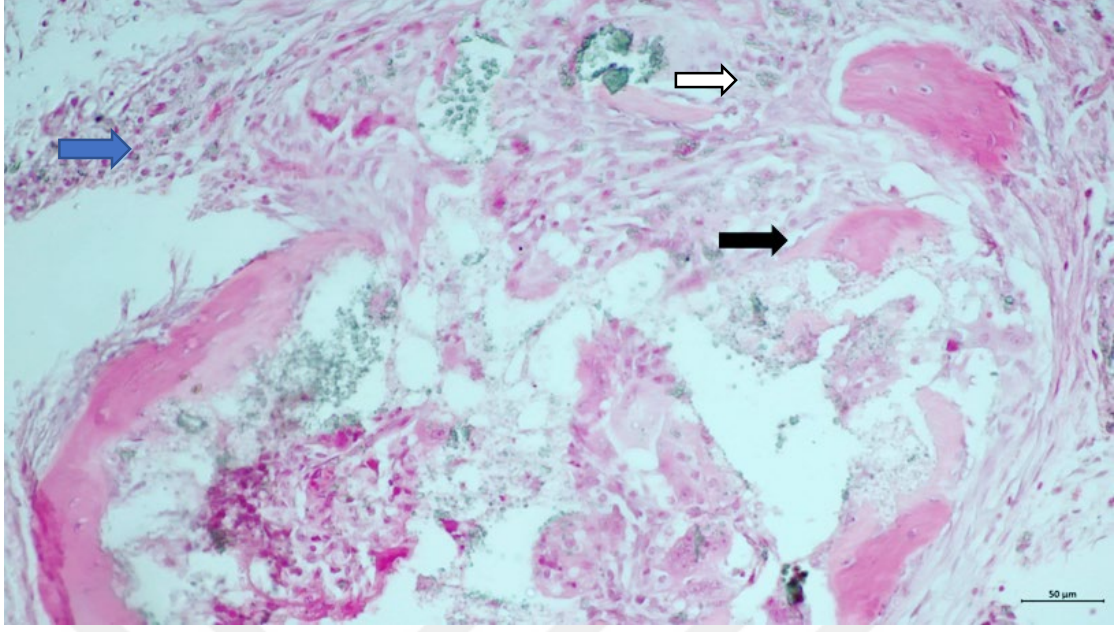
4.2.2. Sekizinci Hafta Histopatolojik Değerlendirme Bulguları

4.2.2.1. Grup 1 (e-TZF + β -TCP) HE Görüntüleme

Bu gruba ait kesitlerde osteoklast hücrelerindeki azalma ve kemik trabeküllerinin dış yüzünde yer alan osteoblastlarda önemli bir artış saptanmasıyla beraber yeni kemik gelişiminde önemli bir artış olduğu dikkat çekti (Resim 20). Özellikle inflamatuvar hücrelerde belirgin bir azalma olduğu görüldü. Laküner yapıların ve osteositlerin de arttığı tespit edildi (Resim 21).



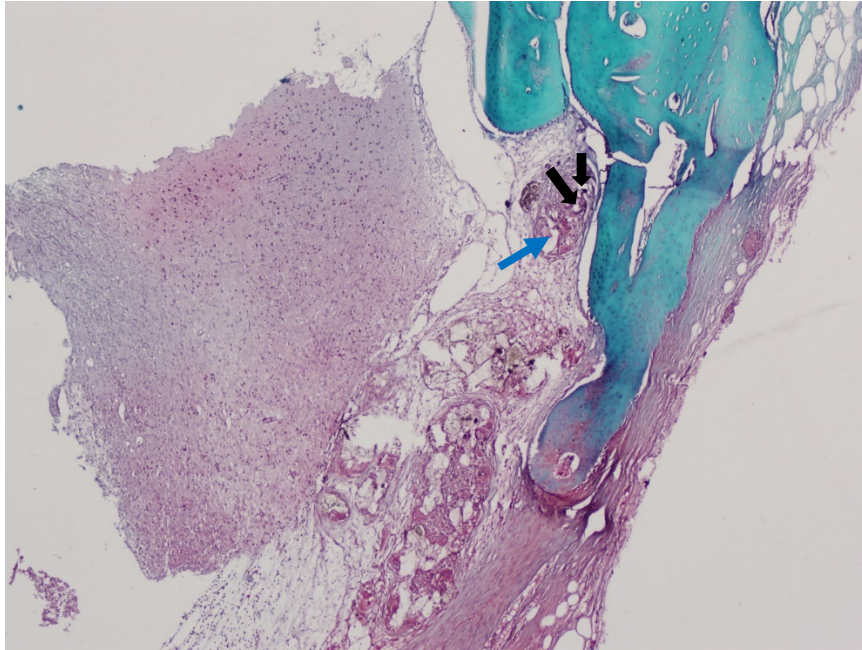
Resim 20. Bağ dokusu alanları içerisindeki bazı alanlarda yeni kemik oluşumu (siyah ok) ve bağ doku alanı (mavi ok)



Resim 21. Bağ dokusu alanları içerisindeki bazı alanlarda yeni kemik oluşumu (siyah ok), laküna formasyonu içerisindeki osteositler (beyaz ok) ve bağ doku alanı (mavi ok)

4.2.2.2. Grup 1 SOFG Görüntüleme

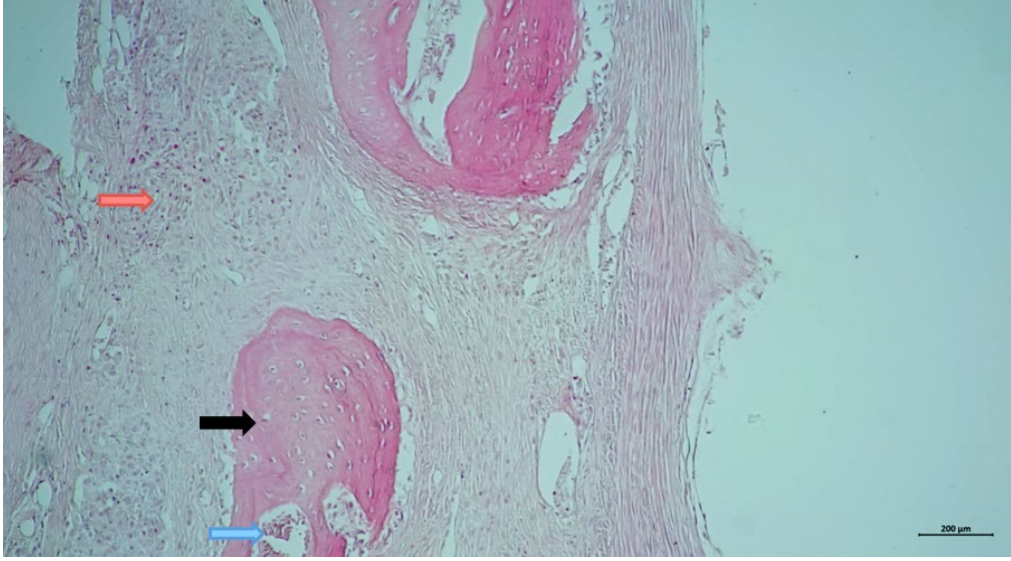
Genişleyen kemik trabeküllerinde, osteoblastlar ve osteositler net bir şekilde izlenirken; osteoklast sayısındaki belirgin azalma dikkat çekti (Resim 22).



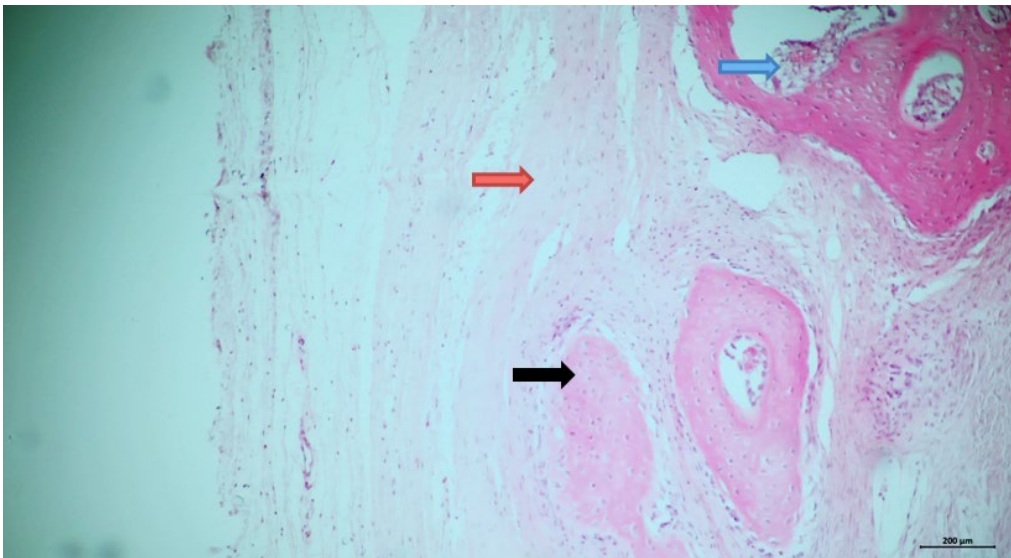
Resim 22. Kemik trabeküllerinde bulunan osteoblastlar (siyah oklar) ve osteositler (mavi ok)

4.2.2.3. Grup 2 (g-TZF) HE Görüntüleme

Bu gruba ait kesitler incelendiğinde, bağ doku yapısı re-organizasyonunun belirgin şekilde arttığı tespit edildi. Bağ dokusu alanlarındaki yeni kemik trabeküllerinde ve osteosit hücrelerinde de önemli bir artış olduğu görüldü (Resim 23). Bazı alanlarda kemik iliğinin belirgin olduğu dikkat çekerek; iliğin etrafında bulunan kemik dokusunun matür komponentinin arttığı saptandı (Resim 24).



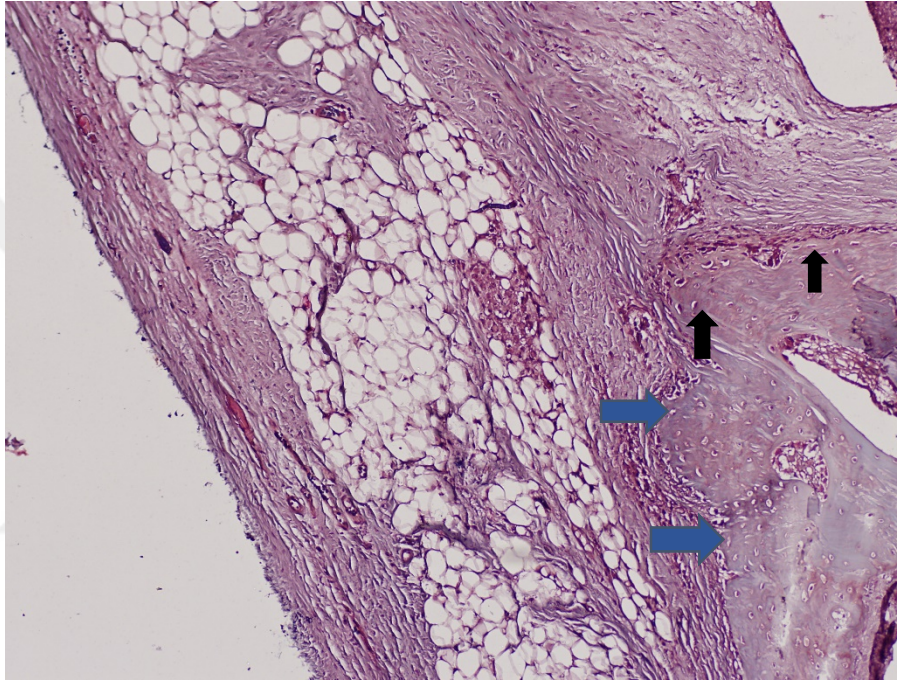
Resim 23. Kemik iliği (mavi ok), yeni kemik trabekülleri, lakünalar (siyah ok) ve organize yapıda bağ doku yapısı (kırmızı ok)



Resim 24. Kemik iliği (mavi ok), lakünalar (siyah ok) ve bağ doku yapısı (kırmızı ok)

4.2.2.4. Grup 2 (g-TZF) SOFG Görüntüleme

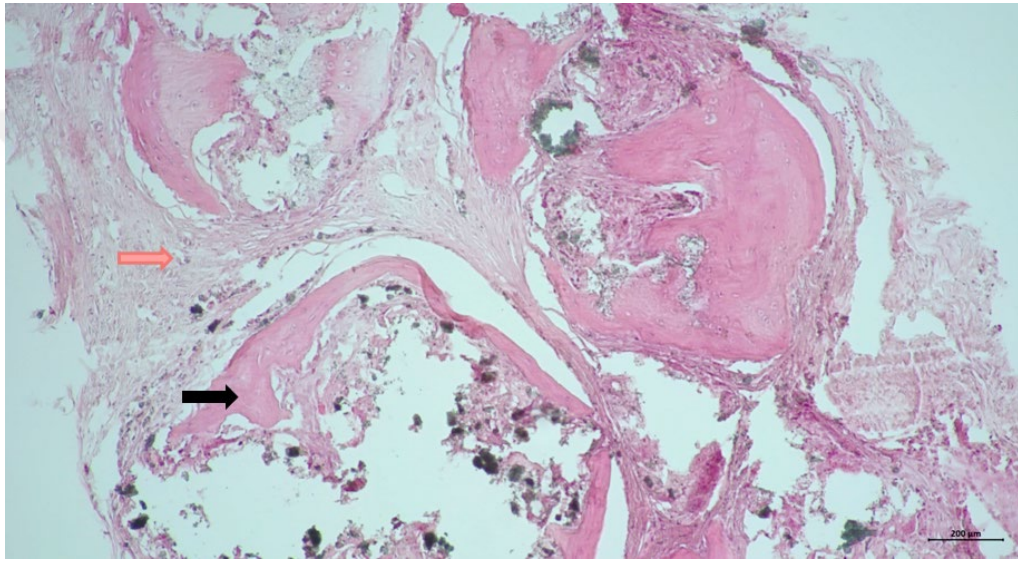
Osteoklast sayısında azalma, genişleyen kemik trabeküllerinin dış yüzünde bulunan osteoblastlarda sayıca artış tespit edildi. Kemik lakünalarının belirgin şekil aldığı, içlerinde yer yer osteositlerin görülmeye başlandığı saptandı (Resim 25). Kollajen lif re-organizasyonunun tamamlandığı ve kollajen liflerin periferden merkeze doğru yöneldiği gözlemlendi.



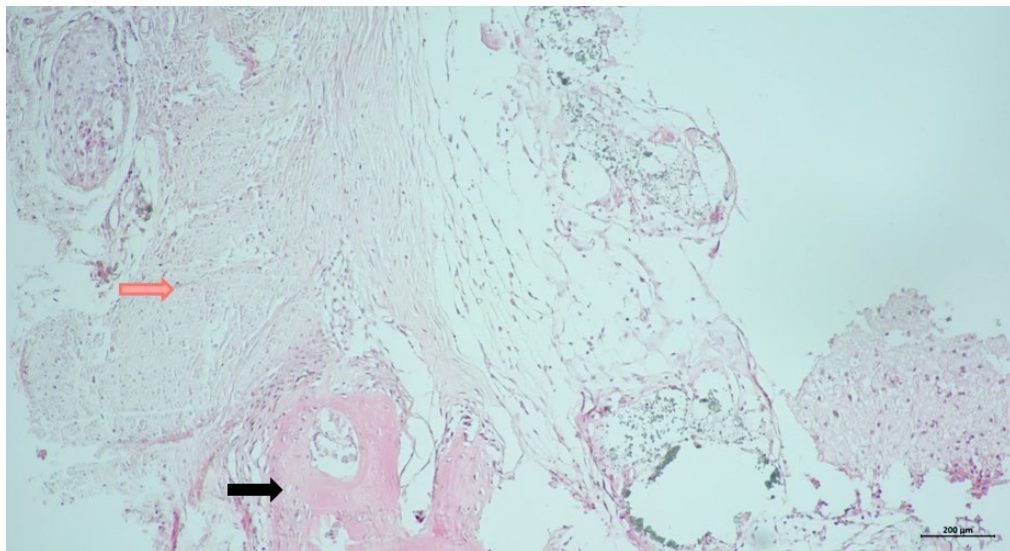
Resim 25. Belirginleşen lakünalar içinde yerleşim gösteren osteositler (siyah ok), genişleyen trabeküller etrafında bulunan osteoblastlar (mavi ok)

4.2.2.5 Grup 3 (β -TCP) HE Görüntüleme

Bu gruba ait kesitlerin histolojik olarak incelemesinde greft materyalinin bir kısmının rezorpsiyona uğradığı ve inflamatuvar hücre sayısında azalma olduğu tespit edildi. Bağ dokusu liflerinde ve kemik trabeküllerinde belirgin bir artış görüldü (Resim 26). Kemik lakünalarının belirginleştiği, osteoklast hücrelerinin azaldığı, osteoblast ve osteosit hücrelerinin arttığı gözlemlendi. Bağ dokusu yapısında bulunan kollajen liflerin organize yapıda olduğu saptandı (Resim 27).



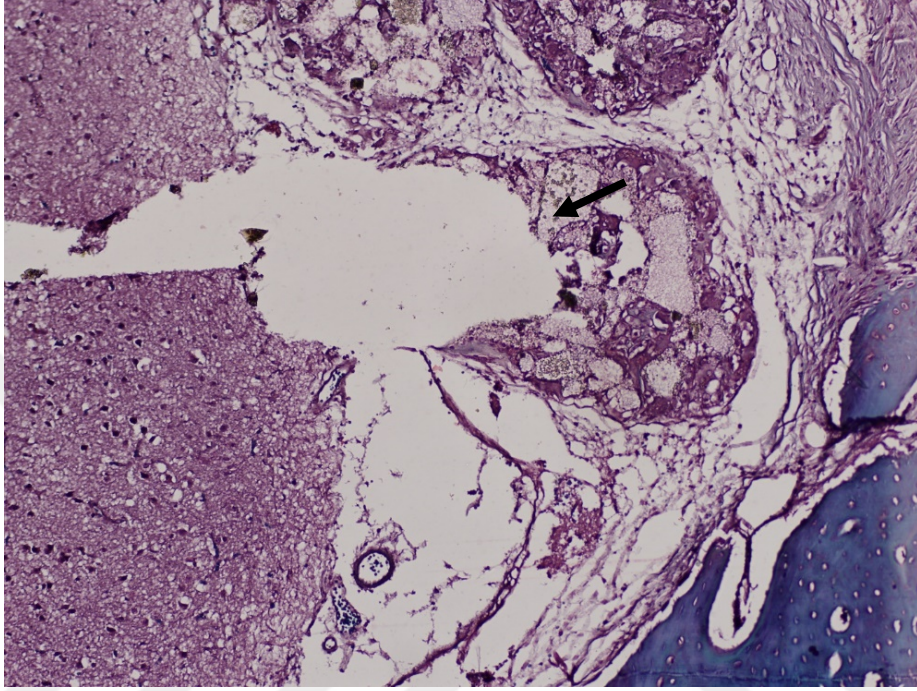
Resim 26. Yeni kemikleşme bölgeleri (siyah ok) ve bağ dokusu formasyonu (kırmızı ok)



Resim 27. Yeni kemik trabekülleri oluşumu, laküna yapıları (siyah ok) ve organize yapıda bağ dokusu (kırmızı ok)

4.2.2.6. Grup 3 SOFG Görüntüleme

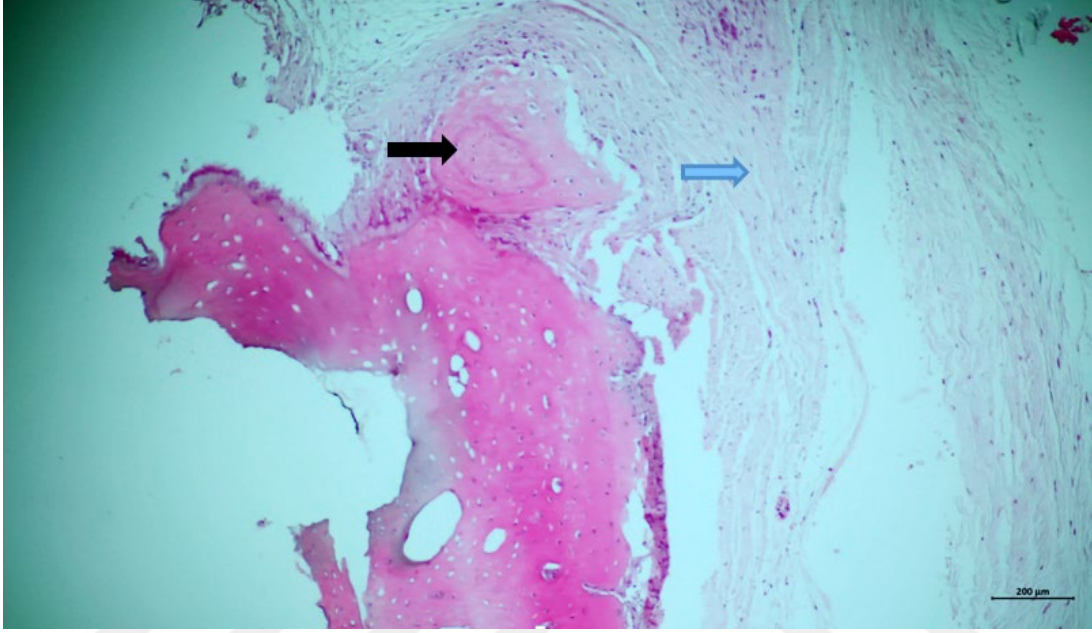
Greft alanının periferinde osteoklast hücreleri; kemik trabeküllerinin dış yüzünde ise, osteoblastlar tespit edildi (Resim 28). Ayrıca kollajen lif yapımı belirgin olarak gözlemlendi.



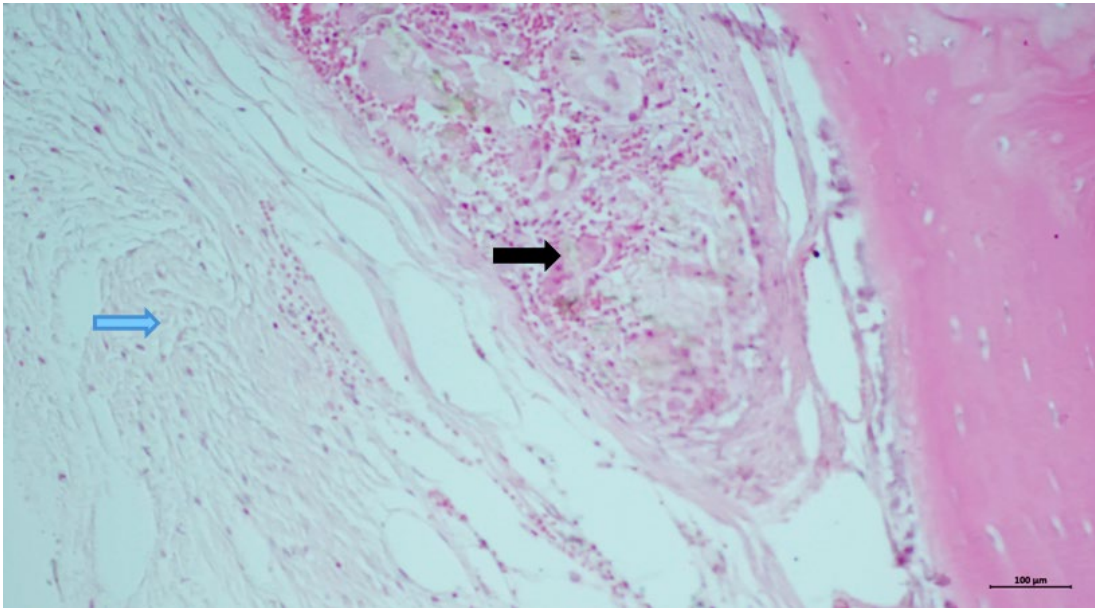
Resim 28. Greft alanının periferinde bulunan osteoblast hücrelerinin görünümü (siyah ok)

4.2.2.7. Grup 4 (tedavi uygulanmayan) HE Görüntüleme

Bu gruba ait kesitlerde Resim 29'da ve Resim 30'da gösterildiği üzere bağ dokusunda re-organizasyonun başladığı ve bağ dokusu alanlarının içinde yer yer kemik trabeküllerinin olduğu görüldü. Osteoklast hücrelerinin sayısında azalma olduğu izlendi.



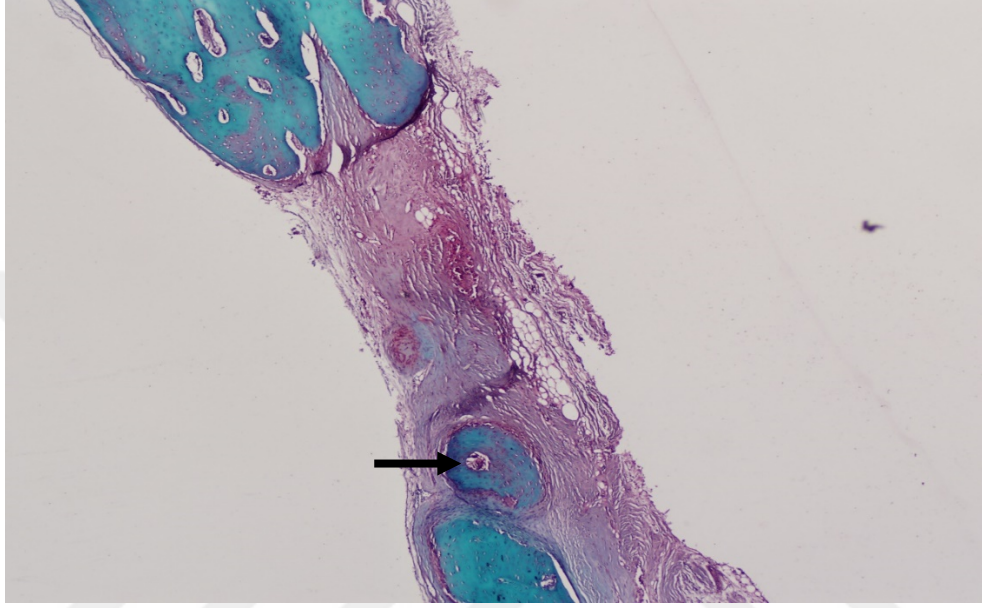
Resim 29. Yeni kemik trabekülleri (siyah ok) ve yapısal olarak re-organize yapıda izlenen bağ dokusu (mavi ok)



Resim 30. Bağ dokusu alanları içerisindeki bazı alanlarda yeni kemik oluşumu (siyah ok) ve yapısal olarak re-organize yapıda izlenen bağ dokusu (mavi ok)

4.2.2.8. Grup 4 SOFG Görüntüleme

Genişlemiş, küçük ve az sayıdaki kemik trabeküllerinde osteoblastların ve osteositlerin belirginleşmeye başladığı (Resim 31), kollajen re-organizasyonunun düzenli hale geldiği ve osteoklastların sayıca azalmaya başladığı görüldü.



Resim 31. Yeni oluşan kemik dokusunda Havers Kanalı ve kan damarı etrafındaki osteosit gelişimi (siyah ok)

4.3. Histomorfometrik Değerlendirme Bulguları

Dördüncü haftayı “H₄”, sekizinci haftayı ise “H₈” temsil etmektedir. Grup 1 “G₁; (e-TZF + β -TCP)”, Grup 2 “G₂; (g-TZF)”, Grup 3 “G₃ (β -TCP)”, Grup 4 ise “G₄ (tedavi uygulanmayan)” olarak belirtildi.

4.3.1. İnflamasyon Derecelerinin Gruplar Arası ve Grup İçi Değerlendirilmesi

Yapılan histopatolojik incelemelerin sonucunda gruplar arası ve grup içi inflamasyonu değerlendirebilmek amacıyla histomorfometrik skora uygulanı.

4.3.1.1. Dördüncü Hafta Gruplar Arası İnflamasyon Derecelerinin Değerlendirilmesi

İnflamasyon derecesinin ortalama değerleri, G₁-H₄’te 3.17, G₂-H₄’te 3.33, G₃-H₄’te 3.33, G₄-H₄’te ise 3.67 olarak ölçüldü (Tablo 10).

Şekil 10’da gösterildiği üzere, G₁-H₄’te oluşan inflamasyon derecelendirmesinin en düşük ortalama değere sahip olduğu tespit edildi ancak; yapılan gruplar arası

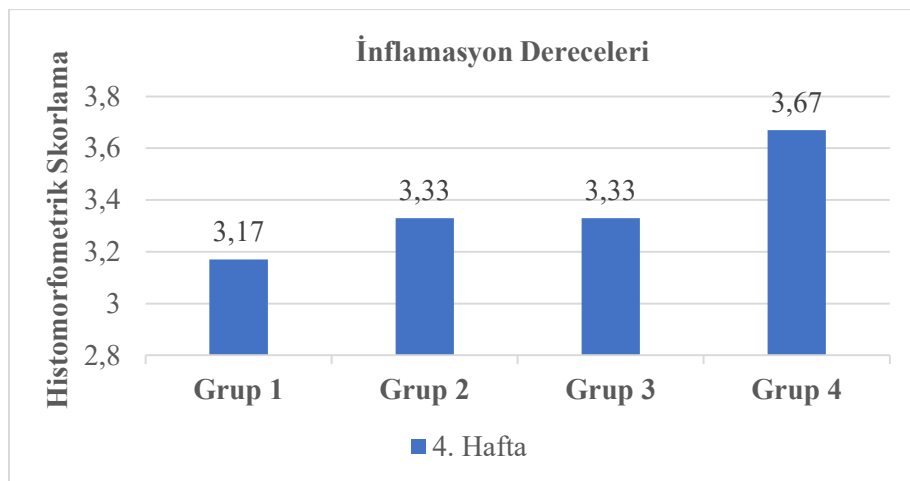
değerlendirmeye göre ortalama değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$).

Tablo 10. Dördüncü hafta inflamasyon derecelerinin gruplar arası karşılaştırılması.
&: Kruskal-Wallis testi.

	N	Min-Max	Ortalama $\pm$ Ss	Ortanca	Ki-Kare	P &
Tüm Gruplar	24	2-4	3.37 ± 0.71	3.50	1.515	0.679
G1-H₄	6	2-4	3.17 ± 0.75	3.00		
G2- H₄	6	2-4	3.33 ± 0.81	3.50		
G3- H₄	6	2-4	3.33 ± 0.81	3.50		
G4- H₄	6	3-4	3.67 ± 0.51	4.00		

Grup 1 “G1; (e-TZF + β -TCP)”, Grup 2 “G2; (g-TZF)”, Grup 3 “G3; (β -TCP)”, Grup 4 ise “G4 (tedavi uygulanmayan)” olarak belirtildi.

Deneklerin, dördüncü hafta inflamasyon derecelerinin gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p > 0.05$).



Şekil 10. Dördüncü hafta inflamasyon derecelerinin gruplar arası karşılaştırılması

Deneklerin, dördüncü hafta inflamasyon derecelerinin gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p > 0.05$).

4.3.1.2. Sekizinci Hafta Gruplar Arası İnflamasyon Derecelerinin Değerlendirilmesi

Sekizinci haftadaki ortalama değerler ise Grup 1’de 1.67, Grup 2’de 1.83, Grup 3’te 2.67, Grup 4’te 1.50 olarak ölçüldü (Tablo 11).

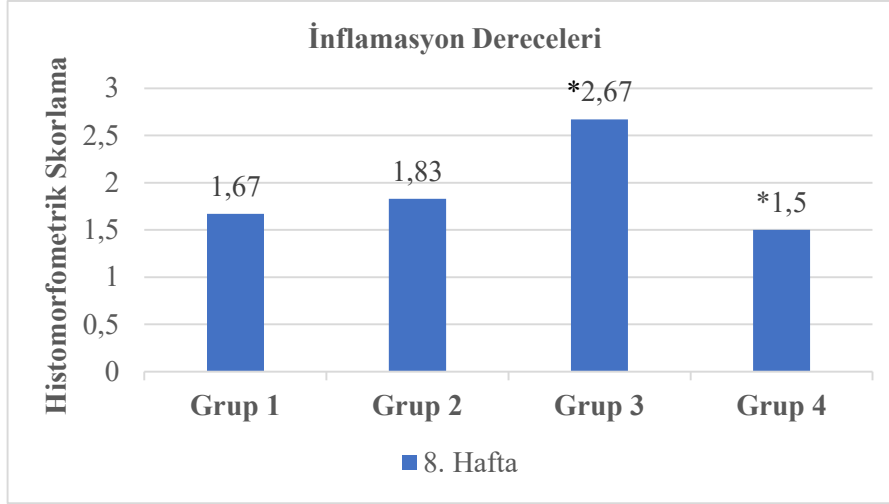
Şekil 11’de gösterildiği üzere sekizinci haftada yapılan analize göre inflamasyon parametresinin ortalama değeri en düşük Grup 4’te; en yüksek değerin ise Grup 3’te olduğu ve gruplar arasındaki ortalama değer farkının anlamlı olduğu saptandı ($p < 0.05$).

Tablo 11. Sekizinci hafta inflamasyon derecelerinin gruplar arası karşılaştırılması. * Aynı sütunda bulunan küçük simgeli üst karakterler arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı derecede farklılık olduğunu göstermektedir. &: Kruskal-Wallis testi.

	N	Min-Max	Ortalama $\pm$ Ss	Ortanca	Ki-Kare	P &
Tüm Gruplar	24	0-3	1.91 $\pm$ 0.82	2.00	8.410	0.038
G1-H₈	6	0-3	1.67 $\pm$ 1.03	2.00		
G2-H₈	6	1-2	1.83 $\pm$ 0.40	2.00		
G3-H₈	6	2-3	2.67 $\pm$ 0.51^a	3.00		
G4-H₈	6	0-2	1.50 $\pm$ 0.83^a	2.00		

Grup 1 “G1; (e-TZF + β -TCP)”, Grup 2 “G2; (g-TZF)”, Grup 3 “G3; (β -TCP)”, Grup 4 ise “G4 (tedavi uygulanmayan)” olarak belirtildi.

Deneklerin, sekizinci hafta inflamasyon derecelerinin gruplar arası karşılaştırılmasında G3 ve G4 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ($p < 0.05$).



Şekil 11. Sekizinci hafta inflamasyon derecelerinin gruplar arası karşılaştırılması

Deneklerin, sekizinci hafta inflamasyon derecelerinin gruplar arası karşılaştırılmasında G3 ve G4 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ($p < 0.05$).

4.3.1.3. Dördüncü Hafta ile Sekizinci Hafta İnflamasyon Derecelerinin Grup İçi Değerlendirilmesi

Dördüncü haftanın sonunda kurban edilen deneklerin yapılan histomorfometrik analizinde, G1-H₄'ün inflamasyon ortalama değeri 3.17 iken, G1-H₈'de 1.67 olarak saptandı ve çalışma grupları arasında en yüksek orandaki azalmayı gösteren grup olma özelliğini gösterdi (Tablo 12). Ancak, ortalama değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p > 0.05$).

G2-H₄ (3.33) ile G2-H₈ (1.83) gruplarının iyileşme dönemleri arasındaki inflamasyon derecelendirmesinin ortalama değeri belirgin oranda azalma gösterdi (Şekil 12) ve ortalama değerler arasındaki bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p < 0.05$).

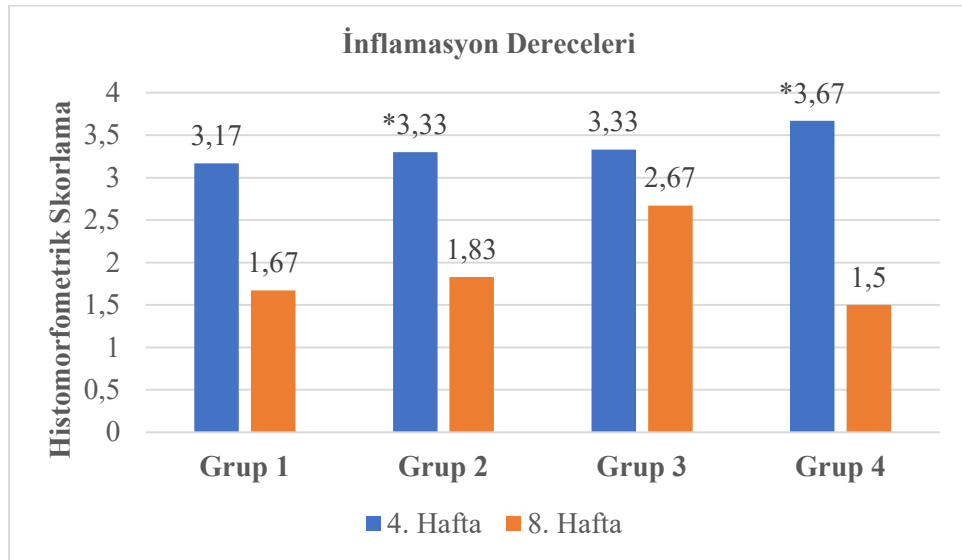
G3-H₄ (3.33) ile G3-H₈ (2.67)'in ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık yoktur ($p > 0.05$).

G4-H₄'ün ortalama değeri 3.67 iken; tüm gruplar içinde iki dönem arasında en fazla miktardaki azalmayı göstererek G4-H₈'de 1.50 olarak tespit edildi. İki dönem arasında tespit edilen skor farkının istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p < 0.05$).

Tablo 12. Dördüncü hafta ile sekizinci hafta inflamasyon derecelerinin grup içi karşılaştırılması. * Aynı sütunda bulunan küçük simgeli üst karakterler arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı derecede farklılık olduğunu göstermektedir. Z: Wilcoxon testi.

Tüm Gruplar	N	Min-Max	Ortalama $\pm$ Ss	Ortanca	P / Z
	48	0-4	2.64 ± 1.06	3.00	
G1-H ₄	6	2-4	3.17 ± 0.75	3.00	0.071/ -1.807
G1-H ₈	6	0-3	1.67 ± 1.03	2.00	
G2-H ₄	6	2-4	3.33 ± 0.81^a	3.50	0.041/ -2.041
G2-H ₈	6	1-2	1.83 ± 0.40^a	2.00	
G3-H ₄	6	2-4	3.33 ± 0.81	3.50	0.157/ -1.414
G3-H ₈	6	2-3	2.67 ± 0.51	3.00	
G4-H ₄	6	3-4	3.67 ± 0.51^b	4.00	0.027/ -2.214
G4-H ₈	6	0-2	1.50 ± 0.83^b	2.00	

Deneklerin inflamasyon derecelerinin grup içi karşılaştırılmasında G2 ve G4 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık olduğu saptandı ($p < 0.05$).



Şekil 12. İnflamasyon derecelerinin grup içi karşılaştırılması

Deneklerin inflamasyon derecelerinin grup içi karşılaştırılmasında G2 ve G4 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık vardır ($p < 0.05$).

4.3.2. Osteoklastik Aktivasyon Düzeylerinin Gruplar Arası ve Grup İçi Değerlendirilmesi

Yapılan histopatolojik incelemelerin sonucunda gruplar arası ve grup içi osteoklastik aktivasyonunu değerlendirebilmek amacıyla histomorfometrik skorlama uygulandı.

4.3.2.1. Dördüncü Hafta Gruplar Arası Osteoklastik Aktivasyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Dört haftalık dönemde osteoklastik hücre aktivasyonu ortalama değerleri G1-H₄'te 3.33, G2-H₄'te 3.33 olarak görülürken, G3-H₄'te 3.67, G4-H₄'te ise 3.67 olarak ölçüldü (Tablo 13).

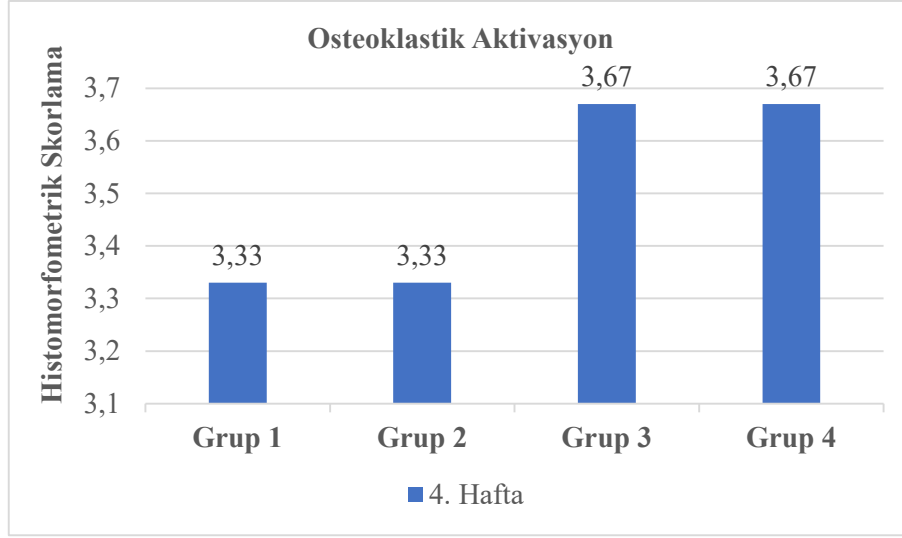
Şekil 13'te belirtildiği üzere, dördüncü haftada yapılan histomorfometrik incelemeye göre osteoklastik aktivasyonun ortalama değeri Grup 1 ve Grup 2'de diğer gruplara kıyasla daha düşük saptandı. Ancak, gruplar arası yapılan istatistiksel analize göre ortalama değerler arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$).

Tablo 13. Dördüncü hafta osteoklastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması. &: Kruskal-Wallis testi.

Tüm Gruplar	N	Min-Max	Ortalama $\pm$ Ss	Ortanca	Ki-Kare	P &
	24	2-4	3.50 $\pm$ 0.65	4.00	1.115	0.773
G1-H ₄	6	2-4	3.33 $\pm$ 0.81	3.50		
G2-H ₄	6	2-4	3.33 $\pm$ 0.81	3.50		
G3-H ₄	6	3-4	3.67 $\pm$ 0.51	4.00		
G4-H ₄	6	3-4	3.67 $\pm$ 0.51	4.00		

Grup 1 “G1; (e-TZF + β -TCP)”, Grup 2 “G2; (g-TZF)”, Grup 3; “G3 (β -TCP)”, Grup 4 ise “G4 (tedavi uygulanmayan)” olarak belirtildi.

Deneklerin, dördüncü hafta osteoklastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p > 0.05$).



Şekil 13. Dördüncü hafta osteoklastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması

Deneklerin, dördüncü hafta osteoklastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p > 0.05$).

4.3.2.2. Sekizinci Hafta Gruplar Arası Osteoklastik Aktivasyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Sekizinci haftanın sonunda sakrifiye edilen deneklerin yapılan histomorfometrik incelemesinde osteoklastik aktivasyonun ortalama değerleri Grup 1’de 1.00, Grup 2’de 1.33, Grup 3’te 1.67, Grup 4’te ise 1.33 olarak ölçüldü (Tablo 14).

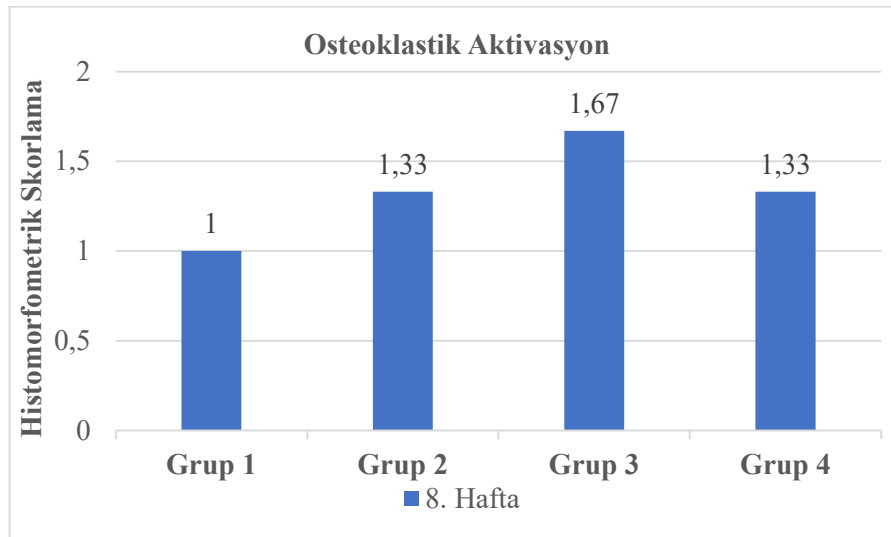
Şekil 14’te görüldüğü üzere, osteoklastik aktivasyonun ortalama değeri en düşük G1-H₈’de ve en yüksek G3-H₈’de saptanmasına rağmen, yapılan gruplar arası istatistiksel analize göre ortalama değerler arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$).

Tablo 14. Sekizinci hafta osteoklastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması. &: Kruskal-Wallis testi.

Tüm Gruplar	N	Min-Max	Ortalama $\pm$ Ss	Ortanca	Ki-Kare	P &
	24	0-3	1.33 $\pm$ 0.81	1.00	1.609	0.657
G1-H ₈	6	0-2	1.00 $\pm$ 0.63	1.00		
G2-H ₈	6	1-2	1.33 $\pm$ 0.51	1.00		
G3-H ₈	6	0-3	1.67 $\pm$ 1.21	1.50		
G4-H ₈	6	0-2	1.33 $\pm$ 0.81	1.50		

Grup 1 “G1; (e-TZF + β -TCP)”, Grup 2 “G2; (g-TZF)”, Grup 3; “G3; (β -TCP)”, Grup 4 ise “G4 (tedavi uygulanmayan)” olarak belirtildi.

Deneklerin, sekizinci hafta osteoklastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p > 0.05$).



Şekil 14. Sekizinci hafta osteoklastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması

Deneklerin, sekizinci hafta osteoklastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p > 0.05$).

4.3.2.3. Dördüncü Hafta ile Sekizinci Hafta Osteoklastik Aktivasyon Düzeylerinin Grup İçi Değerlendirilmesi

Sakrifiye edilen deneklerin osteoklastik aktivasyonlarını incelemek amacıyla yapılan histomorfometrik değerlendirmede, Grup 1'in dördüncü haftadaki ortalama değeri 3.33 iken; bu değer G1-H₈'de 1.00 olarak saptandı (Tablo 15). Ortalama değerler arasındaki bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p < 0.05$).

Osteoklastik aktivite derecesi G2-H₄'te 3.33 olarak ölçülürken, G2-H₈'de bu değer 1.33 olarak ölçüldü. Ortalama değerler arasındaki bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p < 0.05$).

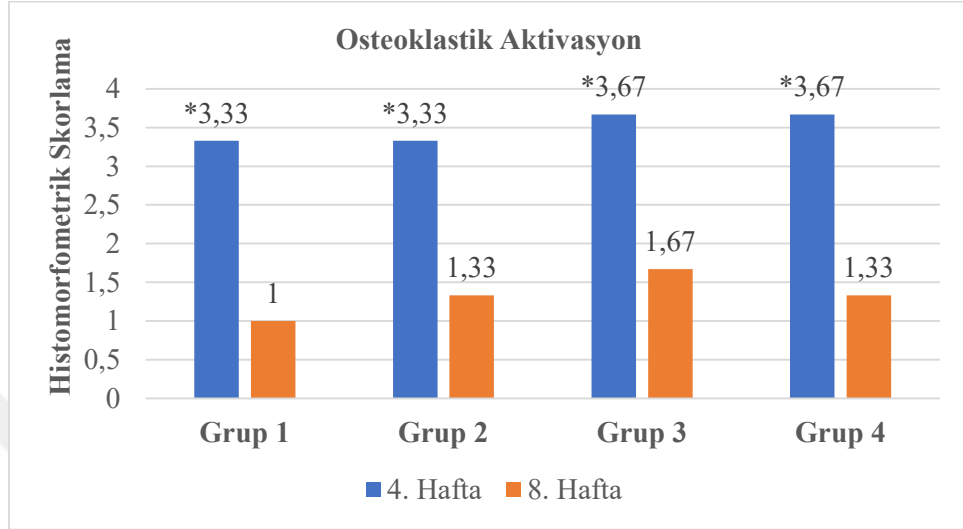
G3-H₄ (3.67) ile G3-H₈ (1.67) aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p < 0.05$).

G4-H₄'ün ortalama değeri 3.67 iken sekizinci haftadaki ortalama değeri ise 1.33 olarak tespit edildi. Ortalama değerler arasındaki en belirgin fark G4-H₄ ile G4-H₈ arasında görüldü (Şekil 15) ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p < 0.05$).

Tablo 15. Dördüncü hafta ile sekizinci hafta osteoklastik aktivasyon ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılması. * Aynı sütunda bulunan küçük simgeli üst karakterler arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı derecede farklılık olduğunu göstermektedir. Z: Wilcoxon testi.

Tüm Gruplar	N	Min-Max	Ortalama $\pm$ Ss	Ortanca	P / Z
	48	0-4	2.41 $\pm$ 1.3	2.50	
G1-H ₄	6	2-4	3.33 $\pm$ 0.81 ^a	3.50	0.027/ -2.214
G1-H ₈	6	0-2	1.00 $\pm$ 0.63 ^a	1.00	
G2- H ₄	6	2-4	3.33 $\pm$ 0.81 ^b	3.50	0.039/ -2.060
G2- H ₈	6	1-2	1.33 $\pm$ 0.51 ^b	1.00	
G3- H ₄	6	3-4	3.67 $\pm$ 0.51 ^c	4.00	0.024/ -2.251
G3-H ₈	6	0-3	1.67 $\pm$ 1.21 ^c	1.50	
G4-H ₄	6	3-4	3.67 $\pm$ 0.51 ^d	4.00	0.026/ -2.226
G4-H ₈	6	0-2	1.33 $\pm$ 0.81 ^d	1.50	

Deneklerin osteoklastik aktivasyonlarının ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılmasında tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı derecede fark vardır ($p < 0.05$).



Şekil 15. Osteoklastik aktivasyon ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılması

Deneklerin osteoklastik aktivasyonlarının ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılmasında tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı derecede fark vardır ($p < 0.05$).

4.3.3. Osteoblastik Aktivasyon Düzeylerinin Gruplar Arası ve Grup İçi Değerlendirilmesi

Yapılan histopatolojik incelemelerin sonucunda gruplar arası ve grup içi osteoblastik hücre aktivasyonunu değerlendirebilmek amacıyla histomorfometrik skoring uygulandı.

4.3.3.1. Dördüncü Hafta Gruplar Arası Osteoblastik Aktivasyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Dört haftalık dönemdeki osteoblastik aktivasyon ortalamaları Grup 1’de 2.83, Grup 2’de 1.67, Grup 3’te 1.67, Grup 4’te 1.33 şeklindedir (Tablo 16).

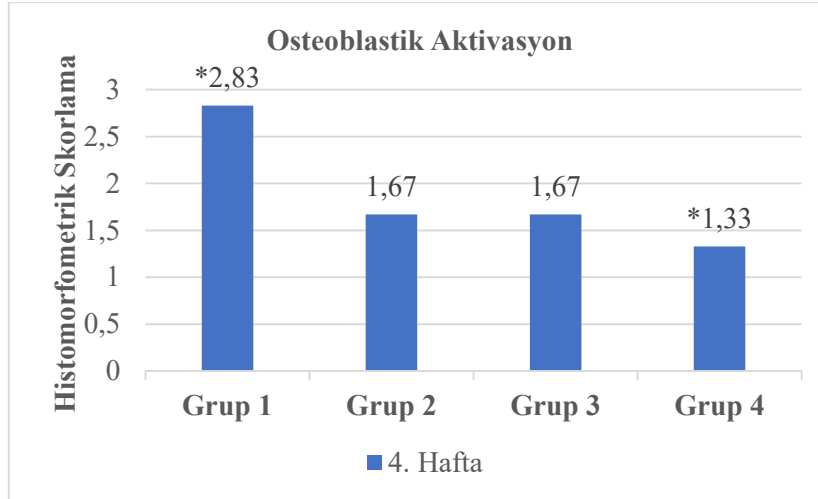
Osteoblastik aktivasyonun ortalama değeri G1-H4 grubunda en yüksek, G4-H4 grubunda ise en düşük olduğu tespit edildi (Şekil 16). Gruplar arası yapılan istatistiksel değerlendirmeye göre ortalama değerlerin arasında anlamlı derecede farklılık olduğu tespit edildi ($p < 0.01$).

Tablo 16. Dördüncü hafta osteoblastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması. * Aynı sütunda bulunan küçük simgeli üst karakterler arasında $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı derecede farklılık olduğunu göstermektedir. &: Kruskal-Wallis testi

Tüm Gruplar	N	Min-Max	Ortalama $\pm$ Ss	Ortanca	Ki-Kare	P &
	24	1-3	1.87 ± 0.79	2.00	11.670	0.009
G1-H₄	6	2-3	2.83 ± 0.40^a	3.00		
G2-H₄	6	1-2	1.67 ± 0.51	2,00		
G3-H₄	6	1-3	1.67 ± 0.81	1.50		
G4-H₄	6	1-2	1.33 ± 0.51^a	1.00		

Grup 1 “G1; (e-TZF + β -TCP)”, Grup 2 “G2; (g-TZF)”, Grup 3; “G3; (β -TCP)”, Grup 4 ise “G4; (tedavi uygulanmayan)” olarak belirtildi.

Deneklerin, dördüncü hafta osteoblastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında G1 ve G4 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ($p < 0.01$).



Şekil 16. Dördüncü hafta osteoblastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması

Deneklerin, dördüncü hafta osteoblastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında G1 ve G4 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ($p < 0.01$).

4.3.3.2. Sekizinci Hafta Gruplar Arası Osteoblastik Aktivasyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Sekizinci haftadaki osteoblastik aktivasyonun ortalama değerleri, Grup 1’de 3.83, Grup 2’de 3.67, Grup 3’te 3.00 ve Grup 4’te 3.50 olarak ölçüldü (Tablo 17).

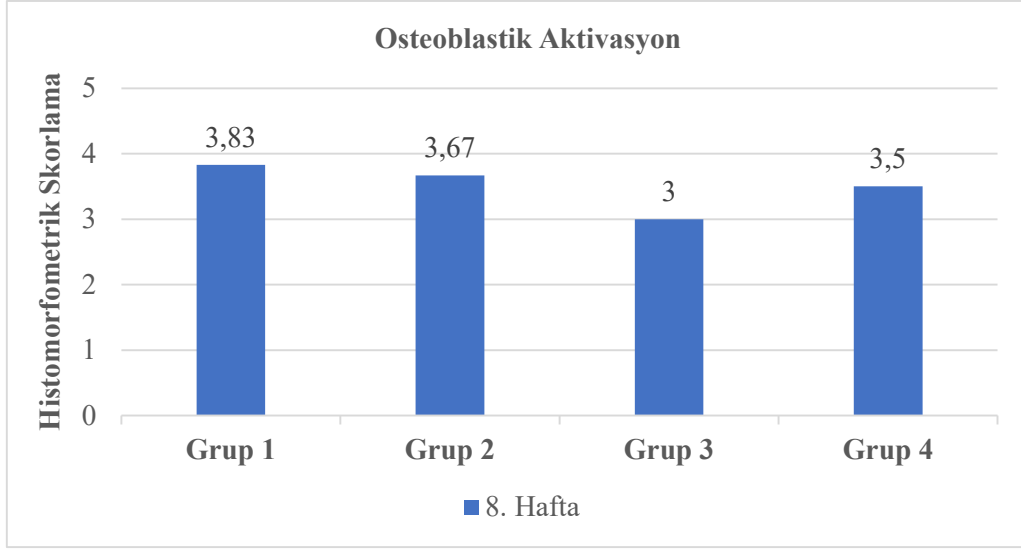
G1-H₈ grubunun histomorfometrik olarak en yüksek ortalamaya sahip olmasına karşın (Şekil 17); sekizinci haftada yapılan gruplar arası değerlendirme sonucunda ortalama değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p > 0.05$).

Tablo 17. Sekizinci hafta osteoblastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması &: Kruskal-Wallis testi

	N	Min-Max	Ortalama $\pm$ Ss	Ortanca	Ki-Kare	P &
Tüm Gruplar	24	2-4	3.50 $\pm$ 0.65	4.00	5.811	0.121
G1-H₈	6	3-4	3.83 $\pm$ 0.40	4.00		
G2-H₈	6	3-4	3.67 $\pm$ 0.51	4.00		
G3-H₈	6	2-4	3.00 $\pm$ 0.63	3.00		
G4-H₈	6	2-4	3.50 $\pm$ 0.83	4.00		

Grup 1 “G1; (e-TZF + β -TCP)”, Grup 2 “G2; (g-TZF)”, Grup 3; “G3 (β -TCP)”, Grup 4 ise “G4 (tedavi uygulanmayan)” olarak belirtildi.

Deneklerin, sekizinci hafta osteoblastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p > 0.05$).



Şekil 17. Sekizinci hafta osteoblastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması

Deneklerin, sekizinci hafta osteoblastik aktivasyon ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p > 0.05$).

4.3.3.3. Dördüncü Hafta ile Sekizinci Hafta Osteoblastik Aktivasyon Düzeylerinin Grup İçi Değerlendirilmesi

Grup 1'in dördüncü haftada ölçülen osteoblastik aktivasyon ortalama değeri 2.83 iken; sekizinci haftada bu değer 3.83 olarak ölçüldü. Ortalama değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p < 0.05$) (Tablo 18).

Grup 2'nin dördüncü haftada ölçülen osteoblastik aktivasyon skoru 1.67 olarak ölçülürken, sekizinci haftada bu skor 3.67 olarak tespit edildi. Çalışma grupları arasında iki iyileşme dönemi arasında en fazla artmanın görüldüğü bu gruptaki skor farkının istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p < 0.05$).

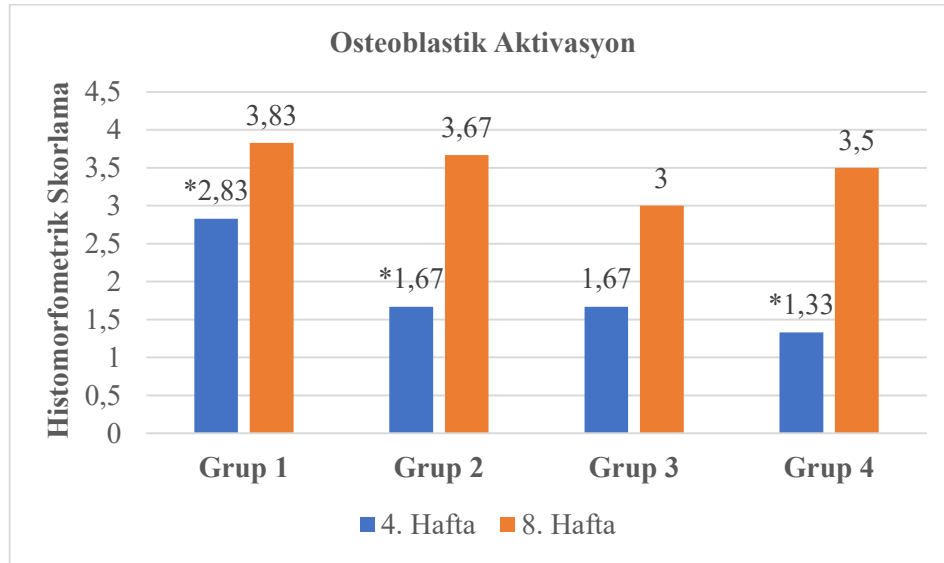
Grup 3'ün, sekizinci haftada ölçülen ortalama değeri (3.00), dördüncü haftada ölçülen ortalama değerine (1.67) göre arttı ancak (Şekil 18); ortalama değerler arasındaki bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı ($p > 0.05$).

G4-H₄'ün ortalama değeri 1.33 iken sekizinci haftadaki ortalama değeri ise 3.50 olarak tespit edildi. Ortalama değerler arasında meydana gelen farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0.05$).

Tablo 18. Dördüncü hafta ile sekizinci hafta osteoblastik aktivasyon ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılması. * Aynı sütunda bulunan küçük simgeli üst karakterler arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı derecede farklılık olduğunu göstermektedir. Z: Wilcoxon testi.

Tüm Gruplar	N	Min-Max	Ortalama $\pm$ Ss	Ortanca	P / Z
	48	1-4	2.68 ± 1.09	3.00	
G1-H ₄	6	2-3	2.83 ± 0.40^a	3.00	0.034/ -2.121
G1-H ₈	6	3-4	3.83 ± 0.40^a	4.00	
G2-H ₄	6	1-2	1.67 ± 0.51^b	2,00	0.026/ -2.220
G2-H ₈	6	3-4	3.67 ± 0.51^b	4.00	
G3-H ₄	6	1-3	1.67 ± 0.81	1.50	0.066/ -1.841
G3-H ₈	6	2-4	3.00 ± 0.63	3.00	
G4-H ₄	6	1-2	1.33 ± 0.51^c	1.00	0.026/ -2.232
G4-H ₈	6	2-4	3.50 ± 0.83^c	4.00	

Deneklerin osteoblastik aktivasyonlarının ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılmasında G1, G2 ve G4 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık vardır ($p < 0.05$).



Şekil 18. Osteoblastik aktivasyon ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılması

Deneklerin osteoblastik aktivasyonlarının ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılmasında G1, G2 ve G4 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık vardır ($p < 0.05$).

4.3.4. Osteosit Hücrelerinin Aktivasyon Düzeylerinin Gruplar Arası ve Grup İçi Değerlendirilmesi

Yapılan histopatolojik incelemelerin sonucunda gruplar arası ve grup içi osteosit hücrelerinin aktivasyonunu değerlendirebilmek amacıyla histomorfometrik skrolama uygulandı.

4.3.4.1. Dördüncü Hafta Gruplar Arası Osteosit Hücrelerinin Aktivasyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Dört haftalık iyileşme döneminde ortalama değerler; G1-H₄'te 2.67, G2-H₄'te 1.33, G3-H₄'te 1.33 ve G4-H₄'te 1.33 olarak ölçüldü (Tablo 19).

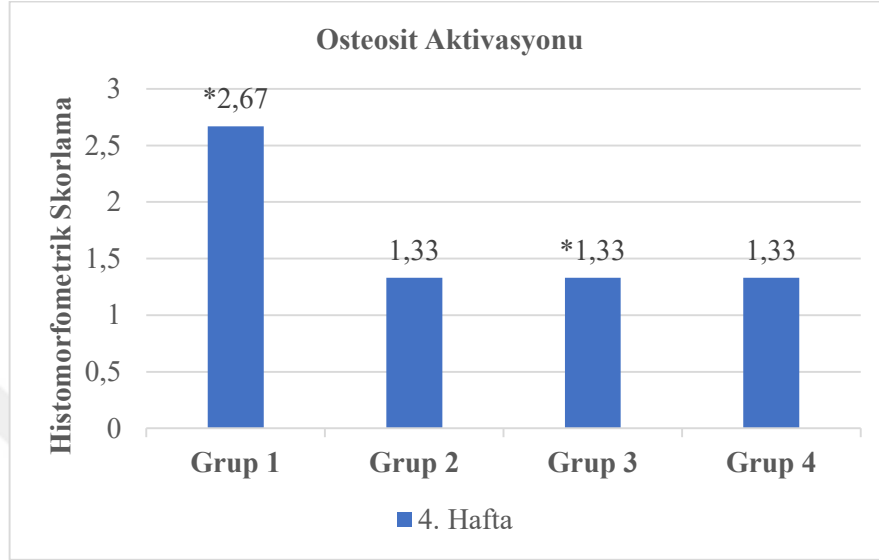
Şekil 19'da belirtildiği gibi, dördüncü haftada yapılan gruplar arası değerlendirmeye göre osteosit aktivasyonu değişkenlik göstererek, Grup 1 ile Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık olduğu saptandı ($p < 0.05$).

Tablo 19. Dördüncü hafta osteosit hücrelerinin aktivasyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması. * Aynı sütunda bulunan küçük simgeli üst karakterler arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı derecede farklılık olduğunu göstermektedir. &: Kruskal-Wallis testi.

	N	Min-Max	Ortalama $\pm$ Ss	Ortanca	Ki-Kare	P &
Tüm Gruplar	24	0-4	1.66 $\pm$ 0.91	2.00	9.095	0.028
G1- H₄	6	2-4	2.67 $\pm$ 0.81^a	2.50		
G2- H₄	6	0-2	1.33 $\pm$ 0.81	1.50		
G3- H₄	6	1-2	1.33 $\pm$ 0.51^a	1.00		
G4- H₄	6	0-2	1.33 $\pm$ 0.81	1.50		

Grup 1 "G1; (e-TZF + β -TCP)", Grup 2 "G2; (g-TZF)", Grup 3; "G3; (β -TCP)", Grup 4 ise "G4; (tedavi uygulanmayan)" olarak belirtildi.

Deneklerin, dördüncü hafta osteosit hücrelerinin aktivasyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılmasında G1 ve G3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu saptandı ($p < 0.05$).



Şekil 19. Dördüncü hafta osteosit hücrelerinin aktivasyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Deneklerin, dördüncü hafta osteosit hücrelerinin aktivasyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılmasında G1 ve G3 arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık vardır ($p < 0.05$).

4.3.4.2. Sekizinci Hafta Gruplar Arası Osteosit Hücrelerinin Aktivasyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Sekiz haftalık dönemde ortalama değerler Grup 1’de 3.67, Grup 2’de 3.50, Grup 3’te 2.83, Grup 4’te ise 3.33 olarak ölçüldü (Tablo 20).

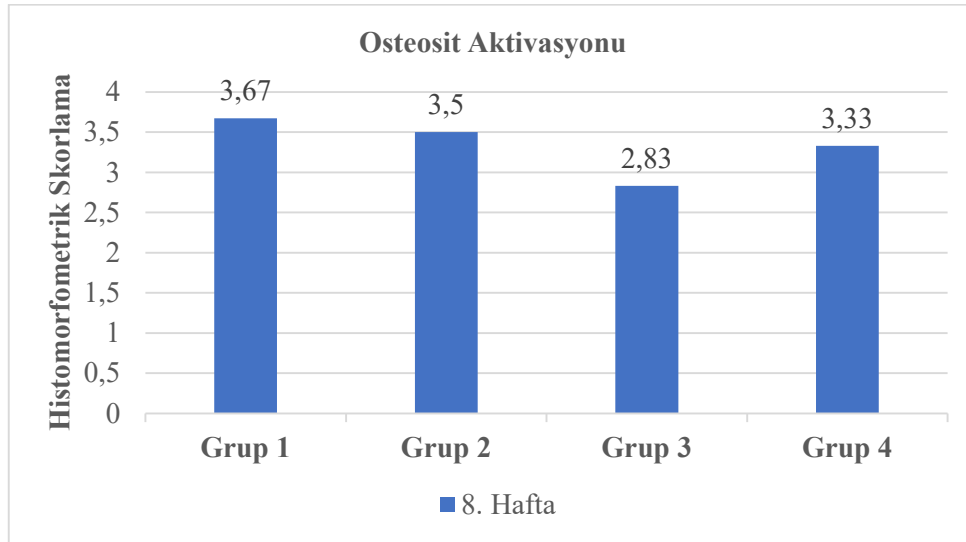
Sekizinci haftada yapılan grup içi değerlendirmeye göre osteosit aktivasyonu ortalaması en yüksek G1’de en düşük ise G3’te saptandı (Şekil 20). Gruplar arası yapılan istatistiksel değerlendirmeye göre ise ortalama değerlerin arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$).

Tablo 20. Sekizinci hafta osteosit hücrelerinin aktivasyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması. &: Kruskal-Wallis testi.

	N	Min-Max	Ortalama $\pm$ Ss	Ortanca	Ki-Kare	P &
Tüm Gruplar	24	2-4	3.33 $\pm$ 0.76	3.50	5.590	0.133
G1-H₈	6	2-4	3.67 $\pm$ 0.81	4.00		
G2- H₈	6	2-4	3.50 $\pm$ 0.83	4.00		
G3- H₈	6	2-3	2.83 $\pm$ 0.40	3.00		
G4- H₈	6	2-4	3.33 $\pm$ 0.81	3.50		

Grup 1 “G1; (e-TZF + β -TCP)”, Grup 2 “G2; (g-TZF)”, Grup 3; “G3; (β -TCP)”, Grup 4 ise “G4; (tedavi uygulanmayan)” olarak belirtildi.

Deneklerin, sekizinci hafta osteosit hücrelerinin aktivasyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p > 0.05$).



Şekil 20. Sekizinci hafta osteosit hücrelerinin aktivasyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Deneklerin, sekizinci hafta osteosit hücrelerinin aktivasyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p > 0.05$).

4.3.4.3. Dördüncü Hafta ile Sekizinci Hafta Osteosit Hücrelerinin Aktivasyon Düzeylerinin Grup İçi Değerlendirilmesi

G1-H₄'ün ortalama değeri 2.67 iken G1-H₈'in ortalama değerinin 3.67 olduğu tespit edildi. Ortalama değerler arasındaki bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı ($p > 0.05$).

İki iyileşme dönemi arasındaki en belirgin osteosit aktivitesi ortalama değer artışı gösteren Grup 2'de, dördüncü haftadaki ortalama değer 1.33 olarak ölçülürken, sekizinci haftada bu değer 3.50 olarak ölçüldü (Tablo 21). Ortalama değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık saptandı ($p < 0.05$).

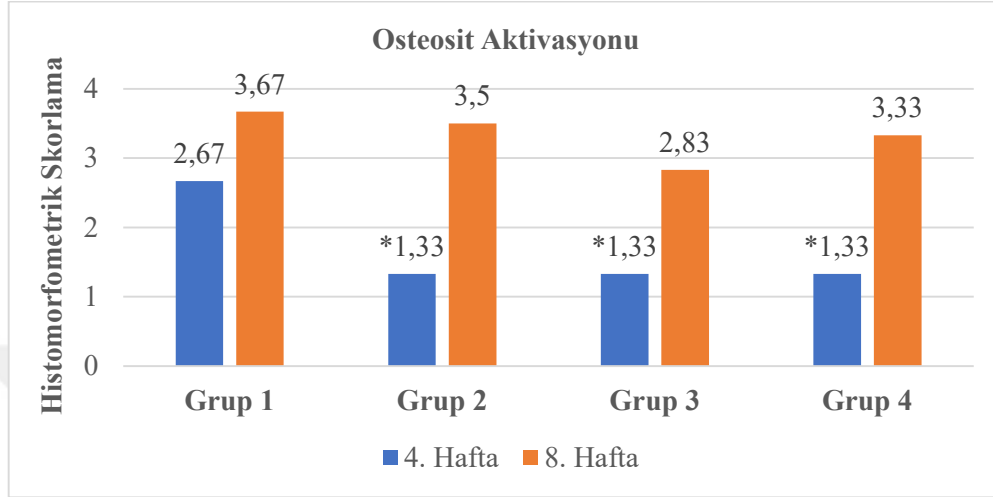
Grup 3'ün dördüncü haftada ölçülen osteosit aktivasyon ortalaması (1.33), sekizinci haftadaki ortalamasına göre (2.83) daha düşük kaydedildi. Bu grupta iyileşme dönemleri arasındaki ortalama değer farkının istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p < 0.05$).

G4-H₄'ün ortalama değeri 1.33 iken sekizinci haftadaki ortalama değeri ise artış göstererek 3.33 olarak tespit edildi. Şekil 21'de gösterildiği üzere ortalama değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık olduğu saptandı ($p < 0.05$).

Tablo 21. Dördüncü hafta ile sekizinci hafta osteosit hücrelerinin aktivasyon düzeylerinin grup içi karşılaştırılması. * Aynı sütunda bulunan küçük simgeli üst karakterler arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı derecede farklılık olduğunu göstermektedir. Z: Wilcoxon testi.

	N	Min-Max	Ortalama $\pm$ Ss	Ortanca	P / Z
Tüm Gruplar	48	0-4	2.50 $\pm$ 1.18	2.00	0.063/ -1.857
G1-H₄	6	2-4	2.67 $\pm$ 0.81	2.50	
G1-H₈	6	2-4	3.67 $\pm$ 0.81	4.00	
G2- H₄	6	0-2	1.33 $\pm$ 0.81 ^a	1.50	0.024/ -2.264
G2- H₈	6	2-4	3.50 $\pm$ 0.83 ^a	4.00	
G3- H₄	6	1-2	1.33 $\pm$ 0.51 ^b	1.00	0.024/ -2.251
G3- H₈	6	2-3	2.83 $\pm$ 0.40 ^b	3.00	
G4- H₄	6	0-2	1.33 $\pm$ 0.81 ^c	1.50	0.042/ -2.032
G4- H₈	6	2-4	3.33 $\pm$ 0.81 ^c	3.50	

Deneklerin osteosit hücrelerinin aktivasyon düzeylerinin grup içi karşılaştırılmasında G2, G3 ve G4 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık saptandı ($p < 0.05$).



Şekil 21. Osteosit hücrelerinin aktivasyon düzeylerinin grup içi karşılaştırılması

Deneklerin osteosit hücrelerinin aktivasyon düzeylerinin grup içi karşılaştırılmasında G2, G3 ve G4 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık vardır ($p < 0.05$).

4.3.5. Kollajen Lif Sentezi Düzeylerinin Gruplar Arası ve Grup İçi Değerlendirilmesi

Yapılan histopatolojik incelemelerin sonucunda gruplar arası ve grup içi kollajen lif sentezini değerlendirebilmek amacıyla histomorfometrik skorlama uygulandı (Tablo 22).

4.3.5.1. Dördüncü Hafta Gruplar Arası Kollajen Lif Sentezi Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Dört haftalık dönemdeki ortalama değerler G1-H₄'te 2.50, G2-H₄'te 1.83, G3-H₄'te 1.67, G4-H₄'te 1.17 olarak ölçüldü (Şekil 22).

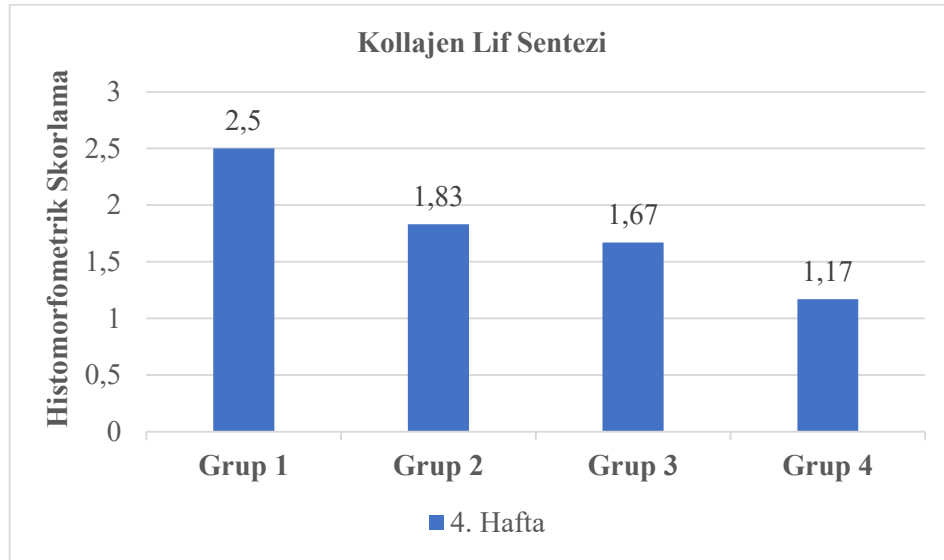
Kollajen lif yapımı ortalaması en yüksek Grup 1'de en düşük ise Grup 4'te saptandı. Dördüncü haftada yapılan gruplar arası değerlendirmeye göre ortalama değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0.05$).

Tablo 22. Dördüncü hafta kollajen lif sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması. &: Kruskal-Wallis testi.

Tüm Gruplar	N	Min-Max	Ortalama $\pm$ Ss	Ortanca	Ki-Kare	P &
	24	0-4	1.79 $\pm$ 0.83	2.00	7.357	0.061
G1-H ₄	6	2-4	2.50 $\pm$ 0.83	2.00		
G2- H ₄	6	1-2	1.83 $\pm$ 0.40	2.00		
G3- H ₄	6	1-2	1.67 $\pm$ 0.51	2.00		
G4- H ₄	6	0-2	1.17 $\pm$ 0.98	1.50		

Grup 1 “G1; (e-TZF + β -TCP)”, Grup 2 “G2; (g-TZF)”, Grup 3 “G3; (β -TCP)”, Grup 4 ise “G4; (tedavi uygulanmayan)” olarak belirtildi.

Deneklerin, dördüncü hafta kollajen lif sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p > 0.05$).



Şekil 22. Dördüncü hafta kollajen lif sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması

Deneklerin, dördüncü hafta kollajen lif sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p > 0.05$).

4.3.5.2. Sekizinci Hafta Gruplar Arası Kollajen Lif Sentezi Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Sekiz haftalık dönemdeki ortalama değerler, Grup 1’de 3.50, Grup 2’de 3.33, Grup 3’te 3.00 ve Grup 4’te ise 3.33 olarak ölçüldü (Tablo 23).

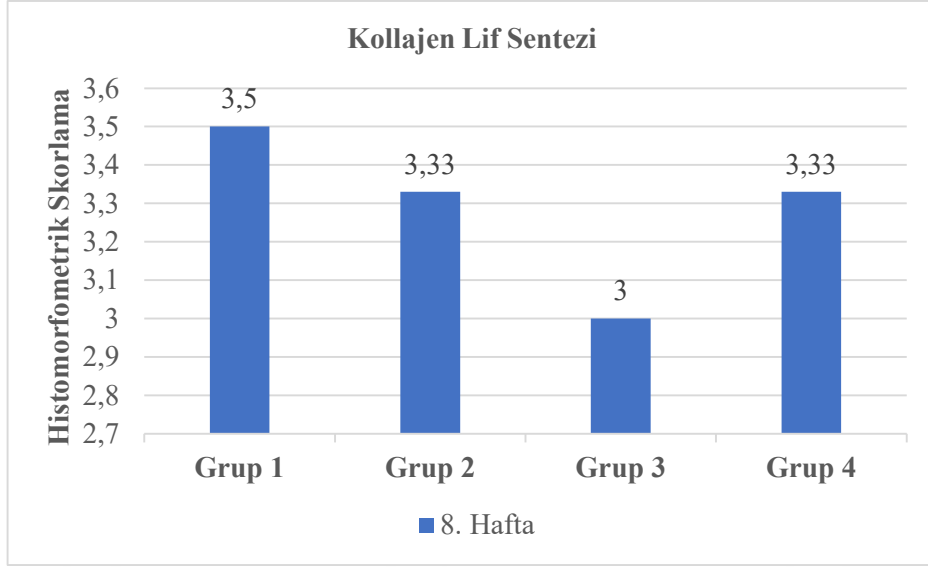
Bu dönemde en yüksek kollajen lif yapımı ortalama değeri Grup 1’de ölçüldü ancak; sekizinci haftada yapılan gruplar arası değerlendirme sonucunda ortalama değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık saptanmadı ($p > 0.05$) (Şekil 23).

Tablo 23. Sekizinci hafta kollajen lif sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması. &: Kruskal-Wallis testi.

	N	Min-Max	Ortalama $\pm$ Ss	Ortanca	Ki-Kare	P &
Tüm Gruplar	24	2-4	3.29 $\pm$ 0.69	3.00	2.064	0.559
G1-H₈	6	2-4	3.50 $\pm$ 0.83	4.00		
G2- H₈	6	3-4	3.33 $\pm$ 0.51	3.00		
G3- H₈	6	2-4	3.00 $\pm$ 0.63	3.00		
G4- H₈	6	2-4	3.33 $\pm$ 0.81	3.50		

Grup 1 “G1; (e-TZF + β -TCP)”, Grup 2 “G2; (g-TZF)”, Grup 3 “G3; (β -TCP)”, Grup 4 ise “G4; (tedavi uygulanmayan)” olarak belirtildi.

Deneklerin, sekizinci hafta kollajen lif sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p > 0.05$).



Şekil 23. Sekizinci hafta kollajen lif sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması

Deneklerin, sekizinci hafta kollajen lif sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p > 0.05$).

4.3.5.3. Dördüncü Hafta ile Sekizinci Hafta Kollajen Lif Sentezi Düzeylerinin Grup İçi Değerlendirilmesi

Grup 1'in dördüncü haftada ölçülen yeni kollajen lif yapımı ortalama değeri 2.50 iken; G1-H₈'in 3.50 olduğu saptandı (Şekil 24). Ortalama değerler arasında artış görülmesine rağmen ortalama değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık saptanmadı ($p > 0.05$).

Grup 2'nin dördüncü haftadaki kollajen lif sentezi ortalaması 1.83 iken; sekizinci haftadaki ortalaması 3.33 olarak tespit edildi. Çalışma grupları içinde iki iyileşme dönemi arasında en belirgin ortalama değer artışının görüldüğü bu grupta ortalama değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0.05$).

Grup 3'ün, dördüncü haftada ölçülen yeni kollajen lif yapımı ortalama değeri (1.67), sekizinci haftada ölçülen ortalama değerine (3.00) göre daha düşük saptandı ve ortalama değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede bir fark olduğu saptandı ($p < 0.05$).

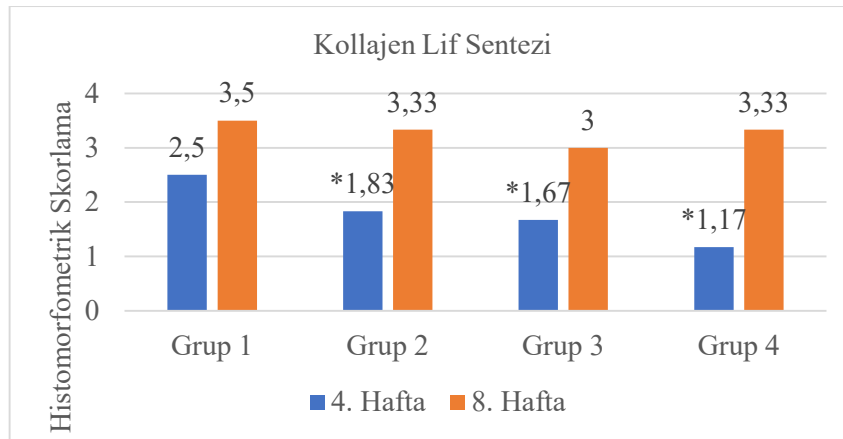
Grup 4'ün, dördüncü haftadaki ortalama değeri 1.17 iken, sekizinci haftadaki ortalama değeri ise tüm gruplar arasında en belirgin artışı göstererek 3.33 olarak tespit edildi.

Ortalama değerler arasındaki bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p < 0.05$) (Tablo 24).

Tablo 24. Dördüncü hafta ile sekizinci hafta kollajen lif sentezi ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılması. * Aynı sütunda bulunan küçük simgeli üst karakterler arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı derecede farklılık olduğunu göstermektedir. Z: Wilcoxon testi.

Tüm Gruplar	N	Min-Max	Ortalama $\pm$ Ss	Ortanca	P / Z
	48	0-4	2.54 ± 1.07	2.00	
G1-H ₄	6	2-4	2.50 ± 0.83	2.00	0.063/ -1.857
G1-H ₈	6	2-4	3.50 ± 0.83	4.00	
G2- H ₄	6	1-2	1.83 ± 0.40^a	2.00	0.024/ -2.251
G2- H ₈	6	3-4	3.33 ± 0.51^a	3.00	
G3- H ₄	6	1-2	1.67 ± 0.51^b	2.00	0.023/ -2.271
G3- H ₈	6	2-4	3.00 ± 0.63^b	3.00	
G4- H ₄	6	0-2	1.17 ± 0.98^c	1.50	0.024/ -2.264
G4- H ₈	6	2-4	3.33 ± 0.81^c	3.50	

Deneklerin kollajen lif sentezi ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılmasında G2, G3 ve G4 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık saptandı ($p < 0.05$).



Şekil 24. Kollajen lif sentezi ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılması

Deneklerin kollajen lif sentezi ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılmasında G2, G3 ve G4 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık vardır ($p < 0.05$).

4.3.6. Yeni Kemik Matriks Sentezinin Gruplar Arası ve Grup İçi Değerlendirilmesi

Yapılan histopatolojik incelemelerin sonucunda gruplar arası ve grup içi yeni kemik matriks yapımını değerlendirebilmek amacıyla histomorfometrik skorlama uygulandı.

4.3.6.1. Dördüncü Hafta Yeni Kemik Matriks Sentezinin Gruplar Arası Değerlendirilmesi

Dördüncü haftadaki ortalama değerler G1-H₄'te 2.50, G2-H₄'te 1.50, G3-H₄'te 1.50 ve G4-H₄'te 1.17 olarak ölçüldü (Tablo 25).

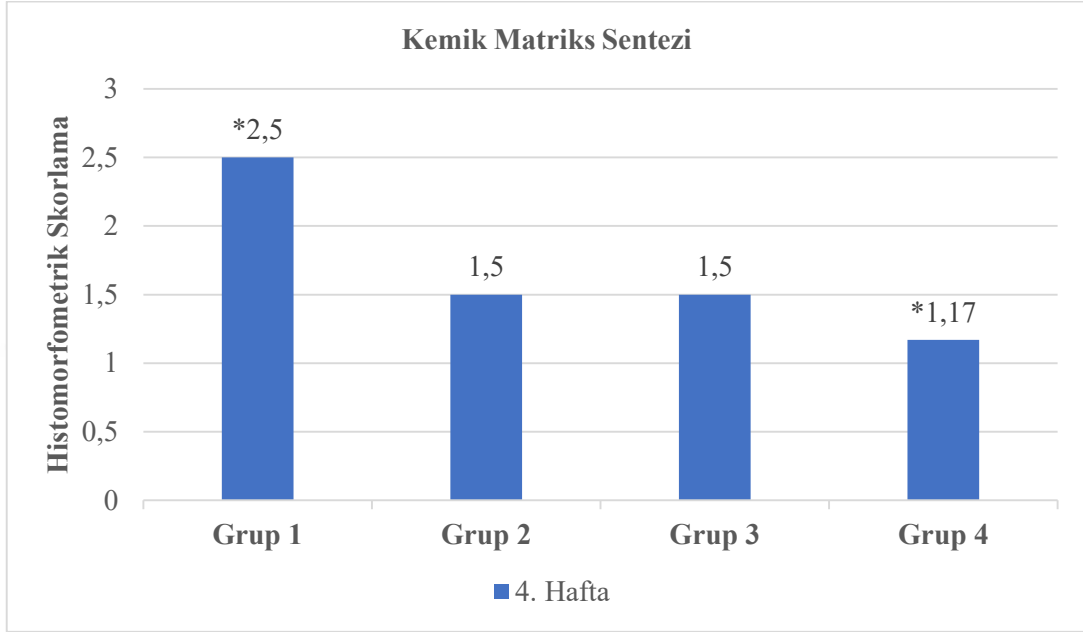
Şekil 25'te görüldüğü üzere; bu dönemde yeni kemik matriks yapımı ortalaması en yüksek G1-H₄'te, en düşük ise G4-H₄'te ölçüldü. Dördüncü haftada yapılan gruplar arası değerlendirmeye göre G1-H₄ ile G4-H₄ aralarında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark olduğu saptandı ($p < 0.05$).

Tablo 25. Dördüncü hafta yeni kemik matriks sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması. * Aynı sütunda bulunan küçük simgeli üst karakterler arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı derecede farklılık olduğunu göstermektedir. &: Kruskal-Wallis testi.

	N	Min-Max	Ortalama $\pm$ Ss	Ortanca	Ki-Kare	P &
Tüm Gruplar	24	0-4	1.66 $\pm$ 0.81	2.00	8.442	0.038
G1-H₄	6	2-4	2.50 $\pm$ 0.83^a	2.00		
G2- H₄	6	1-2	1.50 $\pm$ 0.54	1.50		
G3- H₄	6	1-2	1.50 $\pm$ 0.54	1.50		
G4- H₄	6	0-2	1.17 $\pm$ 0.75^a	1.00		

Grup 1 “G1; (e-TZF + β -TCP)”, Grup 2 “G2; (g-TZF)”, Grup 3 “G3; (β -TCP)”, Grup 4 ise “G4; (tedavi uygulanmayan)” olarak belirtildi.

Deneklerin, dördüncü hafta yeni kemik matriks sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında G1 ile G4 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p < 0.05$).



Şekil 25. Dördüncü hafta yeni kemik matriks sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması

Deneklerin, dördüncü hafta yeni kemik matriks sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında G1 ile G4 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p < 0.05$).

4.3.6.2. Sekizinci Hafta Yeni Kemik Matriks Sentezinin Gruplar Arası Değerlendirilmesi

Yeni kemik matriks oluşumunu değerlendirebilmek amacıyla sekizinci haftada yapılan histomorfometrik analize göre ortalama değerler G1-H₈'de 3.83, G2-H₈'de 3.67, G3-H₈'de 3.33 ve G4-H₈'de 3.50 olarak ölçüldü (Tablo 26).

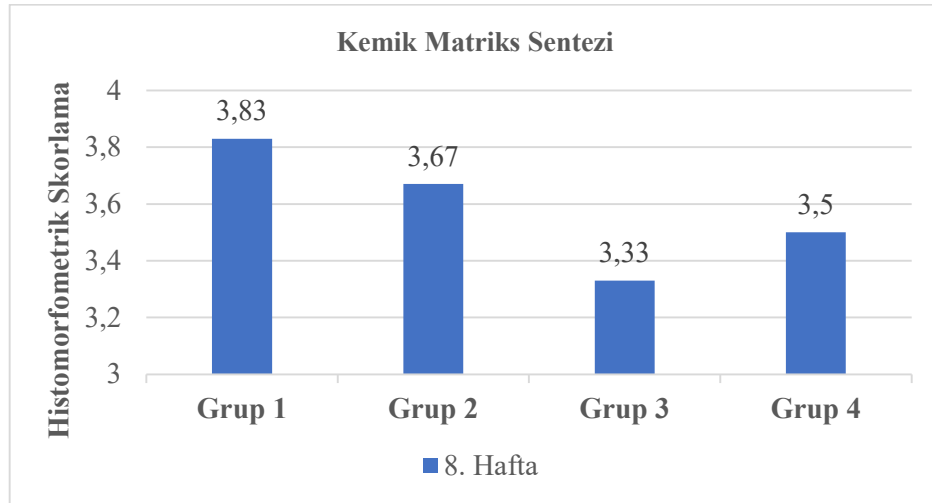
Sekizinci haftada yapılan histomorfometrik skarlama sonucunda en yüksek ortalama değer G1-H₈'de en düşük ortalama değer ise G3-H₈'de ölçüldü. Bu iyileşme döneminde yapılan gruplar arası değerlendirme sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0.05$) (Şekil 26).

Tablo 26. Sekizinci hafta yeni kemik matriks sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması. &: Kruskal-Wallis testi.

Tüm Gruplar	N	Min-Max	Ortalama $\pm$ Ss	Ortanca	Ki-Kare	P &
	24	2-4	3.58 $\pm$ 0.58	4.00	2.859	0.414
G1-H ₈	6	3-4	3.83 $\pm$ 0.40	4.00		
G2- H ₈	6	3-4	3.67 $\pm$ 0.51	4.00		
G3- H ₈	6	3-4	3.33 $\pm$ 0.51	3.00		
G4- H ₈	6	2-4	3.50 $\pm$ 0.83	4.00		

Grup 1 “G1; (e-TZF + β -TCP)”, Grup 2 “G2; (g-TZF)”, Grup 3 “G3; (β -TCP)”, Grup 4 ise “G4; (tedavi uygulanmayan)” olarak belirtildi.

Deneklerin, sekizinci hafta yeni kemik matriks sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p > 0.05$).



Şekil 26. Sekizinci hafta yeni kemik matriks sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması

Deneklerin, sekizinci hafta yeni kemik matriks sentezi ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p > 0.05$).

4.3.6.3. Dördüncü Hafta ile Sekizinci Hafta Yeni Kemik Matriks Sentezinin Grup İçi Değerlendirilmesi

G1-H₄'ün ortalama değeri 2.50 iken; bu değer G1- H₈'de 3.83 olarak saptandı. İki iyileşme dönemi arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede bir fark olduğu saptandı ($p < 0.05$).

Çalışma grupları arasında yeni kemik matriks yapımı ortalama değerlerinde iki iyileşme dönemi arasındaki en belirgin farka sahip olan Grup 2'de dördüncü haftadaki ortalama değer 1.50 olarak ölçülürken, sekizinci haftada bu değer 3.67 olarak ölçüldü. İki iyileşme dönemi arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede artış olduğu gözlemlendi ($p < 0.05$).

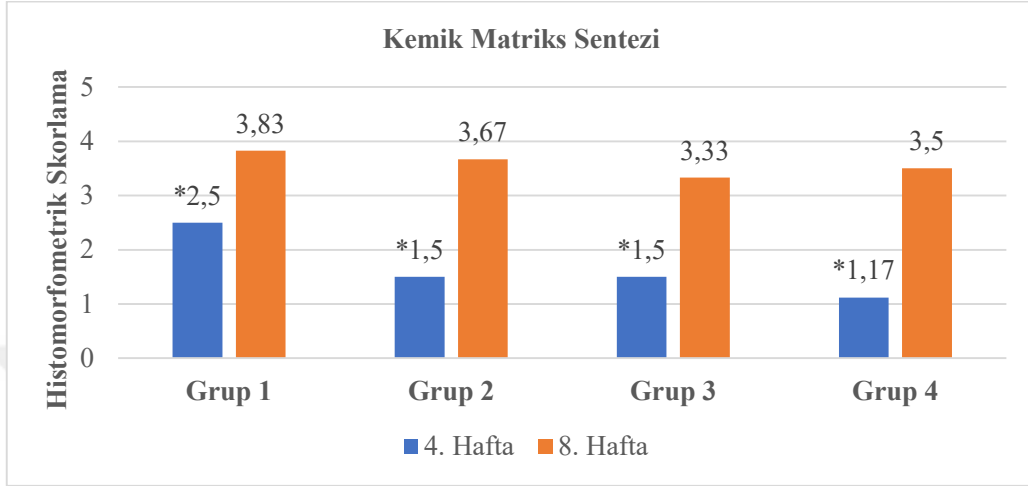
G3-H₄'ün yeni kemik matriks yapımı ortalamasının (1.50), sekizinci haftaya göre (3.33) anlamlı derecede düşük olduğu saptandı ($p < 0.05$) (Tablo 27).

G4-H₄'ün yeni kemik matriks sentezi skoru 1.17 olarak ölçülürken, sekizinci haftada bu skor 3.50 olarak ölçüldü. İki dönem arasında en belirgin ortalama değer farkına sahip olan bu grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede artış gözlemlendiği tespit edildi ($p < 0.05$) (Şekil 27).

Tablo 27. Dördüncü hafta ile sekizinci hafta yeni kemik matriks sentezi ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılması. * Aynı sütunda bulunan küçük simgeli üst karakterler arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı derecede farklılık olduğunu göstermektedir. Z: Wilcoxon testi.

Tüm Gruplar	N	Min-Max	Ortalama $\pm$ Ss	Ortanca	P / Z
	48	2-4	3.58 $\pm$ 0.58	4.00	
G1-H ₄	6	2-4	2.50 $\pm$ 0.83 ^a	2.00	0.046/ -2.000
G1-H ₈	6	1-2	3.83 $\pm$ 0.40 ^a	1.50	
G2-H ₄	6	1-2	1.50 $\pm$ 0.54 ^b	1.50	0.026/ -2.232
G2-H ₈	6	0-2	3.67 $\pm$ 0.51 ^b	1.00	
G3-H ₄	6	1-2	1.50 $\pm$ 0.54 ^c	4.00	0.026/ -2.232
G3-H ₈	6	3-4	3.33 $\pm$ 0.51 ^c	4.00	
G4-H ₄	6	0-2	1.17 $\pm$ 0.75 ^d	3.00	0.034/ -2.121
G4-H ₈	6	2-4	3.50 $\pm$ 0.83 ^d	4.00	

Deneklerin yeni kemik matriks sentezi ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılmasında tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık saptandı ($p < 0.05$).



şekil 27. Yeni kemik matriks sentezi ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılması

Deneklerin yeni kemik matriks sentezi ortalama değerlerinin grup içi karşılaştırılmasında tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık saptandı ($p < 0.05$).

Tablo 28. Tüm histomorfometrik verilerin gruplar arası değerlendirilmesi. * Aynı sütunda bulunan üst karakterli harfler arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı derecede farklılık vardır. & Kruskal-Wallis testi

Tüm Gruplar	Histomorfometrik Parametreler											
	İnflamasyon		Osteoklastik Aktivasyon		Osteoblastik Aktivasyon		Osteosit Aktivasyonu		Kollajen Lif Sentezi		Kemik Matriks Sentezi	
	Ort $\pm$ Ss	P &	Ort $\pm$ Ss	P &	Ort $\pm$ Ss	P &	Ort $\pm$ Ss	P &	Ort $\pm$ Ss	P &	Ort $\pm$ Ss	P &
G1-H₄	3.17 $\pm$ 0.75		3.33 $\pm$ 0.81		2.83 $\pm$ 0.40 ^b		2.67 $\pm$ 0.81 ^c		2.50 $\pm$ 0.83		2.50 $\pm$ 0.83 ^d	
G2-H₄	3.33 $\pm$ 0.81		3.33 $\pm$ 0.81		1.67 $\pm$ 0.51		1.33 $\pm$ 0.81		1.83 $\pm$ 0.40		1.50 $\pm$ 0.54	
G3-H₄	3.33 $\pm$ 0.81	0.679	3.67 $\pm$ 0.51	0.773	1.67 $\pm$ 0.81	0.009	1.33 $\pm$ 0.51 ^c	0.028	1.67 $\pm$ 0.51	0.061	1.50 $\pm$ 0.54	0.038
G4-H₄	3.67 $\pm$ 0.51		3.67 $\pm$ 0.51		1.33 $\pm$ 0.51 ^b		1.33 $\pm$ 0.81		1.17 $\pm$ 0.98		1.17 $\pm$ 0.75 ^d	
G1-H₈	1.67 $\pm$ 1.03		1.00 $\pm$ 0.63		3.83 $\pm$ 0.40		3.67 $\pm$ 0.81		3.50 $\pm$ 0.83		3.83 $\pm$ 0.40	
G2-H₈	1.83 $\pm$ 0.40		1.33 $\pm$ 0.51		3.67 $\pm$ 0.51		3.50 $\pm$ 0.83		3.33 $\pm$ 0.51		3.67 $\pm$ 0.51	
G3-H₈	2.67 $\pm$ 0.51 ^a	0.038	1.67 $\pm$ 1.21	0.657	3.00 $\pm$ 0.63	0.121	2.83 $\pm$ 0.40	0.133	3.00 $\pm$ 0.63	0.559	3.33 $\pm$ 0.51	0.414
G4-H₈	1.50 $\pm$ 0.83 ^a		1.33 $\pm$ 0.81		3.50 $\pm$ 0.83		3.33 $\pm$ 0.81		3.33 $\pm$ 0.81		3.50 $\pm$ 0.83	

Tablo 29. Tüm histomorfometrik verilerin grup içi değerlendirilmesi. * $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık olduğunu göstermektedir. &: Kruskal-Wallis testi.

Tüm Gruplar	Histomorfometrik Parametreler											
	İnflamasyon		Osteoklastik Aktivasyon		Osteoblastik Aktivasyon		Osteosit Aktivasyonu		Kollajen Lif Sentezi		Kemik Matriks Sentezi	
	Ort $\pm$ Ss	P &	Ort $\pm$ Ss	P &	Ort $\pm$ Ss	P &	Ort $\pm$ Ss	P &	Ort $\pm$ Ss	P &	Ort $\pm$ Ss	P &
G1-H₄	3.17 $\pm$ 0.75	0.071	3.33 $\pm$ 0.81	0.027	2.83 $\pm$ 0.40	0.034	2.67 $\pm$ 0.81	0.063	2.50 $\pm$ 0.83	0.063	2.50 $\pm$ 0.83	0.046
G1-H₈	1.67 $\pm$ 1.03		1.00 $\pm$ 0.63		3.83 $\pm$ 0.40		3.67 $\pm$ 0.81		3.50 $\pm$ 0.83		3.83 $\pm$ 0.40	
G2-H₄	3.33 $\pm$ 0.81	0.041	3.33 $\pm$ 0.81	0.039	1.67 $\pm$ 0.51	0.026	1.33 $\pm$ 0.81	0.024	1.83 $\pm$ 0.40	0.024	1.50 $\pm$ 0.54	0.026
G2-H₈	1.83 $\pm$ 0.40		1.33 $\pm$ 0.51		3.67 $\pm$ 0.51		3.50 $\pm$ 0.83		3.33 $\pm$ 0.51		3.67 $\pm$ 0.51	
G3-H₄	3.33 $\pm$ 0.81	0.157	3.67 $\pm$ 0.51	0.024	1.67 $\pm$ 0.81	0.066	1.33 $\pm$ 0.51	0.024	1.67 $\pm$ 0.51	0.023	1.50 $\pm$ 0.54	0.026
G3-H₈	2.67 $\pm$ 0.51		1.67 $\pm$ 1.21		3.00 $\pm$ 0.63		2.83 $\pm$ 0.40		3.00 $\pm$ 0.63		3.33 $\pm$ 0.51	
G4-H₄	3.67 $\pm$ 0.51	0.027	3.67 $\pm$ 0.51	0.026	1.33 $\pm$ 0.51	0.026	1.33 $\pm$ 0.81	0.042	1.17 $\pm$ 0.98	0.024	1.17 $\pm$ 0.75	0.034
G4-H₈	1.50 $\pm$ 0.83		1.33 $\pm$ 0.81		3.50 $\pm$ 0.83		3.33 $\pm$ 0.81		3.33 $\pm$ 0.81		3.50 $\pm$ 0.83	

5. TARTIŞMA

Periodontal hastalıklar; mikrobiyal dental plak ile konak yanıtı arasındaki dengesizlik sonucunda meydana gelen, periodontal dokuların ilerleyici kaybıyla karakterize kronik, inflamatuvar hastalıklardır (1, 2). Periodontal hastalıkların kardiyovasküler, endokrin, üriner ve solunum sistemlerinde meydana gelen problemlerin patogeneğinde de önemli rol oynadığı bilindiğinden dolayı, klinik olarak başarıyla tedavi edilebilmesi günümüzdeki birçok araştırmanın temel konusu haline gelmiştir (3).

Oral ve maksillofasiyal bölgedeki kemik defektleri; periodontal hastalıklar, diş kaybı, enfeksiyon, travma, gelişimsel anomaliler, odontojenik tümör veya kist enükleasyonu vb. patolojik durumlar nedeniyle gelişmektedir (195). Kemik rezorpsiyonu, ilerleyici ve kümülatif olması nedeniyle hayat boyu devam etmektedir (181). Küçük boyuttaki defektler, kemik dokusunun yüksek rejeneratif kapasitesine sahip olmalarından dolayı kendi kendine onarılabilseler de; büyük boyuttaki defektlere cerrahi müdahale gerekmektedir (196). Kemik defektlerinin tedavisinde, ilk olarak rezektif cerrahi yöntemleri uygulanmıştır. Bu girişimlerle hastalığın oluşturduğu patojenik ortam sağlıklı floraya dönüştürülebilse de hasarlı dokuların tekrar oluşturulmasında sınırlı etki sağlamasından dolayı, istenilen klinik etkinin sağlanmasında yetersiz kalmıştır. Günümüzde, ideal periodontal tedaviye ulaşmak için geliştirilen rejeneratif yöntemler, periodontal defektlerin elimine edilip, kaybolan periodonsiyumun da yenilenerek tekrar yerine konmasını mümkün kılmaktadır (99). Kemik dokusunun mevcut düzeyini, iyileşmesini ve kalitesini arttırabilmeye yönelik geliştirilen çok sayıda kemik ogmentasyon prosedürleri mevcuttur (157, 197). Kemik kaybı sonucunda ortaya çıkan estetik ve fonksiyonel komplikasyonların ortadan kaldırılması ve (181) rejeneratif yöntemlerin etkinliğini arttırabilmesi amacına hizmet eden doku mühendisliği son yıllarda popüler hale gelmiştir. Doku mühendisliğinde projenitör hücreler, düzenleyici sinyal molekülleri ve hücrelerin bir arada kalmasını sağlayan biyoaktif iskelelerin kullanımı esastır. Bu amaçla kemik greftleri, alloplastik materyaller, büyüme faktörleri veya bu materyallerin kombine şekilde kullanımları yaygınlaşmıştır (2, 198).

Cerrahi periodontal tedavilerde kemik defektlerinin tedavisi amacıyla sıklıkla kemik greft materyalleri kullanılmaktadır (181). Kemik greft materyalleri; fizyolojik, patolojik veya travmatik nedenlerle meydana gelen kemik rezorpsiyonlarında yeni kemik oluşumunu indükleyerek, kemik dokusunun yeniden şekillenme mekanizmasını kolaylaştırmaktadır (101). İdeal kemik greft materyali; immünojenik potansiyelde olmamalı, toksik olmamalı,

osteoinduktif ve osteokondüktif özellikte olmalı, tek aşamalı cerrahi ile kısa sürede yerleştirilebilmeli, termal olarak iletken olmamalı, yeterli mekanik dayanıklılıkta olmalı, stabil olmalı ve kontrollü biyorezorpsiyon sağlamalıdır (10, 102). Greft materyalleri partikül ya da blok formda olabilmektedir. Blok kemik greftleri, rijit yapıları dolayısıyla gerekli mekanik desteği sağlayabilme özellikleri ile öne çıkarken, partiküler greftlerin kullanımıyla kemik dokusundaki vaskülarizasyon mekanizması hızla indüklenmektedir. Kemiğin daha hızlı yeniden şekillenmesinde etkin olmaları bakımından partikülize formdakiler blok greftlere göre daha avantajlıdır (100).

Kemik greft materyallerinin, organizmada yarattığı biyolojik etkilerini osteogenezis, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon kapasiteleri belirlemektedir (12). Otojen kemik greftleri, rejenerasyon triadının bu üç komponentini bulunduran yegâne greft materyali olmaları sebebiyle halen altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak; donör saha morbiditesi, uzayan cerrahi işlem süresi (112), enfeksiyon gelişimi, anatomik limitasyonlar nedeniyle sınırlı miktarda elde edilebilirlik (12), hızlı ve kontrolsüz rezorpsiyon göstermeleri gibi klinik kullanımlarını sınırlandıran dezavantajlara sahiptir (128, 199). Bu olumsuzluklar doğrultusunda geliştirilen allogreftler, otolog kemik greftlerine alternatif olarak en sık tercih edilen kemik greft materyalleridir (115). Cerrahi alana uygulanmaları esnasında donör alan gereksinimine gerek kalmasa da (12); antijenik özelliğe sahip olmaları, HIV- Hepatit vb. hastalıkların geçişine zemin hazırlamaları önemli dezavantajları arasındadır (12). Bir diğer alternatif olan ksenogreftler, farklı biyolojik türlerden elde edilmektedir (118). Düşük ısıya maruz tutularak içeriğindeki organik yapının uzaklaştırılmasıyla, iç yüzey alanının kansellöz kemiğe benzer hale getirilmesi sağlanmıştır (119). Gözenekli formu sayesinde iyi mekanik destek sağlamakta, anjiyogenezisi stimüle etmekte ve osteokondüktif kapasitesiyle de yeni kemik oluşumunu indüklemektedir. Ksenogreft materyallerinin değişken rezorpsiyon hızları, içeriğindeki canlı hücrelerin eksikliği, zoonotik enfeksiyon bulaş riski ve elde edilme yöntemlerindeki etik problemler klinik kullanımlarını sınırlamaktadır (12, 121). Cerrahi protokollerdeki iyileştirmelerin ameliyat süresini kısaltmayı, intra ve post-operatif süreçteki komplikasyon riskini ve genel morbiditeyi azaltmayı temel hedef olarak belirlemesi sonucunda (200), mevcut greft materyallerinin olumsuz yanları daha fazla araştırma yapılmasına sebebiyet vermiştir (14). Bu olumsuzluklar sebebiyle implant ve diğer diş hekimliği cerrahilerinde kullanılmak üzere (201) doğal kemiğin biyolojik özelliklerini taklit edebilme kabiliyetine sahip alloplastik materyaller geliştirilmiştir (12). Alloplastların sağlamış oldukları mükemmel biyoyumlulukları, geliştirilmiş biyolojik ve mekanik

özellikleri sayesinde kullanımları popülerlik kazanmıştır (14). Seramik grubu alt üyesi olan TCP materyalleri arasında yüksek biyouyumlulukları ve biyoaktiviteleri sebebiyle en sık tercih edilen materyal β -TCP mineralleridir (109, 192). Osteokondüktif özelliğiyle fibrovasküler büyümeyi; makropöröz yapısıyla ise osteojenik hücre adezyonunu ve vaskülarizasyonu stimüle etmesiyle bilinen doku materyalleridir (12). Birçok çalışmada osteoblastların ve mezenşimal hücrelerin tutunmasını, proliferasyonunu desteklediği bildirilmiştir (124). Fiziksel özellikleri ve kompozisyonları doğal kemiğe benzerdir (127) ve yarattıkları osteokondüktif ortam sayesinde birlikte kullanıldıkları materyallerle direkt olarak kontakt kurmaktadır. Bu sebeple kemik apozisyonuna öncülük ettikleri ve başarılı bir rejeneratif ortam sağladıkları düşünülmektedir (128). Güncel literatüre göre β -TCP'nin rezorbe olması esnasında çatı görevi görerek yeni kemik yapımına müsaade eden toksik olmayan yapısı ve kemik dokuya benzer oranda Ca/PO_4 yüzdesine sahip olmaları bu materyali öne çıkarmıştır (202, 203).

Oral ve maksillofasiyal cerrahi alanında yapılan araştırmalarda, kemik greftleme tekniklerinde daha hızlı ve dens yapıda kemik rejenerasyonu sağlayacak yöntemler üzerinde yoğunlaşarak optimal tedavi hedeflenmektedir (197). Bu amaçla kemik stimülasyonunu uyarıp, yeni oluşacak olan kemikle tamamıyla yer değiştirerek tedavi sonuçlarını iyileştiren, biyouyumlu ve ekonomik olan alternatif materyallerin arayışına gidilerek otolog trombosit kaynaklı ürünlerin kullanılması gündeme gelmiştir (204). Kemik dokusunun iyileşmesi sırasında trombositler tarafından salındığı bilinen büyüme faktörleri (59); proliferasyon, kemotaksis, diferansiyasyon gibi birçok hücrel aktivitede rol alan hormonlara verilen genel bir isimdir (6). Güncel çalışmalarda, trombositlerden çeşitli sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin salınımlarının yara iyileşmesini hızlandırdığı ve yeni kemik yapımını indüklediği açıkça gösterilmiştir (2, 135, 205). Bu amaçla oral cerrahilerde kullanılan büyüme faktörleri yalnız ya da greft materyalleriyle birlikte kullanılabilirler (128). Diş hekimliği alanında yapılan rekonstrüktif cerrahilerin post- operatif sürecinde, doku iyileşmesinin tutarlı bir şekilde ve maksimum seviyede gerçekleşmesi amacıyla trombosit bakımından zengin konsantrelerin kullanımları günden güne artmaktadır (21). Dokuların hızlı şekilde vaskülarizasyonlarını sağlamaları dolayısıyla trombosit konsantratları medikal alanda sıklıkla kullanılmaktadır (206). TZP, tam kanın santrifüjü yöntemi ile elde edilen ve içeriğinde yüksek miktarda trombosit konsantrasyonu bulunduran hücrel plazmadır (21). TZF, kana herhangi bir katkı maddesi ilave edilmeden trombositlerin, büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin fibrin matrikste yoğunlaştırılma esasıyla doğal yöntemlerle elde edilen ikinci

nesil trombosit konsantratıdır (31, 206). g-TZF, TZF'ye göre fibrin matris yapısında daha yoğun şekilde trombosit ve beyaz kan hücresi bulunduran; monositlerin makrofajlara hızla dönüştürülmesini sağlayan trombosit konsantratıdır (24). e-TZF, mevcut TZF tabanlı matrislere göre optimum seviyede rejeneratif potansiyelli hücre içeren sıvı formdaki yeni nesil trombosit konsantratıdır (31).

Yukarıdaki çalışmaların bulgularını bir arada değerlendirdiğimizde, kemik defektlerinin rejenerasyonunda alloplastik materyallerin osteokondüktif ve trombosit konsantratlarının osteoindüktif etki gösterdiği görülmektedir. Projemizi tasarlama aşamasında yaptığımız literatür taramasına göre β -TCP, g-TZF ve e-TZF+ β -TCP'nin kemik defektlerinde kullanılmasıyla meydana gelecek hücresel aktivitelere, kemik oluşum hızına ve miktarına olan etkilerinin birbirlerine göre histopatolojik ve histomorfometrik olarak karşılaştırılmalarına dair mevcut bir çalışmaya rastlamadık. Bu çalışma invitro tavşan kafatası defektlerinde β -TCP, e-TZF, g-TZF uygulamalarının birbirlerine göre kemik rejenerasyonu yönünden histopatolojik ve histomorfometrik üstünlüğünü araştıran ilk çalışmadır.

Farklı biyomateryallerin kemik defektleri üzerindeki rejeneratif kapasitesini incelediğimiz çalışmamızda, dört farklı çalışma grubu oluşturuldu. Grup 1'e e-TZF + β -TCP, Grup 2'ye g-TZF, Grup 3'e β -TCP uygulandı. Grup 4 ise boş bırakılarak kontrol grubunu oluşturdu.

Çalışmamızda β -TCP'nin kemik stimülasyonunu uyardığını inceleyen çalışmaları referans alarak (128, 207); bu materyalin kemiğe fikse edildiğinde greftle kemik bağlantısı arasında fibröz doku oluşturmaması, farklı biyomateryallerle birlikte kolaylıkla kullanılabilmesi, hastalık geçişini engellemesi, istenilen miktarda kullanılabilmesi, maliyetinin diğer kemik greft materyallerine göre daha düşük oluşu ve TZF bazlı materyallerle kullanımlarında yüksek oranda yeni kemik formasyonu sağlayabilmesi gibi önemli avantajlara sahip olması sebebiyle greft materyali olarak β -TCP'yi tercih ettik.

Diş hekimliğinde trombosit konsantreleri, ilk olarak Whitmann ve ark. tarafından kullanılmıştır. Yaptıkları çalışmada TZP materyalinin güvenilir olduğunu ve doku iyileşmesi üzerindeki olumlu etkilerini bildirmişlerdir. (20). Ancak; TZP'nin birden fazla yöntemle elde edilmesine rağmen; tüm yöntemlerde venöz kana antikoagülan madde ilave edilmesi sebebiyle ortaya çıkan son ürünün doğal içerikli olmayışı rejenerasyonu baskılamaktadır. Bu olumsuzluk neticesinde farklı bir materyal arayışına gidilerek TZF geliştirilmiştir (148).

TZF; kanın, 3000 rpm’de (400 G), 10 dk santrifüjüyle tek aşamada elde edilmektedir (157). Uygulandığı bölgedeki yapısını koruyup, çözünmeye uğramadan muhafaza edilebilme gibi üstün biyolojik ve klinik özellikler ortaya koymaktadır. TZF’nin klinik ortamda periodontal ve implant cerrahilerinde hasarlı yumuşak ve sert dokulardaki revaskülarizasyonu hızlandırmak ve kemik rejenerasyonunu sağlamak amacıyla iskele olarak kullanımı özellikle son on yıldır popüler hale gelmiştir (28, 172). TZF, doku iyileşmesini hızlı bir şekilde uyarabilmek için yara bölgesine büyüme faktörlerini ve sitokinleri salarak anjiyogenezis, diferansiyasyon gibi birçok biyolojik mekanizmayı doğrudan uyarabilmektedir. Böylece endotel hücrelerin, fibroblastların, kondrositlerin ve osteoblastların yara bölgesinde toplanmalarını sağlayarak, periodontal dokuların hızla onarılabilmesi için etkili rejeneratif ortamın yaratılmasına yardımcı olmaktadır (208, 209).

Yeni teknolojilerin geliştirilmesiyle TZF matrikslerin üretim şekli değiştirilerek, TZF pıhtısındaki büyüme faktörlerinin ve trombositlerin yoğunlaştırılması esasıyla; iskelet yapısı, hücre içeriği ve aktivitesinde optimum seviye hedeflenmiştir. Santrifüj esnasında uygulanan rölatif santrifüj kuvvetinin düşürüldüğü bu teknik “düşük hızda santrifüj konsepti (low- speed centrifugation concept)” olarak adlandırılmaktadır. Bu hipotezin rehberliğinde biz de çalışmamızda kanın, 1500 rpm (200 G), 14 dk santrifüjüyle g-TZF ve 700 rpm (60 G), 3 dk santrifüjüyle ise e-TZF olmak üzere iki farklı formunu kullandık (24, 29, 31, 171).

TZF’nin ileri bir versiyonu olan g-TZF’ nin fibrin matriks yapısını inceleyen güncel çalışmalar, santrifüj kuvvetindeki bu değişime bağlı olarak bazı hücrelerin dağılımlarındaki farklılıkları göstermekte; trombosit ve lökositler oldukça zengin bir ürün meydana gelmektedir. Elde edilen bu yapı TZF’ye göre daha fazla beyaz kan hücresi içermektedir. Bu konuda yapılan çalışmalar granülositlerin ve trombositlerin buffy coat tabakasından uzak olduklarını, interfibröz alanda ve fibrinin distal kısmında daha yoğun şekilde yayılım gösterdiklerini ve büyüme faktörlerinin salınım sürelerinin uzadığını belirtmektedir (24, 32). Bu dağılımın, yeni kemik formasyonu üzerine olumlu etki sağlayabileceği görüşü yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir (28, 30). Bunun yanı sıra monositlerin, fibrin matrikse hapsedilerek yoğunlaştırılması ve kemik stimülasyonunda öncülük eden monositlerin makrofajlara diferansiyasyonunun hızlanmasıyla yeni kemik rejenerasyonunun indüklendiği savunulmaktadır (33, 173). İlaveten nötrofil, makrofaj ve kök hücreler arasındaki sinerjik etkileşimlerin; doku rejenerasyonunu indükleyebilme potansiyeline sahip hücrelere etkisi bakımından da ideal bir materyal olarak görülmektedir (24). g-TZF’nin, sahip olduğu güçlü

fibrin matriksin ve yüksek miktarda rejeneratif potansiyelli hücre konsantrasyonu içermesinin ve hücrelerin hızlı bir şekilde farklılaşmasının doku yenilenmesi üzerinde olumlu yönde etki göstereceği görüşü hakimdir. Bu sebeple kemik defektlerinin histopatolojik ve histomorfometrik olarak iyileşmesini incelediğimiz çalışmamızda tamamıyla otolog bir ürün olan g-TZF materyalini kullanmayı tercih ettik.

TZF hazırlandıktan sonra, membran formu elde edebilmek ve kolaylıkla cerrahi bölgeye uygulayabilmek amacıyla özel olarak dizayn edilmiş steril, delikli metal kutular (TZF şekillendirme ve standardize etme kutusu) geliştirilmiştir. TZF, kutu içine yerleştirilip, kutunun kapağıyla hafif bir basınçla sıkıştırılarak ezildiğinde tek seferde kolaylıkla membran formasyonunu almaktadır. Buradaki kritik nokta uygulanacak basıncın nazik ve yavaş bir biçimde olmasıdır. TZF'ye yoğun bir baskı uygulanması halinde matriks yapısındaki büyüme faktörleri hızla salınım (özellikle PDGF) göstermektedir. Elde edilen bu form yoğun miktarda büyüme faktörü salmakta ve zengin hücresel içeriği sebebiyle iyileşmeyi olumlu yönde etkileyerek cerrahi operasyonlarda sıklıkla kullanılmaktadır. Ek olarak, özel olarak tasarlanmış bu kutular, membranın cerrahi alana taşınmasının uzadığı durumlarda, membranın nemliliğini koruyarak ıslak ve temiz bir alanda muhafaza edilebilmesini de sağlamaktadır. Membran formasyonunun preslenerek elde edilmesi sırasında, kutunun alt tablasına akan sıvı vitronektin, fibronektin, büyüme faktörleri vb. proteinler açısından zengindir. Bu içerik hücrelerin adezyonu ve migrasyonu açısından oldukça önemli olduğundan greft materyalleri ile karıştırılarak uygulandığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (162, 210, 211).

Biz de bu bilgilerden yola çıkarak deney çalışmamızın cerrahi işlemleri esnasında ve kliniğimizde uygulamakta olduğumuz rejeneratif cerrahi uygulamalarında, g-TZF pıhtısını membran haline getirirken TZF şekillendirme kutularından yararlanmaktayız.

Son yıllarda, TZF'nin fibrin matriksinin yoğunluğu sebebiyle farklı biyomateryallerle birlikte kullanımlarında ortaya çıkan olumsuzlukları ortadan kaldıran e-TZF, düşük hızda santrifüj konseptinin devamı niteliğindedir. Diğer TZF formülasyonlarına göre içeriğinde daha fazla miktarda trombosit, lökosit ve büyüme faktörlerinin bulunması ve daha fazla osteoindüktiviteye sahip olmasıyla yara iyileşmesini hızlandırdığını belirten çalışmalar literatürde mevcuttur (31, 35, 150, 171, 172, 183). e-TZF, kemik greftleri ile karıştırıldıklarında, greft partikülleri bir araya gelerek yapışkan kemik (sticky bone) adı verilen blok benzeri bir yapı meydana getirmektedir. Kemik greftlerinin ıslatılarak bir arada

tutulmasını sağlayan bu yapı sayesinde greftin işlenebilirliği ve hacmi artmaktadır. Böylece greftin defekt alanında yoğunlaşması ve stabilizasyonu sağlanmaktadır. Graft partiküllerinin fibrin matriks içinde sıkışması sayesinde greftin biyoaktivasyonu desteklenerek, iyileşme dönemindeki kemik rezorpsiyonunun minimuma indiği ve iyileşme periyodunun hızlandığı savunulmaktadır (35, 212).

Maksillofasiyal bölgede çeşitli sebepler nedeniyle meydana gelen kemik defektlerinin tedavileri günümüzde en sık araştırması yapılan konular arasındadır. Bu amaçla birden fazla kemik ogmentasyon teknikleri geliştirilse de; optimal doku iyileşmesini sağlayacak rejeneratif materyal arayışı hala devam etmektedir (198). Cerrahi uygulamalarda kullanılan kemik greft materyallerinin kemik onarımı mekanizmasındaki başarısında greftin damarlanması oldukça kritiktir. Kemik yapım-yıkım döngüsünde primer rol oynayan osteoblastların ve osteoklastların aktivasyonları ortamın oksijenizasyonuna bağlıdır. Oksijenlenme ise bölgedeki kanlanma ile sağlanmaktadır. Bu amaç doğrultusunda greft materyalleri ile birlikte otolog kan ürünlerinin kullanılmasıyla greftin damarlanmasını arttırmak ve iyileşmeyi hızlandırmak mümkündür. Bu bilgilerin ışığında çalışmamızda, sıvı formda olması, greftin hacminin arttırılarak kullanılan greft miktarını azaltması, cerrahi alanda ölü boşluk yaratmayacak biçimde kondanase edilebilmesi, greft partiküllerinin stabilizasyonunun sağlanabilmesi, defekt tedavilerinde greftle kombine şekilde kullanımlarında meydana gelen yapışkan kemik formasyonunun yeni kemik oluşumunu hızla uyarması gibi avantajlara sahip olması dolayısıyla greft ile e-TZF materyalini kombine olarak birlikte kullanmayı tercih ettik.

Hayvan deneyleri, çeşitli biyomateriyallerin dokuya yerleştirildiklerindeki etkileşimlerini, biyouyumluluklarını, birbirlerine göre etkilerini ve kemik rejenerasyonuna olan katkılarını histomorfometrik açıdan değerlendirebilmek amacıyla yapılabilmektedir (191, 213). Biz bu çalışmamızda, biyomateriyallerin kemik defektlerindeki rejeneratif kapasitesini histopatolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirmek için deney hayvanı olarak tavşan modelini seçtik.

Periodontoloji alanında yapılan hayvan modeli deneysel çalışmalar periodontitis modeli oluşturmak veya kemik defektlerinin oluşturularak, hasarlı dokuların rejenerasyonunu sağlamak gibi farklı stratejiler içermektedir (214). Literatürde kemiğin biyolojik mekanizmasıyla ilgili olarak fare, rat, koyun, tavşan ve köpek gibi birçok hayvan modeli kullanılmıştır (192, 215–218). Maksillofasiyal bölgede yapılan hayvan

çalışmalarında da çeşitli türler kullanılmakla beraber sıklıkla sıçanlar ve tavşanlar tercih edilmektedirler. Diğer deney hayvanlarına nazaran bakımlarının kolay, boyutlarının çalışmaya elverişli ve nispeten daha düşük maliyetli olmaları tercih edilmelerindeki etkenler arasındadır. Ancak; sıçanların kemik kompozisyonları, iyileşme prosesleri ve anatomik yapıları insanlardan oldukça farklılık gösterdiğinden kemiğin yeniden şekillenmesi ve onarımı üzerine yapılan çalışmalarda pek tercih edilmemektedirler (121, 219).

Yeni Zelanda tavşanları periodontal hastalığın etiyolojisi ve mikrobiyolojisi gibi çalışmalarda uygun olarak görülmeseler de; farklı biyomateriyaller kullanılarak kemiğin osteojenik kapasitesini değerlendirebilmek amacıyla yapılan deneysel araştırmalarda uygun bir model olarak görülmektedirler (192, 214). Aynı zamanda tavşanların erken iskeletsel olgunluğa erişmeleri, uzun ve yassı kemiklerinin gövdelerinde yaklaşık olarak %70-80 oranında kompakt kemik bulundurmaları, kolayca anestezi yapılabilirlikleri, yüksek metabolik aktiviteleri sonucunda kemik iyileşmelerinin hızla tamamlanmaları sebebiyle çalışma sürelerinin kısalığı ve en önemlisi insan kemiğine benzer fizyolojik özellikte bulunmaları önemli avantajları arasında sıralanabilmektedir (193, 219). Hematolojik özellikler açısından bakıldığında da tavşan kanı, insan kanına yakın özelliktedir. Örneğin; normal şartlarda bir tavşan kanında 182.000- 468.000/ mm³ trombosit bulunmaktayken (220), insanlarda ise 150.000- 400.000 mm³ trombosit bulunmaktadır. Aynı zamanda çalışmamızın şartlarını sağlayacak yeterli miktardaki kanı temin edebilmek için de deney hayvanı modeli olarak tavşan seçilmesi uygun görüldü. Çalışmamız için gereken kanı alabilmek amacıyla literatürle uyumlu olarak santral kulak veni belirlendi (221) ve yine benzer şekilde yapılan çalışmalar referans alınarak, uygun santrifüj protokolleriyle TZF bazlı materyaller elde edildi (181, 190).

Erken ve geç dönem kemik iyileşmelerini incelediğimiz çalışmamızda; onarım süreci ile fizyolojik olarak büyümenin karıştırılmaması göz önünde bulunduruldu. Tavşanların, ortalama altı ayda iskeletsel maturasyonlarını tamamlamaları sebebiyle (219) bu çalışmada altı aylık erişkin Yeni Zelanda türü tavşanlar tercih edildi.

Tavşanlarda deneysel araştırma amaçlı defekt oluşturulabilecek bölgeler mandibula, femur, tibia, kafatası olarak bildirilmiştir (219). Mandibula ve kafatasının nöral krest kökenli oldukları bilinmektedir (222). Ancak; tavşanların çene kemiklerinde cerrahi işlem yapıldığı takdirde post-operatif dönemde kemikte bulunan yara bölgesinin ağız ortamıyla yakın ilişkide olması halinde enfeksiyon gelişimi riski, ağrı ya da beslenme esnasında operasyon

bölgesine zarar gelme ihtimalleri düşünülerek hayvanların kafatası bölgesinde çalışılması uygun görüldü. Çalışmamızda kafatası bölgesini tercih etmemizin diğer sebepleri; kafatası bölgesinin geniş yapısı sebebiyle dairesel standart kemik defektleri oluşturmaya uygunluğu, bölgedeki kemik iyileşmesinin histopatolojik olarak kolaylıkla değerlendirilebilir olması, çalışma alanındaki sağladığı genişlik nedeniyle cerrahi erişimde rahatlık ve tam görüş sağlaması, farklı materyallerin kullanılabilmesi için uygun alan sağlaması, basit yöntemlerle opere edilebilmesi, alt kısımda konumlanan lamina dura ve üstteki derinin sağladığı destek sebebiyle kemiğin fiks edilmesine gerek olmaması şeklinde sıralanabilir (223). Diğer yandan tavşan kafatasında oluşturulan defekt modelleri birçok yönden maksillofasiyal rekonstrüksiyona benzemektedir. İkisinin de kemik onarımı mekanizması periosteal kan beslenmesiyle sağlanarak, membranöz iyileşme prosesi göstermektedir (224).

Bir hayvanın yaşamı boyunca kendiliğinden iyileşebilmesi mümkün olmayan en küçük boyuttaki defekte “kritik boyutlu kemik defekti” adı verilmektedir. Bazı çalışmalarda tavşan kafatasında 15 mm çapında oluşturulan defektlerin, kritik boyutlu defekt olarak bildirilmesine rağmen; literatürde tavşan kafatasında 5 mm, 6 mm, 8 mm, 9 mm, 10 mm çapında oluşturulan deneysel defektlere farklı biyomateryallerin uygulanmasıyla kemiğin rejeneratif kapasitesini değerlendiren çalışmalara da rastlanılmaktadır (201, 221, 224–228).

Lee ve ark. on adet tavşan üzerinde yaptıkları çalışmada, her bir tavşanın parietal kemiğinde ikişer adet olmak üzere 9 mm çapında bilateral deneysel kemik defektleri oluşturmuşlardır. Kontrol grubu spontan iyileşmeye bırakılmış, diğer defekte ise TZF ile kombine ipek fibrin tozu uygulanmıştır. Gruplar rastgele ikiye ayrılarak; hayvanların altı tanesi altıncı haftada, kalan altı tanesi ise on ikinci haftada kurban edilerek elde edilen örneklerdeki yeni kemik oluşumu histomorfometrik olarak incelenmiştir. Çalışmalarının sonucunda, tüm gruplarda yeni kemik formasyonunun görüldüğünü ancak kemiğin on ikinci haftada dahi tam olarak sert doku iyileşmesi gösteremediğini saptamışlardır (221).

Çalışmamızda, gruplar arasında bireysel farklılık olmaması amacıyla bir adet tavşanın parietal kemiğine dört adet deneysel kemik defekti oluşturulması planlandı. Daha önce yapılan çalışmalar dikkate alınarak, spontan onarım kapasitesini gözlemleyebilmek, defektler arasındaki gerekli mesafeyi koruyabilmek, anatomik yapılara zarar vermeden tüm biyomateryalleri defekt bölgesinde tam kapatma sağlayacak biçimde kondanse edebilmek ve ilgili bölgede daha büyük çaplı defektler oluşturabilmek için yeterli alan olmadığı saptanması nedeniyle 8 mm çapında oluşturulan defektlerin, deney çalışmamız için uygun

olduğu belirlendi. Rond frezle oluşturulan kavitasyonların çapını ve şeklini standardize edebilmek mümkün olamayacağından, kontrollü çalışma ve kullanım kolaylığı sağlayan bir materyal olan trefan frezler (8 mm çapında) kullanıldı (191, 221).

Kemiğin yapısal özelliklerinin ve kemik iyileşmesinin dinamiklerinin değerlendirildiği araştırmalarda genellikle histolojik analizlerden faydalanılmaktadır (229). Çalışmamızda kemik dokusunun iyileşme sürecini, kemiğin kalitesini sitolojik bazda incelemeyi amaçlamamız nedeniyle bu yöntemi tercih ettik ve elde ettiğimiz kesitlerin histopatolojik değerlendirilmesinde kemik iyileşmesinin her aşamasının net bir şekilde görülmesini sağlayabilmek amacıyla safranin boyama yöntemini kullandık.

Literatüre göre, hücresel değişiklikleri saptayabilmek amacıyla yapılan histolojik değerlendirmelerde, tavşanlarda oluşan yeni kemiğin kalsifikasyon başlangıcını incelemek amacıyla dördüncü hafta ara değerlendirme, sekizinci hafta ise son değerlendirme dönemi olduğu görüşü hakimdir (121, 192, 193, 230). Bizim çalışmamızda da matür tavşan kemiğinin onarım hızı dikkate alınarak dört ve sekiz haftalık tedavi süreçleri belirlendi. Böylelikle net objektif bulgu sağlayan ve kantitatif değerlendirme imkânı sunan histolojik analizle, iki iyileşme dönemindeki birbirinden farklı biyomateryallerin sağladıkları onarım kapasiteleri birbirlerine ve zamana göre karşılaştırıldı.

Kemik defektlerinin iyileşme süresinin uzun olması, bu defektlerde estetik ve fonksiyonel olarak tam bir onarımın zorluğu nedeniyle bu süreci hızlandırmak ve uygulanan tekniklerin etkinliğini arttırmak gerekmektedir. Bu doğrultuda çalışmamız; toplumda sık görülen kemik kaybıyla karakterize olan periodontal hastalıkların rejeneratif tedavisinde halen ideal bir greftleme tekniği bulunmadığından farklı yaklaşımları geliştirmeyi amaçlamaktadır.

Çalışmamızın histopatolojik bulgularını değerlendirdiğimizde; dördüncü haftada, Grup 1’de (e-TZF + β -TCP) yeni oluşan kemik trabekülasyonlarının en dış yüzeyinde osteoblast hücrelerinin düzgün şekilde sıralandığı, az sayıdaki osteosit hücrelerinin gelişimlerinin hızlandığı, laküner yapıların belirginleşmeye başladığı ve osteoblastik kemik matriksin oluştuğu tespit edildi. Grup 2’de (g-TZF) dördüncü haftada kollajen liflerin belirgin şekilde arttığı, osteoblastların ve osteositlerin re-organizasyonu ile birlikte bağ dokusu alanlarında yeni kemik oluştuğu gözlenirken, bu gruptaki osteositlerin ve lakünaların en belirgin şekilde gözlendiği dikkat çekti. Grup 3’te (β -TCP), grefti çevreleyen osteoklast hücrelerinin belirgin olduğu, aktivasyonunun arttığı ve küçük kemik trabekülasyonlarının

dış yüzünde ise az sayıda osteoblast hücreleri izlendi. Grup 3'te aynı zamanda, yer yer kemik oluşumuna ait laküner yapıların ortaya çıktığı tespit edilirken, bu yapıların Grup 1 ve Grup 2'ye göre daha az olduğu gözlemlendi. Diğer taraftan, Grup 4'te (tedavi uygulanmayan grup) dördüncü haftada yeni kemik oluşumuna ait küçük parçacıkların etrafında diğer gruplara kıyasla daha fazla osteoklastik hücre aktivasyonu ve daha az sayıda osteoblast tespit edildi.

Çalışmamızın sekizinci hafta histopatolojik bulgularını değerlendirdiğimizde; Grup 1'de sekizinci haftada trabeküllerin dış yüzünde yer alan osteoblastlarda önemli bir artış olduğu ve osteoblastik proliferasyonun en yoğun şekilde bu grupta görüldüğü saptandı. Bu bulguyla paralel olarak osteoklastik potansiyel en az bu grupta izlendi. Kemik trabeküllerinin diğer gruplara kıyasla önemli şekilde genişlediği tespit edilen bu kombine tedavi seçeneğinde en fazla laküner yapı tespit edildi. Grup 2'de sekizinci haftada kollajen re-organizasyonunun tamamlandığı, kemik trabeküllerinin genişlediği ve osteosit hücrelerinde diğer gruplara kıyasla daha fazla bir artış olduğu saptandı. Sadece bu grupta bazı alanlarda kemik iliği belirgin şekilde izlendi. Elde ettiğimiz bulgular doğrultusunda; matür komponenti en yoğun olan kemik dokusunun Grup 2'de olduğu tespit edildi. Grup 3'te ise; sekizinci haftada kemik lakünalarının belirgin şekilde izlendiği, osteoklast hücrelerinin azaldığı, osteosit hücrelerinin gelişimlerinin yeni tamamlandığı, kemik trabekülasyonlarının arttığı ve etrafında osteoblast hücrelerinin sıralandığı saptandı. Grup 3'te aynı zamanda organize kollajen lif yapısı izlendi. Diğer taraftan, rejeneratif tedavi uygulanmayan Grup 4'te, sekizinci haftada bağ dokusu alanlarındaki az sayıda kemik trabeküllerinde osteoblastların ve osteositlerin belirginleşmeye başladığı ve osteoklastların azaldığı izlendi. En az yeni kemik dokusu bu grupta tespit edildi.

Yukarıdaki histopatolojik bulgularımızı özetleyecek olursak; dördüncü ve sekizinci haftalarda yaptığımız histopatolojik analiz verilerinin sonuçları birbirlerine benzerlik göstermektedir. Elde ettiğimiz bulgulara göre dördüncü haftada Grup 1'de (e-TZF + β -TCP), Grup 2 (g-TZF) ve Grup 3'e (β -TCP) göre daha fazla yeni kemik alanı oluştuğu; kontrol grubunda ise yeni kemik alanının hiç oluşmadığı gözlemlendi. Yani, e-TZF ve β -TCP'nin kombine kullanıldığı grupta en fazla osteoblastik formasyon gözlenirken, diğer rejeneratif gruplarda da kısmen de olsa yeni kemik oluştuğunu saptadık. Bununla birlikte, rejenerasyon uygulanmayan kontrol grubunda yeni kemik oluşumuna dair yapılar gözlenirken, bu bulguların organize olmadığı ve bu nedenle yeni kemik alanı oluşturmadığı saptandı. Sekizinci haftaya gelindiğinde ise, TZF bazlı matriks kullandığımız gruplarda (Grup 1 ve

Grup 2) diğer gruplara kıyasla laküner evrenin hızla arttığı ve daha fazla yeni kemik formasyonu oluştuğunu saptadık. Bu durumu TZF'nin fibrin matriks yapısında bulunan büyüme faktörlerinin yavaş ve kontrollü salınımları doğrultusunda, hızlı ve tutarlı kemik iyileşmesi sağlamasına bağlamaktayız (161). Bulgularımızı bir arada değerlendirecek olursak, Grup 1'de Grup 2 ve Grup 3'e göre daha fazla yeni kemik alanı elde etmemizin nedeni; iki farklı rejeneratif materyalin (e-TZF+ β -TCP) kombine kullanımının, sadece g-TZF ve β -TCP uygulamalarına göre daha fazla yeni kemik alanı oluşturma etkisi ile ilişkili olabilir. Aynı zamanda, bu bulgularımıza göre; her iki materyalin (e-TZF + β -TCP) kombine kullanımında sinerjik etki oluşması ve e-TZF'nin β -TCP'nin rejeneratif kapasitesini arttırması da kombine tedavinin üstünlüğünü göstermektedir. Diğer taraftan, e-TZF'nin g-TZF'ye göre daha düşük hızda santrifüjüne bağlı meydana gelen fibrin matriksi; mevcut TZF konsantrasyonları içerisinde en fazla PDGF, TGF- β , kollajen-1 ekspresyonu bulunduracak şekilde üstün özelliklere sahiptir. Sonuç olarak, e-TZF'de kullanıldığı gibi düşük kuvvette ve hızdaki santrifüj, hücrelerin proliferasyonuna ve migrasyonuna hızla etki etmekte ve sonuç olarak osteoblastik davranışı daha belirgin şekilde modüle edebilme kapasitesine sahip olabilmektedir (171, 175). Her ne kadar biz çalışmamızda tek başına e-TZF'yi kullanmamış olsak bile, yukarıda belirttiğimiz nedenden dolayı e-TZF + β -TCP kombinasyonu g-TZF'ye göre daha fazla yeni kemik oluşumunda etkili olmuş olabilir. Aynı zamanda, sekizinci haftada izlenen kemik iliğinin sadece Grup 2'de belirgin olduğu, kemiğin immatür komponentinin azalarak matür komponentinin hızla arttığı saptandı. Elde ettiğimiz bu veri doğrultusunda, g-TZF varlığının yeni oluşan kemik dokusunun maturasyonunda önemli bir role sahip olduğu görüşündeyiz. Diğer taraftan, rejenerasyon grupları içinde en az düzeyde yeni kemik dokusunu Grup 3'te oluştuğunu gözlemlediğimiz bulgulara göre, sadece osteokondüktif etkili β -TCP'nin osteoindüktif bir ajanla kullanımı halinde ancak başarılı sonuçlar alınabileceğini düşünmekteyiz.

Literatürde bizim çalışmamıza benzer biyomateryallerin kullanıldığı araştırmaların sonuçları kısmen benzerlik göstermektedir:

Hwang ve ark. tavşan modelinin parietal kemiklerinde her birinde dörder adet olmak üzere 8 mm çapında deneysel kemik defektleri oluşturmuşlardır. Defektlerin biri boş bırakılarak kontrol grubunu oluşturmuş, diğer defektlere ise seramik esaslı sentetik kemik greftleri olan HA, Bifazik kalsiyum fosfat (BCP) ve β -TCP uygulanarak yeni kemik oluşumunu değerlendirmişlerdir. Dördüncü ve sekizinci haftalarda yaptıkları histolojik

değerlendirmenin sonucunda elde ettikleri bulgulara göre dördüncü haftada kontrol grubundaki iyileşmenin gevşek bağ dokusu tipinde olduğunu ve sadece ince bir kemik tabakasının izlendiğini, sekizinci haftada ise iyileşme derecesi artsa da yeterli düzeyde kemik dokusunun oluşumunun sağlanamadığını bildirmişlerdir. Hidroksiapatit ve Bifazik Kalsiyum Fosfat (BCP) uygulanan gruplarda diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede yeni kemik oluşumunun görüldüğünü; sadece β -TCP uygulamasının ise yeni kemik oluşumunda başarısız olduğunu, greft partiküllerinin yeterince çözünmeye uğramayarak geniş rezorptif alanlar oluşturduğunu ancak yeni kemik oluşumu için yeterli alan sağladığını bildirmişlerdir (201).

Kovacs ve ark. otojen kemiğin dezavantajlarına karşılık yaptıkları çalışmalarında on adet köpek mandibulasında oluşturdukları deneysel defektlerde, her bir hayvanın sağ defektine β -TCP, sol defektine ise β -TCP + TZP kombinasyonunu uygulayarak; bu materyallerin kemiğin yeniden şekillenmesi ve kemik kalitesi üzerine olan etkinliklerini değerlendirmişlerdir. Deneklerin premolar dişleri de çekilerek kontrol grubunu oluşturmuş bu bölgedeki interdental kemiğin yoğunluğu tomografi yöntemi ile çalışma gruplarıyla karşılaştırılmıştır. Hayvanları rastgele iki ana gruba ayırarak altıncı ve 12. haftanın sonlarında sakrifiye etmişlerdir. Yaptıkları histolojik değerlendirmeye göre altıncı haftanın sonunda yeni kemik oluşumu bakımından iki grup arasında belirgin fark saptamayarak, her iki grupta da gözenekli yapıda osteoid matriks izlendiğini belirtmişlerdir. On ikinci haftada ise β -TCP'nin tamamıyla rezorpsiyona uğramadığını, yeni kemik dokusu oluşumunun yetersiz olduğunu ve β -TCP'nin pörözlü yapısının periferinde gerçekleştiğini saptamışlardır. On ikinci haftada β -TCP + TZP uygulanan grupta ise osteoklastların diğer gruba kıyasla daha belirgin şekilde azaldığını, lamellar kemik yapısının oluştuğunu ve bu durumun yeni kemik iyileşmesinde önemli bir gösterge olduğunu bildirmişlerdir. On ikinci haftada görülen sert doku iyileşmesinin β -TCP uygulanan grupta %51; β -TCP + TZP uygulanan grupta ise %65 olduğunu ve iki grup arasındaki bu farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğunu bildirmişlerdir ($p < 0.05$). Tomografik analiz sonucunda ise β -TCP + TZP grubunda elde edilen yeni kemiğin yoğunluğunun β -TCP'ye kıyasla daha fazla olduğunu ve iki grup arasındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğunu bildirmişlerdir ($p < 0.001$). Elde ettikleri bu veriler doğrultusunda β -TCP'nin tek başına kullanımının yeni kemik dokusu oluşumu bakımından yetersiz olduğunu saptamışlardır. Ancak; β -TCP'nin osteoindüktif etkinliğinin artırılması amacıyla trombosit kaynaklı ürünler ile birlikte kullanımları

sonucunda kemik iyileşmesinin indüklendiğini ve otojen kemiğe benzer sertlikte yeni kemik dokusunun elde edilebileceğini bildirmişlerdir (231).

Kim ve ark. bilateral sinüs ogmentasyon cerrahisi uyguladıkları 36 tavşan üzerinde TCP ve TZF'nin rejeneratif etkilerini histopatolojik değerlendirmişlerdir. TCP tek başına kullanılarak kontrol grubunu, rh-BMP kaplı TCP (grup A) ve TZF + TCP (grup B) uygulanan kaviterler ise çalışma gruplarını oluşturmuştur. Yaptıkları analize göre başlangıç aşamasında tüm gruplarda görülen göreceli inflamatuvar reaksiyon, yara bölgesindeki nötrofil infiltrasyonunun artışına bağlı olarak iyileşme süreciyle ilişkilendirilmiştir. Bu yanıtın, ilerleyen haftalarda azalarak devam ettiğini ve tüm gruplarda benzer şekilde düşük seviyede kaydedildiğini bildirmişlerdir. İlk haftada kontrol grubunda TCP etrafında sadece kırmızı kan hücreleri görülmüştür. Çalışma gruplarında ise ilk haftada Grup B'de daha belirgin olmak üzere kollajen lif agregasyonu tespit edilmiştir. İkinci haftada Grup A ve Grup B'de yeni kemik oluşumunun erken evresinde görülen osteoblastik proliferasyon ve kollajen lif sentezi oluşumunu tespit etmişlerdir. Dördüncü haftada çalışma gruplarının tümünde yeni kemik oluşumu tespit edilmesine rağmen; B grubunda oluşan kemiğin matür komponentinin yoğun formda olduğunu diğer gruplarda ise kemiğin halen immatür formda olduğunu saptamışlardır. Dördüncü haftada kontrol grubunda da yeni kemik dokusu oluşumu görülse de diğer gruplara göre çok düşük seviyede olduğunu bildirmişlerdir. Altıncı haftadan itibaren tüm gruplarda geniş kalsifiye odaklar görüldüğünü ve kalsifikasyon sürecinin sekiz haftada tamamlandığını belirtmişlerdir. rh-BMP2'nin, yeni kemik formasyonu ve osteoblastik farklılaşmayı direkt olarak arttırdığı yapılan invitro çalışmalarla kanıtlanmış olsa da; hücrel aktivasyon, kollajen sentezi ve yeni kemik formasyonu oranının Grup B'de (TZF + TCP) daha fazla olduğunu saptamışlardır. Elde ettikleri bu veriyi TZF fibrin matriksinden VEGF, PDGF-AB gibi kemik oluşumunda kritik önemli olan büyüme faktörlerinin erken salınımlarına bağlamışlardır. Sonuç olarak, TCP materyalinin tek başına kullanımlarının kemik matriksi oluşumu bakımından yetersiz olduğunu ancak; TZF materyali ile kombine kullanımları halinde osteoindüktivitenin de artarak daha başarılı sonuçlar elde edilebileceği kanısına varmışlardır (230).

Choukroun ve ark. TZF'nin sinüs ogmentasyon cerrahilerindeki rejeneratif etkisini değerlendirmek amacıyla dokuz hasta üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmalarında hastaları iki ayrı gruba ayırmışlardır. Üç hastaya sadece dondurulmuş kurutulmuş allojenik kemik grefti (kontrol grubu), altı hastaya ise dondurulmuş kurutulmuş allojenik kemik grefti ile

kombine şekilde TZF uygulaması yapılmıştır. Kontrol grubundan sekiz ay sonra, çalışma grubundan ise dört ay sonra biyopsi alınarak dental implant uygulamışlardır. Yaptıkları histopatolojik analiz sonucunda TZF fibrin matriksindeki büyüme faktörlerinin iyileşmeye olumlu yönde rehberlik ederek osteosit sayılarını hızlıca arttırdığını tespit etmişlerdir. Yeni kemik formasyonu bakımından gruplar arasında önemli bir fark bulunmadığını ve iki gruptaki maturasyonun eş değer olduğunu bildirmişlerdir. Elde ettikleri veriler sonucunda sinüs ogmentasyon prosedürlerinde greftle kombine şekilde TZF uygulamasında kullanılan greft miktarının azaldığını, greftin revaskülarizasyonunun arttığını ve bu sayede kemik rejenerasyonunun hızlanarak implant cerrahisi için beklenilmesi gereken sürenin de kısaldığını bildirmişlerdir (232).

e-TZF'nin greft integrasyonuna olan etkilerinin incelendiği bir çalışmada; maksiller sinüs kavitesinde deprotenize sığır kemiği grefti ile e-TZF kombine kullanılarak, elde edilen blok formun anjiojenik ve osteojenik kapasitesi histolojik ve radyolojik yöntemlerle değerlendirilmiştir. Bilateral maksiller sinüs cerrahisi yapılan tavşan modellerinde, sağ sinüs kavitesine sadece kemik grefti uygulanmış, sol kaviteye ise greft + e-TZF uygulanarak yapışkan kemik (sticky bone) formasyonu elde edilmiştir. Yapılan histolojik analiz sonucunda e-TZF kullanılan kavitede, diğer gruba göre sinüs membranı etrafında anlamlı derecede daha fazla yeni kemik oluşumu görüldüğünü vurgulamışlardır. Sadece greft kullanılan gruba göre iki katı yoğunlukta hücresel migrasyon sağlanmasından dolayı erken iyileşme aşamasında bile vaskülarizasyon sağlanarak, matür kollajen fiberlerin oluştuğunu ve daha fazla kemik dokusu oluşumu saptamışlardır. e-TZF grubunda erken evredeki yeni kemik formasyonunun çok hızlı şekilde sağlandığını ancak geç evrede bu farkın belirgin olmadığını bildirmişlerdir. Ancak; mikro bilgisayarlı tomografik analizleri sonucunda ise grefte e-TZF eklenmesinin yeni oluşacak kemik hacmi üzerinde önemli bir etkisi olmadığını tespit etmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda; greft ile e-TZF integrasyonunun, iki kat daha hızlı hücre migrasyonu sağlaması ve osteoprojenitör hücreleri hızla uyarması sebebiyle sinüs ogmentasyon prosedürlerinde başarılı sonuçlar verebileceğini bildirmişlerdir (185).

Chencev ve ark. travma sonucunda kısmi alveoler fraktür ile birlikte 11 no'lu dişini kaybeden hastada kemik ogmentasyonu sağlayabilmek amacıyla ksenogreft ile e-TZF'yi birlikte kullanıp, ilgili bölgenin üzerini g-TZF membran ile primer kapatmışlardır. Dört ay sonra alınan kontrol bilgisayarlı tomografisine göre oluşan yeni kemik hacminin dental implant uygulamasına elverişli olduğunu saptayarak kaybedilen dişin yerine implant

uygulanması yapmışlardır. Yaptıkları analiz sonucunda e-TZF'nin anjiyogenezi ve kök hücre migrasyonunu stimüle etmesi sayesinde kemik onarımının başarıyla tamamlandığını ve TZF bazlı matrikslerin, kemiğe biyolojik konnektör olduğunu belirtmişlerdir. Kemik greftine e-TZF eklenmesinin, greftin hacmini arttırarak, grefte olan ihtiyacı azalttığını bildirmişlerdir. Ayrıca sentetik membran yerine otolog bir kaynak olan g-TZF membranının, hem maliyeti düşürdüğünü hem de grefti stabilize ederek sert ve yumuşak doku iyileşmesini hızlandığını belirtmişlerdir (181).

Miron ve ark. e-TZF'nin hücrel proliferasyon, migrasyon, sitokin ve büyüme faktörleri salınımı üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Elde ettikleri sonuçlar neticesinde TZP'den erken dönemde anlamlı derecede yüksek seviyede büyüme faktörü salındığını, e-TZF'deki büyüme faktörlerinin (PDGF, VEGF EGF) ise uzun süreli ve kademeli şekilde salındığını bildirmişlerdir. Hücrel proliferasyonda TZP'nin, hücrel migrasyonda ise e-TZF'nin daha yüksek değer aldığı bildirilmiştir. e-TZF uygulanması ile PDGF-AB, PDGF-BB, TGF- β 'nın anlamlı seviyede yüksek değerlere sahip olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda kollajen-1 vb. genlerin ekspresyonunda da TZP'ye kıyasla yüksek değerler gösteren e-TZF'nin doku rejenerasyonunda etkin ve hızlı sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir (150).

Varela ve ark. yaptıkları çalışmalarında, e-TZF ile periferik kan örneklerini immünohistokimyasal ve elektron mikroskopuyla inceleyerek karşılaştırmıştır. e-TZF'nin fibrin matriksinin içeriğinde periferik kana göre daha yoğun miktarda trombosit, lökosit, tip 1 kollajen, osteokalsin, IL-1 ve büyüme faktörlerini içerdiğini ve tüm hücrelerin düzenli şekilde dağılım gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bir diğer önemli bulgu olarak; e-TZF'de yoğun miktarda bulunan tip 1 kollajenin; osteoblast hücrelerin farklılaşmasını uyaran ekstrasellüler matriks oluşumunu sağlayarak, bu sayede etkin ve tutarlı bir doku iyileşmesinin meydana gelebileceğini bildirmişlerdir (233).

Çalışmamızın bulgularından kısmen farklı olarak; Yılmaz ve ark. 12 haftalık kemik iyileşmesi periyodunda TZF ile β -TCP'nin birlikte kullanımını histopatolojik olarak değerlendirmişlerdir. Üç adet domuz tibiası modelinde gerçekleştirdikleri çalışmalarında, hayvanların her bir bacağına dörder adet deneysel defekt oluşturmuşlardır. Grup 1 boş bırakılmış, Grup 2'ye TZF, Grup 3'e β -TCP ve Grup 4'e ise β -TCP + TZF uygulanmıştır. Grup 1'de defekt alanında sadece immatür kemiğin olduğu, az sayıda osteosit görüldüğü ve en düşük düzeyde kemik dokusu oluşumunun gerçekleştiği saptamışlardır. Grup 2'de fazla

sayıda trabekülasyon ve belirgin osteosit görüldüğü, ancak lamellar yapının bulunmadığı gözlenirken; Grup 3'te kemik kalitesinin ilk iki gruptan daha iyi olduğu ve osteonların düzgün sıralandığı tespit edilmiştir. Grup 4'te ise en fazla düzeyde yeni kemik dokusunun olduğu, osteonların en belirgin şekilde bu grupta izlendiği ve kemik iliğinin sadece bu grupta olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada bizim bulgularımızdan farklı olarak β -TCP, TZF'ye göre daha fazla yeni kemik oluşturmuştur. Bununla birlikte araştırmacılar, bizim bulgularımıza benzer şekilde β -TCP + TZF kombinasyonunun osteoblast ve osteosit sayılarının artarak diğer gruplara kıyasla daha fazla yeni kemik formasyonu sağlandığını da vurgulamışlardır (128).

Yukarıdaki çalışmaların bulgularını özetleyecek olursak; kemik defektlerinin tedavisinde sadece β -TCP uygulamasının, ancak tedavi süresinin uzaması halinde yeni kemik formasyonunun arttırabileceği sonucuna varılabilir. Bu bulgulara göre, greftle (β -TCP) kombine şekilde veya tek başına TZF bazlı matriks kullanılması halinde ise hızlı ve efektif şekilde yeni kemik formasyonu elde edilebileceği görüşü yaygındır.

Çalışmamızın bulgularını yukarıdaki çalışmaların bulgularıyla bir arada değerlendirdiğimizde; TZF bazlı biyomateryaller kullandığımız gruplarda (e-TZF, g-TZF) otolog fibrin matriksin doku onarımını tetiklemesinin sonucunda, sadece β -TCP ve rejeneratif tedavi uygulanmamış gruplara göre, daha fazla rejeneratif kapasite gösterirken; çalışmamızdaki en ideal rejenerasyon e-TZF + β -TCP kombinasyonunda sağlanmıştır. Sonuç olarak literatürdeki diğer araştırmalara benzer şekilde, TZF'nin organize ağ yapısında bulunan rejeneratif öncü hücrelerinin, direkt olarak kök hücrelerini etkileyerek epitelyal migrasyonu arttırdığı ve yara iyileşmesinin her safhasında yeterli etki gösterebilme yeteneğine sahip olduğunu düşünmekteyiz (173).

Çalışmamızda kullandığımız biyomateryallerin, rejeneratif potansiyelini tespit etmek amacıyla oluşturduğumuz kemik defektlerinde travmaya bağlı ve aynı zamanda kullanılan rejeneratif materyallerin kemikte meydana getirdiği doku yanıtıyla ilişkili olarak immünoinflamatuvar cevap meydana gelmektedir. Histomorfometrik analiz, her bir biyopsi örneğinden birkaç adet histolojik kesit alınarak incelenen; dokuya uygulanan biyomateryallerin iyileşmesi esnasında görülen yapısal değişikliklerin ve yeni oluşan kemik miktarının ölçülebilmesini sağlayan güvenilir bir yöntemdir (234, 235). Çalışmamızda histomorfometrik analiz kapsamında; inflamasyon derecesi, osteoklastik aktivite,

osteoblastik aktivite, osteosit aktivasyonu, yeni kollajen lif sentezi ve yeni kemik matriks sentezi incelendi.

Çalışmamızda, oluşan inflamasyonun derecesini tespit etmek amacıyla; defektlerden alınan histolojik kesitlere histomorfometrik skora yöntemi uygulandı. Dördüncü hafta inflamasyon derecesinin ortalama değerleri, tüm gruplar arasında fark göstermezken; sekizinci hafta sadece Grup 3 (β -TCP) ile Grup 4 (tedavi uygulanmayan) arasında görülen ortalama değer farkı istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Sekizinci hafta inflamasyon derecesi β -TCP grubunda tedavi uygulanmayan gruba göre daha yüksekti. İnflamasyon derecesi ortalama değerleri, sekizinci haftada dördüncü haftaya göre g-TZF ve tedavi uygulanmayan gruplarında azalırken ($p < 0.05$), diğer gruplarda istatistiksel olarak herhangi bir farklılık gözlenmedi. Bununla birlikte biyomateryal uygulanan gruplar arasında her iki iyileşme döneminde de en düşük inflamasyon derecesi kombine grupta gözlemlendi. İnflamasyon bulgularını değerlendirecek olursak; TZF bazlı matriks kullandığımız gruplarda (Grup 1, Grup 2) sadece greft kullanılan (Grup 3) gruba kıyasla daha düşük inflamatuvar yanıt olduğunu saptadık. Özellikle e-TZF + β -TCP kullandığımız grupta en düşük inflamatuvar yanıtı görmemiz; e-TZF'nin, güçlü antiinflamatuvar etkili TGF- β 'yı diğer TZF formülasyonlarına göre daha fazla miktarda bulundurması ile ilgili olabileceğini düşünmekteyiz (171). Aynı zamanda, g-TZF kullandığımız grupta da düşük inflamatuvar yanıtı tespit etmemizi ise g-TZF'nin nükleer faktör- κ B sinyal yolağından gelen inflamatuvar cevapları direkt olarak modüle edebilme kapasitesine bağlamaktayız (235). En yüksek inflamatuvar yanıtı Grup 3'te saptamamız ve Grup 4 ile arasında istatistiksel açıdan farklılık bulunması sonucunu ise ($p < 0.05$); sekiz haftalık tedavi kapsamında β -TCP'nin fiziksel özelliklerinin inflamatuvar yanıtı engellemede yetersiz kalmasına ve organizma tarafından yeterince tolere edilememesine ya da rezidüel greft artıklarının enfektif odak oluşturmaya bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda kullandığımız biyomateryallerin, osteoblastik ve osteoklastik aktivasyonunu değerlendirerek, kemik yapım ve yıkım mekanizmaları arasındaki denge/dengesizliği incelemeyi amaçladık. Osteoklastik mekanizma tüm gruplarda dördüncü ve sekizinci haftalarda istatistiksel olarak fark göstermezken ($p > 0.05$); osteoblastik potansiyelin dördüncü hafta e-TZF + β -TCP grubunda tedavi uygulanmayan gruba göre daha yüksek olduğu ($p < 0.01$) ve sekizinci hafta tüm gruplar arasında fark göstermediği tespit edildi ($p > 0.05$). Diğer taraftan, osteoklastik aktivite sekizinci haftada dördüncü haftaya

göre tüm gruplarda azaldı ($p < 0.05$). Osteoblastik aktivite ise, tüm gruplarda sekizinci haftada dördüncü haftaya göre artarken bu artmanın (β -TCP grubu hariç) istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p < 0.05$). Özetleyecek olursak; osteoklastik aktivitenin en az düzeyde ve osteoblastik aktivitenin ise en yüksek düzeyde olduğu grubun, e-TZF + β -TCP grubu olduğu gözlemlendi. Aynı zamanda osteoklastik aktivitenin en fazla ve osteoblastik aktivitenin en az olduğu grup β -TCP grubu idi. Bulguları bir arada değerlendirdiğimizde, genel olarak osteoblastik aktivitenin Grup 1’de Grup 4’e kıyasla anlamlı derecede fazla olması ($p < 0.01$); e-TZF + β -TCP kombinasyonunun kemik defektlerinin erken iyileşme döneminde osteoblast hücrelerinin aktivasyonunda direkt olarak etkili olduğunu ortaya koymaktadır (150).

Çalışmamızda aynı zamanda kemiğin yük taşıma kapasitesini saptamak ve buna bağlı matür komponentini belirlemek amacıyla, osteosit hücre aktivasyonu histomorfometrik olarak incelendi. Sekizinci haftada osteosit aktivasyonunun ortalama değerleri, tüm gruplar arasında fark göstermezken ($p > 0.05$); dördüncü haftada sadece Grup 1 (e-TZF + β -TCP) ile Grup 3 (β -TCP) arasında görülen ortalama değer farkı istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Aktivasyon değerleri, sekizinci haftada dördüncü haftaya göre tüm gruplarda artarken; bu artışın gruplarda (e-TZF + β -TCP grubu hariç) istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p < 0.05$). En yüksek osteosit aktivasyonunun her iki zaman aralığında da e-TZF + β -TCP grubunda olduğu tespit edildi. Dördüncü haftada görülen osteosit aktivasyonunun Grup 1’de Grup 3’e kıyasla anlamlı derecede yüksek olmasını ($p < 0.05$), e-TZF’nin, kemik iyileşmesinin özellikle erken evrelerinde osteoprogenitör hücrelerin osteoblastlara dönüşümünü sağlayan TGF- β salmasının (140) ve lokal anjiyogenezi uyarmasının (171); β - TCP’nin üzerinde yeni kemik formasyonu bakımından pozitif yönde etki etmesiyle açıklamaktayız. Bulgularımız kombine tedavinin üstünlüğünü vurgulamaktadır.

Çalışmamızda; kemiğin doku bütünlüğünü sağlayan, elastisite direncini belirleyen ve kemiğin mekanik dayanımında görevli olan kollajen lif sentezi histomorfometrik analiz kapsamında incelendi. Kollajen lif sentezi, tüm gruplarda dördüncü ve sekizinci haftalarda fark göstermez iken ($p > 0.05$), en yüksek sentezin her iki zaman aralığında da e-TZF + β -TCP grubunda, en düşük değer ise dördüncü haftada kontrol ve sekizinci haftada ise β -TCP grubunda olduğu saptandı. Sentez değerleri, sekizinci haftada dördüncü haftaya göre tüm gruplarda artarken; bu artışın gruplarda (e-TZF + β -TCP grubu hariç) istatistiksel olarak

anlamli olduğu saptandı ($p < 0.05$). Rejeneratif potansiyeli en yüksek bulunan Grup 1'in, sentez değerlerinin sekizinci haftada dördüncü haftaya göre anlamli derecede artmaması e-TZF'den daha çok β -TCP'nin daha düşük rejeneratif potansiyeli ile ilişkili olabilir.

Farklı biyomateryallerin uygulandığı veya hiçbir tedavinin uygulanmadığı durumlardaki kemik defektlerindeki yeni kemik alanını saptamak amacıyla, yeni kemik matriksi incelendi. Dördüncü ve sekizinci hafta matriks değerleri tüm gruplar içinde en yüksek e-TZF + β -TCP grubunda gözlenirken; dördüncü haftada e-TZF + β -TCP grubunun, tedavi uygulanmayan gruba göre matriks değerlerinin anlamli derecede yüksek olduğu ($p < 0.05$), sekizinci hafta değerlerinin ise gruplar arasında fark göstermediği ($p > 0.05$) tespit edildi. Ayrıca yeni kemik matriks değerlerinin, tüm gruplarda sekizinci haftada dördüncü haftaya göre yüksek olduğu saptandı ($p < 0.05$). En yüksek matriks değerlerinin her iki zaman periyodunda da e-TZF + β -TCP grubunda olduğu tespit edildi. En düşük matriks değerinin ise dördüncü haftada tedavi uygulanmayan grupta, sekizinci haftada ise β -TCP grubunda olduğu saptandı. Sonuç olarak, yeni kemik matriksi oluşumu açısından e-TZF + β -TCP grubu diğer parametrelerde olduğu gibi üstünlük göstermiştir.

Yukarıdaki histomorfometrik bulgularımızı özetleyecek olursak hem dördüncü hem de sekizinci haftalardaki histomorfometrik analiz verilerinin sonuçları e-TZF + β -TCP grubunun diğer gruplara göre daha üstün osteoblastik potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Sekizinci haftada elde ettiğimiz histomorfometrik bulgulara göre Grup 1'de (e-TZF + β -TCP), Grup 2 (g-TZF), Grup 3 (β -TCP) ve Grup 4'e göre daha az osteoklast aktivasyonu saptanırken; daha fazla osteoblast ve osteosit hücreleri aktivasyonu, daha fazla yeni kollajen lif sentezi ve daha fazla yeni kemik matriks sentezi oluştuğu gözlemlendi. Bir diğer deyişle, e-TZF ile β -TCP'nin birlikte kullanıldığı grubun histomorfometrik ölçümünde osteogenetik hücre aktivasyonu en fazla düzeyde saptandı. Kombine grubun yanı sıra, diğer grupların içerisinde en fazla osteojenik hücre potansiyelin g-TZF grubunda olduğu ve β -TCP grubunun ise sadece kontrol grubuna göre daha fazla osteojenik potansiyele sahip olduğu tespit edildi. Diğer taraftan, sekizinci haftada kontrol grubunda β -TCP grubuna göre histomorfometrik olarak daha fazla osteogenetik hücre tespit edilse de kontrol grubundaki osteogenetik hücrelerin gerekli organizasyonu gösterememesinden dolayı, her iki iyileşme döneminde de en düşük düzeydeki yeni kemik formasyonunun kontrol grubunda olduğu gözlemlendi. Aynı zamanda, kontrol grubundaki hücre fonksiyonların, bağ dokusu hücrelerinin proliferasyonu yönünde (kollajen lif yapımı ve ekstrasellüler matriks oluşumu)

olduğu; matriksin organik komponentinin arttığı ve sonuç olarak iyileşmenin fibrotik tarzda gerçekleştiği tespit edildi.

Literatürde bizim çalışmamıza benzer biyomateryallerin kullanıldığı araştırmaların sonuçları kısmen benzerlik göstermektedir:

Chary ve ark. g-TZF membranların erken implantasyonda ve soket koruma yöntemlerindeki etkisini histomorfometrik olarak incelemişlerdir. Çalışmalarında, her biri 10 hastadan oluşan iki gruba atravmatik çekim uygulayarak, ekstraksiyon soketlerine g-TZF membran yerleştirmişlerdir. Hastalar, rastgele iki gruba ayrılarak ilk gruba altıncı haftada, diğer gruba ise sekizinci haftada dental implant tedavisi uygulanmıştır. Cerrahi operasyon esnasında çekim soketlerinden biyopsi alınmıştır. İmplantlar yerleştirildikten sonra ölçülen tork değerleri sırası ile sekiz haftalık grupta 34.50 N/cm ölçülürken, bu değer altı haftalık grupta ise 25.50 N/cm olarak ölçülmüştür ($p < 0.05$). Kemik kalitesini tayin etmek amacıyla yaptıkları histomorfometrik analize göre altıncı haftada oluşan osteoid formasyon sekizinci haftada altıncı haftaya kıyasla daha yüksek ölçülmüştür ($p < 0.05$). Sekizinci haftada oluşan yeni kemik formasyonunun, altıncı haftaya kıyasla belirgin düzeyde fazla olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Elde edilen bu bulgular doğrultusunda, atravmatik çekim sonrası planlanan erken implantasyon prosedürlerinde, ekstraksiyon soketlerinin yeniden şekillenmesi amacıyla kullanılan g-TZF membranların her iki iyileşme döneminde de tatmin edici iyileşmeyi sağladığını ve g-TZF'nin osteogenez için iyi bir iskele olduğunu belirtmişlerdir (164).

Yoon ve ark. 10 adet tavşan üzerinde yaptıkları çalışmalarında, her bir kafatasında ikişer adet olmak üzere 7 mm çapında deneysel kemik defektleri oluşturmuşlardır. Defektlerin birine sadece ksenogreft (kontrol) diğerine ise ksenogreft + TZF (deney) kombinasyonu uygulayarak hayvanları rastgele birinci, ikinci ve dördüncü haftalarda sakrifiye etmişlerdir. İmmünohistokimyasal boyama tekniği ile VEGF ekspresyonu değerlendirilerek tüm iyileşme dönemlerindeki VEGF konsantrasyonunun deney grubunda daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Yaptıkları histomorfometrik analize göre tüm gruplarda haftalar ilerledikçe kemik rejenerasyonunun arttığı tespit edilmiştir. Dört haftalık tedavi sonucunda ksenogreft + TZF grubundaki yeni kemik formasyonunun sadece ksenogreft kullanılan gruba göre daha fazla olduğu saptansa da; gruplar arasında belirgin bir fark görülmediği bildirilmiştir (236).

Clark ve ark. g-TZF'nin yeni kemik formasyonu üzerindeki etkinliğini değerlendirebilmek amacıyla yaptıkları çalışmalarında, atravmatik diş çekimini takiben çekim soketlerine g-TZF, g-TZF + Demineralize dondurulmuş kemik grefti (DDKG), sadece DDKG uygulamış ve kontrol grubunu boş bırakmışlardır. İmplant yerleştirmek için kemiğe 15 haftalık iyileşme süresi vermişlerdir. İyileşme sürecinin sonunda çekim soketlerinden aldıkları biyopsinin histomorfometrik incelemesine göre yeni oluşan vital kemiğin en yüksek g-TZF grubunda (%46), en düşük ise DDKG grubunda (%29) saptandığını bildirmişlerdir (p < 0.05). Çalışmalarının sonucunda ise g-TZF'nin sahip olduğu fibrin matriksin yeni oluşan dokular için iyi bir iskele olduğunu, oluşan yeni kemik alanının implant yerleştirmek için tatmin edilir düzeyde olduğunu ve greftle kombine şekilde kullanımlarının ise rejeneratif açıdan belirgin bir fark yaratmadığını bildirmişlerdir (163).

Dayashankara ve ark. TZF tabanlı ürünlerin sert ve yumuşak doku iyileşmesine olan etkilerini değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmalarında; unilateral alveoler yarığa sahip 30 hastayı iki gruba ayırarak, bir gruba kortikokanselöz iliak kemik grefti + e-TZF ve g-TZF membran (Grup A); diğer gruba ise yalnızca iliak kemik grefti (Grup B) uygulamışlardır. Cerrahiden 15 gün önce ve post-operatif üçüncü ve altıncı aylarda yarık hattına bitişik olan dişlerdeki periodontal durumu değerlendirmek amacıyla cep derinliği ve mobilite ölçerek iki boyutlu film almışlardır. Elde ettikleri verilere göre, periodontal durumun her iki grupta da iyileşme gösterdiğini ancak Grup A'da (greft + e-TZF + g-TZF) cep derinliğinin ve mobilitenin daha fazla miktarda azaldığını belirtmişlerdir. Tek başına otojen greft kullanmanın alveoler yarık tedavisinde yetersiz olduğunu ve e-TZF ile birlikte kullanımı sayesinde greft miktarının azaldığını bildirmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda TZF bazlı materyallerin, daha fazla kemikleşme sağladığını, kemik hacmini arttırdığını ve rezorpsiyon miktarının da azaldığını bildirmişlerdir (209).

Choukroun ve ark. yapmış oldukları çalışmalarında maksiller bölgede odontojenik kist enükleasyonu yaparak, açığa çıkan kaviteyi TZF ile doldurmuşlardır. Normal koşullarda ortalama 12 ay süren iyileşme döneminin, TZF sayesinde iki ay gibi kısa bir sürede gerçekleştiğini bildirmişlerdir (161).

Zhang ve ark. ratlar üzerinde deneysel defektler oluşturarak, ilgili bölgeye e-TZF enjekte etmişler ve e-TZF'nin inflamatuvar yanıtla ilişkili hücreler üzerindeki etkinliğini immüno Floresan ve invitro yöntemlerle değerlendirmişlerdir. Hayvanların sol bacak kasına (kontrol grubu) jelatin sünger ve Stafilokokus Aureus (S. Aureus), sağ bacaklarına (deney

grubu) ise jelatin sünger, S. Aureus ve e-TZF uygulaması yapmışlardır. Çalışmalarının sonucunda, e-TZF uygulanan grupta, makrofajların M1 fenotipindeki proinflamatuvar yanıtı azalttığını, defekt bölgesindeki bakteriyel suşların azalarak; dendritik hücrelerin aktive olduğunu ve lipopolisakkaritlerin neden olduğu inflamatuvar yanıtın da azaldığını saptamışlardır. Elde ettikleri bulgular doğrultusunda e-TZF'nin bağışıklık sistemini desteklediğini ve rejeneratif cerrahi işlemlerde, inflamatuvar hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği kanısına varmışlardır (237).

Literatürde bizim bulgularımıza benzerlik gösteren çalışmalar olduğu gibi farklılık gösteren çalışmalar da bulunmaktadır:

Çalışmamızın bulgularından kısmen farklı olarak, Titsinides ve ark. 16 adet domuz üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmalarında her bir kafatasına dörder adet deneysel kemik defektleri oluşturmuşlardır. İlk grup boş bırakılmış, ikinci gruba β -TCP esaslı sentetik kemik grefti, üçüncü gruba deproteinize sığır kemiği ve dördüncü gruba insan kaynaklı kemik allogrefti uygulayarak sekizinci ve 12. haftalarda hayvanları sakrifiye etmişlerdir. Sekizinci hafta yaptıkları histopatolojik analizlerinde tüm gruplarda yeni kemik formasyonu olduğunu; 12. haftada ise sekizinci haftaya kıyasla tüm gruplarda greft partiküllerinin daha organize form aldığını ve daha fazla lamellar kemik yapısı oluştuğunu tespit etmişlerdir. On ikinci haftada en fazla yeni kemik formasyonu β -TCP grubunda saptanırken; araştırmacılar bizim bulgularımızdan farklı olarak sekizinci haftada β -TCP'nin kontrol grubuna göre daha az düzeyde yeni kemik formasyonu oluşturduğunu saptamışlardır. Bu durumu, β -TCP'nin kemik iyileşme prosesinde erken safha yerine onarım safhasında etkinleşmesine bağlamışlardır. Elde ettikleri bu bulguya dayanarak β -TCP'nin erken safhada da etkinlik gösterebilmesi açısından farklı materyallerle kullanılması gerektiğini düşünmüşlerdir. β -TCP'nin diğer greft gruplarına kıyasla daha iyi düzeyde yeni kemik formasyonu sağlamasını ise β -TCP partiküllerinin daha hızlı çözünmeye uğraması kaynaklı olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda β -TCP'nin kemik dolumunda etkin bir şekilde rejenerasyon sağladığını bildirmişlerdir (238).

Çalışmamızın bulgularından kısmen farklı olarak, Bölükbaşı ve ark. altı adet koyun tibiasının her birine 5 mm çapında dörder adet deneysel defektler oluşturmuşlardır. İlk defekt boş bırakılarak kontrol grubunu oluşturmuş ve diğerlerine sırasıyla BCP, TZF, BCP + TZF uygulamışlardır. Hayvanları rastgele üç gruba ayırarak 10., 20. ve 40. günlerde sakrifiye etmişlerdir. Yaptıkları histomorfometrik analize göre inflamasyon derecesi 10. günde en

düşük Bifazik kalsiyum fosfat (BCP) ve TZF gruplarında; en yüksek ise BCP + TZF grubunda olduğu saptanmıştır. İnflamasyon derecesi 20. günde ise en düşük BCP ve TZF gruplarında saptanırken; en yüksek kontrol grubunda saptanmıştır ($p < 0.05$). Tüm iyileşme dönemlerinde en yüksek yeni kemik formasyonu BCP + TZF grubunda saptanırken; en düşük yeni kemik formasyonu ise, kontrol grubunda saptanmıştır. BCP + TZF uygulanan grupta 10. günde yeni kemik formasyonunun başladığını ve bunun TZF'nin erken evrede de etkin olduğu ile alakalı olduğunu bildirmişlerdir. BCP + TZF ve BCP kullanılan gruplarda 20. ve 40. günlerde trabeküllerin etrafında mezenşimal hücreler tespit edilerek greftin etrafında bulunan fibrotik dokuların azaldığını; yerini yeni kemik dokusunun aldığını gözlemlemişlerdir. Bu çalışmada bizim bulgularımızdan farklı olarak her iki iyileşme döneminde de en düşük seviyedeki inflamasyon derecesi BCP ve TZF uygulanan gruplarda tespit edilmiştir. Araştırmacılar bizim bulgularımıza benzer şekilde kombine tedavinin yeni kemik formasyonu bakımından daha olumlu sonuç verdiğini belirtmişlerdir (239).

Çalışma protokolü bizim çalışmamızdan farklı olduğu halde; Kılıç ve ark. 26 hastada gerçekleştirmiş oldukları maksiller sinüs cerrahisinde, her bir hastanın sinüs kavitelerine sırası ile β -TCP (kontrol grubu), β -TCP + TZP (Grup A) ve β -TCP + TZF (Grup B) uygulayarak kapatmışlardır. Altı ay sonra implant yataklarındaki kemikten 2 mm'lik trephan frezler kullanılarak biyopsi alarak, dental implant yerleştirmişlerdir. Histomorfometrik analiz sonuçlarında, en fazla yeni kemik formasyonunu ve osteoprojenitör hücre aktivasyonunu; en düşük inflamasyon derecesini β -TCP + TZP kullanılan grupta saptamışlardır. En düşük yeni kemik formasyonunu ve osteoprojenitör hücre aktivasyonunu; en yüksek inflamasyon derecesinin ise β -TCP + TZF kullanılan grupta olduğunu bildirmişlerdir. Osteoblastik aktivasyonun en yüksek β -TCP + TZF grubunda, en düşük β -TCP grubunda olduğunu tespit etmişlerdir. İlginç bir bulgu olarak TZF uygulanan grupta daha fazla inflamasyon görülmesini ve daha az osteoprojenitör hücre bulunmasını ($p < 0.001$); TZP'nin erken evrede sitokin salarak inflamasyonu baskılamasına ve β -TCP + TZP'nin, β -TCP + TZF'ye kıyasla daha fazla öncül hücre barındırabileceğine bağlamışlardır. Çalışmalarının sonucunda her üç materyalin de kemik onarım mekanizmasını desteklediğini ancak β -TCP'nin yavaş çözündüğünden dolayı kombine edildikleri materyallerin de yeni kemik oluşumu sağlamalarındaki etkilerini geciktirdiğini vurgulamışlardır. Bu çalışmada bizim bulgularımıza benzer şekilde, osteoblastik hücre aktivasyonunu en yüksek β -TCP + TZF kombinasyonunda; en düşük ise sadece β -TCP uygulanan grupta olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar bizim bulgularımızdan farklı

olarak β -TCP'nin osteoindüktif bir ajanla kullanımının yeni kemik oluşumunda belirgin bir etkisi olmadığını ve β -TCP + TZF kombinasyonunun, TZF'nin inflamatuvar etkisini azalttığını bildirmişlerdir (234).

Bir diğer çalışmada da Xin ve ark. 24 tavşan üzerinde yaptıkları çalışmalarında g-TZF membranlar ile kollajen membranların yeni kemik oluşumuna olan etkilerini karşılaştırmak amacıyla post operatif birinci ve dördüncü haftalarda histomorfometrik ve histopatolojik analiz yapmışlardır. Deneklerin maksiller sinüslerine deproteinize sığır kemiği + kollajen membran (Grup 1) ve deproteinize sığır kemiği + g-TZF membran (Grup 2) kombinasyonlarını uygulamışlardır. Birinci hafta yaptıkları histopatolojik analizlerinde g-TZF'nin gözenekli yapısının daha iyi beslenme sağladığını ve kemik trabekülasyonlarının yoğun olduğunu, kollajen membran kullanılan grupta ise çok az düzeyde yeni kemik oluşumu görüldüğünü belirtmişlerdir. Histomorfometrik analizleri sonucunda ise her iki haftada görülen inflamasyon derecesinin Grup 2'de daha düşük olduğunu belirtmişlerdir ($p < 0.001$). Tüm iyileşme dönemlerinde Grup 2'de görülen osteoid formasyon skorunun, Grup 1'e kıyasla daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir ($p < 0.001$). Grup 2'deki osteoklastik aktivasyon skorunun ise, her iki iyileşme döneminde de Grup 1'e kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p < 0.001$). Grup 2'de daha fazla kemik oluşumuna rağmen Grup 1'e göre daha yoğun düzeyde osteoklastik aktivasyon görülmesinin, aktif kemik rekonstrüksiyon süreci ile ilgili olduğunu belirtmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre kollajen membran kullanılan grupta oluşan aşırı inflamasyon nedeniyle osteojenik hücrelerin fizyolojik fonksiyonlarının engellenebileceğini ve bu nedenle yeterli kemik elde edilemediğini bildirmişlerdir. g-TZF'nin sahip olduğu biyoaktif faktörlerin inflamatuvar süreci erken evreden itibaren hızlıca onarım sürecine çevirdiğini ve böylece osteojenik paternin periferden merkeze doğru yönelerek sinüs boşluğunun sürekli yenilenerek kemik yapımı ve yıkımı arasında dinamik bir dengeye ulaşıldığını belirtmişlerdir. Ek olarak, ortama hızlıca büyüme faktörlerini salarak immünojenik olan uygun bir biyoaktif bariyer oluşturduğunu vurgulamışlardır. Sonuç olarak bu çalışmada bizim bulgularımızdan farklı olarak otolog g-TZF kullanılmasına rağmen, sentetik membran kullanılan gruba göre daha fazla osteoklast aktivasyonu izlenmiştir. Araştırmacılar, bizim bulgularımıza benzer şekilde g-TZF kullanılmasıyla diğer gruba kıyasla daha az inflamasyon oluştuğunu ve daha fazla yeni kemik formasyonu sağlandığını da vurgulamışlardır (235).

Yukarıdaki çalışmaların bulgularını bir arada değerlendirdiğimizde, TZF tabanlı

ürünlerin kullanımıyla hücreler arasındaki bağlantının arttırdığı ortaya koyulmuştur (240). Bu ürünlerin kemik greftleriyle birlikte kullanımları halinde greft materyalinin stabilizasyonunun ve damarlanmasının artarak, hızlı bir şekilde ve optimal kalitede bir kemiğin elde edilebileceği görülmüştür. Diğer yandan, g-TZF'nin ise tek başına kullanımında dahi yeni kemik formasyonunu hızlı bir şekilde uyardığını ve doku yenilenmesinde görevli hücreleri ortama sağlayan ideal bir biyomateryal olduğu görüşü hakimdir.

Bizim çalışmamızın bulgularını yukarıdaki çalışmaların bulgularının rehberliğinde değerlendirdiğimizde; e-TZF + β -TCP kombinasyonunu kullandığımız grupta; e-TZF'nin, β -TCP partikülleri arasına difüze olarak greft materyalinin özelliğini iyileştirdiği ve β -TCP için iyi bir taşıyıcı olduğu görülmektedir. Böylelikle bu kombine tedavi, sadece β -TCP veya g-TZF uygulanan ve herhangi bir rejeneratif materyal uygulanmayan gruplara göre; osteoblastik aktivasyon, osteogenetik hücre potansiyeli, yeni kollajen lif sentezi ve yeni kemik matriks oluşumu gibi histopatolojik ve histomorfometrik parametrelerde daha yüksek başarı göstermiştir. Literatürdeki diğer araştırmalara benzer şekilde, e-TZF + β -TCP'nin oluşturduğu büyüme faktörleri ve sitokinlerden oluşan hücreden zengin biyolojik ortam sayesinde (150) daha hızlı kemik formasyonu elde edildiğinden dolayı, rejeneratif tedavi kapsamında bu kombinasyonun daha pratik ve daha kalıcı sonuçlar vereceğini öngörmekteyiz.

Çalışmamız birtakım limitasyonları içermektedir. Öncelikle bu çalışmada her ne kadar kemik defektlerinde farklı tedavi protokolleri uygulanmış olsa bile, tam anlamıyla gruplar arasındaki standardizasyon sağlanamamıştır. Şöyle ki, kombine grupta (e-TZF + β -TCP) trombosit kaynaklı ürün olarak e-TZF kullanıldığı halde, diğer trombosit bazlı grupta e-TZF sıvı formda olduğu için kemik defektlerinde kalıcı olmayacağı düşünüldüğünden dolayı g-TZF kullanılması uygun görülmüştür. Bir diğer önemli limitasyon çalışmamızda mikro bilgisayarlı tomografi yönteminin (mikro-BT) kullanılamamış olmasıdır. Covid-19 pandemisi nedeniyle histomorfometrik analizle birlikte daha sağlam sonuçların elde edilebilmesi için uygun olan mikro-BT yöntemi uygulanamamıştır.

Sonuç olarak; diş hekimliğinde uygulanan ogmentasyon prosedürlerinde kemik defektlerinin rejenerasyonunu hızlandırmak ve oluşan yeni kemik kalitesinin arttırmak amacıyla kullanılan trombosit kaynaklı ürünler, umut vaat edici sonuçlar ortaya koymakta ve bu nedenle son yıllarda yaygın biçimde önerilmektedir. Bununla birlikte; bu amaçla

uygulanan değişik yöntemler, yani birbirinden farklı materyallerden üretilen tüpler, santrifüj protokolleri, elde edilen materyallerin biyoaktiviteleri ve dokudaki rezorpsiyon süreleri, kombine şekilde uygulandıkları farklı materyaller gibi çeşitli faktörler tedavi sonuçlarını önemli ölçüde etkilediğinden dolayı, konunun aydınlanabilmesi amacıyla daha detaylı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. e-TZF + β -TCP karışımının, g- TZF'nin ve β -TCP'nin yeni kemik oluşumu üzerindeki muhtemel etkilerinin incelendiği hayvan modelli çalışmamızda kullanılan tüm biyomateriyallerin kemiğe entegre olduğu ve kemik defektlerinin tedavisi üzerine pozitif yönde etki gösterdiği saptandı.
2. e-TZF + β -TCP karışımının, sadece β -TCP veya g-TZF uygulanan ve herhangi bir rejeneratif materyal uygulanmayan gruplara göre antiinflamatuvar etki mekanizması, osteoblastik aktivasyon, osteogenetik hücre potansiyeli, yeni kollajen lif sentezi ve yeni kemik matriks sentezi bakımından histopatolojik ve histomorfometrik parametrelerde daha yüksek başarı gösterdiği saptandı.
3. Kemik defektlerinin tedavisinde g-TZF'nin kullanılmasının, sadece β -TCP kullanılmasına göre daha fazla yeni kemik formasyonu sağladığı tespit edildi.
4. Sekiz haftalık tedavi süresince yeni kemik oluşumu bakımından, β -TCP'nin yeterince başarı sağlayamadığı gözlemlendi.
5. Partikülize formdaki β -TCP'nin, sıvı formdaki e-TZF için iyi bir taşıyıcı olduğunu ve rejeneratif işlemlerde birlikte kullanıldığı durumlarda özellikle kemik ogmentasyon prosedürlerinin başarısının arttırılabileceğini düşünmekteyiz.
6. Kemik defektlerinin tedavisinde g-TZF'nin kullanılması sonucunda meydana gelen yeni kemik dokusundaki kemik iliğinin belirgin şekilde izlenmesi ve kemiğin matür komponentinin diğer gruplara kıyasla daha fazla tespit edilmesi sonucunda oluşan yeni kemiğin mekanik dayanımı bakımından g-TZF'nin e-TZF + β -TCP kombinasyonuna göre daha üstün olduğu görüşündeyiz.
7. Rejeneratif cerrahi tedavilerde hastanın kendi kanından kolayca elde edilen TZF bazlı biyomateriyallerin kullanımı tedavi maliyetlerini önemli oranda azaltacağı, bu sayede hasta ve ülke ekonomisine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.
8. Kemik iyileşmesine katkı sağladığı düşünülen TZF bazlı matrikslerin rejeneratif cerrahi uygulamalarda sıklıkla kullanılmalarına karşın; yeni kemik oluşumundaki etkilerinin değerlendirildiği ileri randomize kontrollü klinik çalışmaların yapılması gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. D’Aiuto F, Graziani F, Tetè S, Gabriele M, Tonetti M (2005). Periodontitis: from local infection to systemic diseases. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology* 18: 1–11.
2. Ramseier CA, Abramson ZR, Jin Q, Giannobile W (2006). Gene therapeutics for periodontal regenerative medicine. *The Dental Clinics of North America* 50: 245–263.
3. Akman A (2018). Periodontal Tedavilerin Sonuçları. Çağlayan G (Ed.), *Periodontoloji ve İmplantoloji*. Quintessence Publishing, İstanbul, Sayfa: 1145–1152.
4. Berberoğlu A (2018). Yeniden yapılandırıcı periodontal cerrahi. Çağlayan G (Ed.), *Periodontoloji ve İmplantoloji*. Quintessence Publishing, İstanbul, Sayfa: 878–890.
5. Liu J, Ruan J, Weir MD, Ren K, Schneider A, Wang P, Oates TW, Chang X, Xu HHK (2019). Periodontal bone-ligament-cementum regeneration via scaffolds and stem cells. *Cells* 8: 537.
6. Bosshardt DD, Sculean A (2009). Does periodontal tissue regeneration really work? *Periodontology* 2000 51: 208–219.
7. Erbe EM, Marx JG, Clineff TD, Belincampi LD (2010). Potential of an ultraporous β -tricalciumphosphate synthetic cancellous bone void filler and bone marrow aspirate composite graft. *European Spine Journal* 10: 141–6.
8. Spicer PP, Kretlow JD, Young S, Jansen JA, Kasper FK, Mikos AG (2012). Evaluation of bone regeneration using the rat critical size calvarial defect. *Nature Protocols* 7: 1918–29.
9. Taba MJ, Jin Q, Sugai JV, Giannobile W (2005). Current concepts in periodontal bioengineering. *Orthodontics & Craniofacial Research* 4: 292–302.
10. Ergun S (2019). Her Yönüyle Maksiller Sinüs Lifting Teknikleri. Birinci baskı. Dentsem Yayınları, Ankara; Sayfa: 85.
11. Moussa NT, Dym H (2020). Maxillofacial bone grafting Mmaterials. *Dental Clinics of North America* 64: 473–490.

12. Zhao R, Yang R, Cooper PR, Khurshid Z, Shavandi A RJ (2021). Bone grafts and substitutes in dentistry: A Review of Current Trends and Developments. *Molecules* 26: 3007.
13. Tancred DC, McCormack BA, Carr AJ (1998). A synthetic bone implant macroscopically identical to cancellous bone. *Biomaterials* 19: 2303-11.
14. Allison DC, Lindberg AW, Samimi B, Mirzayan R, Menendez LR (2011). A comparison of mineral bone graft substitutes for bone defects. *US Oncology & Hematology* 7: 38–49.
15. Kim SM, Yi SA, Choi SH, Kim KM, Lee YK (2012). Gelatin-layered and multi-sized porous b-tricalcium phosphate for tissue engineering scaffold. *Nanoscale Research Letters* 7: 78.
16. Erbe E, Clineff T, Lavagnino M, Dejardin L, Arnoczky S (2001). Comprasion of vitoss and pro osteon 500R in a canine model at 1 year. *Orthopaedic Research Society, Arnoczky S* 610: 407–5214.
17. Ravi S, Santhanakrishnan M (2020). Mechanical, chemical, structural analysis and comparative release of PDGF-AA from L-PRF, A-PRF and T-PRF - an in vitro study. *Biomaterials Research* 24: 1–10.
18. Park JW, Hwang SR Yoon IS (2017). Advanced growth factor delivery systems in wound management and skin regeneration. *Molecules* 22: 1259.
19. Ozturk M, Bozkurt FY (2005). Periodontal Rejenerasyonda Yeni Bir Yaklaşım: Trombositten Zengin Plazma. *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 8: 119–127.
20. Whitman DH, Berry RL, Green DM (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.
21. Feigin K, Shope B (2019). Use of platelet-rich plasma and platelet- rich fibrin in dentistry and oral surgery: Introduction and Review of the Literature. *Journal of Veterinary Dentistry* 36: 109–123.
22. He L, Lin Y, Hu X, Zhang Y, Wu Hui (2009). A comparative study of platelet rich fibrin and platelet rich plasma on the effect of proliferation and differentiation of rat

- osteoblasts in vitro. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology Endodontics* 108: 707–713.
23. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, Gogly B (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic features. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 101: 45–50.
 24. Ghanaati S, Booms P, Orlowska A, Kubesch A, Lorenz J, Rutkowski J, Landes C, Sader R, Kirkpatrick CJ, Choukroun J (2014). Advanced Platelet-Rich Fibrin: A new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *Journal of Oral Implantology* 6: 679–689.
 25. Pitzurra L, Jansen IDC, Vries TJ, Hoogenkamp MA, Loos BG (2020). Effects of L-PRF and A-PRF+ on periodontal fibroblasts in in vitro wound healing experiments. *Journal of Periodontology Research* 55: 287–295.
 26. Erdemir EO, Ozkan S (2014). Platelet-rich materials and use in periodontology. *Journal Dentistry Faculty Kırıkkale University* 16: 18–22.
 27. Ehrenfest DMD, Rasmusson L, Albrektsson T (2009). Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P- PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Bio- technology* 27: 158–167.
 28. Caruana A, Savina D, Macedo JP, Soares SC (2019). From Platelet-Rich Plasma to Advanced Platelet-Rich Fibrin: biological achievements and clinical advances in modern surgery. *European Journal of Dentistry* 13: 280–286.
 29. Wend S, Kubesch, Orlowska A, Al-Maawi S, Zender N, Dias A, Miron RJ, Sader R, Booms P, Kirkpatrick CJ, Choukroun J, Ghanaati S (2017). Reduction of the relative centrifugal force influences cell number and growth factor release within injectable PRF-based matrices. *Clinical Applications of Biomaterials* 28: 188.
 30. Ezzatt OM (2018). Autologous platelet concentrate preparations in dentistry. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research* 8: 6712–6721.
 31. Wang X, Zhang Y, Choukroun J, Ghanaati S, Miron RJ (2017). Behavior of gingival fibroblasts on titanium implant surfaces in combination with either injectable-PRF or PRP. *International Journal of Molecular Sciences* 18: 331.

32. Tsujino T, Takahashi A, Yamaguchi S, Watanabe T, Isobe K, Kitamura Y, Tanaka T, Nakata K, Kawase T (2019). Evidence for contamination of silica microparticles in advanced platelet-rich fibrin matrices prepared using silica-coated plastic tubes. *Biomedicines* 7: 45.
33. Yüce E, Kömerik N (2019). Potential effects of advanced platelet rich fibrin as a wound-healing accelerator in the management of alveolar osteitis: A Randomized Clinical Trial. *Nigerian Journal of Clinical Practice* 22: 1189–1195.
34. Mourão CF de AB, Valiense H, Melo ER, Mourão NBMF, Maia MD-C (2015). Obtention of injectable platelets rich-fibrin (i-PRF) and its polymerization with bone graft: technical note. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões* 42: 421–423.
35. Sohn DS, Huang B, Kim J, Park E, Park CC (2015). Utilization of Autologous Concentrated Growth Factors (CGF) Enriched bone graft matrix (sticky bone) and CGF-enriched fibrin membrane in implant dentistry. *The Journal of Implant & Advanced Clinical Dentistry* 7: 15–29.
36. Ross MH, Pawlina W (2001). *Histology a text and atlas with correlated cell and molecular biology*. Six edition. International Edition; Sayfa: 218–253.
37. Nohutcu R, Keçeli G (2018). *Kemik Dokusu*. Çağlayan G (Ed.), *Periodontoloji ve İmplantoloji*. Quintessence Publishing, İstanbul, Sayfa: 87–101.
38. Hatipoğlu H. (2018). *Alveoler Kemik Kaybı ve Kemik Yıkım Modelleri*. Çağlayan G (Ed.), *Periodontoloji ve İmplantoloji*. Quintessence Publishing, İstanbul, Sayfa: 319–327.
39. Carrin SV, Garnero P, Dolmas PD (2006). The role of collagen in bone strength. *Osteoporosis International* 17: 319–336.
40. Doblare M, Garcia JM, Gomez MJ (2004). Modelling bone tissue fracture and healing: a review. *Engineering Fracture Mechanics* 71: 1809–40.
41. Grabowski P (2009). Physiology of bone. *Endocrine Development* 16: 32–48.
42. Kini U, Nandeesh B (2012). Physiology of bone formation, remodeling, and metabolism. In *Radionuclide and hybrid bone imaging*. doi:10.1007/978-3-642-02400-9_2
43. Delezoide AL, Benoist-Lasselin C, Legeai-Mallet L, Merrer ML, Munnich A,

- Vekemans M, Bonaventure J (1998). Spatio-temporal expression of FGFR 1, 2 and 3 genes during human embryo-fetal ossification. *Mechanisms of Development* 77: 19–30.
44. Berendsen AD, Olsen BR (2015). Bone development. *Bone* 80: 14–18.
 45. Dimitrios JH, Androulakis II (2006). Bone Remodelling. *New York Academy of Sciences* 1092: 385–396.
 46. Kalfas I. (2001). Principles of bone healing. *Neurosurg Focus* 10:4.
 47. Lullo G, Sweeney S, Korkko J, Kokko LA, Antonio AJ (2002). Mapping the ligand-binding sites and disease-associated mutations on the most abundant protein in the human, Type I Collagen. *The Journal of Biological Chemistry* 277: 4223–4231.
 48. Sadat-Shojai M, Khorasani MT, Dinpanah-Khoshdargi E, Ahmad J (2013). Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite in diverse structures. *Acta Biomaterialia* 9: 7591–7621.
 49. Pikilidou M, Yavropoulou M, Antoniou M, Yovos J (2015). The contribution of osteoprogenitor cells to arterial stiffness and hypertension. *Journal of Vascular Research* 52: 32–40.
 50. Nahian A, Davis DD (2002). Function. Bakr A (Ed.), *Histology, Osteoprogenitor Cells*, 2. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559160/>
 51. Capulli M, Paone R, Rucci N (2014). Osteoblast and osteocyte: Games without frontiers. *Archives of Biochemistry Biophysics* 561: 3–12.
 52. Papaioannou G, Mirzamohammadi F, Kobayashi T (2016). Ras signaling regulates osteoprogenitor cell proliferation and bone formation. *Cell Death and Disease* 7: e2405.
 53. Mackie EJ (2003). Osteoblasts: novel roles in orchestration of skeletal architecture. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 35: 1301–1305.
 54. Karsenty G, Wagner EF (2002). Reaching a genetic and molecular understanding of skeletal development. *Developmental Cell* 2: 389–406.
 55. Kim JM, Lin C, Stavre Z, Matthew B, Greenblatt JHS (2020). Osteoblast-Osteoclast Communication and Bone Homeostasis. *Cells* 9.

56. Malizos KN, Papatheodorou LK (2005). The healing potential of the periosteum molecular aspects. *International Journal of The Care Of The Injured* 36: 13–19.
57. Zhao L, Zhao J, Yu JJ, Zhang C (2020). Irregular bone defect repair using tissue-engineered periosteum in a rabbit model. *Tissue Engineering Regenerative Medicine* 17: 717–727.
58. Nahian A, Chauhan PR (2020). Structure. Histology, Periosteum And Endosteum, 1-3. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557584/#_NBK557584_pubdet_.
59. Rubio ED, Mombru CM (2015). Spontaneous bone healing after cysts enucleation without bone grafting materials: A Randomized Clinical Study. *Craniofacial Trauma Reconstruction* 8: 14–22.
60. Busti AJ, Hooper JS, Amaya CJ, Kazi S (2005). Effects of perioperative antiinflammatory and immunomodulating therapy on surgical wound healing. *Pharmacotherapy* 25: 1566–91.
61. Araújo MG, Silva CO, Misawa M, Sukekava FM (2015). Alveolar socket healing: what can we learn? *Periodontology 2000* 68: 122–34.
62. Toma AI, Fuller JM, Willett NJ, Goudy SL (2021). Oral wound healing models and emerging regenerative therapies. *Translational Research* 236: 17–34.
63. Natarajan S, Williamson D, Stiltz AJ, Harding K (2000). Advances in wound care and healing technology. *American Journal of Clinical Dermatology* 1: 260–275.
64. Broughton G, Janis JE, Attinger CE (2006). Wound healing: an overview. *Plastic And Reconstructive Surgery* 117: 1-32e-S.
65. Marx RE (2007). Bone and bone graft healing. *Oral Maxillofacial Surgery Clinics of North America* 19: 455–466.
66. Mariotti A, Hefti AF (2015). Defining periodontal health. *BMC Oral Health* 15 Suppl 1 :S6.
67. Lang NP, Bartold PM (2018). Periodontal health. *Journal of Periodontology* 89 Suppl 1: S9-S16.
68. Trombelli L, Farina R, Silva CO, Tatakis DN (2018). Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. *Journal of Periodontology* 89 Suppl

1: S46-S73.

69. Kinane DF, Panagiota G, Papapanou S, Papapanou P (2017). Periodontal diseases. *Nature Reviews, Disease Primers* 22
70. Loe H, Silness J (1963). Periodontal disease in pregnancy. *Acta Odontologica Scandinavica* 21: 533–51.
71. Holmstrup P, Plemons J, Meyle J (2018). Non-plaque-induced gingival diseases. *Journal of Periodontology* 45 Suppl 20: S28-S43.
72. Fischer RG, Junior RL, Retamal -Valdes B, Figueiredo LC, Malheiros Z, Stewart B, Feres M (2020). Periodontal disease and its impact on general health in Latin America. Section V: Treatment of periodontitis. *Brazilian Oral Research* 9: Suppl 1: e026.
73. Armitage GC (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 4: 1–6.
74. Caton J, Armitage G, Berglund H, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, Mealey BL, Papapanou PN, Sanz M, Tonetti MS (2018). A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. *Journal of Periodontology*. doi: 10.1002/JPER.18-0157.
75. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS (2018). Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal of Periodontology* 89: 159-172.
76. Tolstunov L, Hamrick E, Broumand V, Shilo D, Rachmiel A (2019). Bone augmentation techniques for horizontal and vertical alveolar ridge deficiency in oral implantology. *Oral Maxillofacial Surgery Clinical North America* 31: 163–191.
77. Zhu S, Choi B, Jung J, Lee S, Huh J, You T, Lee H, Li J (2006). A comparative histologic analysis of tissue-engineered bone using platelet-rich plasma and platelet-enriched fibrin glue. *Oral Pathology Oral Radiology Endodontics. Oral Surg Oral Med Oral* 102: 175–179.
78. Berberoglu A. (2018). Rezektif Kemik Cerrahisi. Çağlayan G (Ed.), *Periodontoloji ve İmplantoloji*. Quintessence Publishing, İstanbul, Sayfa: 865-875.

79. Manson JD, Nicholson K (1974). The distribution of bone defects in chronic periodontitis. *Journal of Periodontology* 45: 88–92.
80. Cortellini P, Prato GP, Tonetti MS (1996). Periodontal regeneration of human intrabony defects with bioresorbable membranes. *Journal of Periodontology*, 67: 217–223.
81. Papapanou P, Tonetti M (2000). Diagnosis and epidemiology of periodontal osseous lesions. *Periodontology* 2000, 22: 8–21.
82. Reynolds M, Reidy ME, Mays GL (2010). Regeneration of Periodontal Tissue: Bone Replacement Grafts. *Dental Clinics North America* 54: 55–71
83. Türkoğlu O (2018). Furkasyon: Lezyonlar ve Tedavileri. Çağlayan G (Ed.), *Periodontoloji ve İmplantoloji*. Quintessence Publishing, İstanbul, Sayfa: 893–909.
84. Hamp S, Nyman S, Lindhe J (1975). Periodontal treatment of multirooted teeth. *Journal of Clinical Periodontology* 2: 126–135.
85. Tarnow D, Fletcher P (1984). Classification of the vertical component of furcation involvement. *Journal of Periodontology* 55: 283–284.
86. Periodontal regeneration Academy report (2005). *Journal of Periodontology* 76: 1601–162.
87. Nibali L, Koidou V, Salomane S, Hamborg T, Allaker R, Ezra R, Zou L, Tsakos G, Gkraniats N, Donos N (2019). Minimally invasive non-surgical vs. surgical approach for periodontal intrabony defects: a randomised controlled trial. *Trials* 20: 461.
88. Özcan G, Cetiner D, Özcan M (2018). Periodontal Tedavi Planlaması. Çağlayan G (Ed.), *Periodontoloji ve İmplantoloji*. Quintessence Publishing, İstanbul, Sayfa: 549–551.
89. Graziani F, Karapetsa D, Alonso B, Herrera D (2017). Nonsurgical and surgical treatment of periodontitis: how many options for one disease? *Periodontology* 2000 75: 152–188.
90. Ryan ME (2005). Nonsurgical approaches for the treatment of periodontal diseases. *Dental Clinics of North America* 49: 611–36.
91. Rateitschak-Pluss EM, Schwarz JP, Guggenheim R, Düggelein M, Rateitschak K

- (1992). Non-surgical periodontal treatment: where are the limits? *Journal of Clinical Periodontology* 19: 240–4.
92. Johnson LR, Stoller NH, Polson A, Harrold CQ, Ryder M, Garret S (2002). The effects of subgingival calculus on the clinical outcomes of locally-delivered controlled-release doxycycline compared to scaling and root planing. *Journal of Clinical Periodontology* 29: 87–91.
 93. Caton J, Nyman S (1980). Histometric evaluation of periodontal surgery. I. The modified Widman flap procedure. *Journal Clinical of Periodontology* 7: 212–23.
 94. Everett FG, Waerhaug J, Widman A (1971). Leonard Widman: surgical treatment of pyorrhea alveolaris. *Journal of Periodontology* 42: 571–9.
 95. Smukler H, Chaibi M (1997). Periodontal and dental considerations in clinical crown extension: A rational basis for treatment. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 17: 464–477.
 96. Rutherford RB, Ryan ME, Kennedy JE, Tucker MM, Charette MF (1993). Platelet-derived growth factor and dexamethasone combined with a collagen matrix induce regeneration of periodontium in monkeys. *Journal of Clinical Periodontology* 20: 537–544.
 97. Kao RT, Murakami S, Beirne O (2009). The use of biologic mediators and tissue engineering in dentistry. *Periodontology* 2000 50: 127–153.
 98. Hakkı S (2018). Rejeneratif Periodontal Tedavi ve Hücre Temelli Yaklaşımlar. Çağlayan G (Ed.), *Periodontoloji ve İmplantoloji*. Quintessence Publishing, İstanbul, Sayfa: 945–960.
 99. Garret S. (1996). Periodontal regeneration around natural teeth. *Ann Periodontology*, 2: 621–666.
 100. Yılmaz G (2018). Lokalize Kemik Ogmentasyonu ve İmplant Bölgesinin Hazırlanması. Çağlayan G (Ed.), *Periodontoloji ve İmplantoloji*. Quintessence Publishing, İstanbul, Sayfa:1041–1052.
 101. Tuz HH, Akal UK, Cambazoglu M, Kişnişci R (2004). Use of spongiuous bone chips and fascia temporalis in alveolar bone defects. *Turkish Journal of Medical Sciences* 34: 179–185.

102. Schlegel K, Rupprecht S, Petrovic L, Honert C, Srouf S, Wilmowsky C, Felszegy E, Nkenke E, Lutz R (2009). Preclinical animal model for de novo bone formation in human maxillary sinus. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 108: 37–44.
103. Tadjoeidin ES, De Lange GL, Bronckers AL, Lyaruu DM, Burger EH (2003). Deproteinized cancellous bovine bone (Bio-Oss) as bone substitute for sinus floor elevation A retrospective, histomorphometrical study of five cases. *Journal Clinical of Periodontology* 30: 261–270.
104. Fukuba S, Okada M, Nohara K, Iwata T (2021). Alloplastic Bone Substitutes for Periodontal and Bone Regeneration in Dentistry: Current Status and Prospects. *Materials* 14
105. Bauer TW, Muschler G (2000). Bone Graft Materials An Overview of the Basic Science. *Clinical orthopedics and related research* 371: 10–27.
106. Elsalanty M, Genecov D (2009). Bone Grafts in Craniofacial Surgery. *Bone Grafts in Craniofacial Surgery* 2: 125–134.
107. Tarnow DP, Chu SJ (2020). Treatment of First-Class Tooth Extraction Sockets. The single-tooth implant : a minimally invasive approach for anterior and posterior extraction sockets pp 43-44–45.
108. Rickert D, Slater H, Meijer H, Raghoobar GM (2012). Maxillary sinus lift with solely autogenous bone compared to a combination of autogenous bone and growth factors or (solely) bone substitutes. A systematic review. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 41: 160–167.
109. Nasr H, Reidy E, Yukna R (1999). Bone and bone substitutes. *Periodontology* 2000 19: 74–86.
110. Soldatos NK, Stylianou P, Koidou VP, Angelov N, Yukna R, Romanos G (2017). Limitations and options using resorbable versus nonresorbable membranes for successful guided bone regeneration. *Quintessence International* 48: 131–147.
111. Hiatt WH, Schallhorn RG, Aaronian AJ (1978). The Induction of New Bone and Cementum Formation IV. Microscopic Examination of the Periodontium Following Human Bone and Marrow Allograft, Autograft and Nongraft Periodontal

- Regenerative Procedures. *Journal of Periodontology* 49: 495–512.
112. Malhotra A, Pelletier MH, Yu Y, Walsh W (2013). Can platelet-rich plasma (PRP) improve bone healing? A comparison between the theory and experimental outcomes. *Archives Orthopaedic Trauma Surgery* 133: 153–165.
 113. Zimmermann G, Moghaddam A (2011). Allograft bone matrix versus synthetic bone graft substitutes. *Injury, International Journal of the Care of the injured* 42: 16–21.
 114. Giannoudis P, Dinopoulos H, Tsiridis E (2005). Bone substitutes: An update. *Injury, International Journal of the Care of the injured* 36: 20–27.
 115. Roberts TT, Rosenbaum AJ (2012). Bone grafts, bone substitutes and orthobiologics: the bridge between basic science and clinical advancements in fracture healing. *Organogenesis* 8: 114-24
 116. Fleming JE, Cornell CN, Muschler GF (2000). Bone cells and matrices in orthopedic tissue engineering. *The Orthopedic Clinics of North America* 31: 357–374.
 117. Simsek A, Cakmak G, Cila E (2004). Kemik greftleri ve kemik greftlerinin yerini tutabilecek maddeler. *TOTBID (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi* 3.
 118. Sheikh Z, Hamdan N, Ikeda Y, Gryn timer M, Ganss B, Glogauer M (2017). Natural graft tissues and synthetic biomaterials for periodontal and alveolar bone reconstructive applications: a review. *Biomaterials Research* 21: 1–20.
 119. Richardson CR, Mellonig JT, Brunsvold MA, McDonnell HT, Cochran D (1999). Clinical evaluation of Bio-Oss: a bovine-derived xenograft for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *Journal Clinical of Periodontology* 26: 421–428.
 120. Fee L (2017). Socket preservation. *British Dental Journal* 222: 579–582.
 121. Acar AH, Yolcu U, Gül M, Keleş A, Erdem NF, Kahraman S (2015). Micro-computed tomography and histomorphometric analysis of the effects of platelet-rich fibrin on bone regeneration in the rabbit calvarium. *Archives of Oral Biology* 60: 606–14.
 122. Bae JH, Kim YK, Kim SG, Yun PY, Korea S (2010). Sinus bone graft using new

- alloplastic bone graft material (Osteon)-II: clinical evaluation. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 109: e14–e20.
123. Kitayama S, Wong LO, Ma L, Hao J, Kasugai S, Lang NP, Mattheos N (2016). Regeneration of rabbit calvarial defects using biphasic calcium phosphate and a strontium hydroxyapatite-containing collagen membrane. *Clinical Oral Implants Research* 0: 1–9.
 124. Dumitrescu AL (2011). *Chemicals in Surgical Periodontal Therapy. Bone Grafts and Bone Grafts Substitutes in Periodontal Therapy*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 73–144.
 125. Moore WR, Graves SE, Bain GI (2001). Synthetic Bone Graft Substitutes. *ANZ Journal of Surgery* 71: 354–36.
 126. Intapibool P, Monmaturapoj N, Nampuksa K, Thongkorn K, Khongkhunthian P (2021). Bone regeneration of a polymeric sponge technique-Alloplastic bone substitute materials compared with a commercial synthetic bone material (MBCP+TM technology): A histomorphometric study in porcine skull. *Clinical and Experimental Dental Research* 7: 726–738.
 127. Lee DK, Ki MR, Kim EH, Park CJ, Ryu JJ, Jang HS, Pack SP, Jo YK, Jun SH (2021). Biosilicated collagen/ β -tricalcium phosphate composites as a BMP-2-delivering bone-graft substitute for accelerated craniofacial bone regeneration. *Biomaterials Research* 25: 13.
 128. Yılmaz D, Dogan N, Ozkan A, Sencimen M, Ora B, Mutlu I (2014). Effect of platelet rich fibrin and beta tricalcium phosphate on bone healing. A histological study in pigs. *Acta Cirurgica Brasileira* 29: 59–65.
 129. Bohner M, Santoni BLG, Dobelin N (2020). β -tricalcium phosphate for bone substitution: Synthesis and properties. *Acta Biomaterialia* 113: 23–41.
 130. Smidt A, Gutmacher Z, Sharon E (2019). A nouveau collagen scaffold to simplify lateral augmentation of deficient ridges between natural teeth. *Quintessence International* 50: 576–582.
 131. Dhurat R, Sukesh M (2014). Principles and Methods of Preparation of Platelet-Rich Plasma: A Review and Author's Perspective. *Journal of Cutaneous and Aesthetic*

Surgery 7: 189–197.

132. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Alan TNA (2004). Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thrombosis and Haemostasis* 91: 4–15.
133. Monaco JL, Lawrence W (2003). Acute wound healing An overview. *Clinics in Plastic Surgery* 30: 1–12.
134. Unsal RBK, Unsal G, Kasnak G, Fıratlı Y, Özcan I, Orhan K, Fıratlı E (2022). Ultrasonographic evaluation of the titanium-prepared platelet-rich fibrin effect in free gingival graft procedures. *Journal of Periodontology* 93: 187–194.
135. El-Sharkawy H, Kantarci A, Dedy J, Hasturk H, Liu H, Alshahat M VD, Thomas E, Dyke V (2007). Platelet-Rich Plasma: growth factors and pro- and anti-inflammatory properties. *Journal of Periodontology* 78: 661–669.
136. Seims KB, Hunt NK, Chow LW (2021). Strategies to Control or Mimic Growth Factor Activity for Bone, Cartilage, and Osteochondral Tissue Engineering. *Bioconjugate Chemistry* 32: 861–878.
137. Pietruszka P, Chruscicka I, Ilnicka ID, Stolarz AP (2021). PRP and PRF-subgroups and divisions when used in dentistry. *Journal of personalized medicine* 11. doi: 10.3390/jpm11100944.
138. Cho MI, Lin WL, Genco R (1995). Platelet derived growth factor modulated guided tissue regenerative therapy. *Journal of Periodontology* 66: 522–530.
139. Sporn MB, Roberts AB, Wakefield LM, Assoian RK (1986). Transforming growth factor-beta: biological function and chemical structure. *Science* 233: 531–4.
140. Hughes FJ, Turner W, Belibasakis G, Martuscelli G (2006). Effects of growth factors and cytokines on osteoblast differentiation. *Periodontology 2000* 41: 48–72.
141. Ornitz DM, Itoh N (2015). The Fibroblast Growth Factor signaling pathway. *Wiley interdisciplinary reviews Developmental Biology* 4: 215–66.
142. Serafini G, Lopreiato M, Lollobrigida M, Lamazza L, Mazzucchi G, Fortunado L, Mariano A, Dabusco AS, Fontana M, Biase A (2020). Platelet Rich Fibrin (PRF) and Its Related Products: Biomolecular Characterization of the Liquid Fibrinogen. *Journal of Clinical Medicine* 12: 4.

143. Hoeben A, Landuyt B, Highley MS, Wildiers H, Oosterom ATV, Bruijn EA(2004). Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis. *Pharmacological Reviews* 56: 549–80.
144. Duffy AM, Bouchier-Hayes DJ HJ (2004). Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its role in non-endothelial cells: Autocrine signalling by VEGF. *VEGF and Cancer*. VEGF and Cancer, 133-44.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6482/>
145. Shamloo A, Xu H, Heilshorn S (2012). Mechanisms of vascular endothelial growth factor-induced pathfinding by endothelial sprouts in biomaterials. *Tissue Engineering Part A* 18: 320–30.
146. Acosta J, Cowley J, Saura P, López T, Santana M, Mola E, Nieto G, Martinez LH (2009). Epidermal growth factor in clinical practice-a review of its biological actions, clinical indications and safety implications. *International Wound Journal* 6: 331–46.
147. Fujita T, Shiba H, Dyke TEV, Kurihara H (2004). Differential effects of growth factors and cytokines on the synthesis of SPARC, DNA, fibronectin and alkaline phosphatase activity in human periodontal ligament cells. *Cell Biology International* 28: 281–286.
148. Wang X, Zhang Y, Choukroun J, Ghanaati S, Miron RJ (2018). Effects of an injectable platelet-rich fibrin on osteoblast behavior and bone tissue formation in comparison to platelet-rich plasma. *Platelets*. doi:10.1080/09537104.2017.1293807.
149. Davis VL, Abukabda AB, Radio RM, Witt-Enderby PA, Clafshenkel WP, Cairone V, Rutkowski JL (2014). Platelet-rich preparations to improve healing. Part I: workable options for every size practice. *The Journal of Oral Implantology* 40: 500–10.
150. Miron RJ, Kobayashi MF, Hernandez M, Kandalam U, Zhang Y, Ghanaati S, Choukroun J (2017). Injectable platelet rich fibrin (i-PRF): opportunities in regenerative dentistry? *Clinical Oral Investing* 21: 2619–2627.
151. Arora NS, Ramanayake T, Ren YF, Romanos GE (2009). Platelet-Rich Plasma: A Literature Review. *Implant Dentistry* 18: 303–310.

152. Monov G, Fuerst G, Tepper G, Watzak G, Zechner W, Watzek G (2005). The effect of platelet-rich plasma upon implant stability measured by resonance frequency analysis in the lower anterior mandibles A pilot study. *Clin Oral Implants Res* 16: 461–5.
153. Sammartino G, Tia M, Marenzi G, Di Lauro AE, D'Agostino E, Claudio PP (2005). Use of autologous platelet-rich plasma (PRP) in periodontal defect treatment after extraction of impacted mandibular third molars. *Journal of Oral Maxillofacial Surgery* 63: 766–70.
154. Lekovic V, Camargo PM, Weinlaender M, Vasilic N, Aleksic Z, Kenney EB (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: 746–751.
155. Gentile RD (2020). Easy Platelet-Rich Fibrin (Injectable/Topical) for Post-resurfacing and Microneedle Therapy. *Facial Plastic Surgery Clinics of North America* 28: 127–134.
156. Dohan Ehrenfest DM, de Peppo GM, Doglioli P, Sammartino G (2009). Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors* 27: 63–69.
157. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, Gogly B (2006). Platelet-Rich Fibrin (PRF): A Second-Generation Platelet Concentrate. Part I: Technological Concepts and Evolution. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 101: 37–44.
158. Eren G, Gül A (2014). Leukocyte and Platelet Rich Fibrin: Characteristics and Clinical Applications in Dentistry. *The Journal of the Dental Faculty of Istanbul University* 48: 73–83.
159. Rodella LF, Favero G, Boninsegna R, Buffoli B, Labanca M, Scari G, Sacco L, Batani T, Rezzani R (2011). Growth factors, CD34 positive cells, and fibrin network analysis in concentrated growth factors fraction. *Microscopy Research and Technique* 74: 772–7.
160. Simonpieri A, Corso MD, Sammartino G, Ehrenfest DMD (2009). The relevance of

- choukroun's platelet- rich fibrin and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part II: Implant Surgery, Prosthodontics, and Survival. *Implant Dentistry* 18: 220–9.
161. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL D, AJJ, Mouhyi J, Dohan DMD (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 101: 56–60.
 162. Ehrenfest DMD, Pinto NR, Pereda A, Jimenez P, Corso MD, Kang BS, Nally M, Lanata N, Wang HL, Quirynen M (2018). The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors, and fibrin architecture of a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane. *Platelets*, 29: 171-184.
 163. Clark D, Rajendran Y, Paydar S, Ho S, Cox D, Ryder M, Dollard J, Kao RT (2018). Advanced platelet-rich fibrin and freeze-dried bone allograft for ridge preservation: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Journal of Periodontology*, 89: 379–387.
 164. Chary NOBP, Raju MS, Sajjan MCS, Gottumukkala SN, Manyam R (2021). Comparison of quality of bone and insertion torque values of early implants placed at 6 and 8 weeks in sockets preserved with advanced platelet-rich fibrin: A randomized controlled trial. *Journal of Indian Prosthodontic Society* 21: 366–374.
 165. Simonpieri A, Del Corso M, Sammartino G, Ehrenfest DMD (2009). The relevance of choukroun's platelet- rich fibrin and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part I: A New Grafting Protocol. *Implant Dentistry* 18: 102–11.
 166. Sharma A, Aggarwal N, Rastogi S, Choudhury R, Tripathi S (2017). Effectiveness of platelet-rich fibrin in the management of pain and delayed wound healing associated with established alveolar osteitis (dry socket). *European Journal of Dentistry*, 11: 508–513.
 167. Eren G, Gül A (2014). Platelet-rich fibrin in the treatment of localized gingival recessions: a split-mouth randomized clinical trial. *Clinical Oral Investigations* 18: 1941–1948.

168. Mijiritsky E, Assaf HD, Peleg O, Shachaö M, Cerroni L, Mangani L (2021). Use of PRP, PRF and CGF in Periodontal Regeneration and Facial Rejuvenation-A Narrative Review. 10: 317.
169. Choukroun JI, Braccini F, Diss A, Giordano G, Doglioli P DD (2007). Influence of platelet rich fibrin (PRF) on proliferation of human preadipocytes and tympanic keratinocytes: A new opportunity in facial liposstructure (Coleman's technique) and tympanoplasty?. *Revue de laryngologie - otologie - rhinologie (bord)* 128: 27–32.
170. Su YC, Kuo YP, Tseng YH, Su CH, Burnouf T (2009). In vitro release of growth factors from platelet-rich fibrin (PRF): a proposal to optimize the clinical applications of PRF. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 108: 56-61.
171. Choukroun J, Ghanaati S (2018). Reduction of relative centrifugation force within injectable platelet-rich-fibrin (PRF) concentrates advances patients' own inflammatory cells, platelets and growth factors: the first introduction to the low speed centrifugation concept. *European Journal of Trauma and Emergency Surgery* 44: 87–95.
172. Lei L, Yu Y, Ke T, Sun W, Chen L (2019). The application of three-dimensional printing model and platelet-rich fibrin technology in guided tissue regeneration surgery for severe bone defects. *The Journal of Oral Implantology* 45: 35–43.
173. Kobayashi E, Flückiger L, Fujioka-Kobayashi M, Sawada K, Sculean A, Schaller B, Miron RJ (2016). Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. *Clinical oral investigations* 20: 2353–60.
174. Masuki H, Okudera T, Watanebe T, Suzuki M, Nishiyama K, Okudera H, Nakata K, Uematsu K, Su C, Kawase T (2016). Growth factor and pro-inflammatory cytokine contents in platelet-rich plasma (PRP), plasma rich in growth factors (PRGF), advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), and concentrated growth factors (CGF). *International Journal of Implant Dentistry* 19: doi: 10.1186/s40729-016-0052-4.
175. Kobayashi MF, Miron RJ, Hernandez M, Kandalam U, Zhanh Y CJ (2017). Optimized platelet-rich fibrin with the low-speed concept: growth factor release, biocompatibility, and cellular response. *Journal of Periodontol* 88: 112–121.
176. Sousa F, Machado V, Botelho J, Proença L, Mendes JJ, Alves R (2020). Effect of

A-PRF Application on Palatal Wound Healing after Free Gingival Graft Harvesting: A Prospective Randomized Study. *European Journal of Dentistry* 14: 63–69.

177. Kobayashi MF, Miron RJ (2017). Biological Components of Platelet Rich Fibrin: Growth Factor Release and Cellular Activity. Choukroun J (Ed.) *Platelet Rich Fibrin in Regenerative Dentistry*, 15-32.
<http://coimplante.odo.br/Biblioteca/Publica%C3%A7%C3%B5es%202019/Platelet%20Rich%20Fibrin%20in%20Regenerative%20Dentistry.pdf>
178. Valladao CAAJ, Monteiro MF, Joly JC (2020). Guided Bone Regeneration In Staged Vertical And Horizontal Bone Augmentation Using Platelet-Rich Fibrin Associated With Bone Grafts: A Retrospective Clinical Study. *International Journal of Implant Dentistry* 6: 72.
179. Mourao CF, Valiense H, Melo ER, Mourao NB, Maia MDC (2015). Obtention of injectable platelets rich-fibrin (i-PRF) and its polymerization with bone graft: technical note. *Revista do Colegio Brasileiro de Cirurgioes* 42: 421–423.
180. Zeitounlouian TS, Zeno KG, Brad BA, Haddad RA (2021). Effect of injectable platelet-rich fibrin (i-PRF) in accelerating orthodontic toothmovement A randomized split-mouth-controlled trial. *Journal Orofacial Orthopedics* 82: 268–277.
181. Chenchev IL, Ivanova V V., Neychev DZ, Cholakova RB (2017). Application of Platelet-Rich Fibrin and Injectable Platelet-Rich Fibrin in Combination of Bone Substitute Material for Alveolar Ridge Augmentation- a Case Report. *Folia medica* 59: 362–366.
182. Aydinyurt HS, Sancak T, Taskin C, Basbugan Y, Akıncı L (2021). Effects of Injectable Platelet-Rich Fibrin In Experimental Periodontitis In Rats. *Odontology* 109: 422-432.
183. Turer OU, Ozcan M, Alkaya B, Surmeli S, Seydaoglu G, Haytaç MC (2020). Clinical evaluation of injectable platelet-rich fibrin with connective tissue graft for the treatment of deep gingival recession defects: A controlled randomized clinical trial. *Journal Clinical of Periodontology* 47: 72–80.
184. Izol BS, Üner DD (2019). A New Approach for Root Surface Biomodification Using Injectable Platelet-Rich Fibrin (I-PRF). *Medicine Science Monitor* 26: 4744–

4750.

185. Mu Z, He Q, Xin L, Li Y, Yuan S, Zou H, Shu L, Song J, Huang Y, Chen T (2020). Effects of injectable platelet rich fibrin on bone remodeling in combination with DBBM in maxillary sinus elevation: a randomized preclinical study. *American Journal of Translational Research* 12: 7312–7325.
186. Shashank B, Bhushan M (2021). Injectable Platelet-Rich Fibrin (PRF): The newest biomaterial and its use in various dermatological conditions in our practice: A case series. *Journal of Cosmetic Dermatology* 20: 1421–1426.
187. Sümbüloğlu V, Sümbüloğlu K (2005). Klinik Ve Saha Araştırmalarında Örneklem Yöntemleri ve Örneklem Büyüklüğü. Birinci Baskı. Hatiboğlu Yayınevi; Sayfa: 15-40.
188. Rezuc A, Saavedra C, Maass R, Poblete C, Nappe C (2020). Histological comparison of DBBM and platelet rich fibrin for guided bone regeneration in a rabbit model. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research* 10: 287–293.
189. Peker E, Karaca IR, Yıldırım B (2016). Experimental evaluation of the effectiveness of demineralized bone matrix and collagenated heterologous bone grafts used alone or in combination with platelet rich fibrin on bone healing in sinus floor augmentation. *Quintessence Publishing* 31: 24–31.
190. Alhasyimi AA, Pudyani PP, Asmara W, Ana ID (2018). Enhancement of post-orthodontic tooth stability by carbonated hydroxyapatite-incorporated advanced platelet-rich fibrin in rabbits. *Orthodontics & Craniofacial Research* 21: 112–118.
191. Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG (2005). Evaluation of platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone in the rabbit cranium. *Clinical Oral Implants Research* 16: 250–7.
192. Tebyanian H, Norahan MH, Eyni H, Movahedin M, Mortazavi SJ, Karami A, Nourani MR, Bahelrael N (2019). Effects of collagen/ β -tricalcium phosphate bone graft to regenerate bone in critically sized rabbit calvarial defects. *Journal of Applied Biomaterials&Functional Materials* 17: doi: 10.1177/2280800018820490.
193. Watanabe K, Niimi A, Ueda M (1999). Autogenous bone grafts in the rabbit maxillary sinus. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and*

Endodontology 88: 26–32.

194. Deveci B, Dağ A, Kadiroğlu ET, Aşır F, Özkorkmaz EG, Deveci E (2022). Alloplastik kemik grefti uygulanmış sıçan kalvarial kemik defekt modelinde rosmarinik asidin terapötik etkileri. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 15: 88-99.
195. Rossi AC, Freire AR, Perussi MR, Caria PHF, Prado FB (2012). Use Homologous Bone Grafts in Maxillary Sinus Lifting. *International Journal of OdontoStomatology* 6: 19–26.
196. El-Rashidy AA, Roether JA, Harhaus L, Kneser U, Boccacini AR (2017). Regenerating bone with bioactive glass scaffolds: A review of in vivo studies in bone defect models. *Acta Biomaterialia* 62: 1–28.
197. Raghoobar GM, Schortinghuis J, Liem RSB, Ruben JL, Van der Wal JE, Vissink A (2005). Does platelet-rich plasma promote remodeling of autologous bone grafts used for augmentation of the maxillary sinus floor? *Clinical Oral Implants Research* 16: 349–56.
198. Bartold PM, Xiao Y, Lyngstaadas SP, Paine ML, Snead ML (2006). Principles and applications of cell delivery systems for periodontal regeneration. *Periodontology* 2000 41: 123–135.
199. Al-Abedalla K, Torres J, Cortes ARG, Wu X, Nader SA, Daniel N, Tamimi F (2015). Bone Augmented With Allograft Onlays for Implant Placement Could Be Comparable With Native Bone. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 73: 2108–22.
200. Iancu SA, Referendaru D, Iancu IA, Bechir A, Barbu HM (2022). Immediate postoperative complications after lateral ridge augmentation - a clinical comparison between bone shell technique and sticky bone. *Journal of Medicine Life* 15: 533–538.
201. Hwang JW, Park JS, Lee JS, Jung UW, Kim CS, Cho KS, Lee YK, Choi SH (2012). Comparative evaluation of three calcium phosphate synthetic block bone graft materials for bone regeneration in rabbit calvaria. *Journal of Biomedical Materials Research B: Applied Biomaterials* 100: 2044–52.

202. Ozdemir B, Ozcan E (2010). Application of platelet rich plasma and beta-tricalciumphosphate at the treatment of intrabony periodontal defects. *Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry* 27: 1–9.
203. Horch HH, 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 of Oral And Maxillofacial Surgery* 35: 708–13.
204. Palmer RM, Cortellini P (2008). Periodontal tissue engineering and regeneration: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *Journal Clinical of Periodontology* 35: 83–6.
205. Zaidi M, Lizneva D, Yuen T (2021). The role of PDGF-BB in the bone-vascular relationship during aging. *The Journal of Clinical Investigation* 131: 20.
206. Miron RJ, Chai J, Zheng S, Feng M, Sculean A, Zhang Y (2019). A novel method for evaluating and quantifying cell types in platelet rich fibrin and an introduction to horizontal centrifugation. *Journal of Biomedical Materials Research part A* 107: 2257–2271.
207. Szűcs A, Suba Z, Martonffy K, Hrabák K, Gyulai-Gaál S, Dóri F, Szabo G (2000). The value of beta-tricalcium-phosphate (CERASORB) in pre-prosthetic surgery. *Fogorvosi Szemle* 93: 45–52.
208. Miron RJ, Zucchelli G, Pikos MA, Salama M, Lee S, Guillemette V, Kobayashi MF, Bishara M, Zhang Y, Wang HL, Chandad F, Nacopoulos C, Simonpieri A, Aalam AA, Felice P, Sammartino G, Ghanaati S, Hernandez MA, Choukroun J (2017). Use of platelet-rich fibrin in regenerative dentistry: a systematic review. *Clinical Oral Investigations* 21: 1913–1927.
209. Rao JKD, Bhatnagar A, Pandey R, Arya V, Arora G, Kumar J, Bootwala F, Devi WN (2021). A comparative evaluation of iliac crest bone graft with and without injectable and advanced platelet rich fibrin in secondary alveolar bone grafting for cleft alveolus in unilateral cleft lip and palate patients: A randomized prospective study. *Journal of Stomatology, Oral and Maxillofacial Surgery* 122: 241–247.
210. Lollobrigida M, Maritato M, Bozzuto G, Formisano G, Molinari A, Biase AD (2018). Biomimetic Implant Surface Functionalization with Liquid L-PRF Products:

- In Vitro Study. *Biomed Research International* 8. doi: 10.1155/2018/9031435.
211. Ehrenfest DMD (2010). How to optimize the preparation of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF, Choukroun's technique) clots and membranes: introducing the PRF Box. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* 110: 275–8.
 212. Shah R, Gowda TM, Thomas R, Kumar T, Mehta DS (2019). Biological activation of bone grafts using injectable platelet-rich fibrin. *The Journal of Prosthetic Dentistry* 121: 391–393.
 213. Calvo-Guirado JL, Maté-Sánchez JE, Delgado-Ruiz RA, Romanos GE, De Aza-Moya P, Velazquez P (2015). Bone neo-formation and mineral degradation of 4Bone.(®) Part II: histological and histomorphometric analysis in critical size defects in rabbits. *Clinical Oral Implants Research* 26: 1402–6.
 214. Struillou X, Boutigny H, Soueidan A, Layrolle P (2010). Experimental Animal Models in Periodontology: A Review. *The Open Dentistry Journal* 4: 37–47.
 215. Wang S, Zhang Z, Xia L, Zhao J, Sun X, Zhang X, Ye D, Uludağ H, Jiang X (2010). Systematic evaluation of a tissue-engineered bone for maxillary sinus augmentation in large animal canine model. *Bone* 46: 91–100.
 216. Oryan A, Alidadi S (2018). Reconstruction of radial bone defect in rat by calcium silicate biomaterials. *Life Science Journal* 15: 45–53.
 217. Ingavlea GC, Gionet-Gonzales M, Vorwald CE, Bohannon LK, Clark K, Galuppo LD, Leach JK (2019). Injectable mineralized microsphere-loaded composite hydrogels for bone repair in a sheep bone defect model. *Biomaterials* 197: 119–128.
 218. Elefteriou F, Yang X (2011). Genetic mouse models for bone studies—Strengths and limitations. *Bone* 49: 1242–1254.
 219. Stubinger S DM (2013). The Rabbit as Experimental Model for Research in Implant Dentistry and Related Tissue Regeneration. *Journal of Investigative Surgery* 26: 266–282.
 220. Butterfield KJ, Bennett J, Gronowicz G, Dard M (2005). Effect of platelet-rich plasma with autogenous bone graft for maxillary sinus augmentation in a rabbit model. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 63: 370–6.

221. Lee EH, Kim JY, Kweon HY, Jo YY, Min SK, Park YW, Choi JY, Kim SG (2010). A combination graft of low-molecular-weight silk fibroin with Choukroun platelet-rich fibrin for rabbit calvarial defect. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 109: 33–8.
222. Gong SG, Mai S, Chung K, Wei K (2009). Flrt2 and Flrt3 have overlapping and non-overlapping expression during craniofacial development. *Gene Expression Patterns* 9: 497–502.
223. Bigham-Sadegh A, Oryan A (2015). Selection of animal models for pre-clinical strategies in evaluating the fracture healing, bone graft substitutes and bone tissue regeneration and engineering. *Connective Tissue Research* 56: 175–94.
224. Jan AMA, Sandor GKB, Iera D, Mhawi A, Peel S, Evans AW, Clokie CML (2006). Hyperbaric oxygen results in an increase in rabbit calvarial critical sized defects. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 101: 144–149.
225. Hokugo A, Sawada Y, Hokugo R, Iwamura H, Kobuchi M, Kambara T, Morita S, Tabata Y (2007). Controlled release of platelet growth factors enhances bone regeneration at rabbit calvaria. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 104: 44–8.
226. Shim JH, Moon TS, Yun MJ, Jeon YC, Jeong CM, Cho DW, Huh JB (2012). Stimulation of healing within a rabbit calvarial defect by a PCL/PLGA scaffold blended with TCP using solid freeform fabrication technology. *Journal of Materials Science Materials in Medicine* 23: 2993–3002.
227. Özdemir B, Kurtis B, Tuter G, Senguven B, Benay Tokman, Ozdemir SP, Demirel I, Gönen Ö (2012). Double-application of platelet-rich plasma on bone healing in rabbits. *Medicina Oral Patologia Oral Cir Bucal* 17: 171–7.
228. Lee YC, Chan YH, Hsieh SC, Lew WZ, Feng SW (2019). Comparing the Osteogenic Potentials and Bone Regeneration Capacities of Bone Marrow and Dental Pulp Mesenchymal Stem Cells in a Rabbit Calvarial Bone Defect Model. *International Journal of Molecular Sciences* 20: 5015.
229. Kulak CAM, David DW (2010). Bone histomorphometry: a concise review for endocrinologists and clinicians. *Arquivos Brasileiros Endocrinologia E Metabologia*

54: 87–98.

230. Kim BJ, Kwon TK, Baek HS, Hwang DS, Kim CH, Chung IK, Jeong JS, Shin SH (2012). A comparative study of the effectiveness of sinus bone grafting with recombinant human bone morphogenetic protein 2-coated tricalcium phosphate and platelet-rich fibrin-mixed tricalcium phosphate in rabbits. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 113: 583–92.
231. Kovacs K, Velich N, Huszar T, Fenyves B, Suba Z, Szabo G (2005). Histomorphometric and Densitometric Evaluation of the Effects of Platelet-Rich Plasma on the Remodeling of β -Tricalcium Phosphate in Beagle Dogs. *The Journal of Craniofacial Surgery* 16: 150–154.
232. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL D, AJJ, Mouhyi J, Dohan DM (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part V: Histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 101: 299–303.
233. Varela HA, Souza JCM, Nascimento RM, Jr RFA, Vasconcelos RC, Cavalcante RS, Guedes PM, Araujo AA (2019). Injectable platelet rich fibrin: cell content, morphological, and protein characterization. *Clinical Oral Investigations* 23: 1309–1318.
234. Kılıç SC, Güngörmüş M, Parlak SN (2017). Histologic and histomorphometric assessment of sinus-floor augmentation with beta-tricalcium phosphate alone or in combination with pure-platelet-rich plasma or platelet-rich fibrin: A randomized clinical trial. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* 19: 959–967.
235. Xin L, Yuan S, Mu Z, Li D, Song J, Chen T (2020). Histological and Histomorphometric Evaluation of Applying a Bioactive Advanced Platelet-Rich Fibrin to a Perforated Schneiderian Membrane in a Maxillary Sinus Elevation Model. *Frontiers in bioengineering and biotechnology* 26.
236. Yoon J, Lee S, Yoon HJ (2014). The influence of platelet-rich fibrin on angiogenesis in guided bone regeneration using xenogenic bone substitutes: a study of rabbit cranial defects. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* 42: 1071–7.
237. Zhang J, Yin C, Zhao Q, Zhao Z, Wang J, Miron RJ, Zhang Y (2019). Anti-

- inflammation effects of injectable platelet-rich fibrin via macrophages and dendritic cells. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 108: 61–68.
238. Titsinides S, Karatzas T, Perrea D, Podaropoulos ELL, Kalyvas D, Katopodis C, Agrogiannis G (2020). Osseous Healing in Surgically Prepared Bone Defects Using Different Grafting Materials: An Experimental Study in Pigs. *Dentistry Journal* 8: doi: 10.3390/dj8010007.
239. Bolukbası N, Yeniyol S, Tekkesin MS, Altunatmaz K (2013). The Use of Platelet-Rich Fibrin in Combination With Biphasic Calcium Phosphate in the Treatment of Bone Defects: A Histologic and Histomorphometric Study. *Current Therapeutic Research* 75: 15–21.
240. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, Gogly B (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: Leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates? *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 101: 51–55.



EKLER

