



T.C.

SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA OLUŞTURULAN PARİETAL DEFEKTLERDE
HUMİK ASİTİN KEMİK REJENERASYONU ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dt. Muhammet ŞENGÜL

UZMANLIK TEZİ

SİVAS

2021



T.C.

SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA OLUŞTURULAN PARİETAL DEFEKTLERDE
HUMİK ASİTİN KEMİK REJENERASYONU ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dt. Muhammet ŞENGÜL

UZMANLIK TEZİ

Doç. Dr. Vildan BOSTANCI

Danışman Öğretim Üyesi

SİVAS

2021

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca desteklerini benden esirgemeyen sevgili danışman hocam Doç. Dr. Vildan BOSTANCI'ya;

Uzmanlık süresince bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan sevgili hocalarım Dr. Öğr. Gör. Emine PİRİM GÖRGÜN ve Dr. Öğr. Gör. Zeliha MUSLU'ya;

Varlığı ile bana her zaman güç veren ve yaşamı benimle paylaşan sevgili eşim Büşra KEŞKÜŞ ŞENGÜL'e;

Beni yetiştiren, bugün olduğum insan olmamı sağlayan haklarını asla ödeyemeyeceğim sevgili ANNEM ve BABAMA;

Teşekkürlerimi sunarım.



ÖZET

RATLARDA OLUŞTURULAN PARİETAL DEFEKTLERDE HUMİK ASİTİN KEMİK REJENERASYONU ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Muhammet ŞENGÜL

Periodontoloji Anabilim Dalı

SİVAS

Çalışmamızın amacı, otojen kemik grefti uygulamalarında lokal humik asitin erken dönem oluşan yeni kemik miktarı üzerine etkisinin araştırılmasıdır. Denek olarak 12 haftalık, ortalama ağırlıkları 230-250 g olan Wistar Albino cinsi 24 adet rat kullanılmıştır. Deney hayvanları 4 gruba ayrılmıştır ve her grup 6 deney hayvanından oluşmaktadır. Bunlar kontrol grubu, sadece otojen greft uygulanan grup, lokal 100 mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu ve lokal 200 mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu şeklinde belirlenmiştir. Deney hayvanlarının parietal kemiğinde kritik boyutta 5mm çapında bikortikal kemik fragmanı automax frez kullanarak serum fizyolojik irrigasyonu altında çıkarılmıştır. Defektli bölgeye oluşturulma esnasında elde edilen otojen greft ilgili deney gruplarına uygulanmıştır. Lokal humik asit uygulanacak ratlar için uygun humik asit konsantrasyonu hazırlanmıştır. Lokal uygulama yapılacak gruplar için belirlenen humik asit miktarı otojen greftle karıştırılarak uygulanmıştır. Deney hayvanları işlem sonrası 28.günde sakrifiye edilmiştir. Daha sonra greftlenen defekt bölgesi mikro-bilgisayarlı tomografi (Mikro- BT) ile değerlendirilmiştir.

Trabeküler kalınlık (Tb.Th) ve kemik hacminin doku hacmine oranı (BV/ TV) değerlerinde en yüksek değer lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda bulunmuştur. Tb.Th ve BV/ TV değerlerinde humik asit uygulaması olumlu etkisi görülmesine rağmen doz artırılması olumsuz etkilemiştir.

Kemik hacmi (BV) değişkeninde en yüksek değer sadece otojen greft uygulanan grupta tespit edilmiştir. Gruplar ikişerli olarak karşılaştırıldığında kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Çalışmamızın sonucuna göre humik asit uygulandığında BV değerinde olumlu etkisi görülmemiştir.

Kemik yüzey alanı (BS) değişkeni için gruplar ikişerli olarak karşılaştırıldığında kontrol grubuyla sadece otojen greft uygulanan grup ve lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Aynı zamanda lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu ile lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu karşılaştırıldığında lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda BS değeri daha yüksek bulunmuştur. BS değerinde de doz artırılması olumsuz etkilemiştir.

Kemik yüzey alanının kemik hacmine oranı (BS/BV) değerinde kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft gruba göre lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda BS/BV değeri daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuca göre doz artırılması BS/BV değerinde olumlu etkisi görülmüştür.

Humik asitin kemik rejenarasyonuna hangi mekanizma veya yollar üzerinden gerçekleştiğinin araştırılması için ileri çalışmalara gereksinim vardır. Bu çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda humik asitin klinik kullanımı konusunda literatüre katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

Anahtar kelimeler: Humik asit, otojen greft, kemik rejenerasyonu

ABSTRACT**INVESTIGATION OF THE EFFECT OF HUMIC ACID ON BONE
REGENERATION IN PARIETAL DEFECTS FORMED IN RATS****Dt. Muhammet ŞENGÜL****Department of Periodontology****SİVAS, 2021**

The aim of our study is to investigate the effect of local humic acid on the amount of new bone formed in the early period in autogenous bone graft applications. Twenty-four Wistar Albino rats, 12 weeks of age, with an average weight of 230-250 g, were used as subjects. Experimental animals are divided into 4 groups and each group consists of 6 experimental animals. These were determined as the control group, the autogenous graft group only, the autogenous graft group applied with local 100 mg/kg humic acid and the autogenous graft group applied with local 200 mg/kg humic acid. In the parietal bone of the experimental animals, a 5mm diameter bicortical bone fragment of critical size was removed under physiological saline irrigation using an automax drill. The autogenous graft obtained during the formation of the defected area was applied to the relevant experimental groups. The appropriate humic acid concentration was prepared for the rats to be treated with local humic acid. The amount of humic acid determined for the groups to be applied locally was mixed with the autogenous graft. Experimental animals were sacrificed on the 28th day after the procedure. Then, the grafted defect area was evaluated by micro-computed tomography.

The highest values in trabecular thickness (Tb.Th) and bone volume to tissue volume (BV/TV) values were found in the autogenous graft group applied with local 100mg/kg humic acid. Although the application of humic acid had a positive effect on Tb.Th and BV/TV values, increasing the dose had a negative effect.

The highest value in the bone volume (BV) variable was determined only in the autogenous graft group. When the groups were compared in pairs, the difference

between the control group and the other groups was statistically significant ($p<0.05$). According to the results of our study, there was no positive effect on BV value when humic acid was applied.

When the groups were compared in pairs for the bone surface area (BS) variable, a statistically significant difference was found between the control group and the autogenous graft group applied only and the autogenous graft group applied with local 100mg/kg humic acid ($p<0.05$). At the same time, when the autogenous graft group applied with local 100mg/kg humic acid and the autogenous graft group applied with local 200mg/kg humic acid were compared, the BS value was found to be higher in the autogenous graft group applied with local 100mg/kg humic acid. Increasing the dose also affected the BS value negatively.

A statistically significant difference was found between the control group and the other groups in the ratio of bone surface area to bone volume (BS/BV) ($p<0.05$). The BS/BV value was found to be higher in the autogenous graft group applied with local 200mg/kg humic acid compared to the autogenous graft group applied with local 100mg/kg humic acid. According to this result, increasing the dose has a positive effect on the BS/BV value.

Further studies are needed to investigate the mechanism or pathways of humic acid in bone regeneration. In line with the results we obtained from this study, we believe that it will contribute to the literature on the clinical use of humic acid.

Key Words: Humic acid, autogenous graft, bone regeneration

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER	xiii
TABLolar	xiv
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kemik Dokusu	3
2.2. Kemik Yapısı	3
2.2.1. Kemiğin Makroskopik Yapısı	3
2.2.2. Kemiğin Mikroskopik Yapısı	6
2.2.3. Kemiğin Moleküler Yapısı	8
2.3. Kemik Hücreleri	11
2.3.1. Osteoblastlar	12
2.3.2. Osteoklastlar	13
2.3.3. Osteositler	15
2.3.4. Osteoprogenitör Hücreler	16
2.4. Kemik Oluşumu (Osteogenezis)	17
2.4.1. İntramembranöz Kemikleşme	17
2.4.2. Endokondral Kemikleşme	18
2.5. Kalsifikasyon Mekanizması	19
2.6. Kemik Büyümesi ve Şekillenmesi	19
2.7. Kemiğin Hücresel İşlevlerinde Etkili Lokal ve Sistemik Düzenleyiciler	19
2.7.1. Lokal Düzenleyiciler	20
2.7.2. Sistemik Düzenleyiciler	21
2.8. Kemik Greftleri	22
2.8.1. Otojen Greftler	22
2.8.2. Allogreftler	24
2.8.3. Ksenogreftler	25
2.8.4. Alloplastlar	26

2.9. Kemik Greftlerinin İyileşme Mekanizması	28
2.9.1. Serbest Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi	30
2.9.2. Vasküler Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi	31
2.9.3. Allogreftlerin ve Alloplastların İyileşmesi	31
2.10. Humik Asit.....	32
2.10.1 Humik Asidin Yapısı.....	33
2.10.2. Humik Asidin Sağlık Alanında Uygulamaları.....	35
2.10.3. Humik Asit İçeriği.....	38
2.10.4. Sitotoksosite	39
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	40
3.1. Grupların Oluşturulması	40
3.2. Cerrahi Yöntem	41
3.3. Humik Asit Uygulaması	44
3.4. Ratların Bakımı ve Deneyin Sonlandırılması	45
3.5. Mikro-Bilgisayarlı Tomografi (Mikro-BT) İle Değerlendirmesi	45
3.6. İstatistiksel Yöntem	47
4.BULGULAR.....	48
4.1. Mikro-Bilgisayarlı Tomografi (Mikro-BT) analiz sonuçları.....	48
5.TARTIŞMA.....	54
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	61
7.KAYNAKLAR	63
8.ÖZGEÇMİŞ.....	71
EKLER	
EK1. Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Denetleri Yerel Etik Kurul Kararı	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BMD(g/cm³)	: Kemik Mineral Yoğunluğu
BMP	: Kemik Morfojenik Protein
BS (mm²)	: Kemik Yüzey Alanı
BS/BV (%)	: Kemik Yüzey Alanı/Kemik Hacmi
BS/TV (%)	: Kemik Yüzey Alanı/Doku hacmi
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
BV (mm³)	: Kemik Hacmi
BV/TV (%)	: Kemik Hacmi/Doku Hacmi
CaHA	: Kalsiyum Hidroksiapatit
cm²	: Santimetre Kare
cm³	: Santimetre Küp
CMV	: Sitomegalovirüsleri
CSF	: Koloni Stimule Edici Faktör
DK	: Dondurulmuş Kemik
DKK	: Dondurulmuş- Kurutulmuş Kemik
DDKK	: Demineralize dondurulmuş – kurutulmuş kemik
g	: Gram
FA	: Fulvik Asit
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
IGF	: İnsulin Benzeri Büyüme Faktörü
IL	: İnterlökin
IS	: Intersection Surface
HA	: Hidroksiapatit

HIV-1	: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü tip-1
HSV-1	: Herpes Simpleks tip-1 Virüsü
HU	: Hounsfield Unit
kg	: Kilogram
kV	: Kilovolt
kVp	: Kilovoltpik
mA	: Miliamper
M-CSF	: Makrofaj Koloni Oluşturucu Faktör
mg	: Miligram
mikro-BT	: Mikro Bilgisayarlı Tomografi
mm	: Milimetre
mm²	: Milimetre Kare
mm³	: Milimetre Küp
nm	: Nanometre
OPG	: Osteoprotegerin
PGA	: Poli(glikolik asit)
PLA	: Poli(laktik asit)
PTH	: Paratiroid Hormon
PTHrP	: Paratiroid Hormon ilişkili Protein
RANKL	: Nükleer Faktör Kappa B Ligand Reseptör Aktivatörü
rpm	: Revolution Per Minute
Tb.Pf	: Trabecular Pattern Factor
Tb. N (1/mm)	: Trabekül Sayısı
Tb.Sp) (mm)	: Trabeküler Seperasyonu
Tb.Th (mm)	: Trabeküler Kalınlık
TBV (mm³)	: Total Kemik Hacmi
TCP	: Trikalsiyum Fosfat

TGF-β	:Transforming Growth Factor- β
TNFR	: Tümör Nekrotizan Faktör Fesept�r
TS	:Doku Yüzey Alanı
TV (mm³)	:Doku Hacmi
mg	: Mikrogram
μm	: Mikrometre



ŞEKİLLER

Şekil 2. 1. Kemiğin Yapısı.....	6
Şekil 2. 2. Humik maddelerin basit oluşum şeması.....	33
Şekil 2. 3. Oksidize humik asidin kimyasal yapısı.....	33
Şekil 2. 4. Uluslararası Humik Maddeleri Derneği (IHSS) tarafından tarif edilen ekstraksiyon metodu.....	34
Şekil 2. 5. Humik maddelerin doğada bulundukları renkleri.....	35
Şekil 3.1 İnsizyon ve dokuların diseke edilmesi.....	42
Şekil 3.2 Automax frezi.....	42
Şekil 3. 3 5mm çapında bikortikal kemik fragmanının çıkarılması.....	43
Şekil 3. 4 Defekt bölgesine uygulanan otojen greft.....	43
Şekil 3. 5 Deri flebi ve cilt altı fasyaların kapatılması.....	44
Şekil 3. 6. Uyguladığımız humik asit.....	45
Şekil 3. 7 Mikro-BT(SkyScan-1272, Bruker, Kontich, Belçika) cihazı.....	46
Şekil 4. 1 Kontrol grubuna ait Mikro-BT görüntü.....	51
Şekil 4. 2 Sadece otojen greft uygulanan gruba ait Mikro-BT görüntü.....	52
Şekil 4. 3 Lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubuna ait Mikro-BT görüntü.....	52
Şekil 4. 4 Lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubuna ait Mikro-BT görüntü.....	53

TABLÖLER

Tablo 2. 1 Kemiğin mikroskopik yapısı.....	8
Tablo 2. 2 Kemiğin moleküler yapısı.....	11
Tablo 3. 1: Ratların gruplandırılması.....	41
Tablo 4. 1: Mikro-BT ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	48



1.GİRİŞ

Diş hekimliğinin ağız ve çene bölgesindeki cerrahi müdahalelerin büyük bir kısmı kemiğe yöneliktir. Ağız ve çene bölgesinin estetik ve fonksiyonel öneminden dolayı, destek yapı olan çene kemiğindeki bu defektlerin hızlı ve kaliteli iyileşmesi amaçlanmaktadır. Bu yüzden araştırmalar kemik iyileşmesini olumlu yönde etkileyen ve hızlandıran faktörler üzerine yoğunlaşmıştır. Defekt tamiri tedavisinde dünyada en sık kullanılan cerrahi yöntem kemik greftleme işlemidir (1, 2). Greftleme işleminde kullanılacak ideal kemik greft materyali osteoindüksiyon, osteokondüksiyon ve osteogenezis özelliklerine sahip olmalıdır (3). Otojen kemik greftleri; sınırlı miktarda elde edilebilmeleri, uzun süreli postoperatif ağrı ve hareket kısıtlılığı görülebilmesi gibi dezavantajları olsa da, tüm bu üç özelliği karşılayan tek kemik greft materyali olarak altın standart kabul edilmektedir. Otojen kemik greftlerinin dezavantajlarını ortadan kaldırmak için geliştirilen allogreftler, immünolojik uyumsuzluk, erken rezorbsiyon süreleri gibi nedenlerden; alloplastlar ise geç rezorbsiyon süreleri ile istenilen başarıyı sağlayamamışlardır (4).

Humik maddeler doğada bulunan organik karbon formlarıdır. Humikli yapılar organik maddelerin kabasını oluşturur. Toprak, linyit, turba, kaynak suları ve çökeltilerinden oluşan organik maddelerin birçoğunu temsil eder. Humik maddeler temel olarak üçe ayrılır: Fulvik asitler (FA), humik asitler ve Humin. Humik asitler ve fulvik asitler alkali ortamda çözünen humus yapılarını oluştururken humin çözünmeyen tortuyu temsil eder. Humik maddelerinin en önemli parçalarından biri humik asitlerdir (5).

Doğada kendiliğinden meydana gelen humik asitler topraklarda ve su yüzeyinde bulunan kahverengi-siyah renkli polimerik organik asitlerdir (6). Bu çalışmada turbadan elde edilen humik asit kullanılmıştır. Turba ölü bataklık bitkilerinin humifikasyonu sonucu oluşan organik toprak şeklidir. Turbanın organik kısmı %90 oranında humin, humik ve fulvik asit (%40'dan fazla), lignin, polisakkaritler, lipidler, pektinler, hemisellüloz ve sellüloz içerir (7). Turba yüzyıllar boyunca tıp alanında kullanılmıştır. Turba tedavisinin uygulandığı bazı endikasyonlar; dejeneratif ve deforme artrozlar, Gut hastalığı, osteoporöz,

spondilopatiler, kas romatizması, romatoid artritler, kronik enflamatuvar hastalıklar, hormonal dengesizlikler, bel ağrısı, kronik egzema, nörodermatit ve sedef hastalığıdır. Humik asitler kan dolaşımını artırarak rejenerasyon süresini hızlandırır (8).

Bu çalışmadaki amacımız otojen kemik greftlerinin dezavantajı olan erken dönem rezorbsiyonu sonucu yetersiz yeni kemik oluşumuna lokal humik asit kullanımının etkisini araştırmaktır.



2.GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik Dokusu

Kemik dokusu, kalsiyum ve fosfat tuzlarının mineralize olmasıyla, sıralı ve aynı doğrultuda kollajen matriksten meydana gelen, canlı, özelleşmiş bir bağ dokusudur. Kemik dokusunun iki temel görevi vardır; organizmaya yapısal destek ve kalsiyum depolanması. İskelet sisteminin temelini oluşturur. Kemik dokusu, osteoblast ve osteoklast hücrelerinin kontrol ettiği kemik yapımı ve kemik yıkımı özelliğiyle dinamik bir yapıdır. Kemik dokusu kan hücrelerini üreterek dolaşım ve bağışıklık sisteminin temelini oluşturur. Kalsiyum depolamasıyla endokrin sistem içinde ayrıca önemli bir görevi vardır (9, 10). Kemik dokusu organik ve inorganik bölümlerden oluşur. Organik komponentini %80-90 oranında Tip I kollajen, kalan kısmını proteoglikan, proteinler, büyüme faktörleri ve sitokinler meydana getirirken; kemiğin kuru ağırlığının %65'ini oluşturan inorganik komponentinde ise büyük çoğunlukta hidroksiapatit (HA) kristalleri ve az miktarda fosfor, bikarbonat, sitrat, sodyum, potasyum, magnezyum bulunur (11-13). Kemik dokusuna bakıldığında en dışta kortikal kemik veya kompakt kemik denilen kısmı görülür. Kortikal tabakanın altında yer alan ve metabolik olayların meydana geldiği trabeküler kemik ya da kansellöz kemiktir (11).

2.2. Kemik Yapısı

Kemiğin yapısı 3 farklı boyutta incelenebilir:

1. Makroskopik Yapı
2. Mikroskopik Yapı
3. Moleküler Yapı (9)

2.2.1. Kemiğin Makroskopik Yapısı

Kemik makroskopik olarak trabeküler (süngerimsi, kansellöz) ve kortikal (kompakt) diye ikiye ayrılır. Kortikal kemik çoğu zaman uzun kemiklerin gövdelerinde bulunurken, kemiğin distal ve proksimal uçlarında ise trabeküler kemiğin üzerinde bulunur. Trabeküler kemik ise uzun kemiklerde kortikal kemik tabakası altında, vertebralarda ve küçük kemiklerin iç bölgelerinde bulunur (14).

Genellikle her kemik bölgesinde kortikal ve trabeküler kemik bulunurken, oranları farklılık göstermektedir. Bazı kemiklerde de kemik iliği denilen, asıl görevi kan hücrelerinin üretimi olan, kan damarları ve sinirler içeren bir yapı bulunur (9).

Kortikal Kemik

İskelet sisteminin yaklaşık %85'ini oluşturan kortikal kemiğin görevleri; hayati organları korumak, hareket etmeye yardımcı olmak ve gelen kuvvetlere direnç göstermektir (15). Kortikal kemik sert ve yoğun bir kitleden oluşan içerisinde mikroskopik düzeyde kanalcıklar bulunduran bir yapıdan meydana gelir. Lamel adı verilen kemik katmanları bu kanalcıkları oluşturur. Özellikle uzun kemiklerin diyafizlerinde rastlanan bu lamellerin dört farklı tipi bulunur. Bunlar; dış çevresel lameller (*Outer Circumferential*), iç çevresel lameller (*Inner Circumferential*), osteonlar (*Haversian Kanal Sistemi*) ve interstisyel (*Interstitial*) lamellerdir (16, 17).

Periostun en alt tabakasında bulunan dış çevresel lameller diyafizin en dış tabakasını meydana getirirler ve içerisindeki Sharpey lifleri sayesinde periost ile kemik arasındaki sıkı bağlantıyı sağlarlar. İç çevresel lameller de dış çevresel lamellere benzerlik gösterir. Spongios kemik trabekülleri bu tabakaya bağlı olarak kemik iliğine doğru gelişim gösterirler (13).

Haversian kanal sistemi veya Osteonlar kortikal kemiğin, merkezde bulunan kan damarlarının çevresinde toplanmış ve silindir şeklinde yapılanmış şekline denir. *Haversian* kanal sistemleri kemiğin uzun aksına paralellik gösterirler. Osteonlar yaklaşık 200 µm çapındadırlar. Bu osteonların ortasında yaklaşık 50 µm çapında kan damarları ve sinirlerin içinde olduğu *Haversian* kanalları bulunmaktadır. Osteoblast ve osteoprogenitör hücre tabakası bu kanalların iç yüzeyini kaplamaktadır. *Haversian* kanalları ile de bağlantılı, kemik yüzeyine dik seyreden *Volkman* kanalları aynı zamanda osteonların kendi aralarında ve kemik dış yüzeyi ile iletişimini sağlarlar. Bu kanalların çevresinde herhangi bir lamel sistemi ise bulunmamaktadır. Osteositler lamellar yapının içerisinde bulunan, Kanalikuli adı verilen ayrı bir haberleşme ağı ile hem kendi aralarında hem de *Haversian* ve *Volkman* kanalları ile iletişim halindedirler (13, 14, 17).

Osteonlar *Haversian* kanalı çevresinde halka lameller şeklinde dizilirler. İlk olarak en dış halka meydana gelir ve içe doğru daralarak lamel sayısını artırır. Bir kanal çevresinde ortalama olarak en fazla 4 ile 20 lamel meydana gelebilir. Bu sayıyı

lamellerin içindeki hücrelerin beslenme kapasiteleri belirler. Hücrelerin metabolik alışveriş sağlayabilmeleri için en yakın damara uzaklığı en fazla 300 µm olmalıdır.

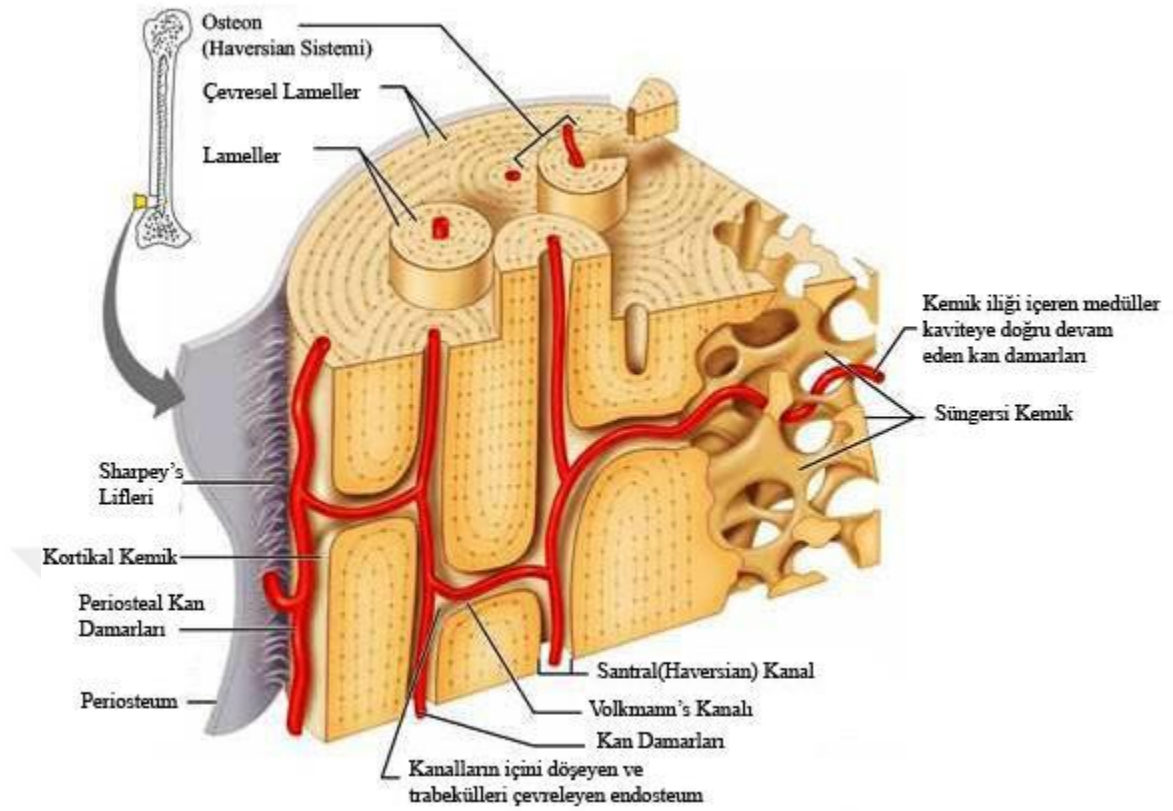
Kortikal kemik gözenekli yapıdadır. Bu gözenek miktarı, *haversian* kanalları *volkmann* kanalları ve rezorbsiyon kavimleri tarafından belirlenir. Osteoklastların remodeling safhasında ortaya çıkardığı geçici boşluklara rezorbsiyon kavimleri denir. Bunun yanında osteositlerin kemik matriksi içersine gömüldükleri lakünalar ve kanalikuliler bulunurlar (17, 18).

Trabeküler Kemik

Trabeküler kemik, kanselöz kemik veya süngerimsi kemik olarak da adlandırılır. Düz kemiklerde, vertebralarda ve uzun kemiklerin medullar kavimleri ile metafizlerinde bulunur. Trabeküler kemiklerin matriksi; her biri 200 µm kalınlığında ve kafes tarzında, trabekül denilen üç boyutlu yapısal elemanlardan oluşur (9, 14, 18)

Trabeküler kemik gözenekli bir yapıdadır. Bu gözenekler dolu ve kemik iliği ile bağlantılıdır. Trabeküler kemikte %75 ile %95 arasında gözenekli yapı bulunur. Kan hücrelerinin üretim döneminde veya mezenkimal kök hücreler için depo olarak kullanıldığında kırmızı renktedir. İlerleyen zamanlarda bu yapılar yağ depolanması için kullanılacağından sarı renk alırlar (9, 14).

Trabeküllerin dizilimi genellikle rastgele olmakla beraber, özellikle iliak kemikte olduğu gibi bazı bölgelerde, gelen fonksiyonel kuvvetlere göre dizilim gösterirler. Bu dizilimler paralel olmadığından girintili çıkıntılı bir yapıdadır (19).



Şekil 2. 1. Kemiğin Yapısı (20)

2.2.2. Kemiğin Mikroskopik Yapısı

Kemiğin makroskopik olarak kortikal ve trabeküler olmak üzere iki tipi bulunurken. Mikroskopik olarak primer kemik ve sekonder kemik olarak iki ana başlık altında sınıflandırılmaktadır. Bunun yanında kompozit ve bundle olarak adlandırılmış kemik tipleri de bulunmaktadır. Mikroskopik olarak kemiği meydana getiren, yapısına katılan, metabolizmasına yardımcı olan temel hücreler osteositler, osteoblastlar, osteoprogenitör hücreler ve osteoklastlardır (Tablo 21).

Primer Kemik

Olgunlaşmamış kemik ya da woven kemik olarak da adlandırılır. Fetal gelişim sırasında veya kemik iyileşmesi esnasında oluşturulmuş genellikle geçici olan kemik yapısıdır. Daimi olarak bulunabildiği yapılar sınırlıdır. Bunlar; kafatasındaki düz kemiklerin suturları, diş soketleri ve bazı tendonların bağlanma bölgeleridir. Primer kemik yetişkinlerde, yaşam boyunca sekonder kemikle yer

değiştirir. Bu devamlı döngüye remodeling denir. Primer kemikte sekonder kemiğe göre kollajen lifleri düzensiz bir yapıda bulunur ve mineral içeriği sekonder kemiğe oranla daha az olmakla birlikte içerdiği osteosit oranı daha yüksektir (13, 21).

30-60 mm/gün'lük oluşma hızı ile iyileşme sırasında büyük önem taşımaktadır. Organize olmayan bir yapı olduğundan mekanik olarak güçsüzdür. İyileşme sırasında hızlıca mineralize olarak yerini sekonder kemiğe bırakır (9).

Sekonder Kemik

Sekonder kemik; lameller veya olgunlaşmış kemik olarak da adlandırılan, genellikle yetişkinlerde bulunan, matriksi primer kemiğe göre daha kalsifiye olan kemik türüdür. Haversian kanalları çevresinde paralel veya eşmerkezli yerleşmiş 3-7 µm kalınlığındaki lamellerden oluşan kemik türüdür (13, 21).

Sekonder kemik, iyi organize olmuş kollajen yapısı ve mineralizasyonu ile kuvvete karşı koyabilen çok güçlü yapıdadır. *Haversian* kanalından dışarıya doğru incelendiğinde, her lamel içerisinde birbirine paralel ve sarmal yapıda seyreden kollajen lifleri, komşu lameldeki kollajen lifleri ile ters doğrultuda sarmal yaptıklarından birbirlerini dik açı ile keserler. Bu yapı, ışık altında incelenen *Haversian* kanal sisteminde parlak ve karanlık alanların gözükmesini açıklar, aynı zamanda kemiğin baskı ve torsiyon kuvvetlerine olan direncini de artırır. Büyüme hızı 0,6-1mm/gün ile primer kemiğe göre çok daha yavaştır (9, 22).

Kompozit & Bundle Kemik

Kompozit kemik; primer kemikten sekonder kemiğe geçiş sırasında izlenen kemiğe denir. Ligamanların ve eklemlerin etrafında çizgisel iç bağlantılara sahip başlıca kemiğe ise bundle kemik denmektedir (9).

<i>Mikroskopik Görünüm</i>	<i>Alt Tip</i>	<i>Özellikleri</i>	<i>Örnek</i>
Primer Kemik	Kansellöz	Kortikal kemikten daha elastik	Distal femoral matefiz
	İmmatür	Stres yönelimli değildir.	Embriyonik iskelet, Kırık kallusu
	Patolojik	Rastgele organizasyon Artmış döngü Zayıf ve esnek yapı	Osteojenik sarkom, Fibröz displazi
Sekonder Kemik	Kortikal	Yapı, güçlü ve stres çizgileri boyunca yönelmiştir.	Femur

Tablo 2. 1.Kemiğin Mikroskopik Yapısı (17)

2.2.3. Kemiğin Moleküler Yapısı

Moleküler açıdan bakıldığında kemik; tip I kollajen, HA, su, pretoglikanlar ve kollajen olmayan proteinlerden meydana gelir. Kollajen lifleri ile mineralize kristallerin bileşimi olarak da düşünülebilir (9, 14). Genel olarak organik ve inorganik bileşenler başlıkları altında incelenir (Tablo 2. 2).

Organik Bileşenler

Kollojen organik yapının % 90-96'nı, bağ dokusunun ana bileşeni ve tüm vücut proteinlerinin 1/3'ünü meydana getirir. Organik bileşendeki kollejen diğer bölgelerde görülen kollajenden farklı olarak mineralize bir yapı olarak bulunur ve birbirine paralel seyreden lamellar denilen bantlar şeklinde döşenmiştir. Kollajenin bu türü tip I kollajen olarak adlandırılır. Proteoglikan ve glikoproteinler gibi kollajen olmayan proteinler de organik yapının bileşenleri olarak bulunur. Proteoglikanlara örnek olarak çeşitli glikozaminoglikanlardan meydana gelen versican, decorin, biglycan, fibromodulin, osteoglisin ve osteoaderin verilebilir. Glikoproteinler arasında ise osteonektin, trombospondin, fibronektin, vitronektin, fibrilin, osteopontin ve kemik sialoproteini sayılabilir (13, 17, 23).

Kollajen

Kollajen bağ dokusunun ana bileşenidir. Aynı zamanda memelilerde en fazla bulunan proteindir. Bugüne kadar 29 farklı kollajen tanımlanmıştır. Organik matriksin büyük bölümünü ise Tip I kollajen meydana getirir. Kollajenin ana molekülü, hücre içinde üretilmiş prokollajenlerden oluşan tropokollajendir (24, 25).

Tip I kollajen molekülünde bir adet $\alpha 2$ polipeptid ve iki adet $\alpha 1$ polipeptid zinciri üçlü sarmal oluştururlar. Daha sonra birleşerek kollajen liflerini meydana getirirler. 300 nm uzunluğunda olan kollajen molekülleri birbirleriyle çakışmayacak şekilde dizilim gösterdiklerinden, aralarında meydana gelen gözeneklere inorganik matriks tuzları çöker (19, 26, 27).

Kollajen ve HA oranı ile dizilimleri kemiğin mekanik kuvvetlere karşı olan direncini belirler. Kollajen çekme kuvvetlerine karşı direnç geliştirirken aynı zamanda esneklik sağlar. Eksikliğinde osteogenezis imperfekta, osteoporoz, osteoartroz, Ehlers-Danlos sendromu gibi durumlar meydana gelir. Bu sendromlarda kemiğin morfolojik yapısında bir değişim olmaz ancak kırılabilirliği artmış olur (9, 17, 27).

Kollajen Olmayan Proteinler

Görevleri tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte; büyüme faktörlerinin salınımına yardımcı olmak, HA kristallerinin kollajene tutunmasını sağlamak, organik matriksin kalsifikasyonu, osteoblast ve osteoklast metabolizmasını düzenlemek gibi görevler olduğu düşünülen az sayıdaki çeşitli proteinler de bu organik yapının içinde bulunmaktadır. En çok bulunan kollajen olmayan proteinler: Osteokalsin, osteonektin, osteopontin, kemik sialoprotein proteinleridir (17).

İnorganik Bileşenler

Kemiğin mineralize kısmı inorganik matriks olarak da bilinir. Kemiğin kuru ağırlığının % 60-70'ini meydana getirir. Aynı zamanda kemik dokusunun direnci ve sertliğinde de önemli payı vardır.

İskelet sistemi vücuttaki kalsiyumun % 99'nu, fosforun % 85'ni, sodyum ve magnezyumun % 40-60'ini bulundurur. Bunların yanı sıra, bikarbonat, sitrat ve potasyum da bulunur. Mineralize kısmın büyük çoğunluğu; kalsiyum, fosfat ve hidroksil iyonlarından oluşan kristal yapıdaki HA'den meydana gelir (13, 17, 21)

Hidroksiapatit

Kemiğin mineralize bölümünü meydana getiren asıl moleküldür. Doğada da bulunan, ancak doğadaki kadar saf olmayan kristal formundaki fosfat minerallerinin OH⁻ iyonu bulundurulmasıyla oluşur. Önemli oranda amorf, kristalize olmayan

kalsiyum fosfat bulunmaktadır. Ayrıca çok az oranda karbonat, florit, magnezyum ve stronsiyum elementleri bulunur. Elektron mikroskobu ile bakıldığında, kollajen fibrilleri arasındaki HA kristallerinin yüzey iyonlarının hidrate olarak su ve iyonlardan oluşan bir tabaka bulundurduğu görülebilmektedir. Bu tabaka hidrasyon kabuğu olarak adlandırılır. Hidrasyon kabuğu vücut sıvıları ile kristal arasındaki iyon alışverişini kolaylaştırır. Doğal halinden daha kolay çözünebilen kristallerin gerektiğinde kalsiyum, fosfat ve magnezyum iyonlarını ekstraselüler sıvıya aktarması ile vücut iyon dengesi sağlanır (9, 14, 21, 27, 28).

HA kemiğe sertlik ve kuvvetlere karşı dayanıklılık sağlar. Dekalsifiye olun mineralize yapısını kaybetmiş kemik yapıları morfolojilerini kaybetmezler ancak esnek bir yapı kazanırlar (17).

Bileşen	Fonksiyon	Tipler	Özellikler
Organik Matris			
Kollajen	Gerilim gücü sağlama	Primer olarak tip I kollajen	Organik matrisin %90'ı Yapı: iki $\alpha 1$ ve bir $\alpha 2$ zincirinin gecek atlamalı, bir fibril üretimi için düzenlenmiş
Proteoglikanlar	Kompresif gücün kısmi sorumludur.	Glikozaminoglikan-protein kompleksleri	Mineralizasyon inhibisyonu
Matris Proteinleri (kollajen olmayanlar)	Mineralizasyon ve kemik oluşumunu artırmak		Osteokalsin (kemik γ -karboksiglutarik asit içeren protein -kemik Gla proteini-). Osteopontin
Büyüme Faktörleri ve Sitokinler	Kemik hücresi farklılaşması, aktivasyonu, büyümesi ve döngü'üne yardımcı olur		Transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- β), İnsülin-benzeri büyüme faktörü (IGF), Interlökinler (IL-1, IL-6). Kemik morfojenetik Proteinleri (BMP1-6).
İnorganik Matris			
Kalsiyum HA	Kompresif gücü sağlama		İnorganik matrisin büyük kısmını oluşturur, kollajen bağlamlar arası primer mineralizasyon (delikler ve gözenekler), periferde sekonder mineralizasyon
Osteokalsiyum Fosfat			Geride kalan inorganik matrisi oluşturur

Tablo 2. 2 Kemiğin moleküler yapısı (29)

2.3. Kemik Hücreleri

Kemik hücreleri; osteoblastlar, osteoklastlar, osteositler ve osteoprogenitor hücrelerden meydana gelir. Osteoblastlar ve osteositler benzer yapıda hücrelerdir. Bunun sebebi tek bir hücre türünün olgunlaşmasındaki farklı evrelerin hücreleri olduklarıdır. Osteoklast ise dolaşımda bulunan bütün hücreleri içine alan, kan hücrelerini oluşturan hücre ailesine aittir ve monositlerden farklılaşarak meydana gelir.

Farklı kökenleri ve zıt görevleri olmasına rağmen osteoblastlar ve osteoklastlar yaşam süreçleri, kısa ömürlü ve geçici hücre olmaları bakımından oldukça benzerdirler (19, 30, 31).

2.3.1. Osteoblastlar

Osteoblastlar kemik iliği ana dokusunda yer alan kök hücrelerden meydana gelir. Osteoblast dizilimine geçilirken osteoblast ön hücreler çoğalır, önce preosteoblastları sonra olgun osteoblastları meydana getirir. Hücre büyümesinde bir duraklama olduğunda, matriks olgunlaşır ve mineral yapımında önemli olan alkalen fosfataz ile özelleşmiş kemik proteinleri ortamda belirginleşir.

Organik matriksin üretilmesinde osteoblastlar sorumludur. Osteoblastlar önce kollajen sentezler ve salgılar, sonra kalsifikasyon için gerekli kalsiyum ve fosfat iyonlarının kemik içine ve dışına salınımını sağlar. Kemik, matriks oluşumu ve mineralizasyon aşamalarından oluşur. Osteoid bileşim denilen mineralize olmamış tabaka; mineralizasyon ve matriks oluşumu arasında geçen zamanda yüzeyde meydana gelir. Erişkin bir bireyde geçen bu süre yaklaşık 10 gün iken erişkin olmayanlarda ise daha kısadır. Kemik oluşum hızı, tetrasiklin benzeri florasan kemik belirleyicilerinin mineralizasyon sınırında birikmesi özelliği kullanılarak ölçülür. Osteoblastların aktif yaşamı 1-10 hafta arasında değişir. % 15'lik bir bölümü osteositleri meydana getirirken, bir kısmı da kemik yüzeyini döşeyen hücrelere dönüşür (32-34).

Osteoblastlar kemik yüzeylerinde yan yana dizilirler; bu dizilim epitel hücrelerinin dizilimlerine benzer. Sentez durumlarına göre morfolojik görüntülerinde değişiklik meydana gelir. Matriks sentezine başladıklarında şekilleri kübikten prizmatiğe kadar değişebilir. Alkalen fosfataz seviyesi artar ve sitoplazmaları bazofilik hale gelir. Sentez faaliyetleri azaldıkça yassılaşırlar ve alkalen fosfataz aktiviteleri yavaşladıkça, bazofilik özellikleri de azalmalar meydana gelir (21).

Osteoblastların osteoprogenitör hücrelerden dönüşümü iki farklı mekanizmayla olur. Birincisi, embriyojenik dönemde hücre kolonizasyonu ve farklılaşması sonucu direkt kemik dokusunun meydana getirilmesidir. İkinci dönüşüm mekanizmasında ise kemik dokusu yeniden şekillenme safhasında rezorbe olan kemik yerine veya kırık iyileşmesinde yaralanmış kemik dokusu yerine yeni kemik oluşturulabilmesi için osteoprogenitör hücrelere özel transkripsiyon faktörlerinin ve hormonların iyi bir zamanlama ile etki etmesi gerekir. Bu faktörler ve hormonların eksikliği mineralize yapının tam olarak meydana gelmesine engel olabilir (13, 21, 35). Osteoblastlar; paratiroid hormon (PTH), paratiroid hormon

ilişkili protein (PTHrP), prostaglandinler, D vitamini metabolitleri, kemik morfogenetik proteini (BMPlar), gonadal ve adrenal steroidler, bazı sitokinler, lenfokinler ve koloni stimule edici faktör (CSF-1) için reseptörler bulundurlar. Bu tür reseptörler aracılığıyla düzenleyici faktörler osteoblastların aktivasyon, diferensiasyon, proliferasyon miktarlarını, osteoblastların ve öncü hücrelerin uyarılmasını ya da apoptosisini meydana getirir.

Matriks oluşumundan sonra osteoblastlar kalsifikasyon sırasında kalsifiye matriks içinde gömülerek osteositleri oluşturur. Osteositlere dönüştükten sonra komşu osteositler, yüzeydeki osteoblastlar veya döşeyici hücreler ile iletişimi sağlamak için uzantılar meydana getirir (27). Bu iletişimi sağlayan uzantılar, hücre kendi etrafını matriks ile sarmaya başladığında daha belirginleşir. Yeni sentezlenmiş matriks ile osteoblastlar sarıldığında osteosit adını almaktadır. Hücre ve sitoplazmik uzantıların etrafında matriksin oluşması lakuna ve kanalcıkları belirginleştirir. Matriks sentezi sırasında osteoblastlar ultra strüktürel olarak aktif protein sentezi yapan ve salgılayan hücrelere benzemektedirler.

Kutuplaşmış hücreler olan osteoblastlar sitoplazmalarında büyük miktarda alkalen fosfataz enzimi vardır. Bu enzim yalnız matriks yapımıyla ilgili olmayıp, kalsifikasyonla da ilişkilidir. Daha önce yapılmış kemik matriksi ile temas halinde olan osteoblast yüzeylerinden matriksin sekresyonu oluşur. Böylelikle yeni fakat henüz kalsifiye olmamış matriks, osteoblastlar ile daha önce meydana gelmiş kemik matriksi arasında yer alır. Bu olaya “kemik apozisyonu” denilmektedir ve zamanla kalsiyum tuzlarının çökmesi ile bu süreç tamamlanmış olur. Bu olayın, osteoblastların salgıladığı alkalen fosfataz ile yerel olarak inorganik fosfat konsantrasyonunu arttırdığı için ya da kollajeni aktive ettiğinden dolayı olduğu düşünülmektedir. Bir miktar alkalen fosfataz difüzyonla kana geçtiğinden, alkalen fosfatazın kandaki düzeyi de kemik yapım hızını yansıtan markerlardan birisidir (21).

2.3.2. Osteoklastlar

Kemik dokusunda osteoklastlar, çapları 20 µm ile 100 µm arasında değişen, 5 ile 50 arasında çekirdeği bulunabilen, kemiğin rezorpsiyonundan sorumlu çok çekirdekli dev hücreler olarak tanımlanır. Rezorpsiyonunun başladığı alanlarda, enzimatik olarak açılmış howship lakunası adı verilen çukurcularda bulunurlar. Kan

hücreleri kaynaklı monositlerin birleşmesi ile meydana geldikleri için “mononükleer fagositoz sistem”e dahil edilirler.

Membran katlanmasına bağlı osteoklastların yüzeye yakın kısımlarda ektoplazmik bir bölgeyle çevrilmiş dalgalı bir görüntü meydana gelir. Bu alanlarla osteoklastlar kemiğe yapışır ve bir mikro ortam oluşturarak kemik rezorbsiyonunu başlatılmış olur. Daha sonra kemik yıkımı için gerekli ürünler sentezlenir.

Osteoklastların hücrelerinin sitoplazmaları genellikle asidofiliktir. Pek çok lizozomla birlikte, bol miktarda serbest polizom, bir miktar granüler endoplazmik retikulum, çok sayıda mitokondri ve iyi gelişmiş golgi kompleksi bulunur. Osteoklastların gerçekleştirdiği bu olaylar, hiçbir zaman hücrenin sitoplazması içinde meydana gelmez. Osteoklastlar kemik matriksine hücum eden asit, kollajenaz ve diğer proteolitik enzimleri sentezler. Bu durumda kalsifiye olmuş temel madde serbest hale gelir ve kemik rezorbsiyonu sırasında meydana gelen artıkların da ortadan kaldırılmasında önemli görev alırlar (21).

Osteoklastlar mitoz bölünmezler. Osteoblastlarla birlikte mekanik streslere bağlı olarak kemik dokusunun şekil almasına, plastik etkinliğini en iyi şekilde yapabilmesini sağlarlar. Ayrıca kemikte depolanmış kalsiyumun salınımından da sorumludurlar (17, 26).

Osteoblast hücre serisinin osteoklastların meydana getirilmesinde de büyük öneme sahiptir. Kemik yüzeyini örten osteoblastik hücreler uygun sinyaller geldiğinde kontrakte olurken yapıştıkları kemik matriksi yüzeyini osteoklastik rezorbsiyon için hazır hale getirmek amacıyla sindirim enzimleri sentezlerler. Kemikten ayrılan osteoblastlar kemik iliğine doğru hareket ederek öncü osteoklast hücreleri ile direkt temas kurarlar. Osteoblastlar tarafından sentezlenen üç sinyal molekülü osteoklastların farklılaşması ve düzenlenmesi için büyük öneme sahiptir.

Bunlardan birincisi makrofaj koloni oluşturu faktör (M-CSF) makrofaj üzerindeki reseptöre tutunarak osteoklast proliferasyonunu başlatmış olur. Böylece nükleer faktör kapa B (RANK) aktivasyonu için reseptörler salgılanır.

Kemik döşeyici hücrenin ikinci sinyal molekülü RANKL aktive olan reseptöre tutunarak bir arada bulunan tek çekirdekli fagositlerin birleştirerek çok çekirdekli hale getirir. Kemik yüzeyinden ayrılmış olan osteoblastik hücreler ile

kemik matriksi arasında “clear zone” denilen bir alan meydana getirir. Hücre dışı sıvıdan izole olan bu bölgede girintili çıkıntılı osteoklast yüzeyi kemik matriksine tutunduktan sonra klorid kanallarıyla kemik demineralizasyonu olur. Osteoklast tanımlaması yapılması için kemik yüzeyi ile çok çekirdekli hücrenin birebir teması olması gerekir.

Osteoblastik hücrelerin salgıladığı üçüncü sinyal ise tümör nekrotizan faktör reseptör (TNFR) ailesine ait osteoprotegerindir (OPG). RANKL sinyalinin makrofajlara bağlanmasını inhibe ederek osteoklast diferansiasyonunu kısıtlamış olur. Sadece osteoblastlar OPG salgılamaz, başka dokular da OPG salgılayabilir. Ayrıca rezorbsiyon kapasitelerini de düşürmüş olurlar. Böylelik kemik metabolizması ve osteoklastik aktivite düzenlenir. Hormonal osteoklastik aktivite kalsitonin, PTH ve 1,25-dehidroksivitamin D3 tarafından kontrol edilir. Kalsitonin ve 1,25-dehidroksivitamin D3 osteoklastlar üzerinde reseptörleri bulunmaktadır. PTH reseptörünün osteoklastlarda bulunmaması, osteoklast metabolizmasının osteoblastik hücreler tarafından düzenlendiği hipotezinin desteklenmesini sağlamış olur. RANK-RANKL sinyal yolu bu hipotezin gerçekliğini ortaya koymaktadır. Bunun yanında hormonal olmayan lokal faktörler ve sitokinler gibi osteoklastik metabolizma düzenleyicileri de bulunmaktadır (13, 17, 26, 27, 36).

2.3.3. Osteositler

Osteoblast kaynaklı lakünler içinde bulunan osteositler olgun kemik hücreleridir. Yaklaşık 1mm³ kemikte 20000 ile 30000 arasında osteosit bulunmaktadır. Kemik dokusunda % 95 oranla en fazla bulunan hücredir. Osteoblasttan osteosite dönüşüm sırasında hücrelerin boyutu küçülür, yassı elips şeklini almaktadırlar. Osteositler yaşlandıkça hücrenin ve organellerinin boyutunda da küçülmeler olur. Küçük çekirdekleri ve az sayıda mitokondrili seyrek ve bazofilik sitoplazmaları bulunmaktadır. Golgi kompleksleri ve endoplazmik retikulumların boyutunda ise oldukça küçülmeler olmuştur. Osteoblastlara göre çekirdek kromatinleri ise daha yoğundur. Bu hücreler kemik matriksinin devamlılığı ile aktif olarak ilgilidirler. Osteositlerin ölümünden sonra matriks rezorbsiyonu görülmektedir (9, 13, 17, 21, 27, 37).

Osteositler boyut olarak kaynak hücreleri olan osteoblastlara göre küçülürken kanaliküler içinde sitoplazmik uzantılar meydana getirirler. Bu uzantılar her yöne

gelişirler. Aynı zamanda çevredeki diğer hücreler ile (komşu osteositler, osteoblastlar, periost hücreleri, vazküler yapılar), gap bağlantıları sayesinde iletişim kurmaktadır. Moleküllerin, bu yapılar ile hücreden hücreye aktarılması sağlanmaktadır. Aynı zamanda osteositler ile kemik matriksi arasında kalan az miktarda ekstrasellüler sıvı da, bu moleküler alışverişe yardımcı olur. Periosteositik boşluk denilen bu alanda yaklaşık 1-1,5 litre ekstrasellüler sıvı vardır. Bu sistemin yüzey alanı yaklaşık 1000-5000m² arasındadır. Bu ağsı bağlantı sistemi kan damarlarından başlamakta ve 15 hücrelik bir beslenme zinciri oluşturabilmektedir. Ayrıca bu üç boyutlu osteositik lakünokanaliküler bağlantı yapısı, dışarıdan gelen mekanik kuvvetleri hücre sensörleri tarafından algılanabilen içsel mekanik sinyallere dönüştürmektedir. Kemik matriksinde oluşan herhangi bir distorsiyon ya da deformasyon, periosteositik boşlukta baskıya sebep olarak hücre dışı sıvıyı hareketlendirir. Bu sıvı hareketi de sitoplazmik membranda stresler meydana getirerek; prostaglandin, nitrik oksit gibi biyokimyasal sinyallerin salgılanmasını sağlarlar (21, 27).

Osteositlerin görevlerine yönelik varsayımlara göre osteositler, osteoblastların olgunlaşmış şeklidir ve canlı kaldıkları süre zarfında bulundukları matrisin devamlılığını sağlarlar. Osteositlerin kemik dokusundaki işlevlerine ilişkin bir diğer varsayım ise, osteoliz yaparak kan kalsiyum düzeyini koruduğudur (17). Osteositler kemik yüzeyini döşeyen hücrelerle birlikte kalsiyum akışını kontrol eder, kemiğin mineral direncini sağlar, mikro hasarları belirler, hücreler arası ilişkiyle bükülme kuvvetlerine göre kemiğin yeniden şekillenmesini sağlar.

Osteositler canlıdır ve canlılıklarını yukarıda anlatılan ağsı bağlantı sistemiyle devam ettirirler. Yaşam süreleri, bulunduğu kemiğin döngü hızına bağlı olarak uzun hücrelerdir. Ortalama yaşam süreleri birkaç yıl olmasına rağmen yavaş döngü hızı olan bölgelerde yarılanma ömürleri 25 yıla kadar çıkabilmektedir (17, 27). Aynı zamanda; kuvvet uygulanması, östrojen kaybı, yaşlanma ve kronik glukokortikoid uygulanması da osteosit ölümünü artırır.

2.3.4. Osteoprogenitör Hücreler

Mitoz bölünme özelliğini devam ettiren osteoprogenitör hücreler, embriyonik mezenkimal hücrelerden köken alır. Büyüme gelişme döneminde aktivitelerini sürekli korurlar. Yetişkinlerde kırık iyileşmesi sırasında veya farklı tipteki yaralanma

durumlarında aktive olabilirler. Osteoblast, osteoklast veya diğer kemik hücre tiplerine dönüşme özellikleri vardır. Yağ hücresine, fibroblastlara, kemik iliğindeki kan yapıcı hücrelere, hatta yetersiz oksijen varlığında bazı özel şartlar altında kondrojenik hücrelere de dönüşüm yetenekleri vardır. Endosteumda, periosteumun iç hücresel tabakalarında ve *Haversian* kanallarına bakan iç yüzeylerde bulunurlar. Özellikle mezenkimal kök hücreler olan bu hücrelerin kökeni tam anlamıyla anlaşılamamıştır (13, 17, 21, 38).

Osteoprogenitör hücreler, soluk boyanan oval çekirdekli, soluk sitoplazmalı yassı hücre görünümündedirler. Osteoprogenitör hücreler organellerinin mikroskopik özellikleri, bu hücrelerin gelecekleri hakkında da fikir edinmek için kullanılabilir. Gelişmemiş endoplazmik retikulum ve az gelişmiş golgi cisimciği olan osteoprogenitör hücreler, preosteoblastlardır ve osteoblastlara dönüşürler. Belirgin mitokondrilere ve serbest ribozomlara sahip olan hücreler ise osteoklastlara farklılaşırlar (13, 17, 39).

2.4. Kemik Oluşumu (Osteogenesis)

Kemik oluşumu, osteoblastlar tarafından sentezlenen matriksin doğrudan mineralizasyonu ile (intramembranöz kemikleşme) veya kemik matriksinin daha önce var olan kıkırdak matriks üzerine çökmesi ile (endokondral kemikleşme) oluşur. İki oluşum yönteminde de ilk olarak primer kemik dokusu meydana gelir. Daha sonra oluşan kemik sekonder kemik ile yer değiştirmiş olur. Kemik dokusu oluşumu ve yıkımı, sadece gelişen kemikte görülen bir olay değil, yaşam boyu yavaşlayarak devam eden bir olaydır (21).

2.4.1. İntramembranöz Kemikleşme

Kafatasındaki frontal, temporal, pariyetal ve çene kemiklerinde görülen bu kemikleşme şekli bağ dokusu tarafından meydana getirilir. Osteoblastlar tarafından salgılanan matriksin doğrudan doğruya mineralizasyonu ile oluşur. Kısa kemiklerin büyümesinde, uzun kemiklerin de kalınlaşmasında intramembranöz kemikleşme etkilidir.

Mezenşimal hücrelerinin damarlar etrafında toplanıp çoğalmasıyla başlayan bu kemikleşme şeklinde, mezenşimal hücreleri hücreler arası madde ve lif sentezini

de yaparak osteoblast ve osteositlere dönüşürler. Bu alanlara primer kemikleşme merkezi denir. Oluşan ilk kemik yapısı, trabeküler yapıdadır ve lamel içermez. Kalsiyumun çökelmediği bu yapıya da osteoid doku denilmektedir. Damar etrafında toplanmış osteoblastların osteositlere dönüşerek boşalttıkları alanlara yeni hücrelerin yer almasıyla mekanizma devam eder. Anastomozlarla trabeküller büyüyüp çoğalmış, spongioz kemik yapısı meydana gelmiş olur. Trabeküller arası boşluklardaki bağ dokusu da kemik iliğinin myeloid veya hematopoetik dokusuna dönüşür (17). Kalsifiye olmayan mezenkimal hücreler periost ve endosteuma dönüşürler. Periostun iç tabakası ve duranın periosteal tabakası kompakt kemiğe dönüşerek iç ve dış tabakayı oluşturur (21).

2.4.2. Endokondral Kemikleşme

Endokondral kemikleşme şekli, özellikle uzun kemiklerde diyafiz bölgelerinde kıkırdak matriksin üzerine kemik matriksin çökmesi ile oluşur. Endokondral kemikleşme şekli iki aşamadan meydana gelir. Birincisi hyalin kıkırdak bir çatının meydana gelmesi; ikincisi ise kıkırdak yapının büyümesi ve kemik çatı için bir model oluşturması ardından rezorbsiyonu ve yeni kemik meydana gelmesidir.

Uzun kemikler uzun bir diyafiz ve epifizden meydana gelirler. Meydana gelen ilk kemik diyafizi saran perikondriumda intramembranöz yolla oluşmakta ve periost şekillenmektedir. Uzun kemiklerin oluşumunda önce hyalin kıkırdak yapıda bir taslak meydana gelir, sonra apozisyonel büyüme ile uzunca bir şekil alır, perikondriumla sarılı epifiz ve diyafiz meydana gelir. Bu kıkırdak taslağın içindeki kondrositler gelişir, sitoplazmalarında glikojen depolarlar ve vakuolize hale gelmiş olurlar. Etraflarındaki kıkırdağı rezorbe ederek trabeküllü bir kıkırdak matriksi oluşur. Matriksin kalsifiye olmasıyla kıkırdak taslağın üzerinde yeni kemik meydana gelir. Taslağın içindeki boşlukları ise daha sonra kemik iliği hücrelerine ve osteoblastlara dönüşerek mezenkim dokusu ile kan damarları doldururlar (17).

Primer kemikleşme merkezi olan kıkırdak taslağın uçları birbirinden ayrılarak kıkırdak uçları büyümeye devam eder ve kemikleşmeye başlar. Bu sırada kemik, uzun bir diyafiz ve uçlarında yarım ay şeklinde epifizden meydana gelir. Büyüme plağı diyafiz ile epifiz arasındaki alana denir. Bu bölgedeki kıkırdak hücrelerinin proliferasyonu ile kemiğin boyunun uzaması devam eder. Diyafizde ise

osteoprogenitör hücreler olgunlaşan kondrositlerin yerlerini alırlar. Perikondrium ise periosteuma dönüşür. Büyüme ve gelişmenin sona ermesiyle meydana gelen hormonal değişimlerle, büyüme plakları kemikleşir, epifiz ile diyafiz birleşir. Sekonder kemikleşme merkezi, epifizin içinde diyafize benzer oluşan yeni kemik dokusuna denir (17, 21).

2.5. Kalsifikasyon Mekanizması

Kemik matriksi üzerine kalsiyum fosfatın çökmesini açıklayabilen kabul görmüş genel bir hipotez olmamasına rağmen, kalsiyum tuzlarının kollajen fibriller üzerine çökmesi ile başladığı bilinmektedir. Bu mekanizmayı, glikoproteinler ve proteoglikanlar kalsiyum bağlamada yüksek afiniteleri sayesinde başlatır. Aynı zamanda kemik yüzeylerinde bulunan ve osteoblastlarca üretilen alkalen fosfatazın da bu olaya yardımcı olduğu düşünülmektedir. Osteoid maddenin oluşumundan 4-8 gün sonra meydana gelen kalsifikasyon sonrası kalsifikasyon çizgileri denen tabakalar meydana gelir (17, 21).

2.6. Kemik Büyümesi ve Şekillenmesi

Daha önce meydana gelmiş olan kemik dokusunun yıkılarak aynı zamanda yeni kemik dokusunun yapımı ile kemik büyümesi gerçekleşir. Kemik dokusu büyürken kemik yapım hızı, yıkım hızından daha fazladır ve böylece kemiğin şekli de korunmuş olur (21). Periostun bir yerinde apozisyon ve aynı zamanda buna karşıt olarak başka bir bölgede rezorbsiyon olurken kemiğin şekli korunmuş olur (17).

Kemik dokusu, farklı kuvvetlerin etkisiyle içyapısını tekrar düzenleyebilir. Bunun en iyi örneği ortodontik apareylerdir. Kuvvetin çektiği yerlerde kemik oluşumu, ittiği yerlerde kemik rezorbsiyonu meydana gelir. Bu şekil alma özelliği remodelasyon, tüm kemikler için geçerli olup yaşam boyu sürmektedir (17, 21).

2.7. Kemiğin Hücresel İşlevlerinde Etkili Lokal ve Sistemik Düzenleyiciler

Kemik oluşumu, şekillenmesi, yıkımı ve tamiri gibi hücresel işlevlerin uyumlu bir şekilde yürütülebilmesi, çeşitli düzenleyici faktörlere bağlıdır. Sonuç olarak bütün kemik hücre işlevleri; sistemik hormonlardan lokal faktörlere kadar uzanan, farklı hücreler arasında düzenlemeleri sağlayan parakrin faktörler ile aynı hücreler arasında düzenlemeleri sağlayan otokrin faktörler tarafından düzenlenir.

Sistemik hormonlar, kalsiyum düzeyinin dengelenmesi gibi tüm vücut seviyesindeki değerler doğrultusunda etkili olurlarken aynı zamanda hedef hücrelerden yerel düzenleyici faktörlerin üretimini düzenler. Lokal düzenleyici faktörler ise sınırlı alanlarda işlevlerin kontrolünü sağlarlar.

2.7.1. Lokal Düzenleyiciler

Prostaglandinler

Siklopenton veya sikloheksan halkasına bağlı 20 karbon atomlu karboksilik asit türevidir. Yapılan in vitro çalışmalarda kemik emilimi ve osteoklast aktivitesinde artış yönünde etki ettiği bildirilmiştir (17).

Büyüme Hormonu

Somatotropin hormon, tek zincirinde 191 aminoasit bulunduran küçük bir protein molekülü olup büyüme özelliğine sahip tüm dokuların büyümesini gerçekleştirir. Aynı zamanda mitoz bölünmeyi uyarır, kemik büyüme hücrelerinin ve ön kas hücrelerinin farklılaşmasını sağlar. İskelet sisteminde, kondrosit ve osteojenik hücrelerin protein depolamasına rehberlik eder, bu hücrelerin çoğalmasını hızlandırır, kondrositlerin osteojenik hücrelere dönüşümünü sağlayarak yeni kemik yapımını oluşturur. Aynı zamanda karaciğerde somatomedinlere dönüşerek kemik oluşumunda hızlandırıcı etkiye sahip proteinlerin meydana gelmesini tetikler (40).

Kemik Morfogenetik Proteinler (BMP)

Geniş bir büyüme faktörü ailesi olan BMP'ler, kültür ortamında fibroblastları dönüştürme yeteneklerinden dolayı Transforming Growth Factor (dönüştürücü büyüme faktörü, TGF) diye adlandırılan gruba dahil edilirler. 20'ye yakın protein bulundururlar (41, 42).

BMP değişime uğramadan canlılarda saklanan özgün yapılardır. Bağ dokusu hücrelerinin proliferasyonunu meydana getirirler. Büyüme faktörleri arasında bağ dokusu hücrelerini kemik hücrelerine dönüştürebilen tek morfojendir. TGF β , IGF (Insulin-Like Growth Factor), FGF (Fibroblast Growth Factor), damar endotel büyüme faktörü gibi diğer büyüme faktörleri de proliferasyonu uyarır. BMP sinyal mekanizması, sistemin içerisinde bulunan birden fazla molekülün birbiriyle çapraz haberleşmesini içeren bir durumdur (42).

Diğer Lokal Faktörler

- a. Polipeptidler (yapısı polipeptidler)
 - ✓ Ekstrasellüler: (EGF, TGF, PDGF, vb)
 - ✓ İntrasellüler: (lenfosit, makrofaj, osteoblast kökenli olabilirler)
- b. Nonpolipeptidler
 - ✓ Florid (kemikte hidroksil iyonları ile yer değiştirerek florohidroksiapatit kristalleri oluşturur, kalsiyumun çözünürlüğünü azaltır.)
 - ✓ Bisfosfonat (osteogenezi inhibe ederek matriks oluşumunu azaltırlar)
 - ✓ Adenozinler
 - ✓ Fosfat
 - ✓ Pirofosfat (43)

2.7.2. Sistemik Düzenleyiciler

Farklı hormon ve bileşikler, reseptörlerle hedef hücelere etki ederler. Bunlardan bazıları; parathormon, kalsitonin, vitamin D, glukokortikoidler, cinsiyet hormonları, tiroit hormonları, vitamin A ve vitamin K gibi maddelerdir.

Paratiroid Hormon (PTH) ve Kalsitonin

Paratiroid hormonu, kemik ve böbreklere etki ederek plazma kalsiyum seviyesini düzenler. Kemik remodelasyonunu uyaran PTH'n etkilediği ana hücre osteoblastlar olmasına rağmen kısmen osteoklastları da etkileyerek kemik yıkımını düzenler. Hücresel düzeyde PTH, kemik iliği kültürlerinde osteoklast yapımını arttırmakta, metalloproteinaz matriks oluşumunu uyarmakta, osteoblastik hücrelerde tip I kollajen açığa çıkmasını engellemektedir. PTH apoptozisi baskılayarak osteoblastlar üzerindeki anabolik etkisini gösterir. Bu etki, osteoblastların farklılaşmanın hangi evresinde olduğuyla alakalıdır.

Kalsitonin, fizyolojik olarak kemik emilimini geçici olarak baskılar. Olgun osteoklastlar üzerinde, osteoklastik aktivitelerini engeller (17).

Steroid Reseptörleri, Glukokortikoidler, Östrojen ve Androjen

Yağda çözünebilen maddeler olan hücre çekirdeğinin steroid reseptörleri hücre çekirdeğine taşıyıcı proteinler yardımıyla getirilir.

Glukokortikoidlerin kemik yıkımı engellediği, PTH ve IGF-1 gibi hormonların etkinliğini arttırdığı bildirilmiştir. Glukokortikoidlerin aktif osteoblastlar üzerindeki etkilerinin çoğu engel olma şeklindedir. Yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda glukokortikoidlerin osteoblastlarda apoptozise sebep olduğu, sert dokuda yapısal ve hücresel düzeyde belirgin dağılmaya yol açtığı bildirilmiştir (17).

Yapılan in vivo çalışmalarda östrojenin kemik yapımı ve rezorpsiyonu üzerinde engelleyici etkisinin olduğu bildirilmiştir. Androjenlerin büyüme gelişme döneminde kemik dokusunun büyümesi yönünde arttırdığı, eksikliğinde ise kemikte rezorptif aktivitenin arttığı gösterilmiştir. Osteoblastik hücreler östrojen reseptörlerinin yanı sıra androjen reseptörlerini de bulundurlar. Yapılan in vivo çalışmalarda, östrojen azalmasının IL-1 ve IL-6 başta olmak üzere, emilimi tetikleyen sitokinlerin üretiminde belirgin artışa yol açtığı bildirilmiştir. Östrojenlerin TGF sentezini artırarak osteoklastların apoptozisinde artışa yol açtığı da düşünülmektedir (42).

2.8. Kemik Greftleri

Dişler kaybedildikten sonra, genellikle çeşitli seviyelerde kemik kayıpları da görülmektedir. Diş çekiminden sonra kemikte meydana gelen yeniden şekillenme sürecinde alveolar krette kemik kaybının olmaması kaçınılmazdır. Bu alanların rekonstrüksiyonunu sağlamak için yerleştirilmesi gereken greftlerin amacı, mevcut defekti onarmak ve dokuları güçlendirmektir. Kemik dokusu vücuda en sık nakledilen dokudur. Atrofi, yaralanma, konjenital malformasyonlar veya tümör ameliyatları sonrası oluşan defektlerin onarımında kullanılan kemik greftleri 4 ana gruba ayrılır (44).

2.8.1. Otojen Greftler

Verici ve alıcının aynı kişi olduğu greft türüdür. Yapısında bulunan canlı hücreler sayesinde osteojenik etkiye sahip tek greft materyali olduğu için altın standart olarak kabul edilmiştir. Zamanla bu osteojenik etki kaybolur, ancak bu sefer osteoindüktif ve osteokondüktif etkiler ortaya çıkar. Bu greft tipinde doku uyumu sorunu yoktur çünkü aynı kişiler dönör olarak kullanılıp yapılmaktadır. Osteojenik hücreler içerdiği ve immünolojik bir reaksiyon oluşturmadığı için en avantajlı greft

tipi olarak bildirilmiştir. Ancak donör alanda ikinci bir ameliyat yeri oluşturma ihtiyacı, uzun süreli ameliyat sonrası ağrı ve bakım süresinin uzunluğu gibi dezavantajları da bulunmaktadır (11).

Ağız İçi Otojen Greft Kaynakları

Tercih sıklığına göre otojen kemik greft elde etmek için ağızda donör olarak kullanılabilen alanlar; mandibular simfizis, yükselen ramus, korpus, koronoid process, maksiller tüber, maksiller sinüs duvarı ve zigomatik buttress (11, 44).

Mevcut dezavantajları ortadan kaldırmak ve partikül greft ağızdan elde etmek için çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Frezleme esnasında oluşan kemiği toplayabilen aspiratör uçları gibi özel olarak tasarlanmış aletler örnek olabilir. Bu şekilde otojen kemik grefti daha kolay elde edilir ve hasta morbiditesi azdır. Greft yapılacak alan hacminin küçük olduğu durumlarda daha komplike ekstraoral müdahalelere gerek kalmadan uygulaması kolay bir yöntemdir. Greftlenecek alana yakın bölgelerden elde edilebilmesi ve yapısında canlı kemik hücrelerinin bulunması da bir avantajdır. Ayrıca ağız içi otojen greftlerin dezavantajları mikrobiyolojik kontaminasyon riski, ikinci bir cerrahi alan ihtiyacı, donör bölgede enfeksiyon ve morbidite riski ile başka bir kusur yaratma ihtiyacı, sınırlı miktarda elde edilme olasılığı, greftler, diş köklerine zarar verme ve duyu siniri yaralanması riski sayılabilir (11).

Ağız Dışı Otojen Greft Kaynakları

İntraoral alanlardan yeterli greft elde etmenin mümkün olmadığı daha karmaşık olgularda kalvaryum, iliak krest, tibia, fibula ve kaburgalar ağız dışı alanlarda donör olarak kullanılabilen bölgelerdir (44).

Kortikal ve kansellöz tiplerde damarlanmayan serbest otojen kemik greftleri alınabilir. Kortikal greftler dayanıklı, sert bir yapı oluşturarak formun devamlılığını meydana getirir. Yatay veya dikey olarak alveolar sırtın kaybolduğu durumlarda onley greftlemede ve kemik katmanları arasına bir dolgu yerleştirilerek yüz konturunun düzeltilmesinde kullanılabilirler (11). Kansellöz greftler ise osteoblastlara dönüşebilen ve osteogenezi indüklemeye kapasitesine sahip canlı hücrelere sahiptir. Kortikal greftlere göre daha hızlı revaskülarize olurlar ve daha geniş kullanım alanları vardır. Kullanım alanları arasında ekstraksiyon soketleri, maksiller sinüs operasyonları ve alveolar defektlerin onarımı bulunur. Bu greftlerin

dezavantajı; mekanik destek sağlayamamalarıdır (45). Bilinen en etkili süngerimsi kemik grefti kaynağı, ön veya arka iliak krestten alınan kemik greftidir. Ayrıca kortikokansellöz kemik greftlerinin geniş kullanım alanları vardır. Kortikokansellöz greftler, kortikal greftlere yakın mekanik dayanımları ve osteogeneze katkı sağlama gibi avantajlara sahiptir. Ekstraoral greftler genellikle kaburga veya ilium kökenlidir. Ancak bu iki bölgeden elde edilen kortikokansellöz greftler arasında da farklılıklar vardır (46).

Ayrıca embriyolojik olarak endokondral ossifikasyondan kaynaklanan bu greftler daha hızlı yıkıma uğrarlar. Öte yandan, intramembranöz kaynaklı kemik greftleri, çene kemiklerine benzer embriyolojik özellikleri nedeniyle endokondral kaynaklı kemik greftlerine göre daha az rezorbsiyona uğrarlar (47).

2.8.2. Allogreftler

Allojenik greftler, aynı türden ve farklı genotipteki bireylerden elde edilen greft materyalleridir. Genellikle kadavralardan alınır ve uygun şekilde işlendikten sonra çeşitli şekil ve boyutlarda hazırlanır ve kemik bankalarında saklanır.

Allojenik kemik greftleri, farklı bir kişiden elde edilen osseozla nakledilen dokulardır. En önemli avantajı, ameliyat sırasında donör bölgelere olan ihtiyacı ortadan kaldırmasıdır (48, 49).

Üç tip allogreft bulunmaktadır. Bunlar;

1. Dondurulmuş kemik (DK)
2. Dondurulmuş - kurutulmuş kemik (DKK)
3. Demineralize dondurulmuş – kurutulmuş kemik (DDKK)

DK, antijenik yanıt oluşturma ve hastalık taşıma gibi riskler nedeniyle oral cerrahide çok sık kullanılmaz.

DKK allogreftlerinde greft, tüm süreç boyunca sıvı faz olmadan düşük sıcaklıkta liofilizasyon ile kurutulur. DKK; Düşük antijen aktivitesi, yüksek kolajen içermesi ve kortikal kemik içeriği nedeniyle tercih edilen greftler arasındadır.

DDKK allogreftleri, konağın farklılaşmamış mezenkimal hücrelerini etkileyerek osteoindüksiyon yoluyla kemik rejenerasyonu sağlar. Aynı zamanda,

konakçı kemik için bir matris görevi görerek osteokondüktif etki meydana getirir. DDKK' lara “ Demineralize kemik matriksi (DKM) ” denilmektedir (50, 51).

Allojenik kemik greftlerinin avantajları şunlardır;

- ✓ Verici alan morbiditesi önlenir
- ✓ Otojen greftlere göre daha fazla greft sağlayabilir
- ✓ Otojen kortikal greftlere göre değişik formlarda allojen kortikal kemik elde edilebilir.
- ✓ Farklı şekillerde elde edilmesiyle kullanım kolaylığı sağlar ve operasyon zamanı kısalmış olur (52-54).

2.8.3. Ksenogreftler

Heterojen greft materyalleridir. Farklı bir türden elde edilen greftlerdir. Diş hekimliğinde genel olarak kemik defektlerinde, çeşitli osteotomilerde, implantolojide maksiller sinüs işlemlerinde kullanılır. İmmün yanıt oluşturma riski, otojen greftler ile kombinasyon halinde kullanım önerisi, yavaş greft rezorpsiyon hızı ve kemik dokusu ile yavaş yer değiştirme gibi dezavantajları da bulunmaktadır.

Ksenojenik kemik greftleri, memeli hayvanların kemiklerinden veya mercan dış iskeletinden yapılır. Domuz ve fareden kaynaklanan farklı ksenograftlar olmasına rağmen, sığır kaynaklı olanlar en sık kullanılanlardır. 1960'larda sık kullanılan bu greftler, sığır kaynaklı olanların kullanımından sonra bildirilen bazı otoimmün hastalıklar sebebiyle kullanımları sınırlandırılmıştır. Ancak 1990'lı yıllarda kemik partiküllerinin deproteinizasyonu ile antijenik özelliği minimuma indirilmiş ve tekrar sıklıkla kullanılmıştır. Bu işlemle kemiğin organik bileşeni tamamen çıkarılmış ve osteoindüktif özelliği kaybedilerek osteokondüktif etkili bir greft materyali yapılmıştır. Sığır kaynaklı kemik organik bileşenlerinden tamamen arındırıldıktan sonra kalsiyum matriksi gama radyasyonu ile sterilize edilir ve greft kullanıma hazır hale getirilir. Böylece alıcıda herhangi bir immün reaksiyona neden olmayacak şekilde greft materyali elde edilir (11, 55, 56).

Yapılan çalışmalar, ksenogreftlerin osteotomi işlemlerinde başarılı olduğu, ancak posttravmatik deformitede ve yetersiz mekanik dirençle hipoplastik alan düzeltmelerinde yetersiz olduğunu rapor edilmiştir (46). Yapılan çalışmalar ksenograftlar değişen derecelerde rezorbe olduğu gösterilmiştir. Klinik çalışmalarda

ve hayvan çalışmalarında bulunan bu rezorpsiyon oranları arasında gözlemlenen farklılıkların, ürünün üretim yöntemindeki değişikliklerden kaynaklandığı savunulmaktadır (57, 58).

2.8.4. Alloplastlar

Sentetik olarak üretilmiş kemik rejenerasyon greftleridir. Bu biyouyumlu malzemeler osteokondüktif özelliğe sahiptir.

Seramikler

- Sentetik Hidroksiapatit

Hidroksiapatit bir seramiktir ve birkaç farklı türü vardır. İç gözenek çapı, türünün belirlenmesi için bir referans olarak alınmıştır. Gözenekli hidroksiapatit, fibrovasküler dokunun grefte hızlı büyümesine izin verir ve böylece grefti stabilize eder ve mikro mobilitiyi önler. Çeşitli kıvam ve şekillerde üretilebilen hidroksiapatit, kemik defekti onarımında, diş çekimi sonrası alveolar kemiğin korunmasında, alveolar kemiğin augmentasyonunda ve maksiller sinüs augmentasyonunda rejenerasyon maddesi olarak kullanılmaktadır. Hidroksiapatit kullanımı donör bölgelere olan ihtiyacı ortadan kaldırsa da, granüler migrasyon ve eksik resorpsiyon gibi uzun vadede komplikasyonları olduğu düşünülmektedir (11, 59).

- Trikalsiyum Fosfat

Hidroksiapatit gibi, Tricalcium Phosphate (TCP) de biyoemilebilir ve biyouyumlu bir greft materyalidir. Bununla birlikte, uygun olmayan gözenekliliği, küçük tane boyutu ve 6 hafta gibi kısa bir sürede çözünmesi nedeniyle, diğer alternatifler arasında zayıf kalmıştır. TCP bir kalsiyum fosfat biçimidir ve sıklıkla β -TCP biçiminde kullanılır. Biyouyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir olduğu kanıtlanan bu malzeme ticari olarak macun, partikül ve blok formları bulunur. Kimyasal bileşimi ve kristal yapısı ile kemiğin mineral yapısına benzer. Diğer greftlerle benzer iyileşme aşamaları vardır, ancak kemiğin mikro yapısına uyum sağlamak için yetersizdir. Bilinen dezavantajlar, öngörülemeyen ve hızlı emilmeyi içerir (11, 60).

- Biyoaktif Cam

Normal cam iyonmer simanlarda da bulunan silika-fosfat zincirlerinden oluşmaktadır. Kemik ile kimyasal bağ oluşturmeyen bu greft materyali; Kalsiyum tuzu, sodyum tuzu ve silikadan meydana gelmektedir. Yapısal destek açısından hidroksiapatit'ten daha güçlüdür ve uygulandığında kolajene, büyüme faktörlerine ve fibrine bağlanarak osteojenik hücrelerin proliferasyonunu sağlayan gözenekli bir matriks meydana getirir (11, 54). Bu özellik ve osteoindüktif yeteneği, bir dizi hayvan çalışmasında rapor edilmiştir (61). Kullanılmak üzere granül, blok ve çubuk formlar; Ayrıca emilebilen ve emilemeyen çeşitleri de vardır (62).

Periodontal defektleri onarmak ve alveolar kemik hacmini korumak için kullanılır. Ancak diş kaybından sonra yerleştirilen bu materyalin uygulanması da tam olmayan rezorpsiyonu nedeniyle uygulanacak dental implantın risk altına girmesine neden olur (63). Ayrıca, bu materyalin antibiyotiklerle veya başka herhangi bir maddeyle karıştırılmaması gerekmektedir (52, 64).

- Kalsiyum Karbonat

Mercandan elde edilen bu materyal yavaş rezorbe olur. Ayrıca kemik oluşumu için yüzey dönüşümü gerektirmedikinden daha hızlı kemik oluşumu sağlar. Kalsiyum karbonat greftleri hemostatik özelliklere sahiptir ve uygulandığı bölgeden kolaylıkla çıkarılamaz. Ayrıca hassas bir yapıya sahiptirler ve iyileşme sürecinde yer değiştirebilirler (11).

- Kompozit Kopolimerler

Çok sayıda konfigürasyonda şekillenebilen polimerler olan poliglikolik asit (PGA) ve polilaktik asit (PLA) kombinasyonları, emilebilir sütürlerin üretiminde yıllardır kullanılmaktadır. Son yıllarda emilebilen fiksasyon materyalleri popüler hale gelmeye başlamıştır (11, 65). Bu malzemeler yüksek moleküler ağırlığa ve 3 yıla kadar uzun bozunma sürelerine sahiptir. Bu süre zarfında hastanın yaşı ve bağışıklığı, doku toleransı, kusurun lokalizasyonu ve maruz kalan yüzeyin konfigürasyonu gibi özellikler etkilidir.

Tıpkı biyoaktif camlar gibi, bu malzemede de çekim soketini korumak için PLA'dan yapılmış kök biçimli ürünler bulunur. Biyoaktif camlarda olduğu gibi rezorpsiyon yetersizliğine bağlı implantlar için risk oluşturduğu düşünülmektedir

(11). PGA ve PLA'nın düşük yoğunluklu kopolimerleri son yıllarda üretilmiştir ve bu malzemelerin bozunma süreleri 3 ile 8 ay arasında değişmektedir. Üç duvarlı defektler için toz formu ve iki veya üç duvarlı defektler için bir sünger formu bulunmaktadır. Jel formu derin defektlerde kullanılabilir.

Emilemeyen kopolimer olarak polimetil metakrilat (PMMA) ve polihidroksietil metakrilat (PHEMA)' tan oluşur. Radyopasite sağlamak için bu karışıma az miktarda baryum sülfat da eklenir. Bu malzemenin bir avantajı, kimyasal ve biyolojik özelliklerinden dolayı aynı zamanda bir membran olarak işlev görmesi, dolayısıyla başka bir membran gerekmemesidir (61, 66).

2.9. Kemik Greftlerinin İyileşme Mekanizması

Osteogenezis, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon olmak üzere kemik grefti iyileşmesinde oluşan 3 farklı rejenerasyon türü vardır.

Osteogenez, greft materyalinde yaşayan osteoblastik hücreler yeni kemik oluşumu oluşturduğunda meydana gelir. Otojen kemik grefti bu özelliğe sahip tek greft materyalidir. Otojen greftlerinde 5 gün içinde osteojenik özelliklerini yitirdikleri ve osteoindüktif ve osteokondüktif etkilerinin devam ettiği bildirilmiştir (67, 68). Otojen greftlerde bu osteojenik kabiliyeti korumak için greft çıkarıldıktan hemen sonra kullanılmalı veya steril salin içinde tutulmalıdır. Damıtılmış su kullanımı, hipotoksitesi nedeniyle kontrendikedir ve hücre ölümüne yol açar. Süngerimsi kemik, osteogenetik özellikler açısından yüksek canlı kemik hücresi konsantrasyonu açısından en etkili kemik türüdür (69).

Farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin uyarılması sonucu kemik üreten osteoblastların oluşumu osteoindüksiyon olarak tanımlanır. Farklılaşmamış, olgunlaşmamış hücreleri, canlı kemikteki büyüme faktörleri aracılığıyla osteoblastlara veya kondroblastlara dönüştürerek osteogenezin başlatılmasıdır. Osteogenezis, kemik matrisinden kaynaklanan kırık, yaralanma vb. olaylardan sonra ortaya çıkan bazı indüksiyon ajanlarıyla başlar. Meydana gelen uyarımla, farklılaşmamış hücreler preosteoblastlara farklılaşırlar. Osteoindüktif etkiyi göstermek için, kas dokusu gibi heterotopik bir alanda uyarılma sonucunda kemik oluşumu oluşturularak indüktif bir etki gösterilmiştir. Bununla birlikte, kemik gibi ortotopik bir alanda, bu etkinin osteoindüksiyondan mı yoksa osteokondüksiyondan mı kaynaklandığını ayırt etmek güçtür (70).

Urist ve ark. (71), yaptıkları çalışmada BMP' yi izole ettikten sonra, çözünebilir bir glikoprotein olan BMP bir büyüme faktörü ve TGF- β ailesine ait bir indüktif ajan olduğunu bildirmişlerdir. En az 15 farklı BMP çeşidinin var olduğu ve bunların en önemlilerinin BMP-2 ve BMP-7 olduğunu belirtmişlerdir. Günümüzde, travma sonrası veya yeniden şekillenme süreci sırasında doğal olarak salınan BMP'nin osteoindüktif olarak etkili bir materyal olduğu ve kırıkta oluşumundan sonra endokondral ossifikasyonla yeni kemik oluşumunu indüklediği kesinlikle kabul edilmektedir (70, 72).

Osteokondüksiyon, kemiğin büyüyebileceği bir yüzeye ilerlemesi olarak açıklanır. Bu biyo-uyumlu malzemeler, gözenekler, kanallar veya tübüller, kemiğin büyümesine olanak sağlayarak ve bir matris oluşturarak osteogenezi destekleyecek bir yapıdadırlar (70). Osteokondüktif materyaller, osteogeneze doğrudan katılmadan, ancak bir kılavuz görevi görerek kemik oluşumuna katkı sağlar. Yalnızca kemik ve farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin varlığında kemikleşebilen bu greft materyalleri deri altı gibi ektopik bir alana uygulandığında osteogenez olmaz, greft rezorbe olabilir veya değişmeden kalır. Alloplastlar bu özelliğe sahip greft örnekleridir. Yine, ksenograftlar da osteokondüksiyon yeteneğine sahiptir (73).

Tüm greft materyalleri, doğal kemiğin yeniden şekillendirilmesinde olduğu gibi replasman süreciyle yeni kemik meydana getirirler. Kemik grefti yerleştirildikten hemen sonra iyileşmenin ilk aşamasında remodeling ve emilim meydana gelir. Graft boyutundaki bu kayıp; greft boyutuna ve kalitesine, alıcı alandaki kemik kalitesine, biyomekanik özelliklere ve greftin çevreleyen kemiğe sabitleme oranına göre değişir (44). Greftin iyileşme süresi ve şekli greft tipine göre değişkenlik gösterir. Aynı zamanda alıcı yatağındaki damar desteği ve greft hücrelerinin hayatta kalması iyileşmeyi doğrudan etkileyen faktörlerdir. Morfolojik olarak kortikal kemik, Haversian ve Volkmann kanalları etrafında sıkı bir şekilde yapılandırılmış dairesel, paralel ve interstisyel kemik lamellerinden meydana gelir. Süngerimsi kemik ise gözenekli bir yapıya sahiptir ve içinde kemik iliği bulunan trabekül adı verilen bir kafesle çevrili bir çubuk, plaka ve yay görünümündedir. Süngerimsi kemik, hücrelerin ve damarların alıcı bölgeden ulaşabileceği kortikal kemikten daha geniş bir yüzey alanına sahiptir. Böylece, greft içinde damar desteği kortikal kemiğe göre % 30 daha hızlı düzenlenir (74).

2.9.1. Serbest Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi

Birkaç haftalık kemik rejenerasyonunun ilk aşamasında, greft içerisine nakledilen hücreler çoğalır ve yeni osteoid meydana getirirler. İlk 3-5 gün greft içindeki hücrelerin beslenmesi plazmatik difüzyon ile olurken, beşinci günden itibaren çevredeki yumuşak doku ve kemikten grefte kılcal büyüme olur. Serbest kemik greftleri süngerimsi, kortikokansellöz veya kortikal olabilir. Greftlerin iyileşmesi de bu greft türüne göre farklılık meydana getirmektedir. Yapılan çalışmalarda simfizden alınan greftlerin kalın bir kortikal tabaka ve daha az süngerimsi kemik içerdiği, bu nedenle iliak bölgeden alınan greftlere göre daha yavaş yenilendiği açıklanmıştır. Ek olarak, pelvik kemik greftlerinin enkondral kemikleşme ile oluşmalarına rağmen farklı rejeneratif paternlere sahip oldukları bildirilmiştir. Ön pelvis, yüksek oranda kortikal kemik içerir ve bu nedenle daha az osteoindüktif, arka pelvis bölgesi ise spongiotik içerik bakımından daha zengindir ve daha yüksek osteoindüktif özelliklere sahiptir (75, 76).

Kansellöz Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi

Cerrahi operasyonun ardından greft içindeki ve etrafındaki kanama, kanın dokusundan ve hücresel bileşenlerinden çeşitli mediatörleri serbest bırakarak enflamatuvar hücrelerin, fagositlerin ve mezenkimal kök hücrelerin kemotaksis ile göçünü uyarır. Bu uyarının türüne göre mezenkimal kök hücreler; endotel hücrelerine, osteoblastlara ve fibroblastlara farklılaşarak yeni vasküler damarları ve bağ dokusunu meydana getirir. Greft ve alıcı alandaki bu damarların anastomozu ile birkaç saat içinde revaskülarizasyon oluşturulur ve birkaç hafta içinde tamamlanır. Kortikal greftlerin aksine, kemik oluşumu osteoklastların neden olduğu rezorpsiyon olmadan gerçekleşir. Osteoblastlar eski trabeküllerin yüzeyinde sıraya girerek osteoid oluşumunu başlatır ve bu doku daha sonra mineralleşerek olgunlaşmamış kemik yapısını meydana getirir. Son yeniden şekillenme aşamasında, yeni oluşan olgunlaşmamış kemik ve nekrotik kemik, osteoklastlar tarafından emilir ve yerini olgun lamelli kemik alır (74).

Kortikal Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi

Kortikal kemik avaskülerdir ve çok az sayıda canlı hücre içerir. Greftin ilk iyileşme aşaması süngerimsi kemik grefti ile aynıdır. En önemli fark revaskülarizasyon derecesindedir. Kortikal kemik greftlerinde revaskülarizasyon

süresi yaklaşık iki kat daha uzundur ve tahmini 2 ayda tamamlanır. Bu farklılaşmanın kaynağı, 2 greft materyali arasındaki yapısal farklılıklar. İlk aşamada, osteoklastik aktiviteyi takiben kortikal kemikte vasküler penetrasyon, mevcut Haversian ve Volkmann kanallarına doğru gerçekleşir. Haversian kanalları resorpsiyonla genişledikçe, yeni kemik apozisyonu gerçekleşir. Kortikal kemik grefti rezorbe oldukça yerini yeni oluşan kemik alır (74).

2.9.2. Vasküler Otojen Kemik Greftinin İyileşmesi

Greftin pedikül greftleri gibi serbest damarlanmış ve iç damar desteği varsa beslenmemesi gibi bir sorun olmayacağı için nekrotik kemik meydana gelmez. Bu nedenle greftin alıcı bölge ile kaynaşması çok daha kısa sürer. Greftin iyileşmesi, kemik kırığının iyileşmesine benzer şekilde gerçekleşir (74).

2.9.3. Allogreftlerin ve Alloplastların İyileşmesi

Allogreftler, immünolojik reaksiyonlara neden olmamak ve greftin reddini önlemek için derin dondurma, dondurarak kurutma veya kloroform-metanol, parasetik asit, hidrojen peroksit gibi kimyasallarla dezenfeksiyon işlemi yapılır. Günümüzde oral cerrahisinde en sık kullanılan allojenik greftler, zayıf mekaniğine rağmen, demineralize veya mineralize dondurulmuş greftlerdir. İyileşme prensipleri otojen greftlerle benzer olmasına rağmen farklılık, bu greftlerin canlı hücre içermemesinden dolayıdır. Kemik oluşumu daha geç olur ve alıcı bölgeyle daha az birleşme meydana gelir (74).

Greft emilim süresi, greft gözenekliliği, hacmi, partikül boyutu, kompozisyonu ve ortamın pH'ı gibi çeşitli faktörler rol oynar. Yoğun, kristalize HA parçacıkları, kararlı pH varlığında ömür boyu emilmeden kalabilirken, HA'nın amorf formu küçük hacim ve boyutta birkaç ay içinde rezorpsiyonu gerçekleşir. Ksenograftlar gibi mikro gözenekli materyaller, rezorpsiyon süresi açısından orta sıralarda yer alır. Bununla birlikte, sinüs operasyonlarında yüksek hacimlerde kullanıldığında, tamamen rezorbe olmaları 1 yıldan daha uzun sürebilir (77).

Burada beklenen iyileşme, greft ile temas halindeki kemik yüzeylerinden başlayıp katmanlar halinde ilerleyen creeping substitution olarak bilinen ve greft materyalinde rezorpsiyon sonucu oluşacak boşlukların yeni kemik dokusu ile doldurulmasıdır.

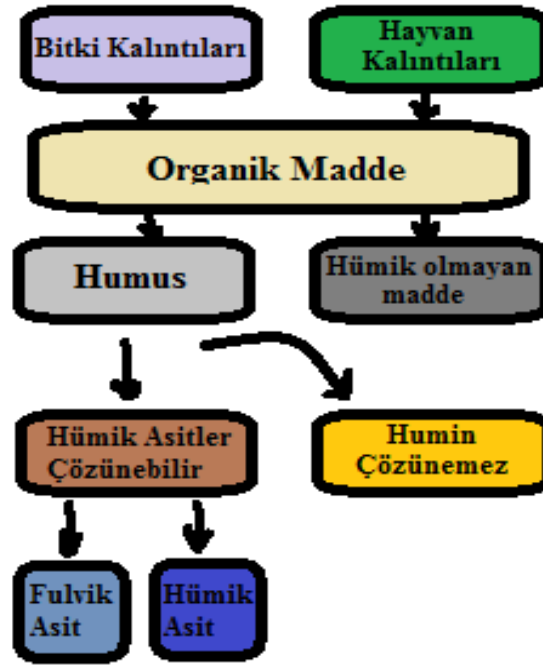
2.10. Humik Asit

Üç çeşit humik madde bulunur: Fulvik asitler, humik asitler ve hümin. Humik asitler, humik maddelerin en önemli kısımlarından biridir. Humik asitler doğadaki birçok farklı kaynaktan gelir ve doğadaki en büyük karbon rezervlerinden birini meydana getirir (78). Bu kaynaklar ağırlıklı olarak linyit, turba, mumie, shilajit, gyttja, canlı bitkiler, yosun vb. şeklindedir (79). Okyanuslar ve denizler gibi suların yüzeyinde ve altında, tüm topraklarda özellikle ıslak topraklarda bol miktarda bulunurlar ve humusun kahverengi-siyah renkli, polimerik, alkalide çözünür organik asit bölümleridir (80) (Şekil 2.2) .

Humik asidin kimyasal özellikleri ve fiziksel özellikleri elde edildikleri kaynağa bağlı olarak değişir (81). Turba (peat) gibi doğal humifikasyon ürünleri, tıp alanındaki çeşitli uygulamalarda farmakolojik ajanlar olarak kullanılıp geliştirmeye çalışılmaktadır (82). Lokal analjezik ve anti-enflamatuvar özellikleri bildirildiği için anti-enflamatuvar ajanlar olarak başarıyla kullanılmaktadır (83, 84).

Humik asitler, yakıt, organik gübre, tıbbi malzeme hammaddesi ve bazı endüstriyel ürünlerin üretilmesinde başlangıç malzemesi olarak kullanılmaktadır. Bu kaynaklardan biri turbadır. Turbanın çamur tedavisi (balneoterapi) olarak uzun zamandır kullanılmaktadır. Humik asit açısından zengin çürümüş orman turbası, uzun zaman önce Babil ve Roma İmparatorluğu'nda çamurun tedavi edici özelliklerini bilen yerliler tarafından kullanılıyordu. Sağlık kliniklerinin özel bir uygulaması olarak, 19. yüzyılın başlarında Avrupa'da çamur banyoları şeklinde uygulanmıştır. Çamur tedavisi için önerilen endikasyonlar jinekolojik ve romatizmal hastalıklardır. Mide, bağırsak veya karaciğer hastalıklarında turba içeren çamur banyoları daha sonra önerilmiştir (78).

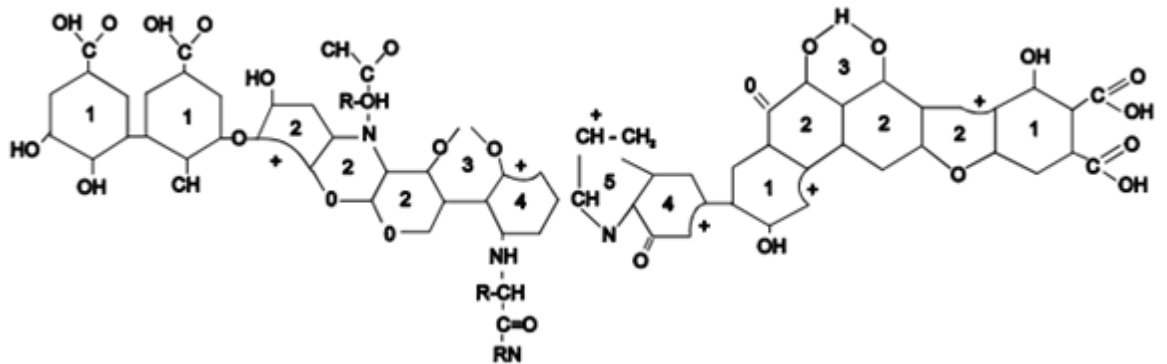
Yapılan çalışma, çamur banyosu tedavisinin osteoartrit üzerindeki olumlu etkisini bildirmiştir (85). Osteoartrit hastalarında yapılan başka bir çalışmada, sodyum humatın analjezik, anti-enflamatuvar ve lipid düzenleyici etkileri bildirilmiştir (86).



Şekil 2. 2. Humik maddelerin basit oluşum şeması.

2.10.1 Humik Asidin Yapısı

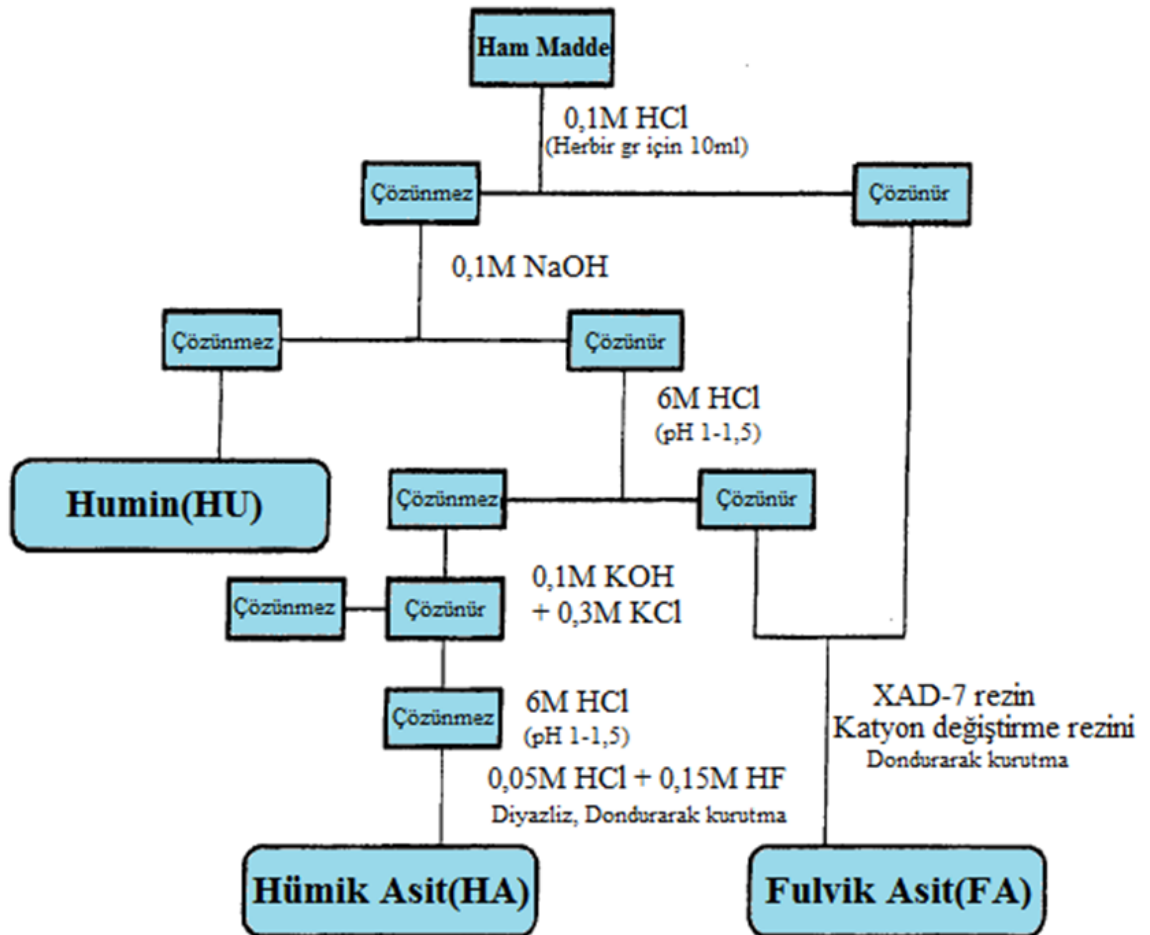
Humik asitlerin meydana gelmesinde polifenoller ham maddedir. Humik asitlerin yapısına bakıldığında; moleküller arası etkileşimler sonucunda aminoasitler, linyinler, pektinler veya karbonhidratlar gibi çeşitli bileşenlerin bir araya geldiği görülmektedir. Bu bileşikler çeşitli şekillerde meydana gelebilir ve lignin bu işlemlerin çoğunda önemli bir payı vardır (87, 88). Fulvik ve humik asitlerin yapısını oluşturan ana elementler karbon, hidrojen, oksijen, nitrojen ve sülfürdür (C, H, O, N ve S). (Şekil 2. 3) Bu elementler, humik maddelerin yapısında daima bulunur (89).



Şekil 2. 3. Oksidize humik asidin kimyasal yapısı (90).

Turbadan elde edilen humik maddeler, önemli miktarlarda lignin benzeri maddelerin fenolik, karboksilik ve metoksil karbonlarını içerir. Humik ve fulvik asitlerin bitki başlangıç malzemeleri, lignin ve vanilinin bozunma ürünleri olan vanillik asit, resorkinol, ferulik asit, protokateşik asit ve benzoik asit gibi farklı fenolik asitler humik ve fulvik asitlerin bitki başlangıç maddeleridir. Humik maddeler, bu bileşiklerin heterojen karışımlarından meydana gelir. Bu nedenle tek bir yapısal formülle tanımlamak yeterli değildir. Ancak humik maddeler, aromatik gruplarla bağlanmış aminoasitler, amino şekerler, peptitler ve alifatik bileşikler içeren kompleks aromatik makromoleküller olarak kabul edilir (79).

Moleküler ağırlığı yaklaşık 5.000-10.000 Da' dır. Bu maddede% 33-36 oranında oksijen varken nitrojen oranı yaklaşık % 4'tür (90).



Şekil 2. 4. Uluslararası Humik Maddeleri Derneği (IHSS) tarafından tarif edilen ekstraksiyon metodu

HÜMİK MADDELER

FULVİK ASİT		HÜMİK ASİT		HUMİN
Açık Sarı	Sarı-Kahverengi	Koyu Kahverengi	Gri-Siyah	Siyah

Şekil 2. 5. Humik maddelerin doğada bulundukları renkleri.

2.10.2. Humik Asidin Sağlık Alanında Uygulamaları

Yanıklar, yaralanmalar, kemik kırıkları, çıkıklar, cilt hastalıkları, nevralji, artrit, zehirlenmeler, diyabet, kolesterol, egzama, amnezi, epilepsi, astım ülser, sindirim bozuklukları gibi humik asitlerin tıpta uygulandığı bazı alanlardır (91). Etil alkolün sebep olduğu gastritin zararlı etkilerini humik asitin önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (92). Antiviral, profibrinolitik, anti-enflamatuvar ve östrojenik özelliklerinden dolayı humik asitlere ilgi artmıştır (93). Ek olarak, humik ajanlar antibakteriyel, anti-viral, antikanser, diüretik ve immün sistemi uyarıcı ajan gibi özelliklerinden dolayı tıbbi uygulamalarda yeni kullanım alanları bulmaktadır (91, 94-100). Bazı tıbbi çalışmalar, humik maddelerin, özellikle fulvik asitlerin, kansere ve kansere neden olan virüslere karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğunu bildirilmiştir (101-103). Humik asidin tıbbi uygulamalarının yapıldığı alanlar:

Kemik Metabolizması Üzerine Etkileri

Deneyssel bir kemik kırığı çalışmasında kırık sonrası ilk hafta humik asit uygulaması ile osteoid oluşumunda hızlanma ve mineralizasyon tespit edilirken, humik asit tedavisi ikinci haftaya ertelendiğinde osteoid oluşumu ve mineralizasyonun önemli ölçüde azaldığı görülmüştür (104). Çocuklarda kemik kırıklarıyla ilgili başka bir çalışmada, humik asidin kemik rejenerasyonu üzerinde olumlu bir etkisi olduğu bildirilmiştir (105).

Antiviral Aktivitesi

Humik asidin hem zarfsız hem de zarflı DNA virüslerine karşı etkili olduğu; koksaki A9 virüsü, influenza A virüsü ve herpes simpleks tip-1 virüsü (HSV-1) ile yapılan in vitro ön çalışmalar göstermiştir (96, 97). Humik asit benzeri polimerlerin, insan immün yetmezlik virüsü tip-1 (HIV-1), tip-2 (HIV-2) ve sitomegalovirüsleri (CMV) seçici olarak inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu inhibe edici etki, humik asitlerin virüs replikasyonunun erken aşamasında (virüsler hücrelere bağlandığında) gerçekleşir (106, 107).

Tavşanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, sentetik humik asit, enfeksiyöz ajan ile eş zamanlı olarak tavşanların konjunktivasına uygulanmış ve HSV-1 ile enfekte tavşanların korneasındaki lezyon sayısında önemli bir azalma ile sonuçlanmıştır. Bununla birlikte, 1 ve 24 saat sonra uygulanan humik asidin lezyon gelişimi üzerinde herhangi bir etkisi olmamıştır (108).

Ayrı bir çalışmada, fare kulağında deneysel olarak meydana getirilen herpes enfeksiyonu, bir topikal humik asit türevi uygulanarak tedavisi yapılmış ve sonuçlar, humik asit türevinin enfeksiyonu önemli ölçüde azalttığını veya tamamen baskıladığını bildirmiştir (109).

Anti-Enflamatuvar Etkileri

Doğal ve sentetik humik asitler anti-enflamatuvar etkilerini, araşidonik asit döngüsünün lipoksijenaz yolunu inhibe ederek meydana getirir. Araşidonik asit, hücre zarının ayrılmaz bir parçasıdır ve lökotrienler, tromboksan ve prostasiklin gibi eikosanoidal enflamatuvar mediyatörlerin sentezi için bir substrattır (110). Bu, humik asitlerin anti-enflamatuvar özelliklerini açıklayabilir. Taugner ve ark. (111), sıçanlarda yapılan bir çalışmada, sodyum humatın, tedavi edilmeyen kontrollere kıyasla ödem oluşumunu önemli ölçüde azalttığını bulmuşlardır. Aynı çalışma tasarımıyla yapılan bir çalışmada, turbadan izole edilen amonyum humatın, sodyum humatın anti-enflamatuvar aktivitesini artırdığını bildirmişlerdir. Bu çalışmaların bir sonucu olarak anti-enflamatuvar etkisinin asetilsalisilik asit ve aminofenazon kadar etkili olduğu gösterilmiştir (112). Humik asitlerin iltihabı hafifletmekle birlikte, hasarlı kemik ve tendonları onarmak için kolajen liflerine bağlandığı bildirilmiştir. Tendonların gücünü % 75'e kadar artırdığı bildirilmiştir (113).

Sıçanlarla yapılan başka bir çalışmada, 50 mg / kg humik asit dozunun iltihabı baskıladığı bildirilmiştir (114). Gau ve ark. (115), humik asitlerin, hücre içi adezyon molekülü-1 (ICAM-1), vasküler adezyon molekülü-1 (VCAM-1) ve E-selektin gibi protein tipi enflamatuvar araçların salınımını inhibe ettiğini bildirmiştir.

Kan Parametreleri Üzerine Etkileri

100-300 mg / kg humik asit dozunun insanlarda kanama zamanı, pıhtılaşma süresi, trombin zamanı ve trombosit agregasyonu üzerinde hiçbir etkide bulunmadığını Buczko ve ark. (116), tarafından yapılan çalışmada gösterilmiştir. Ek olarak, kırmızı kan hücreleri (RBC) ve hemoglobin seviyeleri üzerinde de etkisi olmadığı açıklanmıştır (117). Literatür, kırmızı kan hücrelerinin humik asit varlığında daha fazla oksijen taşıyabileceğini bildirmiştir. Fazla oksijen taşınmasının bir sonucu olarak, yara iyileşmesi daha hızlıdır (90). Dabovich ve ark. (118), Promax'ın (humik asit ürünü) nötrofil aktivitesini uyardığını, böylelikle bakteriyel enfeksiyona karşı koruma sağladığını ve akut bakteriyel enfeksiyon sırasında mortaliteyi azalttığını göstermişlerdir.

Mineral Transferi Üzerine Etkileri

Humik asit, hücre duvarı geçirgenliğini artıran bir dilatör görevi görür. Bu artan geçirgenlik, kandan kemiğe ve hücrelere mineral transferini kolaylaştırır. Yapılan çalışmada, humik asidin xenogreftlerin kalsifikasyonunu %16 artırdığını bildirmiştir (113).

İmmün Sistem Üzerine Etkileri

Humik asitler, immünomodülatör etkileri nedeniyle immün sistemi uyarak *Escherichia coli* gibi patojenlere karşı koruma meydana getirir (90). Yapılan çalışmada humik asitin, tümör hücrelerinin büyümesini engellediğini bildirmiştir. Mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır, ancak antitümör aktivitesini doğal bağışıklığın güçlendirilmesiyle ilişkili olabileceği bildirilmiştir (119).

Humik asit ve fulvik asit diyetinin sıçanlarda hem immün yanıtı artırdığını hem de immün yanıt süresini uzattığını Vucskits ve ark. (120), yaptıkları çalışmada bildirmiştir. Aynı zamanda plazmadaki antikor seviyesini artırdığını da göstermişlerdir.

2.10.3. Humik Asit İçeriği

Çalışmamızda kullandığımız humik asit turba kaynaklıdır. İçeriği aşağıda gösterilmektedir ve içinde herhangi bir radyoaktif madde bulunmamıştır. AĞır metaller çok az miktarlardadır ve güvenlik dozunun çok altındadır.

Humik asitler:	%15
Organik C:	%28,5
pH:	11–12
Yoğunluk:	1.12 kg/L
Kasyon Değişim Kapasitesi:	400–600 mval/100g
Koloit partiküllerinin boyutu:	<100 μm
Renk:	Koyu kahve-siyah
rn türü:	Sıvı süspansiyon
Enerji:	195 kcal/100 g
Protein:	2,6 g/100 g
Yağ:	yok
Karbonhidrat:	46,1 mg/kg
Demir (Fe):	6776 mg/kg
Çinko (Zn):	40,2 mg/kg
Magnezyum (Mg):	2017 mg/kg
Selenyum (Se):	18587 μg /kg
Molibden (Mo):	2300 μg /kg
Radyoaktif elementler:	Yok
AĞır metaller:	Eser miktarda

2.10.4. Sitotoksosite

Humik asidin kan, kardiyovasküler sistem, endokrin sistem ve diğer önemli organlara zararlı olmadığı bilim adamları tarafından açıklanmıştır (90).

Oral yoldan verilen 512 mg / kg humik asit dozunun sıçanlarda Dos Santos ve ark. (121), tarafından toksik olmadığını açıklanmıştır. Ratlarda LD50 (letal doz, ortalama letal doz,% 50 letal doz) değeri 11500 mg / kg olarak açıklanmıştır. Bununla birlikte, 163.5-205.8 mg / kg'lık bir dozda ratlarda parenteral ve tavşanlara intraperitoneal olarak enjekte edildiğinde toksik olduğu belirlenmiştir. Farelerde 30 gün 100 mg / kg / gün, köpeklerde 90 gün 1000 mg / kg / gün oral uygulama herhangi bir toksisite meydana getirmemiştir. Ek olarak, 50-150 mg / kg konsantre humik asit ve 500-15000 mg / ml sodyum humat, insan fibroblastları ile sıçan ve tavşan böbrek hücreleri üzerinde herhangi bir toksisite oluşturmamıştır (79).

30 gün boyunca günlük 1000 mg / kg humik asit solüsyonunun sıçanlarda herhangi bir toksik etki göstermediği Rensburg ve ark. (122), tarafından belirlenmiştir. Aynı çalışmanın devamında gebe sıçanlara gebeliklerinin 5. ve 17. günlerinde verilen 500 mg / kg humik asit solüsyonunun teratojenik veya sitotoksik etkiye neden olmadığı görülmüştür. 30 günlük çalışma sırasında, sıçanların hiçbirinde ölüm olmamıştır.

Domuzlara 30 gün süreyle ağızdan 500 ve 2000 mg / kg / gün, koyunlara 30 gün süreyle 1000 ve 2000 mg / kg / gün verilmesi sonucunda kan plazması, karaciğer, kaslar ve böbreklerde humik asit saptanmamıştır (79).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma için Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından 17.06.2020 tarih ve 328 sıra numarası ile onay alınmıştır. Denek olarak 12 haftalık, ortalama ağırlıkları 230-250 g olan Wistar Albino cinsi 24 adet rat kullanılmıştır. Deney hayvanlarının seçiminde genel olarak sağlıklı olmaları ve önceden üzerinde herhangi bir çalışma yapılmamış olması gibi şartlara dikkat edilmiştir. Her bir gruptaki ratlar ayrı kafeslerde aynı şartlarda beslenmiştir. Tüm ratlar 12 saat gece/gündüz, $21\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve %40-60 nem oranı gözetilerek standart diyet ve su ile beslenmişlerdir. Ratlar çalışma öncesi yeni yaşam koşullarına hazırlanması için 10 gün metal kafeslerde tutulmuştur. Çalışmamızın deney aşamaları Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Laboratuvarı'nda yapılmış, Mikro-BT görüntülemeleri Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

3.1. Grupların Oluşturulması

Deney hayvanları 4 gruba ayrılmış ve her grup 6 deney hayvanından oluşmuştur. Bunlar kontrol grubu, sadece otojen greft uygulanan grup, lokal 100 mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu ve lokal 200 mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu şeklinde belirlenmiştir (Tablo 3.1).

Tablo 3. 1: Ratların gruplandırılması

Deney ve kontrol grupları			Grup başına hayvan adedi	Tekrar sayısı	Kullanılan toplam hayvan sayısı
KONTROL GRUBU			6	1	6
SADECE	OTOJEN		6	1	6
GREFT UYGULANAN GRUP					
LOKAL	100	mg/kg	6	1	6
HUMİK ASİTLE UYGULANAN OTOJEN GREFT GRUBU					
LOKAL	200	mg/kg	6	1	6
HUMİK ASİTLE UYGULANAN OTOJEN GREFT GRUBU					

3.2. Cerrahi Yöntem

Veteriner hekim kontrolünde yapılan işlemlerde cerrahi öncesi ratlar kas içi 30 mg/kg Ketamin-HCL (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) ve 5 mg/kg Ksilazin HCL (Rompun, Bayer, Almanya) enjeksiyonuyla anestezi altına alınmış, deney hayvanlarının parietal bölgesindeki deri tıraş edilip operasyon sahası povidin iyodin ile silinip steril cerrahi örtü ile kaplanılmıştır. Daha sonra yaklaşık 2 cm uzunluğunda, oksipitalden frontal kemiğe kadar uzanan kraniyel kutanöz insizyon atılmıştır. Parietal kemiği ortaya çıkarmak için tüm dokular sırası ile deri, subkutan doku ve periostu içine alacak şekil de diseke edilmiştir (Şekil 3.1). Kemik yüzeyi açığa çıktıktan sonra kritik boyutta 5mm çapında bikortikal kemik fragmanı çıkarmak için automax frez kullanılmıştır (Şekil 3.2). 600-1000 rpm devirde serum fizyolojik irrigasyonu altında defekt oluşturulmuştur (Şekil 3.3). Daha sonra oluşturulan defektli bölgeye oluşturulma esnasında elde edilen partiküllü otojen greft haline gelen kemik dokusu defektli bölgeye ilgili deney grubuna defekt bölgesine yerleştirilmiştir (Şekil 3.4). Operasyondan sonra deri flebi, cilt altı fasyaların kapatılmasını takiben 5-0 poliglaktin 910 suture kullanılarak orijinal pozisyonuna suture edilmiştir (Şekil 3. 5).



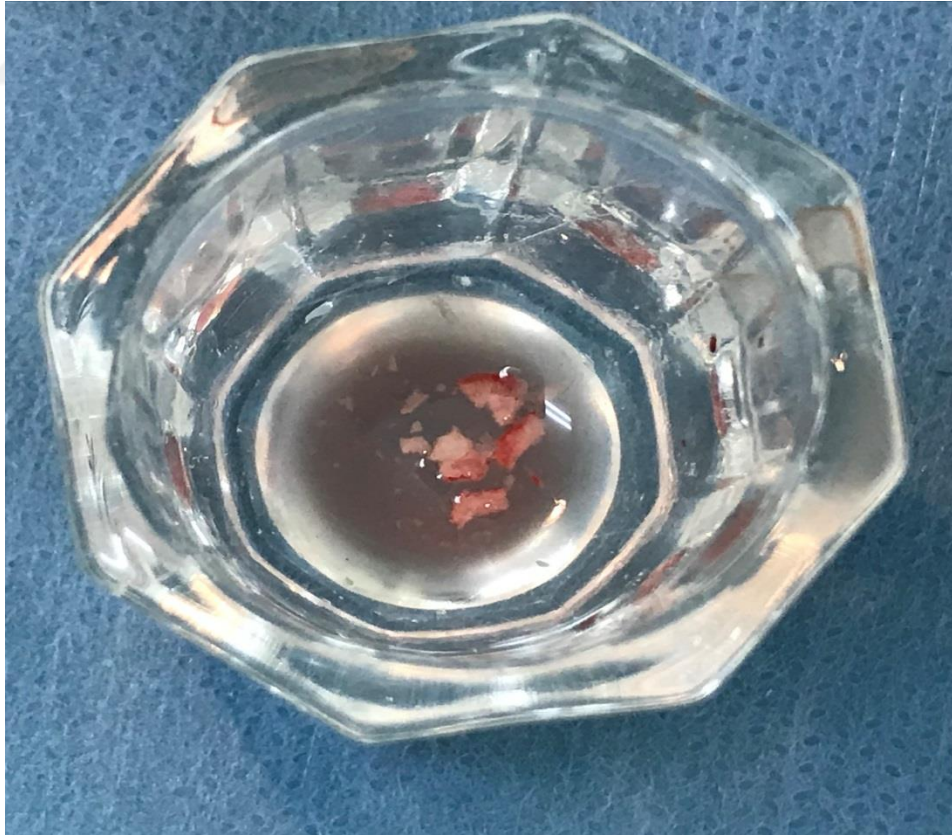
Şekil 3. 1 İnsizyon ve dokuların diseke edilmesi



Şekil 3. 2 Automax frezi



Şekil 3. 3 5mm çapında bikortikal kemik fragmanının çıkarılması



Şekil 3. 4 Defekt bölgesine uygulanan otojen greft



Şekil 3. 5 Deri flebi ve cilt altı fasyaların kapatılması

3.3. Humik Asit Uygulaması

Lokal humik asit uygulanacak ratlar için uygun humik asit konsantrasyonu hazırlanarak, lokal uygulama yapılacak gruplar için belirlenen humik asit miktarı otojen greftle karıştırılarak uygulanmıştır (Şekil 3. 6).



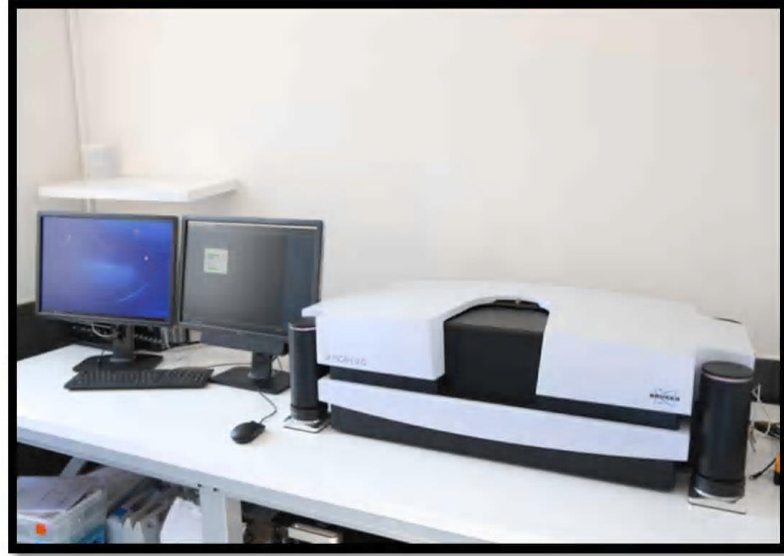
Şekil 3. 6. Uyguladığımız humik asit

3.4. Ratların Bakımı ve Deneyin Sonlandırılması

Postoperatif olarak deney hayvanlarına analjezik olarak Carprofen 4mg/kg (Rimadyl, Pfizer) ve antibakteriyel olarak Ceftriaxon 25 mg/kg (Rocephin, Roche) 5 gün süre ile intramusküler olarak verilmiştir. Deney hayvanları işlem sonrası 28. günde 200mg/kg sodyum pentobarbital (Petothal, Abbot, ABD) kullanılarak sakrifiye işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra greftlenen defekt bölgesi çevresinde yeterli miktarda kemik ile çıkarılıp %10 luk formalin içersine konulmuştur.

3.5. Mikro-Bilgisayarlı Tomografi (Mikro-BT) İle Değerlendirmesi

1989' da Micro-BT ilk defa Feldkamp ve ark. (123), tarafından kullanılmaya başlanmıştır. Doku mineral yoğunluğu, kemik mineral yoğunluğu ve kemik hacmi Mikro-BT' de değerlendirilebilir. Trabeküler kemiğin üç boyutlu yapısının değerlendirilmesinde de altın standart olarak görülür. Ancak kortikal kemiğin mikroyapısını değerlendirmede aynı şekilde başarılı değildir. Biz de çalışmada Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'na ait Mikro-BT (SkyScan-1272, Bruker, Kontich, Belçika) cihazı kullanılmıştır (Şekil 3. 6).



Şekil 3. 7 Mikro-BT (SkyScan-1272, Bruker, Kontich, Belçika) cihazı

Mikro-BT, kemik trabeküllerinin mikro- mimarisinin analizinin yapılmasına ve BMD (bone mineral density= kemik mineral yoğunluğu(KMY)) ölçümünü yapmamıza yardımcı olur. Aynı zamanda incelediğimiz alanda BV (new bone volume= yeni kemik hacmi), TV (tissue volume= doku hacmi), BV/TV, BS (new bone surface= yeni kemik yüzey alanı), BS/BV (new bone surface/BV = yeni kemik yüzey alanı/BV), BS/TV, TV(tissue volüme), IS(intersection surface), Tb.Th (trabecular thickness= trabeküler kalınlık), Tb.N (trabecular number= trabekül sayısı), Tb.Sp (trabecular separation= trabeküler seperasyon), Tb.Pf(trabecular pattern faktör), HU(hausfeld units) değerleri incelenmiştir. Mikro-BT ile taranan örneklerden elde edilen dataların görüntüye çevrilmesinde NRecon v.1.6.3 software (Bruker-mikroBT), analizde CTAn v.1.12 software (Bruker-mikroBT) programları, 3 boyutlu görüntü eldesinde CTVol v.2.2.1 software (Bruker-mikroBT) kullanılmıştır.

Mikro-BT cihazının gerekli kalibrasyonları, taranmış kemik örneklerinin hacimsel segmentasyonu ve ölçümleri yapıldıktan sonra görüntülerin analizleri tamamlanmıştır. Taramalarda kullanılan parametreler aşağıdaki gibidir:

- Kamera piksel boyutu: 7.4µm
- Kamera kaynak mesafesi: 223mm
- Obje kaynak mesafesi: 141mm
- Kaynak voltajı: 70kV
- Akım değeri: 142µa

- Piksel boyutu: 14 μ m

3.6. İstatistiksel Yöntem

Çalışmamızdan elde edilen veriler SPSS (Ver 22.0) programına yüklenerek verilerin değerlendirilmesinde parametrik test varsayımları yerine getirildiğinden (Kolmogorov – Simirnov) ölçümle elde edilmiş, ikiden fazla bağımsız gruptan elde edilen ölçümler karşılaştırılırken Varyans Analizi ve analiz sonucunda gruplar arası farklılık önemli bulunduğunda farklılık yaratan grup ve grupları bulmak için Tukey testi kullanılmıştır. Anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edilmiştir.



4.BULGULAR

4.1. Mikro-Bilgisayarlı Tomografi (Mikro-BT) analiz sonuçları

Alınan biyopsi örneklerinin mikro-BT cihazında radyolojik analizleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizin sonuçları tablo 4.1 açıklanmıştır.

Tablo 4. 1: Mikro-BT ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması

Değişkenler	Kontrol grubu	Sadece otojen greft uygulanan grup	Lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu	Lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu
TV(mm ³)	27,08±2,44	35,09±7,69	36,91±11,55	32,66±4,53
BV(mm ³)	3,23±1,31 ^a	8,91±2,47 ^b	7,33±1,88 ^b	6,70±2,11 ^b
BV/TV(%)	12,20±5,77 ^a	25,51±4,75 ^{ab}	28,88±4,44 ^b	20,69±6,77 ^{ab}
TS(mm ²)	62,46±2,52	69,01±7,09	70,68±9,69	67,53±4,48
BS(mm ²)	41,67±13,09 ^a	85,77±18,39 ^b	69,14±13,33 ^b	64,67±18,04 ^{ab}
IS(mm ²)	7,10±1,60	7,36±2,13	6,95±2,43	5,87±2,38
BS/BV(%)	13,48±2,49 ^a	9,76±1,10 ^b	9,26±0,76 ^b	9,82±1,19 ^b
BS/TV(%)	1,56±0,58	2,47±0,45	2,01±0,70	1,97±0,67
Tb.Pf(mm)	2,96±1,86	0,79±1,05	1,69±1,99	3,26±1,68
Tb.Th(mm)	0,29±0,06 ^a	0,39±0,02 ^b	0,41±0,02 ^b	0,40±0,03 ^b
Tb.Sp(mm)	1,05±0,16	0,72 ±0,15	0,85 ±0,29	0,81± 0,18
Tb.N(1/mm)	0,41 ±0,16	0,63± 0,10	0,53± 0,22	0,50± 0,13
HU	-788 ±53,93	-694,70±45,80	-710,61± 88,39	-710,12 ±55,47

BV (new bone volume= yeni kemik hacmi), TV (tissue volume= doku hacmi), BV/TV, BS (new bone surface= yeni kemik yüzey alanı), BS/BV (new bone

surface/BV= yeni kemik yüzey alanı/BV), BS/TV, Tb.Th (trabecular thickness= trabeküler kalınlık), Tb.N (trabecular number= trabekül sayısı), Tb.Sp (trabecular separation= trabeküler seperasyon), Tb.Pf(trabeküler pattern faktör), HU(hounsfield units). Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmistir. Aynı satırda yer alan benzer harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler gruplar arası farklılığı göstermektedir.

BV değişkeninde en yüksek değer sadece otojen greft uygulanan grupta ($8,91 \pm 2,47 \text{ mm}^3$) tespit edilmişken, en düşük değer ise kontrol grubunda ($3,23 \pm 1,31 \text{ mm}^3$) görülmüştür. Gruplar ikişerli olarak karşılaştırıldığında kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Diğer gruplara ilişkin değerler ikişerli olarak karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Aynı zamanda lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu ile lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmamasına karşın lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda BV değeri daha yüksek bulunmuştur.

BS/BV değişkeninde en yüksek değer kontrol grubunda ($13,48 \pm 2,49\%$) görülürken en düşük değer lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda ($9,26 \pm 0,76\%$) tespit edilmiştir. Gruplar ikişerli olarak karşılaştırıldığında kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Diğer gruplara ilişkin ise ikişerli karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Aynı zamanda lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu ile lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmamasına karşın lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda BS/BV değeri daha yüksek bulunmuştur.

Tb.Th değişkeninde en yüksek değer lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda ($0,41 \pm 0,02 \text{ mm}$) en düşük değer ise kontrol grubunda ($0,29 \pm 0,06 \text{ mm}$) bulunmuştur. Gruplar ikişerli olarak karşılaştırıldığında kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Diğer gruplara ilişkin ise ikişerli karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Aynı zamanda lokal 100mg/kg humik asitle

uygulanan otojen greft grubu ile lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmamasına karşın lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda Tb.Th değeri daha yüksek bulunmuştur.

BV/TV değişkeni için en yüksek değer lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda ($28,88 \pm 4,44\%$), en düşük değer kontrol grubunda ($12,20 \pm 5,77\%$) tespit edilmiştir. Gruplar ikişerli karşılaştırıldığında kontrol grubu ile lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Diğer gruplara ilişkin ise ikişerli karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Aynı zamanda lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu ile lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmamasına karşın lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda BV/TV değeri daha yüksek bulunmuştur.

BS değişkeni için gruplar ikişerli olarak karşılaştırıldığında kontrol grubuyla sadece otojen greft uygulanan grup ve lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken ($p < 0,05$), lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). BS değişkeni için diğer gruplar ikişerli olarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Aynı zamanda lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu ile lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmamasına karşın lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda BS değeri daha yüksek bulunmuştur.

TV, TS değerleri için gruplar kendi arasında karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamasına karşın en yüksek lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda ($TV = 36,91 \pm 11,55 \text{ mm}^3$, $TS = 70,68 \pm 9,69 \text{ mm}^2$), en düşük değer kontrol grubunda ($TV = 27,08 \pm 2,44 \text{ mm}^3$, $TS = 62,46 \pm 2,52 \text{ mm}^2$) bulunmuştur.

IS değeri için gruplar kendi arasında karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamasına karşın en yüksek değer sadece

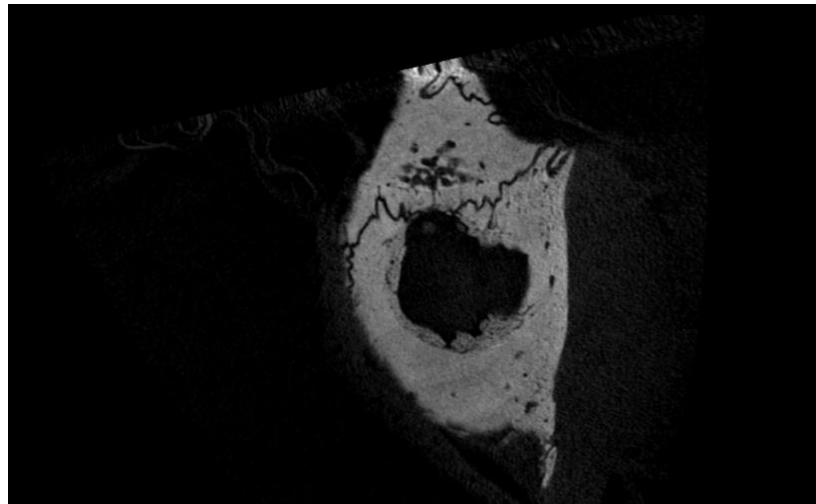
otojen greft uygulanan grupta ($7,36 \pm 2,13 \text{ mm}^2$) en düşük değer ise lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda ($5,87 \pm 2,38 \text{ mm}^2$) tespit edilmiştir.

BS/TV değeri için gruplar kendi arasında karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamasına karşın en yüksek değer sadece otojen greft uygulanan grupta ($2,47 \pm 0,45\%$), en düşük değer ise kontrol grubunda ($1,56 \pm 0,58\%$) bulunmuştur.

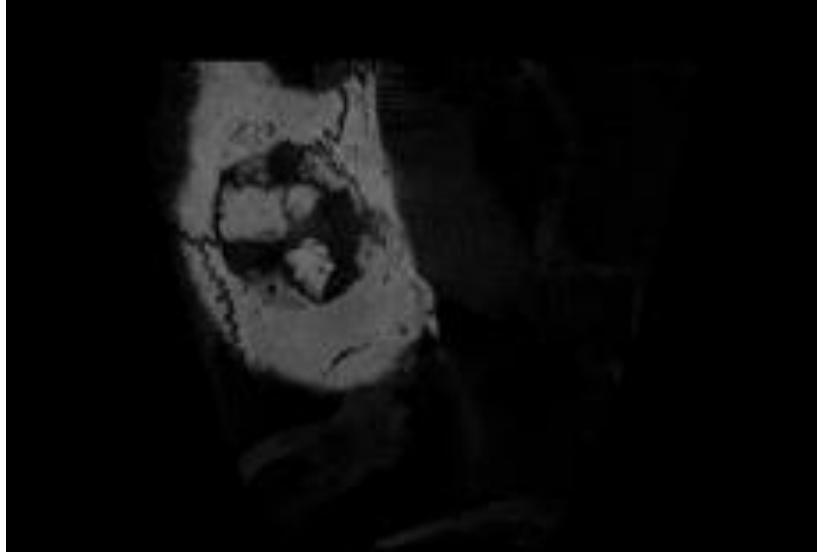
Tb.Pf değeri için gruplar kendi arasında karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamasına karşın en yüksek değer lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda ($3,26 \pm 1,68$), en düşük değer sadece otojen greft uygulanan grupta ($0,79 \pm 1,05 \text{ mm}$) bulunmuştur.

Tb.Sp değeri için gruplar kendi arasında karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamasına karşın en düşük değer sadece otojen greft uygulanan grupta ($0,72 \pm 0,15$), en yüksek değer ise kontrol grubunda ($1,05 \pm 0,16 \text{ mm}$) bulunmuştur.

Tb.N(1/mm),HU değerleri ayrı ayrı kendi grupları arasında karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamasına karşın en yüksek değer sadece otojen greft uygulanan grupta (Tb.N= $0,63 \pm 0,10$, HU= $-694,70 \pm 45,80$), en düşük değer ise kontrol grubunda (Tb.N= $0,41 \pm 0,16$, HU= $-788 \pm 53,93$) bulunmuştur.



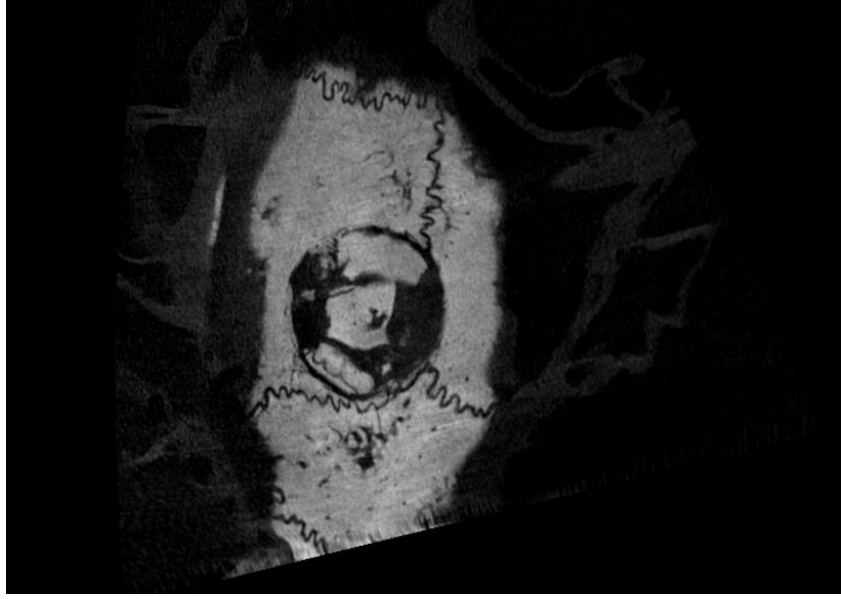
şekil 4.1. Kontrol grubuna ait Mikro-BT görüntü



Şekil 4.2. Sadece otojen greft uygulanan gruba ait Mikro-BT görüntü



Şekil 4.3. Lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubuna ait Mikro-BT görüntü



Şekil 4.4. Lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubuna ait Mikro-BT görüntü

5.TARTIŞMA

Çene-yüz bölgesinde travma, kist, tümör, diş çekimi ve periodontal bozukluklar nedeniyle kemik bütünlüğünde bozulmalar meydana gelir. Böylece hem estetik hem de fonksiyonel kayıplar meydana gelir. Günümüzde çeşitli sert doku augmentasyon ve tedavi teknikleri uygulanmaktadır ve bu konudaki araştırmalar artarak devam etmektedir. Kemik grefti kullanımı uzun yıllardır tercih edilen bir tedavi şekli olmuştur. Ancak kemik greftlerinin kendi içinde avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır.

Otojenik greftler, osteojenik, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon özellikleri ile kemik grefti materyallerinde altın standart olarak kabul edilir. Otojen greft tüber maksilla, mandibular ramus, mandibular simfiz ve dişsiz bölgeler gibi intraoral, iliak kemik, tibia, kafatası gibi ekstraoral alanlardan alınabilir (124).

Otojen greft kullanımında önemli konulardan biri de otojen greftin donör alandan çıkarılması ile alıcı bölgeye uygulanması arasında geçen zamandır. Otojen greftleri canlılığını 2 saat korurlar (125).

Otojen greftler altın standart olarak gösterilse de, rezorpsiyon ve elde edilen greft miktarı kısıtlılığı sebebiyle klinik olarak etkinlikleri sınırlıdır (125).

Verici bölgedeki canlılık kaybı, postoperatif ağrı, aşırı duyarlılık ve enfeksiyon otojen greftin dezavantajlarıdır (124).

Bütün bu avantaj ve dezavantajlar göz önünde bulundurulduğunda birçok çalışmada olduğu gibi altın standart olan otojen grefti çalışmamızda kullanılmıştır (122,123).

Kemik defekti iyileşmesi enflamasyona bağlı olarak lokal doku hacminin artması ile başlar. Kırık bölgesinde hematoma meydana gelir. Hematom; lifli dokulara, kıkırdak ve kemiğe dönüşmek için geçici bir çatı görevi görür. Enflamasyon aşamasında; TNF- α , TGF- β , BMP'ler, IL-1 β , IL-6, IL-17F ve IL-23 salgınır. Bu sitokinlere ek olarak, hidrostatik basınç ve gerginlik gibi mekanik faktörler de kemik iyileşmesinde görev alır.

Kondrositlerin, fibroblastların, osteoblastların ve endotel hücrelerinin aktivitelerinin yanı sıra kemik oluşumuna katkıda bulunan mezenkimal kök

hücrelerin aktiviteleri de yukarıda bahsedilen biyolojik ve mekanik faktörlerle organize edilir (126-128).

Çoğunlukla linyit, turba, toprak ve suda bulunan humik maddelerin, antiviral, antibakteriyel, antitoksik, antiülserojenik, antiartritik, antialerjik, immünomodülatör ve anti-enflamatuvar özellikleri vardır (129). Humik asitler, doğada bulunan en yaygın organik karbon formlarıdır ve lökositlerle aktive olan IL-1 β ve TNF- α salınımını inhibe ederek güçlü anti-enflamatuvar etkiler sergiler (130). Humik asidin, insan umbilikal ven endotel hücrelerinden kültürlen lipopolisakkarit aracılı adezyon moleküllerini (ICAM-1, VCAM-1 ve E-selektin) önemli ölçüde düşürdüğü bildirilmiştir (115). Bu, humik asidin enflamatuvar süreci üzerindeki olası etkilerini açıklamanın yollarından biri sayılabilir. HIV olan bireylerin 2 hafta boyunca günlük 2, 4, 6 ve 8 gram oksiumat ile tedavi edildiği bir çalışmada, bu sürenin sonunda herhangi bir toksisite belirtisine rastlanılmamıştır (131).

Van Rensburg ve ark. (130), yaptığı çalışmada potasyum humatın TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve IL-10 sentezi üzerindeki etkileri 40 μ g / ml'lik bir konsantrasyonda sağlanmıştır. Bu konsantrasyonda, mononükleer lökositler (MNL) tarafından uyarılan fitohemaglutinin (PHA) tarafından üretilen TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve IL-10 salınımını önemli ölçüde engellediği bildirmiştir. Humik asidin klasik ve alternatif kompleman yollarının aktivasyonu üzerindeki etkisi 10-60 μ g / ml konsantrasyonda olduğu bildirilmiştir. Maksimum etki 40-60 μ g / ml konsantrasyonda görülmüştür.

Sıçanlarda günlük 61 mg / kg linyitten elde edilen humatın (leonardit) 6 gün süreyle oral kullanımının kontakt hipersensitiviteyi baskıladığı bildirilmiştir. Ayrıca sıçanlarda 1000 mg / kg leonardit humatın 1 ay oral kullanımı sonucunda herhangi bir toksisite gözlenmemiştir. Gebe sıçanların gebeliğin 5. ve 17. günleri arasında 500 mg / kg humat ile tedavisi sonucunda teratojenik etki gözlenmemiştir (122).

Humik asit tıpta yanıklar, yaralanmalar, kemik kırıkları, çıkıklar, cilt hastalıkları, nevralji, artrit, zehirlenmeler, diyabet, kolesterol, egzama, amnezi, epilepsi, astım ülser, sindirim bozuklukları gibi hastalık ve durumlarda uygulanabilen bir ajandır (91).

Humik asit, hücre duvarı geçirgenliğini artıran bir dilatör görevi görür. Bu artan geçirgenlik, kandan kemiğe ve hücrelere mineral transferini kolaylaştırır.

Bunların yanısıra, humik asidin xenogreftlerin kalsifikasyonunu %16 artırdığını bildirmiştir (113).

Biz de bu bilgilerin ışığında çalışmamızda humik asitin lokal uygulandığında kemiğin iyileşme mekanizmasındaki etkisini araştırdık.

Günümüzde deneysel hayvan modellerinin kullanımı, çeşitli hastalıkları teşhis etmek, patogenezi netleştirmek, hastalıkları önleme ve tedavi seçeneklerini incelemek için yapılan çalışmalarda yaygındır. Hayvan modellerinin kullanım avantajları; anlamlı istatistiksel değerlendirmeye, çalışmanın çok daha kısa sürede tamamlanmasına ve çevresel faktörlerin etkilerini belirlemek için kontroller yapmaya olanak tanınmasıdır (132). Deneysel hayvan modelleri meydana getirirken sıklıkla rat, tavşan, fare gibi kemirgen hayvanlar kullanılmaktadır. Çalışmamızda yeterli sayıda deney hayvanı elde edilebilmesi, üremesinin, barınmasının ve beslenmesinin kolay, ucuz olması ve diğer deneklere göre daha dayanıklı olması nedeniyle ratlar kullanılmıştır (133-136).

Deney hayvanları modellerinde kraniyal defektlerin rejeneratif kapasitesinin insanlara göre daha iyi olduğu bildirilmiştir. Calvarium morfolojik ve embriyolojik olarak bir membran sürecinden gelişir ve yüz bölgesindeki membranöz yoldan gelişen diğer kemiklere benzer. Calvarium anatomik olarak iki kortikal katmana sahip olduğu için mandibula ile benzer bir yapıya ve atrofik mandibulanın fizyolojik yapısına benzer. Bu nedenlerden dolayı kalvaria en çok tercih edilen deney alanlarından biridir. Parietal bölgeye açılan defektlerin tabanında periost, dura mater üzerinde yer alır ve bu iki doku kemik oluşumuna yol açacak osteoprogenitör hücreler içerir (137, 138).

Çalışmamızda parietal kemiğe yapılacak cerrahi müdahalenin basitliği, operasyon sonrası hayvanın ilgili bölgesine zarar verme olasılığının düşük olması, dura mater ve periostun osteojenik potansiyeli gibi nedenlerle tercih ettik. Bu avantajlarla birlikte parietal bölgede kemiğin yaklaşık 2 mm kalınlığında olması, operasyon sırasında dura mater perforasyonuna bağlı kanama ve beyin hasarı çalışmamızda duyarlı olmamızı gerektiren risk faktörlerini oluşturmaktadır.

Kritik boyut defekti (KBD), kemik dokusu canlı olduğu sürece hem işlev hem de şekil açısından kendi kendine kapanma şansı olmayan boyut defektidir. Kritik defekt boyutunu geçtiğinde kemik dokusuyla değil bağ dokusuyla iyileşme

meydana gelir. Kemik dokusundaki yaralanma kritik boyutu; defektin türü, yaş, cinsiyeti, bölgesi, derinliği ve sistemik durumu gibi faktörlere bağlıdır (139-141).

Takagi ve Urist (142), ratlarda meydana getirdikleri 8mm çapındaki kemik defektini 6 ay bekledikten sonra incelemişler ve bu sürenin sonunda fibröz iyileşme meydana geldiğini rapor etmişler. Hollinger ve Kleinschmidt (4), ratlarda 8 mm çapında bir defekti 13 ay sonra incelemişler ve defektin kendi kendine iyileşmediğini bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada Mulliken ve Glowacki (143, 144), ratlarda parietal kemikte 2 mm'lik bir defektin 6 ay sonra ideal bir kemikleşme olmadığını rapor etmişler. Bu çalışmalarda olduğu gibi, çeşitli çaplarda defektler meydana getirilmiş ve farklı sonuçlar açıklanmıştır. Sonuçların farklı olmasında defekt çapıyla birlikte farklı etkenlerin olduğu da unutulmamalıdır. Operasyon sırasında oluşan travma, yetersiz kan desteği, kemik iliği yetmezliği, enfeksiyon gibi nedenlerin sonucu etkileyebildiği bildirilmiştir (140, 145).

Çalışmalarda bildirildiği gibi kritik defekt boyutu hakkında görüş birliği olmadığı anlaşılmıştır. Yapılan birçok çalışmada ratlar için maksillofasiyal bölgede 5 mm çapında defektin kritik büyüklük defekti için yeterli olduğu bildirilmiştir (146, 147). Çalışmamızda bu bilgiler ışığında defekt boyutunu 5mm çapında olmasına karar verilmiştir.

Yapılan çalışmalarda kemik iyileşmesi incelendiğinde farklı sakrifikasyon süreleri beklenmiştir. Genel olarak, sakrifikasyon 2-8 haftalık aralıklarla gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda erken kemik oluşumunu izlemek için 4.haftada sakrifikasyon uygulanmıştır (141).

Kemikleşmenin radyolojik olarak görüntülenmesini sağlayan gelişmiş bir radyografi tekniği olan mikro-BT, son yıllarda kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır. Son derece küçük bölgelerin üç boyutlu incelenmesine ve konvansiyonel tomografiye göre 1.000.000 kat daha küçük alanların tespit edilmesine izin vermesi oldukça önemlidir (123, 148).

Mikro-BT incelemeleri insan çalışmalarında da kullanılmaktadır. Fakat bu uygulamalar kemik biyopsisi alınmasını zorunlu kılar. Hayvan çalışmalarında çok daha sık kullanılan bir görüntüleme yöntemidir. Histomorfometrik ve mikro-BT değerlendirmeleri, kemiğin mikromorfolojik incelemelerinde sayısal veriler vererek oldukça objektif sonuçlar sağlar. Mikro-BT görüntülemeleri histomorfometrik

değerlendirmelere kıyasla hızlı, basit ve çok daha hassas ölçümler sağlar. Aynı zamanda histomorfometrik değerlendirmeler sadece 2 boyutlu kesitler sağlarken, mikro-BT değerlendirmeleri 3 boyutlu görüntülerle hacimsel ölçümlere olanak sağlar (149, 150). Çalışmamızda 3 boyutlu hacimsel ölçümlerle sayısal değerler sunan mikro-BT görüntüleme yöntemini kullanılmıştır.

Literatürde kemik iyileşmesi ve mikromorfoloji ile ilgili çalışmalarda radyografik olarak incelenen birçok mikro-BT değerlendirmesi vardır.

Kumasaka ve ark. (151), insülin benzeri büyüme faktörünün dış çekim yuvasında iyileşme ve kemik oluşumuna etkisinin incelendiği 2014 yılında yaptıkları bir çalışmada mikro BT incelemesi gerçekleştirmişlerdir.

Histing ve ark. (152), 2016'da yayınlanan bir çalışmada, obezitenin rat femurları üzerindeki etkinliğini incelediler. Kemik hacmi (BV), doku hacmi (TV) ve bu değerlerin oranı mikro-BT yöntemi ile incelemişlerdir.

King ve ark. (153), diyetteki yüksek yağ ve fruktozun ratlarda osseointegrasyon üzerindeki etkisini araştırdıkları 2019 yılında yaptıkları çalışmada mikro-BT görüntüleme yöntemini kullanarak incelemişler, kemik hacmine (BV) ek olarak, kemiğin trabeküler kalınlığı ve implant-kemik teması değerlendirilmiştir.

Mikro-BT, trabeküler mikroyapının değerlendirilmesinde altın standart olarak kabul görmektedir (154). Yumuşak doku ve sert dokularının görüntülenmesi, kompozit materyallerin, metallerin ve alaşımların incelenmesi gibi önemli konularda özellikle mikro-BT'ler kullanılmaktadır.

Kemik dokusunun mikro-BT görüntülemesi ile, BV, TV, BV / TV, BS, BS / BV, BS / TV, TS, İS, Tb.Pf, HU, Tb.Th, Tb.N ve Tb.Sp gibi kemik yoğunluğu parametrelerinin kantitatif 3D ölçümleri doku örneğinde herhangi bir invaziv işlem yapmadan kolaylıkla yapılabilir (155).

Literatürde ratlarda oluşturulan kemik defektlerinde humik asitin kemik rejenerasyonu üzerindeki etkisini Mikro-BT incelemesiyle değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız bu yönüyle kemik defektlerinde lokal humik asit

uygulanmasının kemik rejenerasyonu üzerindeki etkisiyle ilgili diş hekimlerine fikir sağlaması açısından literatüre katkı sağlayabilir.

alışır ve ark. (156), humik asitin sistemik etkilerinin güçlü anti-enflamatuvar ve osteoblastik aktiviteye sahip olduğunu ve IL-10 gibi anti-enflamatuvar sitokin düzeylerinde artışa ancak IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokin düzeylerinde azalmaya neden olarak kemik iyileşmesini uyarabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca günlük oral 80 ve 150 mg / kg humik asit uygulamasının alveolar kemik kaybını azalttığını ve osteoblastik aktiviteyi arttırdığını gözlemlemişlerdir.

Tkachenko ve ark. (104), çalışmasında; humik asit, deneysel olarak oluşturulan kırık hattına bir hafta süreyle uygulandığında osteositin iyileşmesinde ve oluşumunda önemli bir artış gözlemlenmesine rağmen, uygulama süresi uzatıldığında osteojenezde bir azalmaya neden olduğu belirlenmiştir.

Kel'ginbaev ve ark. (105), yaptığı çalışmada humik asit kemik dokusunun yenilenmesi üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu grlmştir.

Durmuş ve ark. (157), lokal humik asit uygulamasının mandibula kırıklarında iyileşme zamanına etkisini araştırdıkları çalışmada; 16 adet Wister Albino cinsi rat kullanmışlardır. Ratlar kontrol grubu ve lokal humik asit (0.3 cc/bölge) grubu şeklinde gruplandırılmıştır. Subkondiler bölgede tam kalınlık flep kaldırarak cerrahi osteotomi yaparak kırık hattının kemik yuzeylerine lokal olarak tek doz humik asit (0.3 cc/bolge) uygulamışlardır. Humik asitin lokal tek doz uygulamasında kemik kırıklarının iyileşmesinde etkili olmadığını rapor etmişlerdir.

Bizim alışmamızda BV değişkeninde en yüksek değer sadece otojen greft uygulanan grupta ($8,91 \pm 2,47 \text{ mm}^3$) tespit edilmiştir. Aynı zamanda lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu ile lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmamasına karşın lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda BV değeri daha yüksek bulunmuştur. Tb.Th değişkeninde en yüksek değer lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda ($0,41 \pm 0,02 \text{ mm}$) bulunmuştur. Aynı zamanda lokal

100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu ile lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmamasına karşın lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda Tb.Th değeri daha yüksek bulunmuştur. BV/TV değişkeni için en yüksek değer lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda ($28,88 \pm 4,44\%$) bulunmuştur. Lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu ile lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu karşılaştırıldığında lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda BV/TV değeri daha yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu ile lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmamasına karşın lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda BS değeri daha yüksek bulunmuştur. BS/TV değeri için gruplar kendi arasında karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamasına karşın en yüksek değer sadece otojen greft uygulanan grupta ($2,47 \pm 0,45$) bulunmuştur. Tb.N(1/mm),HU değerleri ayrı ayrı kendi grupları arasında karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamasına karşın en yüksek değer sadece otojen greft uygulanan grupta (Tb.N= $0,63 \pm 0,10$,HU= $-694,70 \pm 45,80$) bulunmuştur. Bu bulgular ışığında lokal humik asit uygulamasının kemik rejenerasyonunu sınırlı düzeyde artırdığı düşünülebilir. Fakat lokal uygulanan humik asitin oranının artırılması kemik rejenerasyonuna olumlu anlamda bir etkisi bulunmamıştır. Bu konuyla ilgili daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Humik asitin kemik rejenerasyonuna etkisini incelemek amacıyla ratların parietal kemiklerinde 5mm çapında defekt oluşturuldu. Defektler; boş defekt, sadece otojen greft uygulanan defekt, otojen greftle birlikte 100mg/kg humik asit uygulanan defekt, otojen greftle birlikte 200mg/kg humik asit uygulanan defekt şeklinde gruplara ayrıldı. Ratlar 28. günde sakrifiye edilerek alınan örnekler mikro-BT incelemesi yapıldı. Mikro-BT sonuçlarına göre:

* BV değişkeninde en yüksek değer sadece otojen greft uygulanan grupta ($8,91 \pm 2,47 \text{ mm}^3$) tespit edilmiştir. Gruplar ikişerli olarak karşılaştırıldığında kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Aynı zamanda lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu ile lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmamasına karşın lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda BV değeri daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamızın sonucuna göre humik asit uygulandığında BV değerinde azalmaya sebep olmuştur.

* Tb.Th değişkeninde en yüksek değer lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda ($0,41 \pm 0,02 \text{ mm}$) bulunmuştur. Aynı zamanda lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu ile lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmamasına karşın lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda Tb.Th değeri daha yüksek bulunmuştur. Tb.Th değerinde humik asit uygulaması olumlu etkisi görülmesine rağmen doz artırılması olumsuz etkilemiştir.

* BV/TV değişkeni için en yüksek değer lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda ($28,88 \pm 4,44\%$) bulunmuştur. Lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu ile lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu karşılaştırıldığında lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda BV/TV değeri daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamızın sonucuna göre kemik dokusu hacmine humik asit uygulaması olumlu etkisi görülmesine rağmen doz artırılması olumsuz etkilemiştir.

* BS değışkeni için gruplar ikişerli olarak karşılaştırıldığında kontrol grubuyla sadece otojen greft uygulanan grup ve lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Aynı zamanda lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu ile lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubu karşılaştırıldığında lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda BS değeri daha yüksek bulunmuştur. BS değeri de doz artırılması olumsuz etkilemiştir.

* BS/BV değeri kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). En yüksek değeri kontrol grubunda en düşük değeri lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda bulunmuştur. Lokal 100mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubuna göre lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda BS/BV değeri daha yüksek bulunmuştur.

* IS değeri için gruplar kendi arasında karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamasına karşın en yüksek değeri sadece otojen greft uygulanan grupta ($7,36\pm 2,13\text{mm}^2$) en düşük değeri ise lokal 200mg/kg humik asitle uygulanan otojen greft grubunda ($5,87\pm 2,38\text{mm}^2$) tespit edilmiştir. IS değeri göre humik asit kemik rejenerasyonuna olumlu etkisi görülmemiştir.

* Kontrol grubuyla diğer gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı çıkmasının nedeni otojen greft olduğu düşünülmektedir.

Hayvan çalışma modellerinin limitasyonları göz önünde bulundurulduğunda humik asitin kemikleşmeye uygun dozlarda verildiğinde sınırlı miktarda olumlu etkisi olabileceği düşünülmektedir.

Ayrıca Diş Hekimliği'nde, bizim çalışmamıza benzer humik asitle yapılan bir çalışma bulunmamaktadır. Humik asitin kemik rejenerasyonuna hangi mekanizma veya yollar üzerinden gerçekleştiğinin araştırılması için ileri çalışmalara gereksinim vardır. Bu çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda humik asitin klinik kullanımı konusunda literatüre katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

7.KAYNAKLAR

1. Giannoudis P, Psarakis S, Kontakis GJl. Can we accelerate fracture healing?: A critical analysis of the literature. 38(1), S81-S89, 2007.
2. Gutierrez G, Lalka D, Garrett I, Rossini G, Mundy GJOi. Transdermal application of lovastatin to rats causes profound increases in bone formation and plasma concentrations. 17(7), 1033-42, 2006.
3. Urist MRJS. Bone: formation by autoinduction. 150(3698), 893-99, 1965.
4. Hollinger JO, Mark DE, Goco P, Quigley N, Desverreaux RW, Bach DEJCo ve ark. A comparison of four particulate bone derivatives. (267), 255-63, 1991.
5. Senesi N, Miano TM, Provenzano MR, Brunetti G. Characterization, differentiation, and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy. Soil Science, 152(4), 259-71, 1991.
6. Davies G. Properties and Functions of Humic Acids. Meeting Report. The Nucleus Febr, 17, 1996.
7. Orlov D. Humic substances in the biosphere. Soros Educ J, (2), 56-63, 1997.
8. Klöcking R, Helbig B. Medical aspects and applications of humic substances. Biopolymers for Medical and Pharmaceutical Applications WILEY-VCH Verlag GmbH & C KGaA Weinheim, 3-16, 2005.
9. Garg AK. Bone biology, harvesting, grafting for dental implants: rationale and clinical applications. Quintessence Publishing Company, 2004.
10. Neovius E, Engstrand T. Craniofacial reconstruction with bone and biomaterials: review over the last 11 years. Journal of plastic, reconstructive & aesthetic surgery, 63(10), 1615-23, 2010.
11. Bajada S, Mazakova I, Richardson JB, Ashammakhi N. Updates on stem cells and their applications in regenerative medicine. Journal of tissue engineering and regenerative medicine, 2(4), 169-83, 2008.
12. Roberts WE, Hartsfield Jr JK. Bone development and function: genetic and environmental mechanisms. Seminars in Orthodontics; 2004: Elsevier; 2004. p. 100-22.
13. Gartner LP, Hiatt JL. Concise Histology E-Book. Elsevier Health Sciences, 2010.
14. Wang X, Nyman JS, Dong X, Leng H, Reyes M. Fundamental biomechanics in bone tissue engineering. Synthesis Lectures on Tissue Engineering, 2(1), 1-225, 2010.
15. Nandi S, Roy S, Mukherjee P, Kundu B, De D, Basu D. Orthopaedic applications of bone graft & graft substitutes: a review. Indian Journal of Medical Reseach, 132(1), 15-30, 2010.
16. Martin RB, Burr DB. Structure, function, and adaptation of compact bone. Raven Pr, 1989.
17. Özer T. Deneysel Kemik Defektlerinde Lokal Olarak Uygulanan Alendronatin İyileşme Üzerine Etkilerinin Histomorfometrik ve Radyolojik Yöntemler İle İncelenmesi. 2017.
18. Martin RB, Burr DB, Sharkey NA, Fyhrie DP. Skeletal tissue mechanics. Springer, 1998.
19. Cowin SC. Bone mechanics handbook. CRC press, 2001.
20. Elaine NM, Katja H. Human Anatomy & Physiology 9th Edition. Pearson, 2013.
21. Junqueira LCU, Mescher AL. Junqueira's basic histology. McGraw-Hill Medical, 2005.
22. Cibičková L, Palička V, Cibiček N, Čermáková E, Mičuda S, Bartošová L ve ark. Differential effects of statins and alendronate on cholinesterases in serum and brain of rats. Physiological research, 56(6), 2007.

23. Özdemir B, Ökte E. Trombositten zengin plazmanın kemik içi periodontal defektlerin tedavisinde beta-trikalsiyum fosfat ile birlikte uygulanması. Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 27(1), 1-9.
24. Di Lullo GA, Sweeney SM, Körkkö J, Ala-Kokko L, San Antonio JD. Mapping the ligand-binding sites and disease-associated mutations on the most abundant protein in the human, type I collagen. Journal of Biological Chemistry, 277(6), 4223-31, 2002.
25. Söderhäll C, Marenholz I, Kersch T, Rüschemdorf F, Esparza-Gordillo J, Worm M ve ark. Variants in a novel epidermal collagen gene (COL29A1) are associated with atopic dermatitis. PLoS Biol, 5(9), e242, 2007.
26. Bilezikian JP, Raisz LG, Martin TJ. Principles of bone biology. Academic press, 2008.
27. Deng H-w, Liu Y-z. Current topics in bone biology. World Scientific, 2005.
28. Weiner S, Traub W. Bone structure: from ångstroms to microns. The FASEB journal, 6(3), 879-85, 1992.
29. KASAPOĞLU DÇ, UYGUN S. SELEKTİF COX-2 İNHİBİTÖRLERİNİN KEMİK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK.
30. Lian J, Stein G, Marcus R, Feldman D, Nelson D, Rosen C. Osteoblast Biology in Osteoporosis. Marcus R, Feldman D, Kelsey J, 1996.
31. Puzas E, Lewis G. Biology of osteoclasts and osteoblasts. CRC Press, Boca Raton, FL, 1999.
32. Eriksen EF, Axelrod DW, Melsen F. Bone histomorphometry. Raven Press, 1994.
33. Frost H. Introduction to a new skeletal physiology. Vols I, II Pajaro Group, Pueblo, CO, 1995.
34. Parfitt A. Problems in the application of in vitro systems to the study of human bone remodeling. Calcified tissue international, 56(1), S5-S7, 1995.
35. Borovecki F, Pecina-Slaus N, Vukicevic S. Biological mechanisms of bone and cartilage remodelling—genomic perspective. International orthopaedics, 31(6), 799-805, 2007.
36. Currey J. Bones: structure and Mechanics Princeton University Press: Princeton. NJ, USA, 2002.
37. Gupta MC, Maitra S. Bone grafts and bone morphogenetic proteins in spine fusion. Cell and tissue banking, 3(4), 255-67, 2002.
38. Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing. Injury, 42(6), 551-55, 2011.
39. Caplan A. The cellular and molecular embryology of bone formation. Bone Miner Res, 5, 117-83, 1987.
40. Şimşek Ş. Büyüme hormonu (somatotropin) içeren biyolojik olarak parçalanabilen mikrokürelerin hazırlanması. 2007.
41. Nichol JW, Khademhosseini A. Modular tissue engineering: engineering biological tissues from the bottom up. Soft matter, 5(7), 1312-19, 2009.
42. Yang N, Bryant HU, Hardikar S, Sato M, Galvin R, Glasebrook AL ve ark. Estrogen and raloxifene stimulate transforming growth factor-beta 3 gene expression in rat bone: a potential mechanism for estrogen-or raloxifene-mediated bone maintenance. Endocrinology, 137(5), 2075-84, 1996.
43. Ayan M. Sistemik olarak verilen zoledronik asidin (Zometa®), titanyum dental implantların osteointegrasyon düzeylerine etkisi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2008.
44. Allen F. Bone grafting in oral implantology: Techniques and clinical applications. British dental journal, 201(2), 128-28, 2006.
45. Miloro M, Ghali G, Larsen P, Waite P. Peterson's principles of oral and maxillofacial surgery 2nd edn. Hamilton, Ont, 2004.
46. Kökden A, Türker M. Oral ve maksillofasial cerrahide kullanılan kemik greftleri ve biyomateryaller. CÜ DisHek Fak Derg 1999, 2 (2): 134, 140, 1999.

47. Faverani LP, Ramalho-Ferreira G, Santos PHD, Rocha EP, Garcia Júnior IR, Pastori CM ve ark. Surgical techniques for maxillary bone grafting-literature review. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, 41(1), 61-67, 2014.
48. Buck B, Malinin TI. Human bone and tissue allografts. Preparation and safety. *Clinical orthopaedics and related research*, (303), 8-17, 1994.
49. Boyan BD, Ranly DM, McMillan J, Sunwoo M, Roche K, Schwartz Z. Osteoinductive ability of human allograft formulations. *Journal of periodontology*, 77(9), 1555-63, 2006.
50. Kassolis JD, Rosen PS, Reynolds MA. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series. *Journal of periodontology*, 71(10), 1654-61, 2000.
51. Yavuz K, ŞAHİN S. Demineralize Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogreftlerinin Periodontal Kemik Defektlerinde Uygulanımı ve Son Gelişmeler.
52. Hall EE, Meffert RM, Hermann JS, Mellonig JT, Cochran DL. Comparison of bioactive glass to demineralized freeze-dried bone allograft in the treatment of intrabony defects around implants in the canine mandible. *Journal of periodontology*, 70(5), 526-35, 1999.
53. Fleming JE, Cornell CN, Muschler GF. Bone cells and matrices in orthopedic tissue engineering. *Orthopedic Clinics*, 31(3), 357-74, 2000.
54. Şimşek A, Çakmak G, Cila E. Kemik greftleri ve kemik greftlerinin yerini tutabilecek maddeler. *Totbid Dergisi*, 3, 1-11, 2004.
55. Baslé M, Grizon F, Pascaretti C, Lesourd M, Chappard D. Shape and orientation of osteoblast-like cells (Saos-2) are influenced by collagen fibers in xenogenic bone biomaterial. *Journal of biomedical materials research*, 40(3), 350-57, 1998.
56. Jensen SS, Aaboe M, Pinholt EM, Hjørting-Hansen E, Melsen F, Ruyter I. Tissue reaction and material characteristics of four bone substitutes. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 11(1), 1996.
57. Hallman M, Lundgren S, Sennerby L. Histologic analysis of clinical biopsies taken 6 months and 3 years after maxillary sinus floor augmentation with 80% bovine hydroxyapatite and 20% autogenous bone mixed with fibrin glue. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 3(2), 87-96, 2001.
58. Merckx M, Maltha J, Stoelinga P. Assessment of the value of anorganic bone additives in sinus floor augmentation: a review of clinical reports. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 32(1), 1-6, 2003.
59. Proussaefs P, Lozada J, Valencia G, Rohrer MD. Histologic evaluation of a hydroxyapatite onlay bone graft retrieved after 9 years: a clinical report. *The Journal of prosthetic dentistry*, 87(5), 481-84, 2002.
60. Parikh S. Bone graft substitutes: past, present, future. *Journal of postgraduate medicine*, 48(2), 142, 2002.
61. Turunen T, Peltola J, Helenius H, Yli-Urpo A, Happonen RP. Bioactive glass and calcium carbonate granules as filler material around titanium and bioactive glass implants in the medullar space of the rabbit tibia. *Clinical oral implants research*, 8(2), 96-102, 1997.
62. Schepers E, Ducheyne P, Barbier L, Schepers S. Bioactive glass particles of narrow size range: a new material for the repair of bone defects. *Implant dentistry*, 2(3), 151-56, 1993.
63. Yilmaz S, Efeoğlu E, Kiliç AR. Alveolar ridge reconstruction and/or preservation using root form bioglass cones. *Journal of Clinical Periodontology*, 25(10), 832-39, 1998.
64. Moore WR, Graves SE, Bain GI. Synthetic bone graft substitutes. *ANZ journal of surgery*, 71(6), 354-61, 2001.

65. Haas R, Mailath G, Dörtbudak O, Watzek G. Bovine hydroxyapatite for maxillary sinus augmentation: analysis of interfacial bond strength of dental implants using pull-out tests. *Clinical oral implants research*, 9(2), 117-22, 1998.
66. Knaack D, Goad M, Aiolo M, Rey C, Tofighi A, Chakravarthy P ve ark. Resorbable calcium phosphate bone substitute. *Journal of biomedical materials research*, 43(4), 399-409, 1998.
67. Probst A, Spiegel H-U. Cellular mechanisms of bone repair. *Journal of Investigative Surgery*, 10(3), 77-86, 1997.
68. Barboza E, Caúla A, Machado F. Potential of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in bone regeneration. *Implant dentistry*, 8(4), 360-67, 1999.
69. Resnik R. Misch's contemporary implant dentistry e-book. Elsevier Health Sciences, 2020.
70. Albrektsson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *European spine journal*, 10(2), S96-S101, 2001.
71. Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science*, 150(3698), 893-99, 1965.
72. Lieberman LA, Hunter CA. The role of cytokines and their signaling pathways in the regulation of immunity to *Toxoplasma gondii*. *International reviews of immunology*, 21(4-5), 373-403, 2002.
73. SEARE JR WJ. Alloplasts and biointegration. *Journal of endourology*, 14(1), 9-17, 2000.
74. Greenberg AM. Maxillary Osteotomies and Considerations for Rigid Internal Fixation. *Craniofacial Reconstructive and Corrective Bone Surgery*, Springer, 581-605, 2002.
75. Kruger GO. Textbook of oral and maxillofacial surgery. 1984.
76. Bucknall TE, Ellis H. Wound healing for surgeons. WB Saunders Company, 1984.
77. Boyne P. PM, Osseous Reconstruction of the Maxilla and the Mandible Surgical Techniques Using Titanium Mesh & Bone Mineral. 1997. Michigan: Quintessence Pub.
78. Klöcking R, Helbig B. Medical aspects and applications of humic substances. *Biopolymers For Medical & Pharmaceutical Application*, 3-16, 2005.
79. DİZMAN M, TUTAR A, KARAMAN MR, TURAN M, HORUZ A. HUMİK MADDELERİN İLAÇ OLARAK KULLANIMI VE İNSAN SAĞLIĞINA ETKİLERİ.
80. Kühnert M, Fuchs V, Golbs S. Chemical characterization and pharmacologic and toxicologic peculiarities of humic acid. *Archiv für experimentelle Veterinärmedizin*, 36(2), 169-77, 1982.
81. Vaughan D, Malcolm R, Ord B. Influence of humic substances on biochemical processes in plants. *Soil organic matter and biological activity*, Springer, 77-108, 1985.
82. Vengerovskii A, Golovina E, Burkova V, Saratkov A. Enteric sorbents potentiate hepatoprotective effect of Eplir in experimental toxic hepatitis. *Eksperimental'naia i klinicheskaia farmakologiya*, 64(1), 46-48, 2001.
83. Jooné GK, van Rensburg CEJ. An in vitro investigation of the anti-inflammatory properties of potassium humate. *Inflammation*, 28(3), 169-74, 2004.
84. Salz H. Salhumin-gel, a local therapeutic agent with hyperemic, antiphlogistic and analgesic effect. *Medizinische Monatsschrift*, 28(12), 548-50, 1974.
85. Bellometti S, Giannini S, Sartori L, Crepaldi G. Cytokine levels in osteoarthritis patients undergoing mud bath therapy. *International journal of clinical pharmacology research*, 17(4), 149-53, 1997.
86. Iubitskaia N, Ivanov E. Sodium humate in the treatment of osteoarthritis patients. *Voprosy kurortologii, fizioterapii, i lechebnoi fizicheskoi kultury*, (5), 22-24, 1999.

87. Burdon J. Are the traditional concepts of the structures of humic substances realistic? *Soil Science*, 166(11), 752-69, 2001.
88. Davies G, Ghabbour EA, Steelink C. Humic acids: Marvelous products of soil chemistry. *Journal of chemical education*, 78(12), 1609, 2001.
89. Kurková M, Klika Z, Kliková C, Havel J. Humic acids from oxidized coals: I. Elemental composition, titration curves, heavy metals in HA samples, nuclear magnetic resonance spectra of HAs and infrared spectroscopy. *Chemosphere*, 54(8), 1237-45, 2004.
90. Islam KMS, Schuhmacher A, Gropp J. Humic acid substances in animal agriculture. *Pakistan Journal of nutrition*, 4(3), 126-34, 2005.
91. Schepetkin I, Khlebnikov A, Kwon BS. Medical drugs from humus matter: focus on mumie. *Drug development research*, 57(3), 140-59, 2002.
92. Brzozowski T, Dembiński A, Konturek S. Influence of Tołpa Peat Preparation on gastroprotection and on gastric and duodenal ulcers. *Acta poloniae pharmaceutica*, 51(1), 103-07, 1994.
93. Yamada E, Ozaki T, Kimura M. Determination and behavior of humic substances as precursors of trihalomethane in environmental water. *Analytical sciences*, 14(2), 327-32, 1998.
94. Ansorg R, Rochus W. Studies on the antimicrobial effect of natural and synthetic humic acids (author's transl). *Arzneimittel-forschung*, 28(12), 2195-98, 1978.
95. Skliar T, Krysenko A, Gavriliuk V, Vinnikov A. A comparison of the developmental characteristics of *Neisseria gonorrhoeae* and *Staphylococcus aureus* cultures on nutrient media of different compositions. *Mikrobiolohichniy zhurnal* (Kiev, Ukraine: 1993), 60(1), 25-30, 1998.
96. Klöcking R, Sprössig M. Antiviral properties of humic acids. *Experientia*, 28(5), 607-08, 1972.
97. Thiel K, Klöcking R, Schweizer H, Sprössig M. In vitro studies of the antiviral activity of ammonium humate against herpes simplex virus type 1 and type 2 (author's transl). *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene Erste Abteilung Originale Reihe A: Medizinische Mikrobiologie und Parasitologie*, 239(3), 304-21, 1977.
98. Thiel K, Helbig B, Klöcking R, Wutzler P, Sprössig M, Schweizer H. Comparison of the in vitro activities of ammonium humate and of enzymically oxidized chlorogenic and caffeic acids against type 1 and type 2 human herpes virus (author's transl). *Die Pharmazie*, 36(1), 50-53, 1981.
99. Schiller F, Klöcking R, Wutzler P, Färber I. Results of an oriented clinical trial of ammonium humate for the local treatment of herpesvirus hominis (HVH) infections. *Dermatologische Monatschrift*, 165(7), 505-09, 1979.
100. Klöcking R, Helbig B, Schötz G, Schacke M, Wutzler P. Anti-HSV-1 activity of synthetic humic acid-like polymers derived from p-diphenolic starting compounds. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 13(4), 241-49, 2002.
101. SCHNEIDER J, WEIS R, MÄNNER C, KARY B, WERNER A, SEUBERT BJ ve ark. Inhibition of HIV-1 in cell culture by synthetic humate analogues derived from hydroquinone: mechanism of inhibition. *Virology*, 218(2), 389-95, 1996.
102. Van Rensburg C, Dekker J, Weis R, Smith T-L, Van Rensburg EJ, Schneider J. Investigation of the anti-HIV properties of oxihumate. *Chemotherapy*, 48(3), 138-43, 2002.
103. Jooné GK, Dekker J, Jansen van Rensburg CE. Investigation of the immunostimulatory properties of oxihumate. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 58(3-4), 263-67, 2003.
104. Tkachenko S, Rutskii V, Grachev I. under the effect of mumie-asyl. *Ortopediia Travmatologiya i Protezirovaniye [Ortop Travmatol Profitez]*, 49-52, 1979.

105. Kel'ginbaev N, Sorokina V, Stefanidu A, Ismailova V. Treatment of long tubular bone fractures with Mumie Assil preparations in experiments and clinical conditions. *Eksperimental'naia khirurgiia i anesteziologiya*, 18(4), 31-35, 1973.
106. Schols D, Wutzler P, Klöcking R, Helbig B, De Clercq E. Selective inhibitory activity of polyhydroxycarboxylates derived from phenolic compounds against human immunodeficiency virus replication. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*, 4(7), 677-85, 1991.
107. Neyts J, Snoeck R, Schols D, Balzarini J, Esko JD, Van Schepdael A ve ark. Sulfated polymers inhibit the interaction of human cytomegalovirus with cell surface heparan sulfate. *Virology*, 189(1), 48-58, 1992.
108. Klockung R. Humic substances as potential therapeutics. *Humic Substances in the Global Environment and Implications on Human Health Elsevier, Amsterdam*, 1245-57, 1994.
109. ÇALIŞIR M, DALI PA. RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL PERİODONTİTİS MODELİNDE KEMİK REZORPSİYONU VE GİNGİVAL ENFLAMASYON ÜZERİNDE SİSTEMİK VE LOKAL OLARAK UYGULANAN HÜMİK ASİDİN ETKİSİNİN.
110. Schewe C, Klöcking R, Helbig B, Schewe T. Lipxygenase-inhibitory action of antiviral polymeric oxidation products of polyphenols. *Biomedica biochimica acta*, 50(3), 299-305, 1991.
111. Taugner G. TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN UBER EIN NATRIUMHUMINAT-SALICYLSÄURE-BAD. *ARZNEIMITTEL-FORSCHUNG-DRUG RESEARCH*, 13(4), 329-&, 1963.
112. Klöcking R, Hofmann R, Mücke D. Tierexperimentelle Untersuchungen zur entzündungshemmenden Wirkung von Humaten. *Arzneim Forsch*, 18, 941-42, 1968.
113. Kreutz B, Schlikekewey W. Effects of implanted bovine calcium hydroxyapatite with humate. *Arch Orthop Trauma Surg*, 111(5), 259-64, 1992.
114. Goel R, Banerjee R, Acharya S. Antiulcerogenic and antiinflammatory studies with shilajit. *Journal of Ethnopharmacology*, 29(1), 95-103, 1990.
115. Gau R-J, Yang H-L, Chow S-N, Suen J-L, Lu F-J. Humic acid suppresses the LPS-induced expression of cell-surface adhesion proteins through the inhibition of NF- κ B activation. *Toxicology and applied pharmacology*, 166(1), 59-67, 2000.
116. Buczek W, Malinowska B, Pietraszek M, Pawlak D, Chabielska E. Influence of Torpa Peat Preparation on haemostasis in rats. *Acta poloniae pharmaceutica*, 50(6), 507-11, 1993.
117. Lotosh T. Experimental bases and prospects for the use of humic acid preparations from peat in medicine and agricultural production. *Nauchnye doklady vysshei shkoly Biologicheskii nauki*; 1991; 1991. p. 99-103.
118. Dabovich L, Hulbert L, Rudine A, Ji SKF, Mcglone J. Evaluation of nutraceutical effects on pig immunity: Effects of Promox. 2003 Southern Section ASAS meeting Pork Industry Institute, Department of Animal and Food Science, Texas Tech University, Lubbock, TX; 2003; 2003.
119. Kodama H. Antitumor effect of humus extract on murine transplantable L1210 leukemia. *Journal of Veterinary Medical Science*, 69(10), 1069-71, 2007.
120. Vucskits A, Hullár I, Bersényi A, Andrásosky E, Kulcsár M, Szabó J. Effect of fulvic and humic acids on performance, immune response and thyroid function in rats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94(6), 721-28, 2010.
121. Santos Ad, Botero WG, Bellin IC, Oliveira LCd, Rocha JC, Mendonça AGR ve ark. Interaction between humic substances and metallic ions: a selectivity study of humic substances and their possible therapeutic application. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 18(4), 824-30, 2007.

122. Van Rensburg C, Snyman J, Mokoele T, Cromarty A. Brown coal derived humate inhibits contact hypersensitivity; an efficacy, toxicity and teratogenicity study in rats. *Inflammation*, 30(5), 148-52, 2007.
123. Feldkamp LA, Goldstein SA, Parfitt MA, Jesion G, Kleerekoper M. The direct examination of three-dimensional bone architecture in vitro by computed tomography. *Journal of bone and mineral research*, 4(1), 3-11, 1989.
124. Nazirkar G, Singh S, Dole V, Nikam A. Effortless effort in bone regeneration: a review. *Journal of international oral health: JIOH*, 6(3), 120, 2014.
125. Zimmermann G, Moghaddam A. Allograft bone matrix versus synthetic bone graft substitutes. *Injury*, 42, S16-S21, 2011.
126. Pivonka P, Dunstan CR. Role of mathematical modeling in bone fracture healing. *BoneKEy reports*, 1, 2012.
127. Affshana MM, Priya J. Healing mechanism in bone fracture. *Journal of pharmaceutical sciences and research*, 7(7), 441, 2015.
128. Claes L, Recknagel S, Ignatius A. Fracture healing under healthy and inflammatory conditions. *Nature Reviews Rheumatology*, 8(3), 133-43, 2012.
129. de Melo BAG, Motta FL, Santana MHA. Humic acids: Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments. *Materials Science and Engineering: C*, 62, 967-74, 2016.
130. van Rensburg CEJ, Naude PJ. Potassium humate inhibits complement activation and the production of inflammatory cytokines in vitro. *Inflammation*, 32(4), 270-76, 2009.
131. Botes ME, Dekker J, van Rensburg C. Phase I trial with oral oxihumate in HIV-infected patients. *Drug development research*, 57(1), 34-39, 2002.
132. İrer SV, Alper G. Deneysel diyabet modelleri. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 2(3), 127-36, 2004.
133. D'Arcangelo C, Di Maio FDN, Prosperi GD, Conte E, Baldi M, Caputi S. A preliminary study of healing of diode laser versus scalpel incisions in rat oral tissue: a comparison of clinical, histological, and immunohistochemical results. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 103(6), 764-73, 2007.
134. Chinpairoj S, Feldman MD, Saunders JC, Thaler ER. A comparison of monopolar electrosurgery to a new multipolar electrosurgical system in a rat model. *The Laryngoscope*, 111(2), 213-17, 2001.
135. Carew JF, Ward RF, LaBruna A, Torzilli PA, Schley WS. Effects of scalpel, electrocautery, and CO2 and KTP lasers on wound healing in rat tongues. *The Laryngoscope*, 108(3), 373-80, 1998.
136. Firat ET, Dağ A, Günay A, Kaya B, Karadede Mİ, Ersöz Kanay B ve ark. The effect of low-level laser therapy on the healing of hard palate mucosa and the oxidative stress status of rats. *Journal of oral pathology & medicine*, 43(2), 103-10, 2014.
137. Frame J. A convenient animal model for testing bone substitute materials. *Journal of oral surgery (American Dental Association: 1965)*, 38(3), 176-80, 1980.
138. Prolo DJ, Gutierrez RV, DeVine JS, Oklund SA. Clinical utility of allogeneic skull discs in human craniotomy. *Neurosurgery*, 14(2), 183-86, 1984.
139. Özeç İ, Kılıç E, Gümüç C, Göze F. Lokal olarak üç farklı dozda simvastatin uygulamasının kemik defekti iyileşmesi üzerine etkisinin değerlendirilmesi. *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 10(2), 82-86, 2007.
140. Donos N, Graziani F, Mardas N, Kostopoulos L. The use of human hypertrophic chondrocytes-derived extracellular matrix for the treatment of critical-size calvarial defects. *Clinical oral implants research*, 22(12), 1346-53, 2011.
141. Develioğlu H. Kritik boyutlu ve kritik boyutlu olmayan defektler. *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hek Fak Derg*, 6(1), 60-63, 2003.

142. Takagi K, Urist MR. The role of bone marrow in bone morphogenetic protein-induced repair of femoral massive diaphyseal defects. *Clinical orthopaedics and related research*, (171), 224-31, 1982.
143. Mulliken JB, Glowacki J. Induced osteogenesis for repair and construction in the craniofacial region. *Plastic and reconstructive surgery*, 65(5), 553-60, 1980.
144. Glowacki J, Altobelli D, Mulliken JB. Fate of mineralized and demineralized osseous implants in cranial defects. *Calcified tissue international*, 33(1), 71-76, 1981.
145. Prolo DJ, Pedrotti PW, Burres KP, Oklund S. Superior osteogenesis in transplanted allogeneic canine skull following chemical sterilization. *Clinical orthopaedics and related research*, (168), 230-42, 1982.
146. OU T. Rifamisin ile dekontamine edilen otojen blok kemiğin onley greft olarak kullanımının deneysel olarak incelenmesi. [Doktora Tezi], Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2011.
147. Y. B. Nitrik oksidin kemik iyileşmesinde rolü. [Uzmanlık Tezi], İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı. , 2000.
148. Kuhn J, Goldstein S, Feldkamp L, Goulet R, Jesion G. Evaluation of a microcomputed tomography system to study trabecular bone structure. *Journal of Orthopaedic Research*, 8(6), 833-42, 1990.
149. Şahin FÜ, Topuz Ö. Diş hekimliği araştırmalarında mikrobilgisayarlı tomografi uygulamaları. *Acta Odontologica Turcica*, 31(2), 114-20, 2014.
150. Gielkens PF, Schortinghuis J, de Jong JR, Huysmans MCD, van Leeuwen MBM, Raghoobar GM ve ark. A comparison of micro-CT, microradiography and histomorphometry in bone research. *Archives of Oral Biology*, 53(6), 558-66, 2008.
151. Kumasaka A, Iikubo M, Nishioka T, Kojima I, Shoji N, Sakamoto M ve ark. Insulin-Like Growth Factor I Inhibits Alveolar Bone Loss Following Tooth Extraction in Rats. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 17(6), 1174-79, 2015.
152. Histing T, Andonyan A, Klein M, Scheuer C, Stenger D, Holstein J ve ark. Obesity does not affect the healing of femur fractures in mice. *Injury*, 47(7), 1435-44, 2016.
153. King S, Baptiston Tanaka C, Ross D, Kruzic JJ, Levinger I, Klineberg I ve ark. A diet high in fat and fructose adversely affects osseointegration of titanium implants in rats. *Clinical and experimental dental research*, 6(1), 107-16, 2020.
154. Burghardt AJ, Link TM, Majumdar S. High-resolution computed tomography for clinical imaging of bone microarchitecture. *Clinical Orthopaedics and Related Research*®, 469(8), 2179-93, 2011.
155. Yakıncı ME, Onar K, Depci T, Orhan K, Turan CC. Sağlık, Fen ve Mühendislik Bilimlerinde Mikro-Bilgisayarlı Tomografinin (Mikro-CT) Önemi Importance of Micro-Computed Tomography (Micro-CT) in health, Science and Engineering Sciences.
156. Çalışır M, Akpınar A, Poyraz Ö, Göze F, Çınar Z. The histopathological and morphometric investigation of the effects of systemically administered humic acid on alveolar bone loss in ligature-induced periodontitis in rats. *Journal of Periodontal Research*, 51(4), 499-507, 2016.
157. Durmuş K, Bora A, Doğan M, Özer H, Tuncer E, Altuntaş EE. Can local administration of humic acid shorten recovery time of mandibular fractures? Experimental study. *ENT Updates*, 7(2), 57-61, 2017.

8.ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı: Muhammet ŞENGÜL

Doğum Yeri ve Tarihi

Medeni Hali: Evli

Yabancı Dil: İngilizce

İletişim Adresi

Eğitim ve Akademik Durumu

İlköğretim: Kambertepe İlköğretim Okulu-75. Yıl İ.M.K.B Y.B.O Ortaokulu

Lise: Elazığ Anadolu Lisesi

Üniversite: Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Uzmanlık: Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Periodontoloji AD

Bilimsel Kongreler ve Yayınlar: ISPEC 1. ULUSLAR ARASI TIP ve SAĞLIK
KONGRESİ

İş Tecrübesi: İstanbul Özel Muayane

EKLER

EK1. Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Denetleri Yerel Etik Kurul Kararı

T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

25.06.2020

Sayı : 65202830-050.04.04- 11
Konu : Etik Kurul Kararı.

Sayın Doç.Dr.Vildan ÖRNEKOL
Dış Hekimliği Fakültesi
Periodontoloji Bölümü

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 25.06.2020 tarihinde Prof.Dr. Haki KARA başkanlığında toplanarak aşağıdaki kararları almıştır.

Doç.Dr.Vildan ÖRNEKOL'un yürütücülüğünü yapmış olduğu ve yardımcıları Biolog.Hasan EKEER Uz.Vet. Hek.Yücel YALMAN Arş.Gör.Muhammet ŞENGÜL'ün 17.06.2020 tarih ve 328 sayılı "Ratlarda Oluşturulan Parietal Defektlerde Humik Asit'in Kemik Rejenerasyonu Üzerine Etkisinin Araştırılması." isimli Uzmanlık Tezi Projesi Etik Kurulumuzca kabul edilmiştir.

Prof.Dr.Bülent SARAC
Üye

Prof.Dr.İhsan HUBER ZOĞLU
Üye

Prof.Dr.Zübeyda Akın ROLAT
Üye

Dr.Öğr.Üyesi.Anne Duran ATAS Dr.Öğr.Üy. Çengiz GÜNEY
Üye

Dr.Öğr.Üyesi.Erhan YÜKSEL
Üye

Dr.Öğr.Üyesi.Hakan İSİCAN
Üye

Uz.Vet.Hek.Yücel YALMAN
Üye — Başkanvekili

Hilmi GÜL
Sivil Üye

Özcan KARATAŞ
Sivil Üye

Prof. Dr. Haki KARA
Başkan