

NURAY ÖZKAHRAMAN

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL- 2022



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**PARTİKÜL OTOJEN DENTİNİN YÖNLENDİRİLMİŞ
KEMİK REJENERASYONUNDAKİ ETKİSİNİN
HİSTOMORFOMETRİK VE HİSTOLOJİK ANALİZİNİN
İN VİVO OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ:
DENEYSEL ÇALIŞMA**

NURAY ÖZKAHRAMAN

**DANIŞMAN
PROF.DR. SERDAR YALÇIN**

**ORAL İMPLANTOLOJİ ANA BİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI**

İSTANBUL-2022

TEZ ONAYI



BEYAN



İTHAF

Anneme ve Babama ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca engin bilgi, tecrübe ve desteğini benden esirgemeyen kıymetli hocam ve tez danışmanım Prof . Dr. Serdar Yalçın'a,

Tez çalışmamın yayınlanma sürecinde gece gündüz demeden yardım ederek bana ışık olan sayın Prof. Dr. Nilüfer Bölükbaşı Balcıoğlu'na,

Doktora eğitimim süresince verdikleri üstün katkılardan dolayı kürsümüzün değerli hocaları sayın Prof. Dr. Selim Ersanlı, sayın Prof. Dr. Volkan Arısan ve sayın Arş.Gör. Dr. Bahattin Alper Gültekin'e,

Tez değerlendirme komitemde ve jürimde yer alan değerli hocam sayın Prof. Dr. Özen Onur Doğan'a,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Oral İmplantoloji Ana Bilim Dalı ailesine,

Tez çalışmamın deney aşamasında bana yardımcı olan İstanbul Mehmet Akif Ersoy Deneysel Araştırma Geliştirme Ve Eğitim Merkezi'nde görev yapmakta olan sayın Uzm. Vet. Öznur Doğan ve İ. Ü. Veterinerlik Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı'nda görev yapmakta olan sayın Arş. Gör. Veteriner Cerrah Yusuf Altundağ'a,

Tez çalışmamın histolojik inceleme safhasında yardımları ve değerli katkılarından ötürü İ.Ü Onkoloji Enstitüsü'nde görev yapmakta olan sayın Prof. Dr. Merva Soluk Tekkesin'e,

Her türlü maddi manevi olarak yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen annem Saliha Selçuk, babam Sali Selçuk ve eşim Yağmur'a,

Teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:33971

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ	X
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	Xİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİİ
ÖZET.....	XVİİİİ
ABSTRACT.....	XVİİİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. KEMİK	2
2.1.1. Kemik Matriksi.....	2
2.1.1.1. Organik Matriks (Osteoid Madde)	2
2.1.1.2 İnorganik Matriks.....	2
2.1.2. Kemik Hücreleri	3
2.1.2.1. Osteoprogenitör Hücreler.....	3
2.1.2.2. Osteoblastlar.....	3
2.1.2.3. Osteositler.....	3
2.1.2.4. Osteoklastlar.....	4
2.1.3. Periosteum ve Endosteum.....	5
2.1.4. Kemik Dokusu Tipleri.....	5
2.1.5. Kemik Yapımı.....	5
2.1.6. Kemik İyileşmesindeki Evreler	6

2.1.6.1. İnflamasyon Evresi.....	6
2.1.6.2. Reperasyon Evresi.....	7
2.1.6.3. Yeniden Şekillenme Evresi.....	7
2.1.7. Kemik İyileşmesini Etkileyen Etmenler.....	7
2.1.8. Çekim Soketinde Oluşan Kemik iyileşmesi.....	8
2.2. KEMİK GREFT MATERYALLERİ.....	9
2.2.1. Kemik Greftlerinin Sınıflandırılması.....	10
2.2.1.1 Otojen Greftler.....	10
2.2.1.2. Allogreftler.....	11
2.2.1.3. Ksenogreftler.....	12
2.2.1.4. Alloplastlar.....	12
2.3. YÖNLENDİRİLMİŞ KEMİK REJENERASYONU (YKR).....	14
2.4. BARIYER MEMBRANLAR.....	15
2.4.1. Rezorbe Olmayan Membranlar.....	15
2.4.2. Rezorbe Olan Membranlar.....	15
2.5 DİŞİN YAPISAL ÖZELLİKLERİ.....	16
2.5.1. Mine Dokusu.....	17
2.5.2. Dentin Dokusu.....	17
2.5.2.1. Primer Dentin.....	18

2.5.2.2.		Sekonder
Dentin.....	18	
2.5.2.3.		Tersiyer
Dentin.....	19	
2.5.2.4.		
Dentinogenezis.....	19	
2.5.3. Sement Dokusu.....	20	
2.5. Kemik Grefti Olarak Diş Dokusu.....	20	
2.3.1 Diş Greftinin Kullanım Şekilleri.....	23	
2.3.1.1. Demineralize Dentin Matriks.....	23	
2.3.1.2.	Parsiyel	Demineralize Dentin
Matriks.....	25	
2.3.1.3. Mineralize Dentin Matriks.....	26	
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	320	
3.1.GEREÇ.....	30	
3.1.1. Genel Bilgi.....	30	
3.1.2 Deney Hayvanları ve Gruplar	30	
3.1.3. Alt Gruplar ve Kullanılan Biyomateryaller.....	30	
3.2 YÖNTEM.....	34	
3.2.1 Cerrahi İşlem.....	34	
3.2.2. Operasyon Sonrası Bakım ve Medikasyon.....	42	
3.2.3 Sakrifikasyon.....	42	
3.2.4 Histoloji ve Histomorfometri.....	42	
3.2.5 İstatistiksel Analiz.....	43	
4. BULGULAR.....	446	

4.1	Histolojik
Bulgular.....	44
3. Hafta Histolojik Resimleri.....	44
6. Hafta Histolojik Resimleri.....	50
4.2 Histomorfometrik Bulgular.....	56
5. TARTIŞMA	667
Sonuç.....	88
KAYNAKLAR.....	89
ETİK KURUL KARARI.....	114
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	1175
ÖZGEÇMİŞ	118

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Kemik ve dentin arasındaki ortak faktörler.....	22
Tablo 3-1: Grup 1a’da kullanılan biyomateryaller.....	31
Tablo 3-2: Grup 1b’de kullanılan biyomateryaller.....	32
Tablo 3-3: Grup 1c’de kullanılan biyomateryaller.....	32
Tablo 3-4: Grup 2a’da kullanılan biyomateryaller.....	33
Tablo 3-5: Grup 2b’de kullanılan biyomateryaller.....	33
Tablo 3-6: Grup 2c’de kullanılan biyomateryaller.....	34
Tablo 4-1: Haftalara göre değerlendirmeler.....	56
Tablo 4-2: Yeni oluşan kemik miktarlarının gruplara göre değerlendirilmesi.....	57
Tablo 4-3: Rezidüel greft materyali miktarının gruplara göre değerlendirilmesi.....	61
Tablo 4-4: Materyal gruplarına göre iltihap değerlendirmeleri.....	63

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Kemik hücreleri.....	4
Şekil 2-2: Diş çekiminin ardından sokette meydana gelen değişiklikler.....	9
Şekil 2-3: Dişin yapısı.....	17
Şekil 2-4: KometaBio parsiyel demineralizasyon solüsyon kiti.....	25
Şekil 2-5: Kometabio Smart Dentin Grinder’da MDM hazırlamak için kullanılan standart solüsyon prosedürü; Dentin Cleanser, PBS.....	28
Şekil 2-6: Dentin temizleyici uygulamasının ardından partikül dentinde oluşan değişiklikler.....	28
Şekil 3-1: 3. insiziv dişlerin çekimi.....	35
Şekil 3-2: Koyundan çekilen dişler.....	35
Şekil 3-3: İnsizyon bölgesi.....	36
Şekil 3-4: İç çapı 5mm dış çapı 6mm olan trefin frez.....	36
Şekil 3-5: 6 adet defektin oluşturulması.....	37
Şekil 3-6: Çekilen dişlerin mine ve sement tabakalarının uzaklaştırılması.....	37
Şekil 3-7: Kometabio Dentin Grinder Cihazı.....	38
Şekil 3-8: 300-1200 µm partikül boyutuna getirilen dentin greftler.....	38
Şekil 3-9: Partikül dentin greftine önce ‘dentin cleanser’ın, sonrasında PBS solüsyonunun uygulanması.....	39
Şekil 3-10: Manuel kemik öğütücüsü ve otojen greftin öğütücüye yerleştirilmesi.....	39
Şekil 3-11: Kullanılan ksenogreft ve kolajen membran.....	40
Şekil 3-12: Graftlerin defektlere uygulanması.....	40
Şekil 3-13: Kolajen membran ile kapatılıp pinlenen defektler.....	41

Şekil 3-14: Titanyum pin seti.....	41
Şekil 3-15: Operasyon sahasının sütüre edilmesi ve antibakterial uygulanıp fikse edilmesi.....	41
Şekil 4-1: 3. hafta Kontrol grubuna ait temsili histopatolojik görüntü.....	44
Şekil 4-2: 3. hafta Otojen grubuna ait temsili histopatolojik görüntü.....	45
Şekil 4-3: 3. hafta Dentin grubuna ait temsili histopatolojik görüntü.....	46
Şekil 4-4: 3. hafta Ksenogreft grubuna ait temsili histopatolojik görüntü.....	47
Şekil 4-5: 3. hafta Otojen+Ksenogreft grubuna ait temsili histopatolojik görüntü.....	48
Şekil 4-6: 3. hafta Dentin+Ksenogreft grubuna ait temsili histopatolojik görüntü.....	49
Şekil 4-7: 6. hafta Kontrol grubuna ait temsili histopatolojik görüntü.....	50
Şekil 4-8: 6. hafta Otojen grubuna ait temsili histopatolojik görüntü.....	51
Şekil 4-9: 6. hafta Dentin grubuna ait temsili histopatolojik görüntü.....	52
Şekil 4-10: 6. hafta Ksenogreft grubuna ait temsili histopatolojik görüntü.....	53
Şekil 4-11: 6. hafta Otojen+Ksenogreft grubuna ait temsili histopatolojik görüntü.....	54
Şekil 4-12: 6. hafta Dentin+Ksenogreft grubuna ait temsili histopatolojik görüntü.....	55
Şekil 4-13: 3. hafta yeni oluşan kemik miktarlarının gruplara göre değerlendirmeleri..	58
Şekil 4-14: 6. hafta yeni oluşan kemik miktarlarının gruplara göre değerlendirmeleri..	59
Şekil 4-15: 3. ve 6. hafta yeni kemik oluşum miktarlarının bütün gruplar arasında değerlendirilmesi.....	60
Şekil 4-16: Üçüncü hafta rezidüel greft materyali miktarının gruplara göre dağılımı...	62
Şekil 4-17: Altıncı hafta rezidüel greft materyali miktarının gruplara göre dağılımı....	62
Şekil 4-18: Gruplara göre 3.hafta iltihap oranlarının dağılımı.....	63
Şekil 4-19: Gruplara göre 6.hafta iltihap oranlarının dağılımı.....	64

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

HA: Hidroksiapatit kristalleri

TCP: Trikalsiyum fosfat tuzları

GAG: Glikozaminoglikan

GM-CSF: Makrofaj koloni uyarıcı faktör

FGF: Fibroblast growth faktör

TGF- β : Transforming growth faktör beta

RANKL: NFKB ligand reseptör aktivatörü

BMP: Kemik morfojenetik proteini

TNF- α : Tümör nekroz faktörü alfa

rhBMP-2: Rekombinant insan kemik morfojenetik ptoteini-2

DKA: Dondurulmuş kurutulmuş allogreftler

DDKA: Demineralize dondurulmuş kurutulmuş allogreftler

°C: Santigrat Derece

μ m: Mikrometre

μ : Mikron

Ca: Kalsiyum

P: Fosfat

YKR: Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu

PTFE: Politetrafloroetilen

OPN: Osteopontin

DDM: Demineralize dentin matriksi

DBM: Demineralize kemik matriksi

IGF-1: İnsulin like growth factor-1

IGF-2: İnsulin like growth factor-2

SIBLING: Small Integrin-Binding Ligant, N-linked Glycoprotein

DSP: Dentin sialoproteini

DMP: Dentin matriks proteini

BSP: Kemik sialoproteini

PDDM: Parsiyel demineralize dentin matriks

MDM: Mineralize dentin matriks

VEGF: Vascular Endoteryal Growth Factor

HCl: Hidroklorik asit

EDTA: Ethylene diamine tetra acetic acid

HNO₃: Nitrik Asit

PBS: Phosphate Buffered Saline

D: Dentin grefti

X: Ksenogreft

O: Otojen kemik grefti

K: Kontrol grubu

NB: Yeni kemik yapım alanları

DE: Defekt kenarı

GB:Kalan geft partikülleri

OMDG: Otojen mineralize dentin grefti

ODDG: Otojen demineralize dentin grefti

dk: dakika

mm: Milimetre

mg: Miligram

kg: Kilogram

gr: Gram

ml: Mililitre

cc: Kübik santimetre

i.m: İntramuskular

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

micro CT: Bilgisayarlı Mikro Tomografi

M: Mol

NaOH: Sodyum Hidroksit

SEM: Taramalı Elektron Bilgisayarı

rpm: 1 dakika içerisinde gerçekleştirilen dönüş

L-PRF (L-TZF): Lökositten ve Trombositten Zengin Fibrin

PRF: Trombositten Zengin Fibrin

CBCT: Koni I ınlı Bilgisayarlı Tomografi

OPK: Otojen Partikül Kansellöz Kemik

ÖZET

Özkahraman, N. Partikül otojen dentinin yönlendirilmiş kemik rejenerasyonundaki etkisinin histomorfometrik ve histolojik analizinin in vivo olarak değerlendirilmesi: Deneyesel çalışma. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Oral implantoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2022.

Dentin greft; osteoindüktif ve osteokondüktif özelliklere sahiptir ve otojen grefte alternatif olarak gösterilmektedir. Bu çalışma, otojen mineralize dentin greftinin (OMDG) tek başına veya ksenogreft ile etkinliğini değerlendirmekte ve intraosseöz kemik defektlerinin tedavisinde kullanılan çeşitli greft materyalleriyle karşılaştırmaktadır.

Altı koyunun (2-3 yaş) üçüncü insiziv dişleri çekildi ve OMDG elde edildi. Bu altı koyunun sağ ve sol tibia kemiklerine altışar adet defekt hazırlandı. Defektlerin biri boş (grup K) bırakılarak, diğerlerine; otojen greft (grup O), dentin grefti (grup D), ksenogreft (grup X), otojen + ksenograft (grup O + X) ve dentin + ksenograft (grup D + X) materyalleri yerleştirildi. Ameliyat sonrası 3. ve 6. haftalarda her gruptan üçer koyun kurban edilerek, histolojik ve histomorfometrik incelemeler yapıldı. Bulgulara bakacak olursak; D ve D + X grupları 3. ve 6. haftalarda diğer gruplara benzer histolojik özellikler gösterdi. D ile D+X grupları ($p = 1.0$) ve diğer gruplar arasında her iki zaman aralığında ($p > 0.05$) yeni kemik oluşumunun tedavileri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Bu çalışmada O, D, X, O+X ve D+X grupları arasında gözlemlenen benzer sonuçlar, OMDG'nin intraosseöz kemik defektlerinin tedavisinde başarıyla kullanılabileceğini göstermektedir. Dentin greftlerinin etkinliğini farklı endikasyonlarda değerlendirebilmek için daha fazla deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler : Mineralize Dentin Grefti, Otojen Kemik Grefti, Ksenogreft, Osteoindüksiyon, Osteokondüksiyon

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 33971

ABSTRACT

Özkahraman N. Efficacy of particulate autogenous dentin in intraosseous defects: An experimental in vivo study. Istanbul University, Institute of Health Science, Oral Implantology Department, Ph.D.Thesis. Istanbul.

Dentin grafts have osteoinductive and osteoconductive properties and are considered as an alternative to autogenous graft. This study evaluates the efficacy of autogenous mineralized dentin graft (AMDG) alone or with xenograft and compares it with those of various graft materials used in the treatment of intraosseous bone defects.

The third incisor teeth of six sheep (2–3 years old) were extracted and AMDG was obtained. Six defects were prepared on each tibia of these six sheep: empty defect (group E); autogenous graft (group A), dentin graft (group D), xenograft (group X), autogenous + xenograft (group A + X) and dentin + xenograft (group D + X). Three sheep in each group were sacrificed in the post-operative 3rd and 6th week and the histologic analyses were performed. Results: The D and D + X groups showed histological features similar to the other groups in the 3rd and 6th weeks. No statistically significant difference was found regarding the rates of new bone formation between the D and D+X groups ($p = 1.0$) and the other groups at both time intervals ($p > 0.05$).

Similar results observed in this study between groups A, D, X, A + X and D + X demonstrate that AMDG can be successfully used in the treatment of intraosseous bone defects. Further experimental and clinical studies are needed to be able to evaluate the effectiveness of dentin grafts in different types of indications.

Key Words: Mineralized Dentin Graft, Autogenous Bone Graft, Xenograft, Osteoinduction, Osteoconduction.

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 33971



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diş eksikliklerinin çene kemiğine uygulanan implantlar ile giderilmesi kabul görmüş bir tedavi metodudur. Diş kaybı sonrası çene kemiklerinde erimeler oluşmaktadır ve bu da implant uygulanmasını zorlaştırmaktadır. İmplantasyon öncesi uygun kemik miktarının elde edilmesinde çeşitli kemik arttırma (ogmentasyon) işlemleri gerekebilmektedir. Kemik arttırmada kullanılan biyomateriyaller, yeni oluşacak kemiğin hacmini, kalitesini ve yenilenme süresini etkilemektedir. Bu bağlamda otojen kemik greftleri altın standart olarak kabul görmektedir. Ancak ikinci bir ameliyat bölgesinin oluşması, işlem süresinin uzaması ve elde edilebilen kemik grefti miktarının kısıtlı olması gibi dezavantajlardan dolayı; insan kadavrası veya hayvan kaynaklı greftler ve sentetik greft materyalleri otojen grefte alternatif olarak kullanılabilir. Son yıllarda bu konu ile ilgili otojen dentin greftlerinin kullanımı üzerine araştırmalar yapılmaktadır. Ameliyat öncesinde hemen hazırlanabilmeleri, düşük maliyetli olmaları, uygulama kolaylığı, otojen oldukları için allerjik reaksiyonlara ve enfeksiyona sebep olmamaları gibi önemli avantajları bulunmaktadır. Çekilen dişi atmak yerine, dişin çürüğünü ve taşlarını uzaklaştırıp, özel bir cihazda partikülize ederek otojen bir greft elde edilebilmektedir. Dentinin kimyasal bileşenleri kemiğin kimyasal yapısına çok yakındır. Dentinin inorganik yapısının ana bileşenlerini hidroksiapatit (HA) ve trikalsiyum fosfat (TCP) oluşturur. Kemik dokusunun temel mineralleri düşük kristal yapıda oldukları için kemik greft materyali olarak kullanılan dentinin osteokondüktif etki göstererek iyi kemik yapımının oluşumunu sağladıkları bildirilmiştir. Bu çalışmada amacımız, hastanın kendi dişinden elde edilen otojen diş grefti materyalinin, kemik rejenerasyonundaki etkisini, diğer kemik greftleriyle histolojik ve histomorfometrik açıdan karşılaştırarak araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik

Kemik dokusu; kemik hücreleri, lifler ve ara matriksten oluşan, vücut için hayatsal öneme sahip, organik ve inorganik tuzlar ihtiva eden ve büyük oranda tip I kolajenden oluşan bir bağ dokusudur. Vücudumuzun %20'sini kemikler oluşturur (1). Kemikler özellikle kalsiyum, fosfor, magnezyum ve sodyum minerallerinin depolanmasına yardımcıdır. İhtiva ettiği kemik iliği vasıtasıyla kan üretimine katkıda bulunmasının yanı sıra vücudun hayati organlarına da desteklik ve koruma sağlar (1, 2). Kendi kendini onarabilme ve yeni koşullara adapte olabilme kabiliyetine sahiptir (3, 4). Kemik dokusu; hücreler, hücreler arası madde (matriks) ve sudan oluşmaktadır (5, 6).

2.1.1. Kemik Matriksi

Matriks; hücreler arasında bulunan maddedir ve hücrelerden daha fazla yer kaplar. Organik ve inorganik matriks olarak ikiye ayrılır (5, 6).

2.1.1.1. Organik Matriks (Osteoid Madde)

Matriks yapısının yaklaşık 5'te 1'ini meydana getirir. Kemiğe şekil verir ve inorganik maddelerin kalsifiye olacağı yeri meydana getirir. Organik matriks yapısı %90 oranında tip 1 kolajenden oluşmaktadır. %10'luk kısmını ise makroproteinler, proteoglikanlar, glikoproteinler, büyüme faktörleri, sitokinler, lipid ve peptitler oluşturur (7, 8,9).

Yapısındaki Tip 1 kolajen sayesinde esneklik kazanarak kırılmalara karşı koruma sağlar. İnorganik tuzlar, kolajen molekülleri arasında kalan gözeneklerde yer alır (2).

2.1.1.2 İnorganik Matriks

Kemiğin dokusunun mineralize olan bölümünü oluşturan inorganik matriks, hidroksiapatik kristallerini (HA) $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ ve trikalsiyum fosfat (TCP) tuzlarını meydana getiren kalsiyum ve fosfatı yüksek oranda bünyesinde barındırır (7, 8 , 10, 11). Bunların yanında kalsiyum fosfat %85, kalsiyum florid %10 oranlarında bulunmakla birlikte daha az miktarlarda kalsiyum karbonat, magnezyum sülfat,

magnezyum florid, magnezyum hidroksit, kalsiyum florid, karbonat ve sitrat iyonlarına rastlanmıştır. Kolajen ve hidroksiapatit kristalleri kemiğin sertlik kazanmasını sağlayarak, gerilim ve baskı kuvvetlerine karşı kemiği korur. İnorganik matriks; vücut sıvıları ile iyon alışverişi içinde olduğu için vücudun iyon dengesinde etkin rol oynamaktadır (7, 8, 10, 11).

2.1.2. Kemik Hücreleri

Osteoprogenitör hücreler, osteositler, osteoklastlar ve osteoblastlar olmak üzere dört çeşit kemik hücresi bulunmaktadır (Şekil 2-1). Osteoklastlar dışındakiler mezenkim hücrelerden, osteoklastlar ise kemik iliğinden köken alır (12).

Osteositler ve osteoblastlar, osteoprogenitör hücrelerin farklılaşmasıyla oluşur. Osteoprogenitör hücreler; Walksman ve Havers kanallarının çevresinde, kemik zarının endosteum ve periosteumunda, uzayan kemiklerin metafiz kısmındaki kıkırdakta bulunur. Oval bir çekirdeğe sahip, iğ şeklindeki hücrelerdir. Bu hücrelerin görevleri arasında kemik yapısını korumak, kemik kırıklarında aktive olarak onarımı sağlamak ve kemik rezorbsiyonunda rol oynamak vardır (8).

2.1.2.1. Osteoprogenitör Hücreler

Periostun iç tabakasında ve havers kanallarında bulunur, mezenkimal kökenli oldukları için gerektiğinde mitoz ile osteoblastlara dönüşürler. En önemli özellikleri düşük oksijen basıncında ve belirli koşullarda, kemik iliğinde kan yapan hücelere, yağ hüclerine veya fibroblastlara dönüşebilmeleridir (8).

2.1.2.2. Osteoblastlar

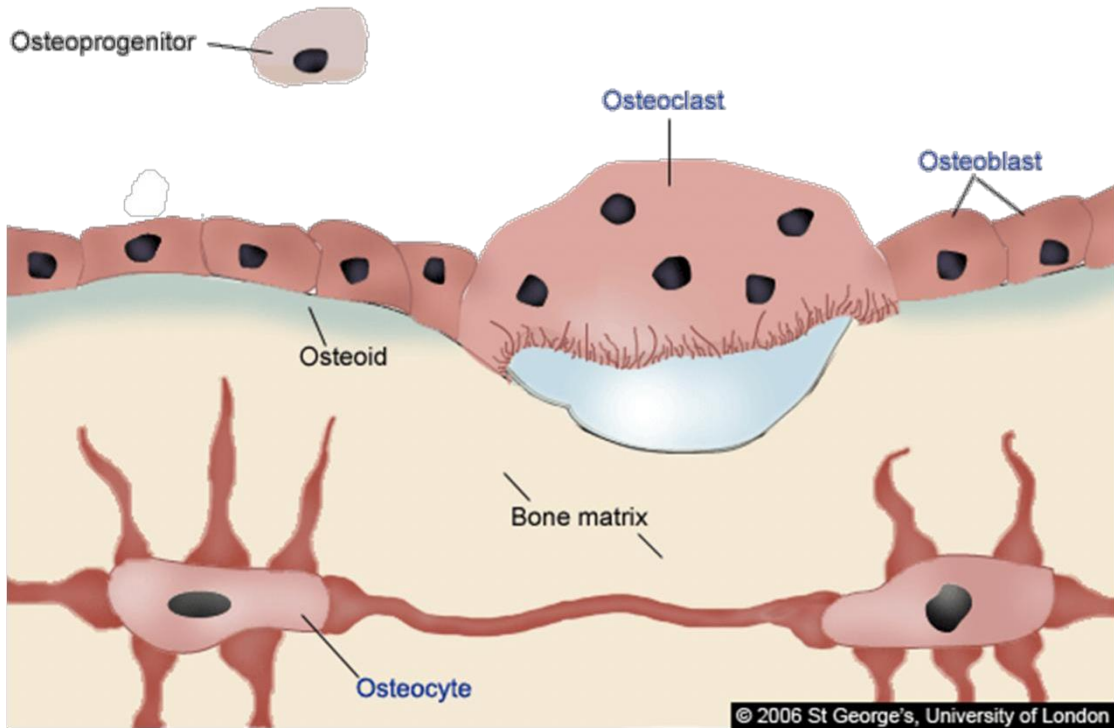
Kemik yapımı için ihtiyaç olan kolajen lif, glikozaminoglikan (GAG), proteoglikan ve glikoprotein gibi organik maddeleri sentezleyerek kemik yapımından sorumludur (13). Aralarında çokça gap junction adı verilen bağlantı geçitleri yer alır. Tek sıra halinde periostun altında dizilirler. Osteoblastların kendilerine özgü ürünleri arasında tip 1 kolajen, osteokalsin, osteopontin, osteonektin ve kemik siyaloproteini sayılabilir (14).

2.1.2.3. Osteositler

Osteoblastların ürettiği daha kireçlenmemiş kemik matriksine kalsiyum tuzlarının çökmesi ve yassılaşmasıyla osteositler oluşur. Osteositler, aralarındaki iletişimi ve kan damarlarıyla olan ilişkilerini kanalları ismindeki minik kanalcıklar yardımıyla sağlarlar. Böylelikle sert doku içerisinde sıkışmış olmalarına rağmen kanda bulunan hormonlar tarafından uyarılabilmektedirler (15, 7). Osteositler; kemik matriksin devamlılığını, korunmasını ve kanda kalsiyum-fosfor düzenlenmesini sağlarlarken, kemikte remodeling (yeniden şekillenme) oluşumu gözlenir (15). Osteoporozda osteosit harabiyeti görülür (16).

2.1.2.4. Osteoklastlar

Kemik iliğinde bulunan granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) hücrelerinden orjin alan, mononükleer fagositer sisteme ait, hareket kabiliyetine sahip hücrelerdir. Sentezledikleri kolajenaz, asit fosfataz gibi proteolitik enzimler yardımıyla kemik yıkımından sorumludur. Kendi salgıladıkları enzimler sayesinde oydukları, Howkins lakünası adı verilen kemik boşlukları içinde bulunurlar (15). Kalsitonin reseptörleri osteoklastlar üzerinde bulunur. Kemik dokusundan kana kalsiyum geçişine sebep oldukları için kandaki kalsiyum değerlerini düzenlerler (7).



Şekil 2-1: Kemik hücreleri (17).

2.1.3. Periosteum ve Endosteum

Bütün kemiklerin iç yüzlerini endosteum, dış yüzlerini ise periosteum denilen sıkı bağ dokusudan oluşan kemik zarları kaplamaktadır. Periostun dış katmanını sıkı bağ dokusu hücreleri oluştururken, iç katmanını osteoprogenitör hücreler oluşturur. Periost, altındaki kemiğe periodontal ligamanda da bulunan Sharpey lifleri ile bağlanmaktadır. Kemik zarlarının asıl görevi; kemiğin büyümesi, beslenmesi ve onarılması için gerekli osteoblast hücrelerinin teminini sağlamaktır (7, 18, 11).

2.1.4. Kemik Dokusu Tipleri

Kemik doku tipleri primer kemik (Woven kemik) ve sekonder kemik olarak ikiye ayrılmaktadır. Primer kemik dokusu; kemik onarımı ve fötal gelişim esnasında ilk önce yapılan olgunlaşmamış kemiktir. Erişkinlerde; tendonların kemiğe bağlandığı bölgeler, diş alveolleri ve kafatası sutürleri primer kemik dokusu olarak kalmıştır (19).

Sekonder kemik ise erişkin kemik dokusudur. Süngerimsi kemik ile kompakt kemik olmak üzere iki farklı oluşum halindedir (20).

Süngerimsi kemik dokusu; trabeküller yapmış kemik iliğini içeren kemik dokusudur. Yassı kemiklerin iç bölgelerini, uzun ve kısa kemiklerin metafiz ve epifizlerinin iç kısımlarını süngerimsi kemik oluşturur. Kemik iliğindeki kan damarları sayesinde beslenir. Yapısında, Wolkman ve Havers kanalları bulunmamaktadır (21).

Kompakt kemik dokusu; hücrelerin az, kemik matriksinin çok olduğu kemik dokusudur. Matrikste tabakalar halinde dizilmiş kemik lamelleri bulunmaktadır. Lamellerdeli lakünalar içinde osteositler yer alır. Havers ve Wolkman kanalları olmak üzere iki tip kanal sistemi bulunmaktadır. Havers kanalları; kemiğin uzun eksenine paralel olarak kemik lamellerinin ostasında bulunur. İçlerinde kapiller ve postkapiller venüller barındırmaktadır. Wolkmann kanalları; Havers kanallarını transvers olarak birbirine veya periosta bağlamaktadır. İçlerinde nutrisyonel arterler ve periostal kan damarları bulunmaktadır (20, 22).

2.1.5. Kemik Yapımı

Kemik yapımı enkondral kemikleşme ve intramembranöz kemikleşme olarak iki tiptir.

Enkondral kemikleşme, hyalin kıkırdak oluşması ve sonra osteoprogenitör hücrelerin farklılaşması sayesinde oluşur. Kemiklerim boyuna uzamasını sağlar. Kemiklerin epifiz plağından uzaması buna örnek gösterilebilir (23).

İntramembranöz kemikleşme ise osteoblastların organik matriksi sentezlemeleri ile üzerlerine mineral çökmesi sayesinde oluşur. Bu olayda Fibroblast Growth Faktör (FGF) ve Transforming growth faktör beta (TGF- β) rol alır. Özellikle kemiklerde enine genişlemeyi sağlar. Uzun ve kısa kemikleri kompakt bölgeleri, alt çene ve üst çene kemiklerinin bazı kısımları ve yassı kemikler bu şekilde oluşur. Perikondral kemikleşme adı verilen ve periost altındaki osteoblastların aktivitesiyle oluşan ve kemiklerin enine kalınlaşmalarını sağlayan bir alt tipi de mevcuttur (24).

Kemik dokusu; kemik hücreleri, lifler ve ara matriksten oluşan, vücut için hayatsal öneme sahip, organik ve inorganik tuzlar ihtiva eden ve büyük oranda tip I kolajenden oluşan bir bağ dokusudur. Vücudumuzun %20'sini kemikler oluşturur (1). Özellikle kalsiyum, fosfor, magnezyum ve sodyum minerallerinin depolanmasına yardımcıdır. İhtiva ettiği kemik iliği vasıtasıyla kan üretimine katkıda bulunmasının

yanı sıra vücudun hayati organlarına da desteklik ve koruma sağlar (1, 2). Kendi kendini onarabilme ve yeni koşullara adapte olabilme kabiliyetine sahiptir (3, 4).

2.1.6. Kemik İyileşmesindeki Evreler

Kemik dokusunun iyileşmesinde üç evre söz konusudur. Bunlar; inflamasyon evresi, reperasyon evresi ve remodelasyon evresidir. Remodelasyon evresi en uzun süren, inflamasyon fazı ise en kısa süren evredir (25).

2.1.6.1. İnflamasyon Evresi

Yangı evresi olarak da adlandırılır. Travmadan hemen sonra hematoma oluşumuyla başlar, birkaç gün devam eder ve yerini granülasyon dokusuna bırakır. Sırasıyla vazokonstriksiyon oluşumu, vazodilatasyon ve hemostaz, vaskülarizasyon ve son olarak da granülasyon dokusu oluşumuyla evre tamamlanmış olur. Prostaglandinlerin salgılanması, yara bölgesine monositlerin, makrofajların ve nötrofillerin gelmesini sağlar. Oluşan hipoksik alanda nekroz oluşumu gözlemlendiği için, fagositoz ve lizozomal mekanizma nekroz olan dokuları yok eder. Hematom yerini fibroblastların gelmesiyle 3-4 gün içinde granülasyon dokusuna bırakır (7, 26, 27).

2.1.6.2. Reperasyon Evresi

Onarım fazı olarak da adlandırılır. İnflamasyon fazının akabinde 7-12 gün içerisinde meydana gelir. Mezenkimal hücrelerin farklılaşmasında ilk olarak hematoma içine nüfus eden fibroblastlar hücreleri değişim geçirir. Kırık uçlar arasına gelen fibroblastların ve osteojenik hücrelerin, çoğalması ve farklılaşmasıyla yumuşak bir granülasyon dokusu meydana gelir. Kanlanmanın az olduğu granülasyon bölgesinde kondroblast ve kondrositler kıkırdak dokuyu oluştururken, yeterli beslenen bölgeler osteoblast tüberküllerine dönüşür. Böylece en iç bölgede kemik trabekülleri, orta kısımda kıkırdak doku ve en dış bölgede periosteumdan köken alan osteojenik hücreler yer alır. Zamanla bu yapılar birleşerek sert kallusu oluşturur (23, 28).

4-6 haftada osteoblast aktivitesi devam eder ve kıkırdak kallus dokusu kanselloz kemik ile yer değiştirir, böylece iki kırık uç arası ossifiye olur. Oluşan kanselloz kemik artık etkisiz hale gelen hücrelerin zamanla geri emilimiyle ve kortikal kemikteki stres çizgilerinin oluşmasıyla remodelasyon evresi başlamış olur (28, 25).

2.1.6.3. Yeniden Şekillenme Evresi

Remodelizasyon evresi olarak da bilinir. Düzensiz lameller zayıf kemiğin daha düzenli olan lameller kemiğe farklılaşarak, daha güçlü hale gelmesi gerçekleşir. Bu evrede de anjiyogenezis devam eder. Osteoklastlar ve osteoblastlar bir denge halinde çalışırlar. Bu kemik yapımı ve yıkımı; NFkB Ligand Reseptör Aktivatörü (RANKL) GM-CSF osteoblastlar tarafından salgılanıp osteoklastları uyarmasıyla oluşur. TGF- β , kemik morfojenetik proteini (BMP) ve tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) da remodelizasyon işleminde görev alan sitokinlerdir (29, 30, 31).

2.1.7. Kemik İyileşmesini Etkileyen Etmenler

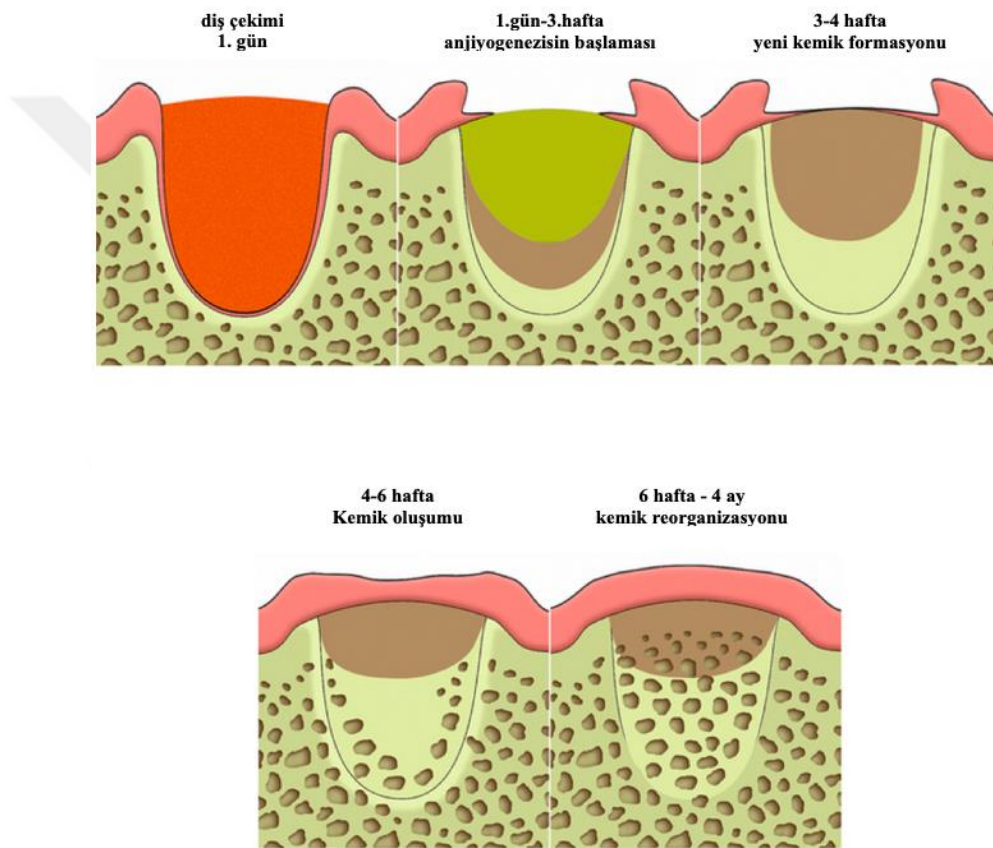
Kemik yara bölgesinin türü lokalizasyonu ve pozisyonu, immobilasyon durumu, beslenme durumu, enfeksiyon veya başka patolojik oluşumlar, yaralı kemik bölgesinde yumuşak dokularda da görülen hasarlar gibi oluşumlar iyileşmeyi etkileyen yerel etmenler olarak değerlendirilebilir (28). Öte yandan yaş, vitamin eksiklikleri, kötü beslenme, hormonal bozukluklar, sistemik hastalıklar, radyoterapi ve kemoterapi geçmişi, sigara kullanımı, kırık sonrası uygulanan tedavi süreci ve kullanılan ilaçlar kemik iyileşmesini etkileyen genel faktörler arasında sayılabilir (30, 32).

2.1.8. Çekim Soketinde Oluşan Kemik İyileşmesi

Çekim bölgesindeki iyileşme; internal olarak yani soketteki kemik yapımı ve eksternal alveol kreti çevresindeki kemik rezorbsiyonu şeklinde oluşmaktadır (33). Alveol kemiğinde intramembranöz kemik oluşumu gözlemlendiği için hareketli kemik parçalarında görülen ‘kallus’ oluşmamaktadır. Dış çekimi sırasında hareketli kemik parçaları sökestr oluşumuna neden olur (34).

Dış çekiminin ardından soket içine kan dolar ve pıhtı oluşturulur. Vaskülarizasyon, lökosit infiltrasyonu ve fibrin ağının oluşumuyla süreç devam eder. 48 ila 72. saatte pıhtı yerini yavaş yavaş granülasyon dokusuna bırakmaya başlar. 4’üncü günün ardından pıhtı yüzeyinde epitel oluşumuyla birlikte immatur bağ dokusu oluşumu gözlenir. 7 günlük bir sürede fibroblast göçü ile pıhtı ile granülasyon dokusu yer değiştirmiş ve kemik yapımı için gerekli matriks ve damar ağı oluşturulmuştur (35).

14'üncü günde soket yüzeyi, yoğun vasküler yapıda yeni bağ dokusuyla kaplanmış olur (36). Kret tepesine osteoklast infiltrasyonu ile krestal kısımlarda rezorbsiyon başlar. Yara kenarları reepitalize olarak skar oluşturmada iyileşir. Yaklaşık üçüncü ve dördüncü haftalarda sokette apikal kısımdan başlayarak osteoitler içerisinde mineralizasyon gözlemlenir. Remodeling süreci, depozisyon-rezorbsiyon işlemleriyle birbirini takip eden kemik yapımı sonucunda 4-6 aylık bir süre sonunda tamamlanır (Şekil 2-2). Çekim soketi, radyografik olarak ayırt edilemeyecek bir şekilde tamamen kapanır (37).



Şekil 2-2: Diş çekiminin ardından sokette meydana gelen değişiklikler (38).

2.2 KEMİK GREFT MATERYALLERİ

Oral ve maksillofasiyal kemiklerdeki travmalar, kist ve karsinojen lezyonlar, enfeksiyöz ve dejeneratif oluşumların akabinde meydana gelen kemik deformasyonlarının tedavisinde kemik greft materyallerine ihtiyaç duyulmaktadır (39).

Kemik greftinin ideal olabilmesi için bazı özelliklere sahip olması

gerekmektedir. Kemik greftleri; etkili ve kolay bir şekilde steril edilebilir olmalı, ucuz ve basit metodlarla uygulanabilmeli, saklama süreleri uzun olmalı, toksik ve kanserojen olmamalı, alıcı bölgeye uygun olmalı, istenilen forma uyumlandırılabilmesi, ihtiyaç duyulduğu miktarda temin edilip mekanik kuvvetlere karşı dayanıklı olmalı, istenilen desteği ve stabiliteyi sağlamalı, antijenik olmamalı, osteoindüktif, osteokondüktif ve osteojenik yapıda olmalıdır (40).

Kemik fizyolojisinde greftin kemik ile rejenerasyonu üç şekilde gerçekleşir.

Osteogenezis: Yalnızca otojen greftlere has bir özelliktir. Donör bölgeden gelen osteoblast ve alıcı bölgede bulunan osteoprogenitör hücrelerin hayatta kalması ile gerçekleşir (41). Osteoblastları ve osteoblastlara rejenere olabilecek kücreleri koruyarak ya da alıcı bölgede osteoblast hücrelerinin çoğalmasını sağlayarak osteogenezis artırılabilir (42, 43).

Osteoindüksiyon: Bu özelliğe sahip greftlerin içerisinde bulunan kemik büyüme faktörleri sayesinde alıcı bölgede bulunan osteoprogenitör hücrelerin uyarımını sağlar ve bu sayede yeni kemik rejenerasyonu sağlanır. Rekombinant insan kemik morfogenetik proteini-2 (rhBMP-2) osteoindüksiyon özelliğine sahiptir (44, 45).

Osteokondüksiyon: Kemik grefti materyallerinin bir iskelet yapı oluşturarak, bu yapı arasında vaskülarizasyon ağı oluşumu ve mezenkimal hücre göçü ile yeni kemik hücrelerinin oluşumudur. Kemik apozisyonu yolu ile kemik grefti materyalleri rezorbe olur ve yerlerini yeni kemiğe bırakırlar. Ksenojenik greftler, allogreftler ve sentetik greftler osteokondüktif özellik gösterirler (44, 45).

2.2.1. Kemik Greftlerinin Sınıflandırılması

Kemik grefti materyalleri otojen greftler, allogreftler, ksenogreftler ve alloplastlar olarak dört ana başlıkta toplanabilir.

2.2.1.1 Otojen Greftler

Hastanın kendi dokularından elde edilen otojen greftler, hem osteojeniklik, hem osteoindüktivite hem de osteokondüktif özellik gösterdiği için ‘altın standart’ olarak gösterilmektedir. İçerdikleri osteoprogenitör hücreler ve alıcı bölgedeki osteoindüktif

yanıt sayesinde erken dönem kemik iyileşmesinde otojen greftler aktif rol oynamaktadır (46).

Otojen greftlerin avantajları; bulaşıcı hastalıklar bakımından riskli olmamaları, immünolojik reaksiyon yaratmamaları ve düşük düzeyde enfeksiyon riski taşımalarıdır. Dezavantajları arasında ikinci bir cerrahi bölgeye ihtiyaç duyulmasıyla oluşan komplikasyonlar, yeterli miktarda elde edilemeyebilmesi ve rezorpsiyon miktarının diğer greft materyallerinden daha fazla olması olarak gösterilebilir (47, 39, 48).

Otojen greftler vücudumuzda intraoral ve extraoral bölgelerden elde edilir. İntraoral donör bölgeler simfiz, ramus, üst çene tüber bölgesi ve varsa toruslar olarak sıralanabilir. Ekstraoral verici bölgeler arasında iliyum, tibia, kaburga ve kraniyum yer alır (49). Ağız içi mandibular otojen greftlerin rezorpsiyonu, iliyum greftlerine göre daha azdır (50, 51). Ağız içinden alınan otojen greftler, ağız dışı kaynaklardan farklı olarak lokal anestezi ile alınabilmesinden dolayı hasta tarafından daha kolay kabul görür, morbidite oranı daha azdır. Fakat intraoral olarak daha az miktarda otojen kemik alınabilir (21). Tibiadan elde edilen greftler daha trabeküler (kansellöz) yapı sergilerken, mandibuladaki simfiz ve ramus bölgelerinden alınan greftler daha kortikaldir (52). Trabeküler yapı gösteren greftlerdeki osteoblast oranı ve greftin vaskülarizasyonu daha yüksektir, fakat daha çok rezorbe olurlar. Otojen greftler verici bölgeden alındıkları anda ogmentasyon bölgesine uygulanmaları gerekir. Aksi durumda steril salin ya da laktatlı Ringer solüsyonu gibi uygun koşullarda kısa süreliğine bekletilebilirler (53, 54).

2.2.1.2. Allogreftler

Alıcı ile farklı genetik yapıya sahip aynı tür canlıdan elde edilen grefte allogreft denir. Kemik allogreftleri kemik bankalarında bulunurlar ve kadavralardan elde edilirler (55, 56). Allogreftler osteokondüktif etki göstererek iskelet çatısı meydana getirir. Grefti çevreleyen yumuşak dokulardan oluşan farklılaşmamış mezenkimal dokuların kemik oluşturması ile greftin partiküllerinin etrafında yeni kemik dokusu meydana gelir ve zamanla allogreftler rezorbe olurlar (58).

Otogreftlere göre avantajları arasında yeni bir cerrahi bölgenin oluşturulmaması, cerrahi süresinin kısalması, kan kaybında azalma ve daha az komplikasyon riski yer almaktadır (58). Bunun yanında istenilen boy, şekil ve miktarlarda elde edilebilirler.

Dezavantajları; viral hastalık riski, antijenik reaksiyon gelişimi ve otojen greftlere göre geç remodeling, rezorpsiyon ve revaskülarizasyon oluşumu olarak sıralanabilir (59).

Allogreftlerin kullanıma hazır olması için, hastalık veya immünolojik reaksiyon oluşturmamaları için bazı ön işlemlerden geçmeleri gerekir. ‘Taze Dondurulmuş’, ‘Dondurulmuş Kurutulmuş Allogreftler’(DKA) ve ‘Demineralize Dondurulmuş Kurutulmuş Allogreftler’ (DDKA) olarak üç değişik yöntem kullanılarak partikül ya da blok yapıda, kansellöz veya kortikal formda hazırlanabilir. Radyasyon ve dondurma işlemleri greft materyallerinde yapısal gücü azaltır, osteokondüktif özelliği arttırırken osteoindüksiyonu azaltır (55).

DKA’lar antibiyotik ile iki defa yıkandıktan sonra -70°C ’ ye kadar dondurularak içerisindeki su %5 oranında kalacak şekle getirilir. DKA’ların sterilizasyon işlemleri gama ışını radyasyonu ile ya da etilen oksit ile yapılmaktadır. Dondurulmuş-kurutulmuş allogreftler sınırsız raf ömrüne sahipken, Taze-dondurulmuş allogreftler -20°C de 1 yıllık, -70°C de ise 5 yıllık raf ömrüne sahiptir (60, 61).

DDKA hazırlanırken, hidroklorik asite maruz bırakılarak mineral yapının çözülerek uzaklaşması sağlanır. Demineralizasyon işlemiyle BMP’ler açığa çıkar ve bunun sayesinde osteoindüktif özellik arttırılmış olur. Demineralizasyon işleminde mineral yapının uzaklaşması ile osteokondüksiyon ile çatı görevi görecektir kısım da azalmış olur (62, 63).

2.2.1.3. Ksenogreftler

Genetik açıdan farklı türlerden elde edilen kemik grefti materyalleridir. Kemik dokusunun deproteinize edilmesiyle antijenik özelliğinin azaltılması esası üzerine üretilirler (64).

Sığır, at ve domuz kaynaklı olanları mevcuttur. Fazla miktarda kullanımları sınırlı olduğu için büyük defektlerde otojen greftlerle, trombosit ve büyüme faktörleriyle kombine olarak kullanılırlar. Avantajları; insan kemiğine yapısal olarak benzer olması, istenilen ölçüde elde edilebilmesi, enfeksiyon oluşturma oranının az olması ve biyouyumlu olmasıdır. Dezavantajı; osteojenitesinin olmayışıdır. Osseointegrasyon aşamasında ve sonrasında büyük ölçüde rezorbe olurlar (65, 66).

Blok formunda ve çoğu zaman da partikül formunda kullanılırlar. Partikül farmunu stabilize etmek için bariyer membranlarla uygulanıp pinlenmesi tavsiye edilmektedir (67).

2.2.1.4. Alloplastlar

Alloplastik biomateriyaller içerisinde kalsiyum sülfatlar, kalsiyum fosfatlar, kalsiyum karbonatlar, polimerler, biyocamlar ve kolajenler yer alır (68).

‘Kalsiyum Hidroksiapatitler’; biyouyumlulukları yüksek olduğu için, lokal büyüme faktörleriyle ve kemikteki proteinlerle kimyasal bağ kurma eğilimindedirler. Kemik dokusundaki doğal hidroksiapatite benzer kristal yapıya sahiptirler. Toksik özellik barındırmamaları yabancı cisim reaksiyonu riskini ez aza indirir. Gözenekli yapıya sahip olmaları sayesinde greft bölgesinin ihtiyacı olan kan ve vücut sıvıları bölgeye kolayca ulaşır (69). Rezorbsiyon hızları düşük olduğu için uzun yıllar uygulandıkları bölgede kalabilirler. Pat, granül ve blok formunda kullanılırlar (70).

‘Kalsiyum Sülfatlar’; CaSO_4 formülüyle paris alçısının buharlaştırılarak su miktarının azaltılması ile elde edilirler. Düzensiz ve poröz yapıya sahip olup biyouyumlu ve dayanıklıdır (71). Yalnızca osteokondüktif olarak görev yapmakla birlikte 6-10 haftalık bir rezorbsiyon süresine sahiptirler. Soket koruma işlemi gibi dört-duvarlı-defektlerde kullanılması tavsiye edilir (72).

‘Kalsiyum fosfatlar’; uygulandıkları bölgede bütünüyle rezorbe olduklarından büyük defeklerde kullanılmaları endike değildir. Otojen greftlerle kombine olarak da kullanılabilirler. Biyolojik olarak uyumlu materyallerdir ve enflamasyon riski taşımazlar (73).

‘Trikalsiyum fosfatlar’; kemiğin %60-70’lik kısmını meydana getirirler. Hidroksiapatitlerle kıyaslandığında 10 ila 20 kat hızla osteoklastlar tarafından rezorbe edilirler. Trikalsiyum fosfat; alfa, beta ve gama olarak üç tipte bulunurlar ancak sağlık sektöründe alfa ve beta tiplerinin kullanımı mevcuttur (74).

Son yıllarda, biyomalzemelerin fizikokimyasal özellikleri, kemik defekti onarımının klinik sonuçlarını en üst düzeye çıkaracak özellikleri belirlemek için kapsamlı bir şekilde analiz edilmektedir. Bu bağlamda, iki özellik ‘tane boyutu ve

biyomateryalin bileşimi'; biyomateryalin resorpsiyon aktivitesini ve resorpsiyon hızını doğrudan etkiler (75).

Bir kemik greft materyali, differansiyonun erken aşamalarında osteoblastların farklı boyutlardaki tanecikler arasında köprüler kurmasına ve diğer osteoblastlarla bütünleşmesine izin vererek; hem proliferasyonu hem de differansiyonu destekleyen "bimodal" davranışa sahip olmalıdır. Biyomalzemelerin pürüzlü yüzeylerinde mezenkimal kök hücrelerin aktivasyonu ile yeni kemik oluşumu uyarılır (76, 77). Nihai amaç, kemik matriksinin üretimini destekleyecek tamamen farklılaşmış osteoblastların birleşmesidir. Bu, makro gözenekler, mikro gözenekler ve nano gözenekler içeren gözenekli bir yapıya sahip bir kemik grefti materyali gerektirir (78, 79). Pürüzlülük ve gözeneklilik; kemik grefti parçacıklarının rezorpsiyon sürecini başlatarak, hücre kolonizasyonu ve remodeling aşamalarının başlamasına izin verecektir.

Greft biyomateryalinin partiküllerinde makro ve mikro gözeneklerin varlığı, aralarına kan damarlarının girmesine izin verip kemik oluşumunda çatı görevi görerek osteokondüksiyonu destekleyecektir. Sentetik iskeleler, kemik kusurlarını tedavi etmek için rejeneratif ve rekonstrüktif cerrahide kullanılabilir. Kolajen ve seramik materyalden oluşan biyomalzemeler tipik olarak içerdikleri sıvı, kolajen ve hidroksiapatit oranları açısından değerlendirilirler. Domuz hidroksiapatitinin, bileşiminde kolajen bulunması nedeniyle daha düşük kristal yapıya sahiptir. Her HA bazlı kemik ikame materyalinin boyutunun, gözenekliliğinin ve kristalliliğinin değiştirilmesi, biyomateryalin implantasyon bölgesi ve yeni kemik oluşumuna entegrasyonunu etkileyecektir (80, 81). Gözenekler arasında yeni kemiğin oluşabilmesi için partikül boyutunun 100µm' den büyük olması gerekir (82, 83).

En yaygın kullanılan biyomalzemeler arasında, kalsiyum-fosfat (Ca-P) bazlı biyoseramikler de bulunmaktadır. Ca-P'ler, osteokondüktif özellikler sunan ve kemik oluşumunu uyaran kemik mineral fazına oldukça benzer bir bileşime ve yapıya sahiptir. Son yıllarda test edilen çeşitli materyaller arasında trikalsiyum fosfat, hayvan deneylerinde ve klinik çalışmalarda umut verici sonuçlar göstermektedir (84, 85).

2.3. YÖNLENDİRİLMİŞ KEMİK REJENERASYONU (YKR)

Cerrahi defekt bölgelerinde kemik grefti ile ogmentasyon uygulandığında greft

partiküllerinin arasına yumuşak dokuların nüfus etmesiyle osteogenezis sağlıklı bir şekilde sağlanamaz. Yumuşak doku infiltrasyonunun önüne geçmek için bariyer membranlar kullanılır. Bu sayede fibroblastların ogmentasyon bölgesinden uzaklaşmasıyla osteoblastlar daha kolay organize olur ve yeni kemik oluşumunu sağlarlar. Bu yöntem Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu (YKR) adı verilir. Membran kullanılarak yapılan çalışmalarda, kullanılmayanlara nazaran daha hızlı kemik oluşumu gözlemlenmiş ve daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Hayvanlarda kritik defekt boyutlarında yapılan çalışmalarda da membran ve greftin aynı anda uygulanmasının sadece membran uygulanmasına göre daha iyi sonuçlar yarattığı gözlemlenmiştir (86, 87, 88).

YKR'nin başarılı sonuçlar vermesi için pıhtının ve kemik greftinin stabilizasyonu, boşluk oluşturma ve bunun muhafaza edilmesi, yara kenarlarının primer olarak kapatılması ve anjiyogenezis oluşumu gerekmektedir (89).

2.4. BARIYER MEMBRANLAR

Yeni kemik oluşturmak için uygulanan cerrahi işlemlerde, membran seçici geçirken bir yapı sergileyerek doku sınırlarının geçişine izin verirken, hücre geçişine engel olur. İdeal bir membranın antijen ve piyojen riski taşımaması, kolay uygulanabilir olması, inert olması ve minimum doku reaksiyonu göstermesi gerekir. YKR'de kullanılan bariyer membranlar rezorbe olan ve olmayan olarak ikiye ayrılır. Rezorbe olmayan bariyer membranların ikinci bir cerrahi işlem ile çıkarılmaları gerekmektedir (90, 91).

2.4.1. Rezorbe Olmayan Membranlar

Dezavantajları arasında çıkarılmaları için ikinci bir cerrahiye ihtiyaç duyulmasının yanı sıra ekspoz olma riskleri de yer almaktadır. Ekspoz olmaları halinde enfeksiyon gelişerek kemik rejenerasyonunun miktarı azalmaktadır. Bu olumsuzluklar ışığında rezorbe olan bariyer membranların kullanımı daha yaygınlaşmıştır. En çok kullanılan Politetrafloroetilen'lerdir (PTFE). Milipor filtreler, titanyum destekli PTFE membranlar ve titanyum meshler de rezorbe olmayan membranlar arasındadır. Titanyum destekli PTFE membranlar vertikal ogmentasyonda ve büyük defektlerde kullanılırlar çünkü gelen kuvvetlere karşı dayanıklı oldukları için çökmeyi ve

altlarındaki greft materyalinin zarar görmesini engellerler, böylelikle daha fazla kemik rejenerasyonu için yer muhafaza ederler (92, 93, 94).

2.4.2. Rezorbe Olan Membranlar

Kolajen, polilaktik asit ve poliglaktin membranlar bu grupta yer alır. Hayvan kaynaklı olanlarının yanı sıra sentetik polimer olarak da üretilirler. Rezorbsiyon yaklaşık olarak 1,5 ayda başlar ve maksimum 8 ayda biter. PTFE membranlarla karşılaştırıldığında etkinliği benzer bulunmuştur. Sığır ve sığan kolajeni, vikril, poliglikolid, polilaktik asit, öküz peritonu, dondurulmuş kurutulmuş dura mater ve yapay deri gibi kaynaklardan oluşturulurlar (92, 95).

Sitrik asit ve polilaktik asit esterleri, laktat ve glikolat polimerleri, polilaktik asit, poliglikolik asit, trimetilen karbonat, domuz kolajeni, sığır tendon kolajeni ve insan derisi kolajeni doğal kaynaklardan elde edilmiş rezorbe olabilen membranlara örnektir. Kolajen membranların bağları çapraz yapıda olduğu için rezorbsiyon süresi, 4 ile 40 hafta arasında değişir. Domuz ve sığır kolajenleri tip-1 ve tip-2 kolajenden oluşurlar ve yaygın kullanım alanına sahiptirler. Avantajları; yeni bağ dokusu oluşturmaları, epitel hücrelerinin geçişini önlemeleri, immün yanıtı sebep olmamaları, hemostaz, pıhtı oluşturmaları, ekspoz olma riskinin düşük oluşu ve fibroblast kemotaksisi oluşturmaları olarak sayılabilir (93, 89, 96).

Sentetik resorbe olan membranlar arasında glikolik asit ve laktik asit yer almaktadır. Rezorbsiyon süreleri yapılarındaki ester bağlarının parçalanmasıyla 30 ile 60 arasında değişmektedir. Çözünürlerken serbest asitlerin oluşumu, enflamasyona sebep olabilmektedir. Ekspoz olma riski taşımalarına karşın kolajen membranlar ve e-PTFE membranlar gibi başarıyla kullanılmaktadırlar (92).

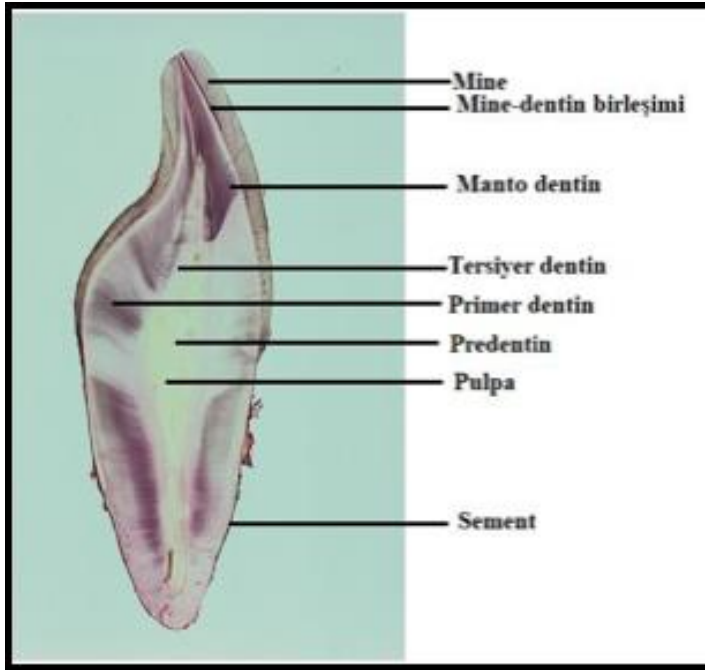
2.5 DİŞİN YAPISAL ÖZELLİKLERİ

Diş; dentin, mine ve sementten oluşan sert dokulara, dentinin içine hapsolmuş pulpa adı verilen bir yumuşak dokuya sahiptir. Mine kron kısmını, sement ise kök kısmını çevreler. Mine ile sementin birleşim çizgisine kole adı verilmektedir (Şekil2-3) (97).

Dişin inorganik yapısını inceleyecek olursak; genel olarak dişin mineral yapısı

kalsiyum fosfatın biyolojik beş fazı olan hidroksiapatit, trikalsiyum fosfat, oktakalsiyum fosfat, amorf kalsiyum fosfat ve dikalsiyum fosfattan meydana gelir. Kemik oluşumunun iyi olmasında bu bileşenlerin etkili olduğuna değinilmektedir. Yine aynı şekilde kalsiyum fosfatlardan elde edilen greftlerin kullanımında kemik rejenerasyonuna katkıda bulundukları belirtilmiştir. Kemiğin içeriğindeki apatitler, seramik-yüksek polimer nanokompozit yapıdadır (104, 130). Dentinin %70'ini hidroksiapatitler oluştururken bu apatitler düşük kristalize formda bulunan kalsiyum fosfat kristalleridir. Kemik dokusu da çoğunlukla bu formdaki apatitlerden oluşur. Öte yandan minedeki apatitler yüksek kristalize formda olduklarında osteoklastlar bunları kolayca rezorbe edemez (104, 157).

Sementin ve dentinin yapısındaki organik komponentte BMP ve tip-1 kolajen bulunur. Organik dokuların yüzde doksanını tip-1 kolajen meydana getirirken biopolimerler, yağlar ve nonkolajen proteinler geri kalan kısmını meydana getirir. Nonkolajen protein denildiğinde dentindeki matriks protein-1, siyaloproteinler, osteopontin (OPN) ve osteokalsin akla gelmektedir. Bu proteinler kemik yapımı ve kemiğin rezorbe olmasında görev alırlar (104, 185). Kemik matriksinde yer alan kemik morfojenik proteinler, mezenkimal hücrelerin kemik ve kırıkta hücrelerine diferansiyasyonu ile kemik rejenerasyonunu sağlarlar. Yapılan in-vivo deneylerde tavşan, sıçan ve sığır dişlerinde BMP saptanmıştır (218, 219, 220).



Şekil 2-3: Dişin yapısı (221).

2.5.1. Mine Dokusu

Yüksek mineral yapısı sayesinde vücuttaki en sert doku olan mine, dişin kron kısmını çevreler. Mine hacminin %2'si organik, %9'u su ve %89'u inorganik yapıya sahiptir. Organik yapıyı yüksek oranda lipit ve proteinler oluştururken, inorganik yapı hidroksiapatit kristallerinden oluşur. Minedeki yüksek enerji yüzeyi, kristal yapının fazla olmasından dolayıdır (97).

2.5.2. Dentin Dokusu

Dişin en büyük bölümünü dentin oluşturur. İçerisinde bulunan odontoblast hücreleri sayesinde canlılığını koruyan dentin; trabeküler yapıdadır. Odontoblastlar trabeküller içinde uzanır ama hücre gövdeleri pulpa tarafında bulunur (98). Dentin, kortikal kemikten daha sert olmakla beraber kimyasal yapı ve gelişimi açısından bakıldığında kemiğe benzemektedir. Elastik oluşu sayesinde küçük deformitelere dayanımı fazladır. Dentini ağırlık bazında değerlendirecek olursak; %70'ini inorganik, %20'sini organik yapı ve %10'unu su molekülleri oluşturur. Hacimsel olarak değerlendirecek olursak %50 inorganik bileşen, %30 organik bileşen ve %20 olarak da suyun oluşturduğu görünür. Organik dentinin %92'sini mukopolisakkarit içerikli kolajen yapı oluşturur. Geri kalan kısmını da proteoglikanlar, nonkolajenöz proteinler ve büyüme faktörleri oluşturur. İnorganik komponentte hidroksiapatit kristalleri

bulunmaktadır. Hidroksiapatit kristalleri dentinde minedeki boyutundan daha küçük olduğundan, dentinde hacim olarak daha büyük oranda bulundukları görünür. Karbonat, fosfat, sülfat ve magnezyum dentindeki diğer inorganik bileşenlerdendir (97, 98).

Dentin mikroskobik olarak incelendiğinde; primer dentin, sekonder dentin ve tersiyer dentin olarak 3 başlıkta sınıflanabileceği gibi; inkremental büyüme çizgileri, Tomes'un granüler tabakası, dentin tübülleri, peritübüler dentin, intertübüler dentin ve interglobüler dentin oluşumları da gözlemlenebilmektedir (99).

2.5.2.1. Primer Dentin

Ortodentin veya gelişimsel dentin olarak da isimlendirilmekte olan primer dentinin; dentinogenezde diş sürmesi öncesinde büyük bir bölümü oluşmaktadır (100, 101) İlk olarak mine-dentin sınırında 150µ kalınlığında manto dentin oluşur. Daha sonra sirkumpulpal dentin; manto dentine komşuluk ederek, primer dentindeki en büyük bölümü meydana getirir (99). Diş, karşıt arg ile temasa geçip erüpsiyonunu tamamladığı ana kadar hızla üretilen primer dentinin yapımı, apeks oluşumu ile iyice yavaşlar (102).

2.5.2.2. Sekonder Dentin

Primer dentin ile yapısal olarak aynı olan sekonder dentin; aynı odontoplastlardan köken alıp, tübüler yapı sergilerler. Sekonder dentinin daha yavaş oluşması primer dentinden ayrılan özelliğidir (100). Sekonder dentin yapımı apeksin kapanmasından sonra da ömür boyu düşük hızda ve düzensiz bir şekilde devam eder (101).

2.5.2.3. Tersiyer Dentin

Bir diğer ismiyle reperatif veya reaktif dentin; travma, çürük ya da atrizyon kaynaklı uyarılar sebebiyle, sadece etkilenen alanda üretilir. Uyarının süresi ve yoğunluğu arttıkça tersiyer dentinin yapı ve miktarı da farklılıklar gösterir. Tübüler yapı düzensiz seyrederek; tübül oluşumu görülmeyen bölgeler de bulunabilir (103). Primer dentine kıyasla daha hızlı yapılır, mineral içeriği daha azdır ve organik bileşenleri daha fazladır. Tersiyer dentindeki düzensiz tübüler yapı, dentinin düzenli tübüler yapısı ile

devamlılık arz etmediği için bariyer vazifesi görerek bakterilerin pulpaya invazyonunu engeller. Bu sebeple dişin canlılığını korumasında önemli rol oynamaktadır (100).

2.5.2.4. Dentinogenezis

Ömür boyu devam eden dentin oluşumu, diş gelişiminin çan evresinde başlar; dişler arasında veya dişin içerisindeki birikim oranlarında farklılıklar gözlenir (103). İlk olarak dentin 10-50µm kalınlığında, pulpaya komşu ve mineralize olmayan formda oluşur. Predentin adı verilen bu ilk yapı yoğun kolajen yapısıyla ve kemikte bulunan osteoid tabakasına benzerliğiyle dikkati çekmektedir. Predentin mineralize oldukça dentine dönüşmeye başlar (103, 99).

Odontoblastlar; mine iç epitelinden orjin alan dental papillada bulunan ektomezenkimal hücrelerin değişmesiyle oluşur ve dentin oluşumunu sağlayan anahtar hücrelerdir. Mine iç epitelinden salınan büyüme faktörleri ve sinyal molekülleri sayesinde odontoblastlar farklılaşır. Bu farklılaşma tersiyer dentin kadar fizyolojik dentin oluşumu için de önem arz etmektedir.

Odontoblast hücreleri; kron pulpası bölgesinde uzun silindirik ve unipolar şekilde olup, kök pulpası bölgesinde kübik görünümde ve apikal foramene doğru inceleterek yassı bir forma bürünür. Dentin tübülleri içerisinde bulunan protoplazmik uzantılar sayesinde dentin ile odontoblastlar arasında madde ve iyon alışverişi sağlanır. Odontoblastlar arasında bulunan tight junction, desmozom ve gap junction bağlantıları sayesinde elektriksel uyarılar, hücreden hücreye kolaylıkla iletilir. Odontoblastlar değişime uğrar ve önce ‘Von Korff lifleri’ adı verilen tip-III kolajen fibriller oluşur. Odontoblastlar geliştikçe ürettikleri kolajen tip-I’e dönüşür. Odontoblastlar pulpaya doğru hareket

ederken, dentin üreterek Tomes lifleri adı verilen odontoblastik uzantıları oluştururlar (103).

Kalsiyum adenzin trifosfataz ve alkalın fosfataz enzimleri sayesinde; matriks vezikülü adı verilen yapılara mineral birikimiyle mineralizasyon oluşur. Kök dentini yine kron dentiniyle benzer şekilde oluşur fakat orjini, kron dentininden farklı olarak ‘Hertwig epitel kıvrımı’dır. Mineralizasyonun hızı ve içerdiği mineraller kron dentinine

göre değişiklikler gösterebilir (103).

2.5.3. Sement Dokusu

Sement dokusunun %50-55'i organik, %45-50'si inorganik komponentten, geriye kalanı da su moleküllerinden oluşur. İnorganik kısmını en çok hidroksiapatit kristallerinin yapısında bulunan fosfat ve kalsiyum oluşturmaktadır. Aynı zamanda sementteki flor içeriği çok yüksektir. Protein polisakkaritler ve tip-1 kolajen, organik yapıyı oluşturan başlıca bileşenlerdir (104, 97).

2.5. Kemik Grefti Olarak Diş Dokusu

Aslında tedariki sınırlı olsa da insan dişleri; çekim gerçekleştirildikten sonra çekim kaynaklı alveol kretinde oluşabilecek kemik hasarlarını gidermek için kullanılabilen doğal bir greft materyalidir. Kendimizi tedavi etmek için kendi biyolojimizi kullanmak etik kaygılara tabi değildir. Teknik olarak bakıldığında, otolog bir materyal herhangi bir tedavi olmaksızın donörüne iade edilebilir. Bununla birlikte, izlediğimiz protokolde, herhangi bir bakteri/virüs ve mevcut olabilecek diğer birçok biyolojik tehlikenin giderilmesinde çok etkili olan güçlü dezenfektan ajanların kullanıldığı birden fazla adım uygulanabilir (75).

İçeriğindeki büyüme faktörleri ve yapısal içeriklerden dolayı otojen kemik, kemik ogmentasyonunda altın standart olarak kabul edilse de (105); ikinci bir cerrahi işlem gerektirmeleri, sağlıklı donör sahadaki morbidite riski ve alınacak greft miktarındaki limitasyonlar (106), bilim dünyasını otojen kemik greftlerine alternatif bir greft arayışına itmektedir. Enfeksiyon taşıma ve dokusal uyumsuzluk riski ile osteoindüksiyon özelliğinin olmaması allogreftlerin, otojen kemik greftine alternatif olma şansını azaltmaktadır (107). Biyokimyasal mühendislik; greft materyallerindeki osteoindüksiyon özelliğinin önemine vurgu yapmakta ve araştırmalarına dahil etmektedir. Yapısal geometri, biyokimyasal özellikler ve mekanik dayanıklılık gibi kritik faktörler greft materyalinin etkinliğini ve uyumunu belirlemektedir (108).

Kıkırdak, sinir, maksillofasiyal kemikler ve dişler aynı orjinden köken alırlar bu yüzden, kemik ve dişlerin özellikle de dentinin kimyasal faktörleri birbirine çok benzerdir. Dentin ile kemiğin %65'i organik, %35'i ise inorganik komponentten

meydana gelir (104). Demineralize dentin matriks (DDM) ile demineralize kemik matriksin (DBM) herikisinde de %95 oranında tip-1 kolajen bulunmaktadır (109).

Dentinde tanımlanan büyüme faktörleri; insulin like growth factor-1 (IGF-1), insulin like growth factor-2 (IGF-2) ve TGF- β 'dır (110). Bunun yanında dentin ve kemikte 'Small Integrin-Binding Ligant, N-linked Glycoprotein' (SIBLING) ailesinden olan non-kolajen proteinler bulunmaktadır. Bunlar; dentin sialoproteini (DSP), dentinmatriks proteini (DMP), kemik sialoproteini (BSP) ve osteopontin (OPN)'dir (Tablo 2-1) (109).

Dentin ve sement yapısı, mineral ve protein bileşimlerinde membranöz kemiğe benzer; yeni kemik matrisi doğrudan membranöz yüzeylerde biriktiğinde bu, ankilozlu dentin-kemik birleşimi ile sonuçlanır (104, 111). Avülse olan dişler sokete geri yerleştirildiğinde veya çekilen dişler partikül formuna getirilip soket koruma işlemi yapıldığında yine bu ankiloze alanların oluştuğu gözlenir (112, 113). Dentin 3 ay içinde kemikle ankiloz oluşturmaktadır (114).

Birkaç vaka serisi ve birkaç hayvan çalışması, diş çekiminin hemen ardından yerleştirilen otojen partikülize mineralize dentin ile ekstraksiyon soketlerinin güçlendirildiği bir teknikten umut verici sonuçlar bildirmiştir (115).

		KEMİK	DENTİN
MAJOR MATRİKS PROTEİNİ	TİP	Kollajen (Tip 1),(Tip 3, az miktarda Tip5,11,14)	Kollajen (Tip 1), (Tip3,az miktarda tip5,6)
	YAPI	- Gelişigüzel sıralanmış fibriller (örgü kemik) -Tabakalar halinde dizilmiş fibriller (lameller kemik)	Gelişigüzel sıralanmış fibriller
DİĞER MATRİKS PROTEİNLERİ		Non-kollajen	Non-kollajen
TİPLERİ		-Osteokalsin -Osteopontin -Osteonektin -Kemik sialoproteini -Ekstraselüler matriks fosfoglikoproteini -Dentin sialofosfoproteini - Dentin matriks proteini (1) - Kemik asidik glikoproteini-75	-Osteokalsin -Osteopontin -Osteonektin -Kemik sialoproteini -Ekstraselüler matriks fosfoglikoproteini -Dentin sialofosfoproteini -Dentin matriks proteini (1)
MATRİKS METALOPROTEİNAZ TİPİ		Kollejenaz	Kollejenaz
PROTEOGLİKAN TİPİ		Küçük Lösinden Zengin Proteoglikanlar (SLRP)	Küçük Lösinden Zengin Proteoglikanlar (SLRP)
İNORGANİK BİLEŞEN	Tip	%50-60 Hidroksiapatit	%67 Hidroksiapatit
	Yapı	Düzenli küçük tabakalar	Düzenli küçük tabakalar
	Yer	Tip1 kollajen fibrillerinin arası	Tip1 kollajen fibrillerinin arası
	Orjin	Matriks vezikülleri	Matriks vezikülleri

Tablo 2-1: Kemik ve dentin arasındaki ortak faktörler (116)

2.3.1 Diş Greftinin Kullanım Şekilleri

Bazı insanlar allogrefti, ksenogrefti veya diğer yapay kemik greftlerini kökenlerinden dolayı vücutlarında barındırmak istememektedir. Klinik nedenlerle çekilmesi gereken dişlerin çöpe atılmasındansa diş grefti haline getirilerek alveol kreti ogmentasyonlarında kullanılabilmeleri giderek daha çok yaygınlaşan bir yöntem haline gelmektedir. Diş kaynaklı dentin greftler; demineralizasyon miktarlarına göre; 'demineralize dentin matriks' (DDM), 'parsiyel demineralize dentin matriks' (PDDM-%70 dekalsifiye) ve 'mineralize dentin matriks' (MDM) olarak gruplandırılırken, boyutlarına göre blok ve partikül formlarında kullanılabilmektedirler. Greft partiküllerinin morfolojisi ve boyutu, göz önünde bulundurulması gereken önemli bir unsurdur. Çünkü vaskülarizasyona ve yeni kemik oluşumunu indüklemek için gerekli koşullar olan hücre göçü ve bağlanmasına yardım eder (117).

2.3.1.1. Demineralize Dentin Matriks

Yapılan bazı çalışmalarda; DDM'nin MDM'den daha efektif olduğu savunulmuştur. DDM'nin kas içine konulmasının ardından 4 hafta içerisinde kemik oluşumunun gözlemlendiği fakat MDM'nin 8-12 haftalık süre sonunda bile çok az kemik oluşumuna sebebiyet verdiği öne sürülmüştür. Birçok hayvan deneyinde DDM kemiği 4 haftada indüklerken, MDM'nin kemiği 8 ila 12 haftalarda indüklediği görülmüştür (118, 119). Kalsifiye dentinin gecikmiş indüktif özelliği, apatit kristalleri tarafından BMP salınımının inhibisyonu ile ilişkilendirilmiştir. Bu sebeple çeşitli asit çözeltileriyle dekalsifikasyon işlemi uygulamanın daha iyi sonuçlar verebileceği iddia edilmiştir. Mine kristallerinin yüksek kristalli kalsiyum fosfata sahip olmaları ve düşük osteokondüktif özellikleri sebebiyle mine tabakasının uzaklaştırılması işlemi sıklıkla uygulanmaktadır (120). Reis Filho ve arkadaşları DDM'in VEGF'nin (Vascular Endoteryal Growth Factor) salınımını arttırarak, iyileşme sürecinde önemli bir faktör olan anjiogenezisi desteklediğini bildirmişlerdir. Bunun yanında osteoblastlardan salgılanan VEGF'nin osteoblastlar ve endotelyal hücreler arasındaki iletişimi sağlayarak kemik yapımına yardımcı olduğu düşünülmektedir (121). Oliveira ve arkadaşlarının sıçan alveolar defeklerinde yaptıkları araştırmada demineralize dentin ve kontrol grubuyla yaptıkları deneysel araştırmada, 10 gün içinde BMP-2, BMP-4 ve osteoblast değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiş ve aynı zamanda dentinin

bozulmadığı gözlenmiştir. Bu nedenle dentinin; osteokondüktif ve osteoindüktif özellikte olan ve aynı zamanda rezorbe olabilen biyolojik bir materyal olduğu düşünülmektedir. Dentin kademeli olarak rezorbe olurken BMP'ler kontrollü bir şekilde salınır ve kemik oluşumu uyarılır. Dentinin kemotaktik özelliği, dentinin biyoyumluluğunu doğrulamaktadır (122). Kim ve arkadaşları DDM'nin yoğunluk, pürüzlülük ve homojenite açısından kortikal kemikle olan benzerliğini elektron mikroskobu analizinde gözlemlemişlerdir (123). Aynı durum Bakhshalian ve arkadaşları tarafından tavşanlara uygulanan allojenik DDM'nin, boş defekte kıyasla gözlemlenen yoğun trabeküler (tip2) sertliğindeki üstün kemik kalitesi bulgularında da görülmüştür (124).

Dekalsifikasyon işleminde hidroklorik asit (HCl), ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA) ve laktik asit kullanılabilmektedir (125). Dekalsifikasyonda kullanılan asitlerin greftin yapısına yapacağı olumsuz etkiler üzerine daha çok araştırma yapılması gerekmektedir. Öte yandan dekalsifikasyon için ek bir süre gerektiğinden, immediyat olarak diş çekimiyle eş zamanlı yapılacak ogmentasyon işlemi süresi oldukça uzamaktadır, bazen de aynı gün yapılamayıp başka bir cerrahi seans ihtiyacı doğmaktadır.

Dekalsifiye partikül otojen dentin ile greftlenen bölge; 2-4 ay arasında yeni implant yerleştirmek için hazır hale geldiği kaydedilmiştir (119, 126). MDM'de remodeling aşamasının daha uzun sürdüğü öne sürülmüştür (127, 114).

Ankiloze olan dişlerde oluşan doğal remodelingte ve yeni kemik oluşumunda dentin dekalsifiye edilmeksizin doğal halinde sokette kalmaktadır ama buna rağmen yeni kemik oluşumu gerçekleşmektedir.

AutoBt

Kore'deki bir Diş Bankası, otojenik demineralize dentin matriks greftini blok tipi veya granüler tip olarak hazırlayan, greftleme prosedürünü birkaç saatten birkaç güne kadar erteleyen ve bu nedenle ek bir cerrahi seansa ihtiyaç duyulan bir hizmet sunmaktadır. AutoBt olarak isimlendirilen dentin greftleri; diş çekiminin ardından %75 alkolde bekletilerek buzdolabında saklanır ve Kore Seoul'de bulunan Kore Diş Banka'sına (Korea Tooth Bank) gönderilirler. Burada dişler 300-800µm boyutlarındaki

partiküllere dönüştürülürler. Partikülize olmuş dişler yıkanır, yağları uzaklaştırılır dekalsifiye edilip liyofilize edilirler. Etilen oksit ile sterilize edildikten sonra diş bankasında oda sıcaklığında saklanırlar (128, 129, 130). AutoBT hem mineral, hem de organik elementler içerir. Mineral bileşen hidroksiapatit, trikalsiyum fosfat, okta-kalsiyum fosfat ve amorf kalsiyum fosfattan oluşmaktadır. AutoBT granüllerinin yoğunluğu, pürüzlülüğü ve homojenliğinin alveolar kortikal kemiğe benzer olduğu bulunmuştur (131). Klinik çalışmalarda gösterildiği gibi AutoBT'nin enfeksiyon riski çok düşüktür (132).

2.3.1.2. Parsiyel Demineralize Dentin Matriks

Demineralizasyon işlemlerindeki süre kaybı ve zorlukları kolaylaştırmak; aynı zamanda da osteoindüksiyonu arttırmak için parsiyel demineralize dentin grefti üretilmiştir (133). %2'lik Nitrik Asit (HNO_3) dekalsifikasyon yapılabildiği gibi (134); Kometabio Parsiyel Demineralize Dentin Graft setinde bulunan EDTA solüsyonunun 2 dk uygulanması ile de dentin dekalsifikasyonu yapılabilir (Şekil 2-4). Bu işlemlerin ardından $20\mu\text{m}$ 'lik demineralize dentin yüzeyi; ostojenik aktiviteyi indüklemek için ekspoze olmuş olur (75).

Procedure for preparing **accelerated** Dentin Graft
(Partial Demineralized Dentin Graft)

	STEP 1	STEP 2	STEP 3
Liquid	 DENTIN Cleanser (RED Cap)	 EDTA (BLUE Cap)	 PBS Wash (GREEN Cap)
Procedure	Cover graft for 10 minutes with solution and dehydrate with a sterile gauze	Cover graft for 2 minutes with solution and dehydrate with a sterile gauze	Cover graft for 3 minutes with solution and dehydrate with a sterile gauze
Duration	10 minutes	2 minutes	3 minutes

Notes: The above procedure will result in 20um of demineralized dentin surface exposure to induce osteogenic activity of dentin.

Şekil 2-4: KometaBio parsiyel demineralizasyon solüsyon kiti (134)

DDM'nin tamamen rezorbe olması 6 aydan daha uzun zaman almaktadır (135). Parsiyel demineralize dentin matrikste, dentin minarallerinin %70'i bulunduğu için bu 6 aylık sürenin uzadığı görülmektedir bu da kemik rejenerasyonuna daha uzun süre verir (136). Özellikle dentinin kısmi demineralizasyonu sayesinde, hücrelerin substrata kolayca bağlanmasını sağlayan kolajen liflerin açığa çıktığı ve otojen PDDM' den salınan büyüme faktörlerinin aynı anda osteoblastik farklılaşmayı uyardığı; ayrıca, PDDM' deki artık minerallerin osteoklastik aktiviteyi artırdığı ve böylece kemiğin yeniden şekillenmesini teşvik ettiği iddia edilmektedir (75).

2.3.1.3. Mineralize Dentin Matriks

Çene kemiğine reimplante edilen dişlerin 5-8 yıl içinde replazman rezorpsiyonuna uğradığı ve akabinde ankiloze olduğu bilinmektedir (137, 138). Yirmi yaş dişi cerrahisinde infraalveolar sinire yakın olan dişlerde oluşabilecek sinir deformasyonunu önlemek için kökün bir kısmının kemik içerisinde bırakılmasının komplikasyon riski oluşturmadığı ve kökün zamanla kemikleştiği kaydedilmiştir.

Ankilozlu bir kök koranasyon ile tedavi edilen ankilozlu dişlerde alveol kemiğin bukkal-palatinal yönde korunduğu ve hatta vertikal boyut artışının görüldüğü vurgulanmıştır (139, 140). Yapılan çalışmalar; mineralize dentin ile doğrudan dentin greftine bağlanan ve mineralize kemik matriksi üreten osteojenik hücreler arasındaki benzer etkileşimi ortaya koymaktadır.

Geçtiğimiz yıllarda Bormann ve arkadaşları ‘soket kalkanı tekniği’ni diş çekiminin akabinde meydana gelen vertikal ve horizontal kemik rezorbsiyonunu azaltmak için kullanmışlardır (141). Soket kalkanı tekniğinde özel aletlerle diş kökünün bukkal kısmı sokette bırakılarak implant yuvası açılmış ve implant yerleştirilmiştir. Çalışma sonucuna göre implantların başarılı bir şekilde osseointegre oldukları gözlenmekte ve mineralize dentinin başarısı ve biyouyumluluğu desteklenmektedir (142, 143, 144).

Demineralizasyon işlemi etkili osteogenez için dentindeki büyüme ve farklılaşma faktörlerinin açığa çıkmasını sağlarken, yeni oluşan kemik ve implant ankraji için yeterli desteği sağlamakta güçsüz kalabilmektedir. Buna karşılık, Kometabio Smart Dentin Grinder prosedürü, çekilen dişleri aynı seansta 15-20 dakika içerisinde otojen greft haline getirerek kullanıma hazır hale getirir. Mineralize dentini steril etmek için sıvı nitrojen, sinterleme ve dentin cleanser uygulaması yapılabilecek teknikler arasındadır (125).

Mineralize dentin partikülleri, mekanik stabiliteyi koruma avantajına sahipken aynı zamanda soket koruma ve ogmentasyon sonrası erken yüklemeye izin verir (119, 126). Mineralize dentin yeni oluşan kemikle sıkı bir şekilde bütünleşir ve dental implantların ankraji için sağlam bir kemik oluşturur. İmplant yerleştirme ve yüklemesinin; defekt bölgesine mineralize dentin partikül uygulandıktan 2-3 ay sonra alt ve üst çeneye yapılabileceğini göstermektedir. Mineralize dentin, kortikal kemiğe veya çoğu biyomateryale kıyasla çok yavaş bir şekilde remodelinge uğradığından alveolar kret ve mukoperiostal estetik yıllarca korunur (119, 127, 114).

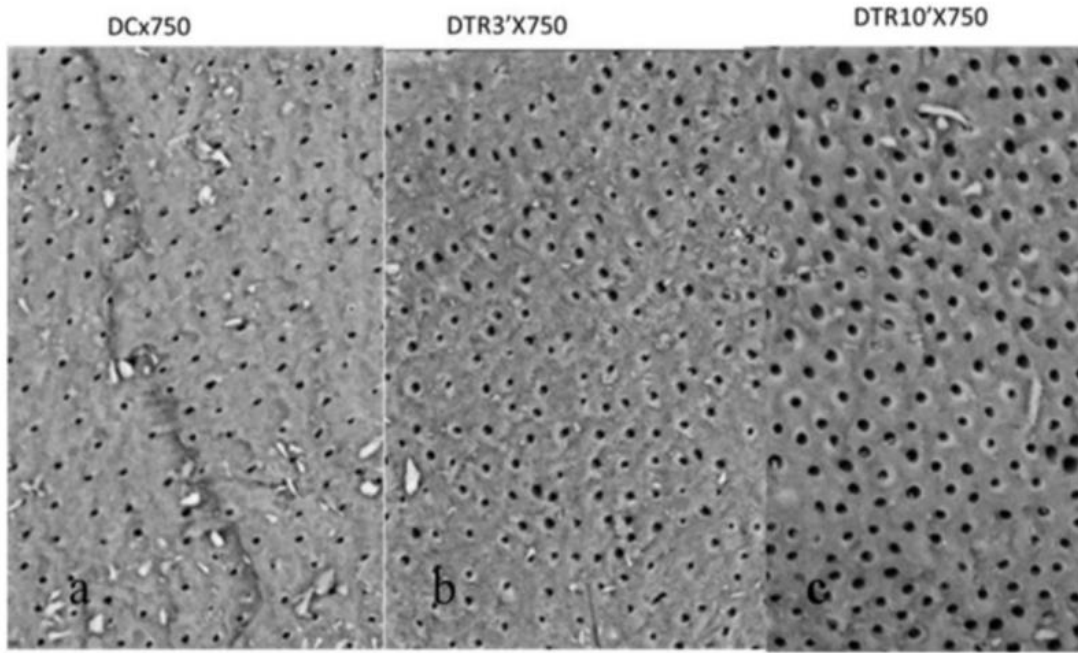
Dişler ve çene kemiği benzer kimyasal yapı ve bileşime sahip olduğundan (128, 129, 130); işlevini kaybetmiş veya periodontal hasarlı dişlerin klinik atık haline gelmeden klinik şartlarında 15 dakika gibi kısa bir sürede kemik ogmentasyonu için hazır hale getirilmesi büyük bir avantaj olarak görülmektedir. Diş çekimi ile aynı

seansta ogmentasyon yapılmayacaksa hazırlanan greftler 140°C ye kadar ısıtılıp kurutularak buzdolabında kullanıma hazır halde saklanabilmektedir (112).

Çekilen dişleri immediyat olarak hızlı bir şekilde hazırlayıp, partikülize formda kullanabilmek için Smart Dentin Grinder (Kometabio, Cresskill, NJ, USA) cihazı geliştirilmiştir. Dişlerin mine, sement, çürük doku ve periodontal ligamanları uzaklaştırılıp kurutularak, özel bir aparata yerleştirilir ve dentin partikülleri 300-1200 µm boyutuna gelene kadar öğütülür. Daha küçük partikül boyutunda olanlar daha alt hazneye toplanır ve ihtiyaç durumunda kullanılabilirler. Elde edilen dentin partikülleri steril bir godede 10 dk süreyle ‘dentin temizleyici solüsyonu’ nda (basic alcohol cleanser) bekletilir ve ardından gazlı bez ile solüsyon uzaklaştırılır. Dentin temizleyici solüsyon sodyum hidroksit ve ethanol karışımından oluşan çok güçlü bir alkalidir. Bakteri, virüs ve mantarları etkisiz hale getirirken; gereksiz organik dokuları da uzaklaştırmış olur (şekil 2-5, şekil 2-6). ‘Dentin temizleyici solüsyon’ steril gazlı bez ile uzaklaştırıldıktan sonra; steril salin (PBS - Phosphate Buffered Saline) ile 3 dakika yıkanır ve dentin partikülleri diş çekiminden toplam 15 dk sonra kullanıma hazır hale gelir.



Şekil 2-5: Kometabio Smart Dentin Grinder’da MDM hazırlamak için kullanılan standart solüsyon prosedürü; Dentin Cleanser, PBS.



Şekil 2-6: Dentin temizleyici uygulamasının ardından partikül dentinde oluşan değişiklikler SEM (X750) a) 0. dakika b) 3. dakika c) 10.dakika. Bakteriyal testte 10. dakikada hiç bakteri tespit edilmemiştir (112).

Büyük çaplı defektlerde dentinin blok halinde kullanılması, yüksek stabilite ve kullanım kolaylığı açısından tavsiye (145). Birçok çalışmada blok halinde kullanılan tavşan kaynaklı veya insan kaynaklı dentin blok grefti; tavşan kafatasına yerleştirilmiş ve 3 ay içerisinde enfeksiyon görülmeksizin kemik-dentin ankilozunun olduğu ve kemikleşmenin başladığı gözlemlenmiştir (146, 147). Blok dentin kullanılırken, greft üzerinde porlar oluşturulmasının vaskülarizasyonu ve osseointegrasyonu arttırdığı savunulmaktadır (141).

Öte yandan 2012’de Schwarz ve arkadaşlarının yayınladığı araştırmada, pulpanın ekspoze olmasının dentointegrasyonu (dentin-implant integrasyonu) artırdığı kaydedilmiştir. Açık pulpadan reperatif sert dokunun olduğu ve dentinin eksternal sınırında oluşan bu reperatif dentinin implant çevresinde sıkı bağlantı oluşturduğu gözlenmiştir. Osteokalsin antijenitesinin aktive olmasıyla ‘kontakt zone’ oluşmaktadır (148).

Blok dentin greftlerinde, blok otojen greftlere nazaran daha düşük greft

rezorbsiyonu görülmektedir. Bunun sebebinin greftin en dış yüzeyinde bırakılan sementum tabakasından olabileceği düşünülmekle beraber bu olayın da kollojen liflere bağlanmayı sağlayıp yüzeysel bir kök rezorbsiyonunu engellediği öne sürülmüştür (149) Son yapılan histolojik araştırmalar dentin blok greftinin dış konturunun korunmayıp, dentin matriksinde oluşan ‘replasman resorpsiyonu’yla ankiloz oluşturduğu saptanmıştır (150, 151, 152).

Blok dentin greftleri uygulanırken en sık oluşabilecek riskler arasında yumuşak doku komplikasyonları gelmektedir. Oldukça biyouyumlu ve güvenli bir grfet materyali olarak kemik ogmentasyonunda kullanılabileceği gösterilmektedir (153). Blok dentinin demineralize edilerek uygulandığı çalışmalar da mevcuttur. Fakat geleneksel demineralizasyon işleminin tamamlanması için yaklaşık on saate ihtiyaç duyulduğu için ek cerrahi seans gerektirmesi bir dezavantajdır (154).

Yaptığımız bu çalışmada; otojen dişlerden elde edilmiş partikül dentin greftinin, sığır kaynaklı ksenogreft ve otojen kemik greftiyle karşılaştırarak kemik rejenerasyonundaki etkinliğini in vivo şartlarda araştırdık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.GEREÇ

3.1.1. Genel Bilgi

Bu deneysel çalışmada hayvanlara uygulanan ameliyatlar ve sakrifikasyon işlemleri; İstanbul Mehmet Akif Ersoy Deneysel Araştırma Geliştirme ve Eğitim Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kemik doku örneklerinin histolojik ve histomorfometrik incelemeleri İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Entitüsü'nde yapılmıştır.

Hayvan deneyleri; İstanbul Mehmet Akif Ersoy Deneysel Araştırma Geliştirme ve Eğitim Merkezi Yerel Etik Kurulu'ndan 16.11.2018 tarihli 2018/21 sayılı karar ile alınan onay çerçevesinde gerçekleştirilmiştir.

Araştırma; İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Yürütücü Sekreterliği tarafından finanse edilmiştir. (Proje No: 33971, Başlangıç Tarihi:28/06/2019)

3.1.2 Deney Hayvanları ve Gruplar

Çalışmaya 2-3 yaşlarında, erkek, kıvırcık ırkı, ortalama 40-50kg ağırlığında, 6 adet koyun dahil edilmiştir. Koyunların genel sağlık kontrolleri İstanbul Mehmet Akif Ersoy Deneysel Araştırma Geliştirme ve Eğitim Merkezi'nde görev alan yetkili veterinerler tarafından yapılmıştır. Denek hayvanlarının ameliyat öncesi ve sonrası bakımları yine aynı kurumdaki hayvan bakım ünitelerinde gerçekleştirilmiştir.

Deneklerle iki grup halinde çalışıldı;

Grup 1'de yer alan 3 adet koyunun sakrifiye işlemi operasyondan 3 hafta sonra yapıldı.

Grup 2'de yer alan 3 adet koyunun sakrifiye işlemi operasyondan 6 hafta sonra yapıldı

3.1.3. Alt Gruplar ve Kullanılan Biyomateryaller

Çalışmada kullanılan her hayvanın sağ ve sol tibia kemiklerine altışar adet defekt uygulanmıştır. Bu defektlere; otojen mineralize dentin grefti (D), ksenogreft (X) (Bio-Oss®, Geistlich Pharma, Wolhusen, Switzerland), otojen kemik grefti (O) (defekt

bölgelerinden elde edilen kemikler ile), %50 D + %50 X ve %50 O + %5 X karışımı kullanılmıştır. Kontrol grubu (K) olarak bir defekt boş bırakılmıştır.

Biyomateryallerin randomizasyonu; Research Randomizer© (Urbaniak GC, & Plous S. 2013. Research Randomizer (Version 4.0) [Computer software]. <http://www.randomizer.org/>) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Buna göre alt gruplar şu şekilde oluşturulmuştur:

Grup 1a, Grup 1b ve Grup 1c; 1. grupta kullanılan 3 adet koyunun sol ve sağ tibia kemiklerinde kullanılan biyomateryallerin randomizasyon tabloları aşağıdaki gibidir.

Grup 1a	Sağ Tibia	Sol Tibia
	D	O+X
	O	D
	X	X
	O+X	K
	K	O
	D+X	D+X

Tablo 3-1: Grup 1a’da kullanılan biyomateryaller

Grup 1b	Sağ Tibia	Sol Tibia
	K	X
	X	K
	D+X	O+X
	O+X	D
	D	D+X
	O	O

Tablo 3-2: Grup 1b’de kullanılan biyomateryaller

Grup 1c	Sağ Tibia	Sol Tibia
	D+X	D
	X	X
	O	K
	K	O
	D	D+X
	O+X	O+X

Tablo 3-3: Grup 1c’de kullanılan biyomateryaller

Grup 2a, Grup 2b ve Grup 2c; 2. Grupta kullanılan 3 adet koyunun sol ve sağ tibia kemiklerinde kullanılan biyomateryallerin randomizasyon tabloları aşağıdaki gibidir.

Grup 2a	Sağ Tibia	Sol Tibia
	O	D+X
	K	D
	O+X	X
	D	O+X
	X	K
	D+X	X

Tablo 3-4: Grup 2a’da kullanılan biyomateryaller

Grup 2b	Sağ Tibia	Sol Tibia
	D+X	K
	O	D
	K	D+X
	D	X
	O+X	O+X
	X	O

Tablo 3-5: Grup 2b’de kullanılan biyomateryaller

Grup 2c	Sağ Tibia	Sol Tibia
	O	D+X
	D+X	D
	X	O
	D	K
	K	O+X
	O+X	X

Tablo 3-6: Grup 2c’de kullanılan biyomateriyaller

3.2 YÖNTEM

3.2.1 Cerrahi İşlem

Denek hayvanları ameliyathaneye alındıktan sonra 0,05mg/kg dozda atropin sülfat (Vetaş Atropin, s.c, Deva, İstanbul, Türkiye), 0,1-0,2mg/kg dozda xylazin (Bayer, Rompun, Leverkusen, Almanya), 10-15mg/kg dozda ketamin HCL (Ketalar, i.m, Pfizer, New York, Amerika Birleşik Devletleri) kombinasyonu ile premedikasyon yapılmıştır. Daha sonrasında hayvan masaya alınarak tibiaların medial bölgeleri traşlanmıştır. Operasyon bölgesine %7,5 povidin iyot (Poviiodeks Scrub, Kim-Pa, İstanbul, Türkiye) uygulanıp temizlenmesini müteakiben, %10’luk povidin iyot (Poviiodeks Batikon, Kim-Pa, İstanbul, Türkiye) ile dezenfekte edilmiştir.

Damar yolu açıldıktan sonra inraoral lokal anestezi (Ultracain DS Fort, Sanofi Aventis, Deutschland GmbH, Almanya) yapıp koyunun sağ ve sol alt 3. insiziv dişleri çekilmiştir (Şekil 3-1, Şekil 3-2).



Şekil 3-1: 3. İnsiziv dişlerin çekimi



Şekil 3-2: Koyundan çekilen dişler

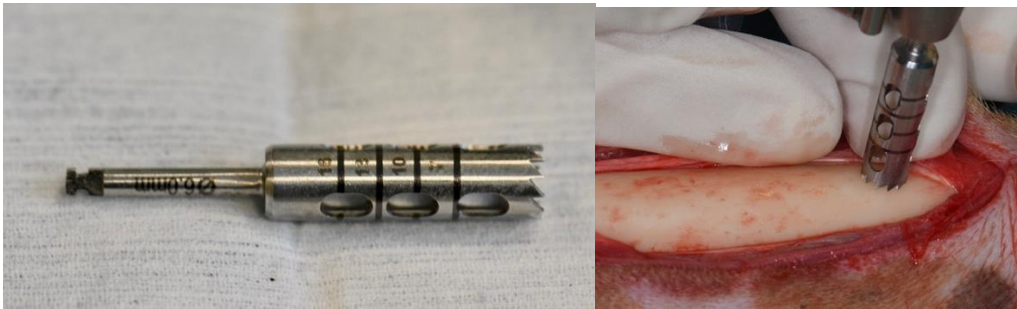
Daha sonrasında entübe edilen hayvana %3-5 izofloran (Aerrane Isofluran Volatil, 100ml, Eczacıbaşı-Baxter, İstanbul, Türkiye) uygulanarak induksiyon sağlanmıştır. 5ml/kg/saat hızla Laktatlı Ringer I.V. (Polifarma, Tekirdağ, Türkiye) verilmeye başlandıktan sonra cerrahi işlemlere başlanmıştır.

Operasyon sahası steril örtüyle izole edildikten sonra tibianının 5 cm prosimalinden tarsal eklemin 5 cm proksimaline cilt ve cilt altı olmak üzere longitudinal bir insizyon yapılmıştır (şekil 3-3).



Şekil 3-3: İnsizyon bölgesi

Tam kalınlıklı flep periost elevatörü ile kaldırılıp, 750-800 devir/dakika'da serum fizyolojik (İzotonik NaCl, Eczacıbaşı-Baxter, İstanbul, Türkiye) irrigasyonu yapan fizyodispenser (W&H İmplantmed, Bürmoos, Avusturya) kullanılarak, iç çapı 5mm dış çapı 6 mm olan trefin frez (Kohler Medizintechnik, Stockach, Almanya) ile defektler oluşturulmuştur. Defektler arası mesafe 1cm olacak şekilde 6 tane defekt oluşturulmuştur. (Şekil 3-4, Şekil 3-5)



Şekil 3-4: İç çapı 5mm dış çapı 6mm olan trefin frez (Kohler Medizintechnik, Stockach, Almanya)



Şekil 3-5: 6 adet defektin oluşturulması

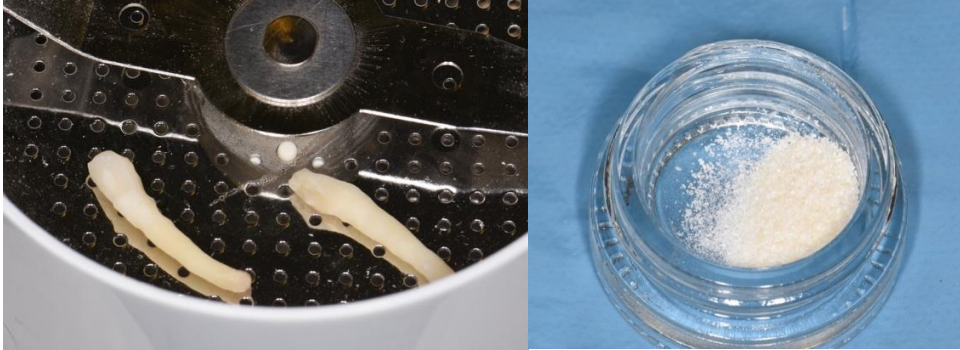
Çekilen dişlerin mine ve sement tabakaları piyasemen yardımıyla uzaklaştırıldı (Şekil 3-6). Kometabio Smart Dentin Grinder (Kometabio, New Jersey, Amerika Birleşik Devletleri) cihazına yerleştirilen dişler 300µm ile 1200µm arasındaki partikül boyutlarına dönüştürüldü (Şekil 3-7, Şekil 3-8). Dentin partikülleri; dentin temizleyici solüyonunda (%20 etanol+%80 sodyum hipoklorit) 10 dakika süreyle bekletilmiştir. Ardından streil bir gazlı bez yardımıyla solüsyon uzaklaştırılmıştır. Bakterilerden arındırılan dentin partiküllerinden , temizlik ajanını uzaklaştırılması ve pH'ın normale dönmesi için dentin partikülleri PBS solüsyonunda 3 dakika bekletilmiştir (Şekil 3-9). 3 dakikanın sonunda fazla olan solüsyon gazlı bez yardımıyla alınarak dentin grefti kullanıma hazır hale getirilmiştir.



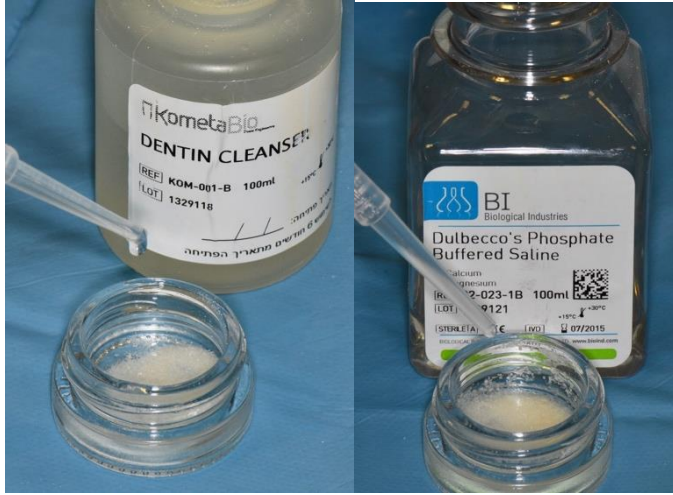
Şekil 3-6: Çekilen dişlerin mine ve sement tabakalarının uzaklaştırılması



Şekil 3-7: Kometabio Dentin Grinder Cihazı (Kometabio, New Jersey, Amerika Birleşik Devletleri)



Şekil 3-8: 300-1200µm partikül boyutuna getirilen dentin greftler



Şekil 3-9: Pratikül dentin greftine önce ‘dentin cleanser’ın, sonrasında PBS solüsyonunun uygulanması

Defekt bölgelerinden elde edilen kemikler, manuel kemik öğütücüsü (Procut, Düsseldorf, Almanya) kullanılarak partikül otojen greft haline getirilip defektlere uygulanmıştır (şekil 3-10).



Şekil 3-20: Manuel kemik öğütücüsü ve otojen greftin öğütücüye yerleştirilmesi



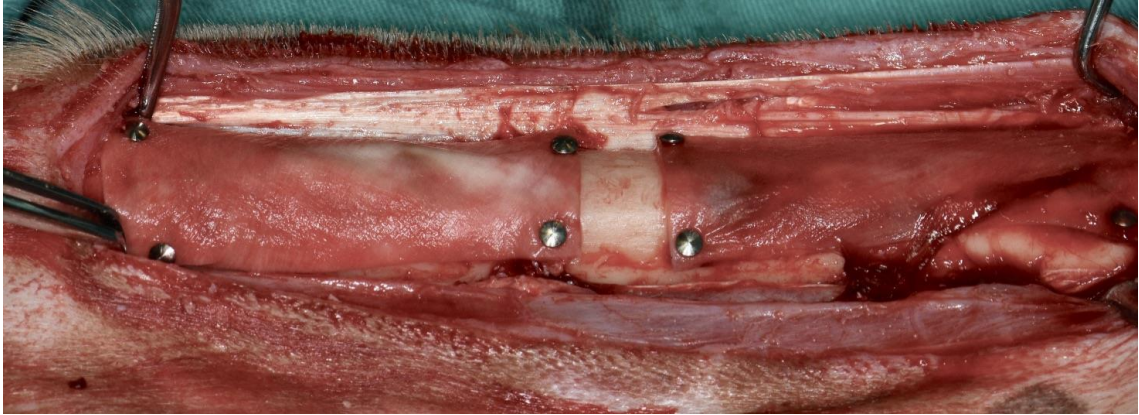
Şekil 3-11: Kullanılan ksenogreft (Bio-Oss®, Geistlich Pharma, Wolhusen, Switzerland) ve kolajen membran (Bio-Gide®, Geistlich Pharma, Wolhusen, Switzerland)

Ksenogreft (X)(Bio-Oss®, Geistlich Pharma, Wolhusen, Switzerland) bir miktar serum fizyolojik ile ıslatılarak uygulanmıştır (Şekil 3-11). Başka bir defekte %50 ksenogreft; %50 oranda otojen mineralize dentin grefti (D) ile; bir diğer defekte de %50 oranında otojen kemik (O) ile karıştırılarak uygulanmıştır. Geriye kalan son defekt de boş bırakılmıştır (Şekil 3-12).



Şekil 3-12: Greftlerin defektlere uygulanması

Defektlere biyomateriyaller yerleştirildikten sonra hepsinin üzeri kolajen membran (Bio-Gide®, Geistlich Pharma, Wolhusen, Switzerland) ile kapatılmış ve membran pinlerle sabitlenmiştir (Şekil 3-13, Şekil 3-14).

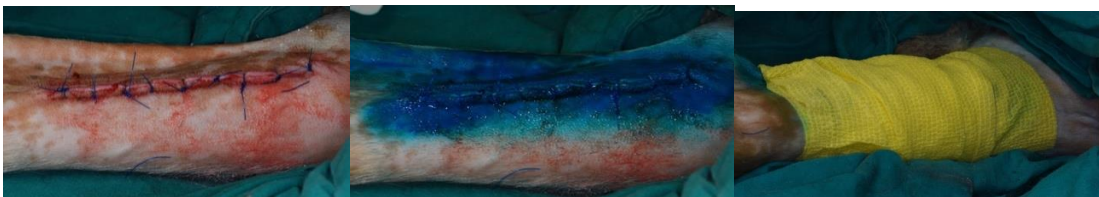


Şekil 3-13: Kolajen membran ile kapatılıp pinlenen defektler



Şekil 3-14: Titanyum Pin seti (Modern Dental Mebran, İstanbul, Türkiye)

Membranlar fikse edildikten sonra periost 4-0 eriyen suture (Vicryl, Ethicon, Kalimed Medikal, Ankara, Türkiye) ile, cilt ise 0 numara eriyen suture ile (Prolene, Ethicon, Kalimed Medikal, Ankara, Türkiye) primer olarak kapatılmıştır. Yara bölgesine Neo Caf 200ml Aerosol Sprey Süspansiyonu (Güneş Ecza Depoları, İstanbul, Türkiye) sıkılarak primer antibakteriyel etki sağlanmıştır. Pamuk, gazlı bez ve atel ile bacak sarılarak, kendinden yapışkanlı sargı bezi ile son fiksasyon gerçekleştirilmiştir (Şekil 3-15)



Şekil 3-15: Operasyon sahasının suture edilmesi ve antibakterial uygulamayı fikse edilmesi

3.2.2. Operasyon Sonrası Bakım ve Medikasyon

Koyunların tümüne anesteziden uyanmadan 30 dakika önce ve operasyon sonrası 5 gün boyunca 0,5 mg/kg meloksikam (Melox 15 mg/1,5 ml Ampul, Nobel İlaç, İstanbul, Türkiye) ağrı kesici olarak kas içi yolla uygulanmıştır. Operasyon sonrası enfeksiyonu önlemek için 5 gün süresince günde 1 kez 20mg/kg dozda seftriakson grubu antibiyotik (Novosef 500 mg i.m. Flakon, Zentiva, İstanbul, Türkiye) hayvana enjekte edilmiştir.

Deney hayvanlarının iyileşme dönemi boyunca genel sağlık kontrolleri düzenli bir şekilde yapılmıştır. Hayvanların yaşam alanlarının temizlenmesi, yem ve su ihtiyaçlarının karşılanması İstanbul Mehmet Akif Ersoy Deneysel Araştırma Geliştirme ve Deney Merkezi'nde çalışan yardımcı personel tarafından gerçekleştirilmiştir. Bütün hayvanların iyileşme periyodu sorunsuz olarak tamamlanmıştır.

3.2.3 Sakrifikasyon

Birinci grup 3 haftalık, ikinci grup 6 haftalık iyileşme dönemini tamamladıktan sonra sakrifikasyon gerçekleştirilmiştir. Defektlerin incelenmesi için histoloji işlemleri başlayana kadar bütün defektler %10'luk nötral formalin solüsyonuna (pH 7.0) ayrı ayrı yerleştirilerek, kapalı kaplarda bekletilmiştir.

3.2.4 Histoloji ve Histomorfometri

Literatürlerden referans alınarak (155) yapılan çalışmamızın histomorfometrik ve histolojik değerlendirmeleri aşağıda anlatılan şekilde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmaya dahilindeki kemik materyalleri; %10'luk tamponlanmış formalinde bekletildi ve bir hafta içerisinde fiksasyonları sağlandı. Fiksasyonun akabinde sodyum sitrat (%20'lik) ve formik asit (%50'lik) çözeltilerinden birer ölçek alınarak oluşturulan solüsyonda dekalsifikasyon sağlandı. Rutin doku takibi yapıldıktan sonra parafin bloklar hazırlandı. Parafin bloklardan elde edilen 5-7µ'luk kesitler hematoksilin-eozin ile boyanıp, Olympus BX60 Işık Mikroskopi'nde incelendi.

İncelenen kesitlerde farklı büyütme altında tüm defekt alanını kaplayan ardışık digital görüntüler elde edildi ve bir kamera yardımıyla bilgisayar ortamına aktarıldı. İncelememiz sırasında "Olympus Soft Imaging System Analysis FIVE" görüntü analiz

sistemi kullanıldı. Bu görüntüler üzerinden yeni kemik yapımı ve kalan greft miktarı ölçüldü. Ayrıca iltihap; ‘var’ ve ‘yok’ olarak değerlendirildi.

3.2.5 İstatistiksel Analiz

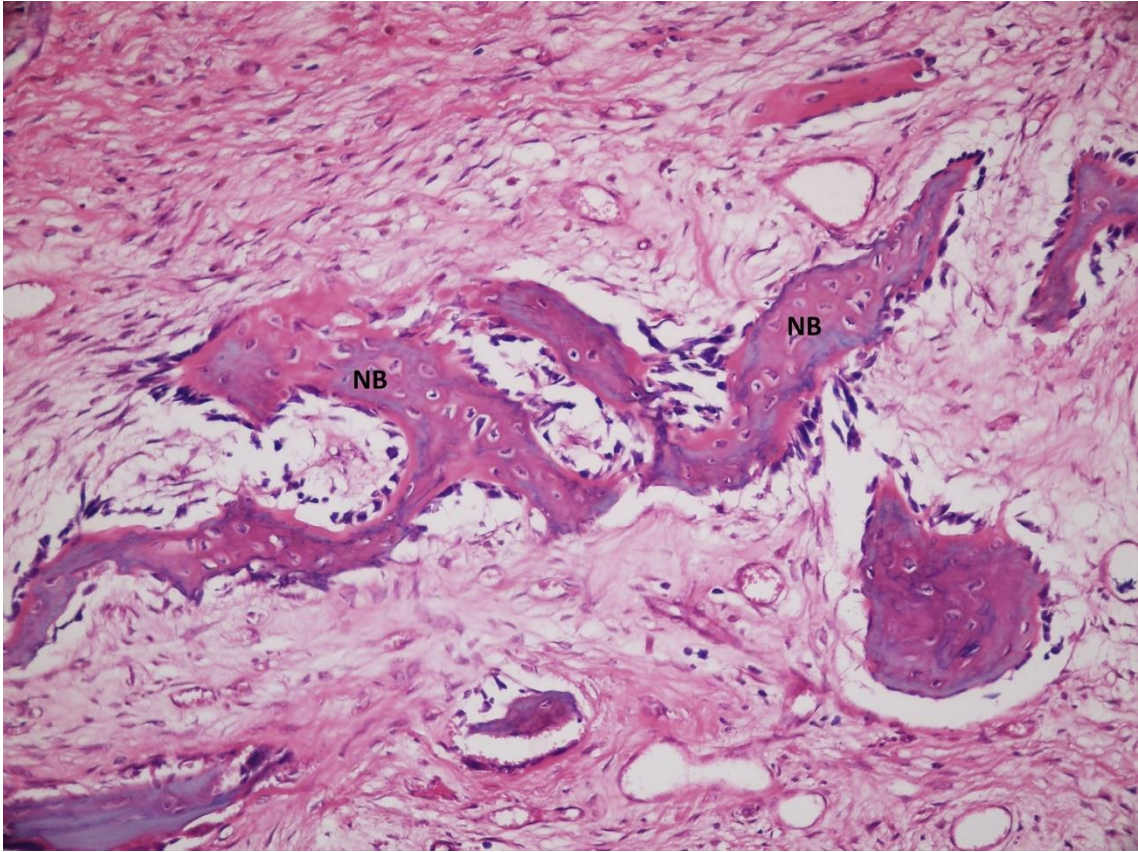
İstatistiksel analizler değerlendirilirken Number Cruncher Statistical System 2007 (Khsfville, Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri incelenirken; ortalama, standart sapma, medyan, birinci çeyreklik, üçüncü çeyreklik, frekans, yüzde, minimum, maksimum gibi tanımlayıcı istatistiksel metodlar kullanıldı. Nicel verilerin normal dağılıma göre uygunlukları Shapiro-Wilk testi ve grafiksel incelemeler ile saptandı. Normal dağılım göstermeyen nicel değişkenlerin 2 grup arasındaki karşılaştırmalarında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen nicel değişkenlerin 2’den fazla grup arası karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis testi ve Dunn-Bonferroni testi kullanıldı. Nitel veri karşılaştırmasında Pearson ki-kare testi ve Fisher-Freeman-Halton exact testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık ‘ $p<0.05$ ’ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

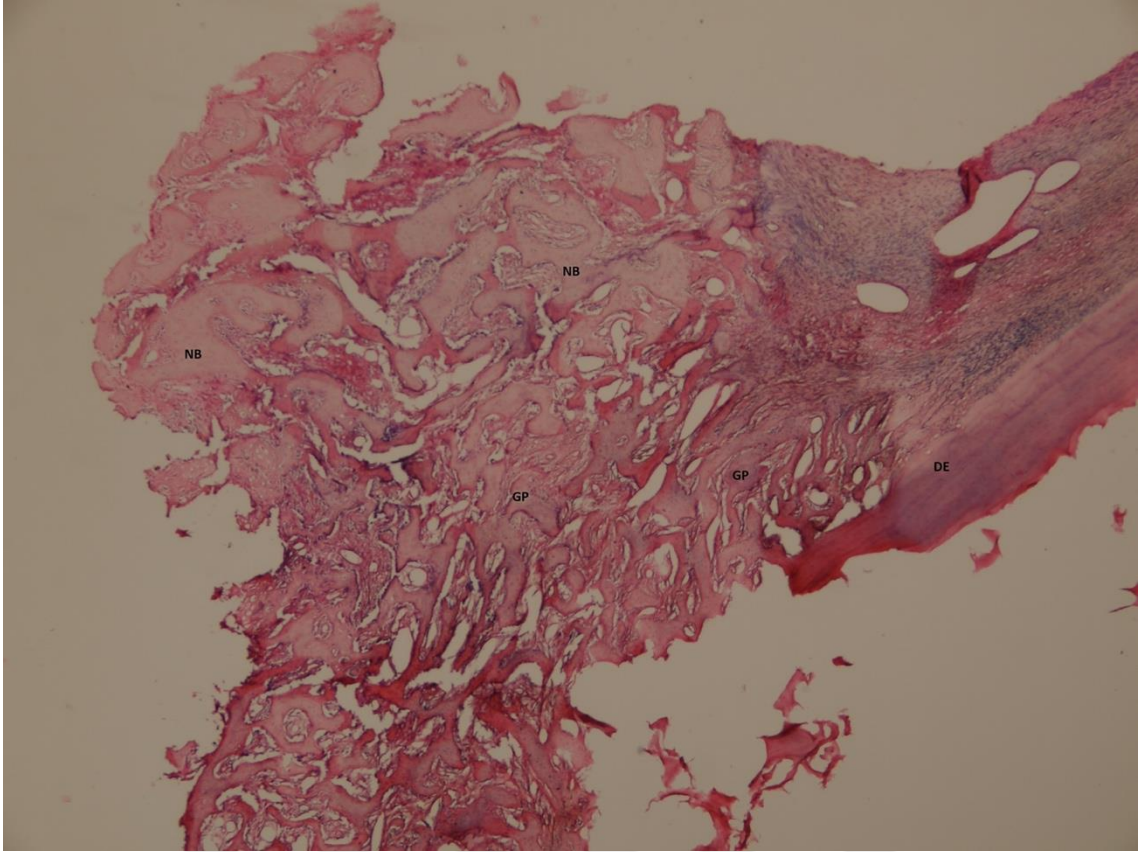
6 koyunda toplam 72 adet defekt histolojik ve histomorfometrik olarak incelenmiştir. Çalışma dahilindeki deney hayvanlarında hiçbir komplikasyon yaşanmamıştır.

4.1 Histolojik Bulgular

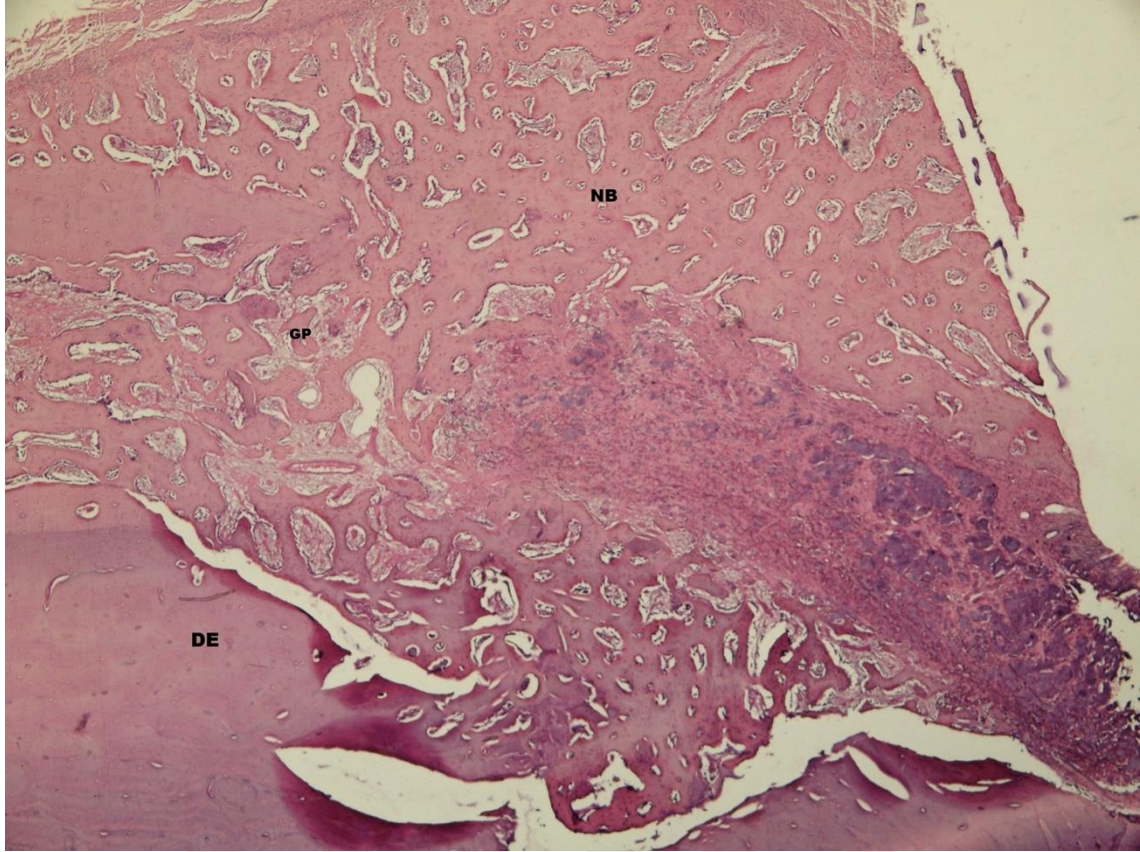
3. Hafta Histolojik Resimleri:



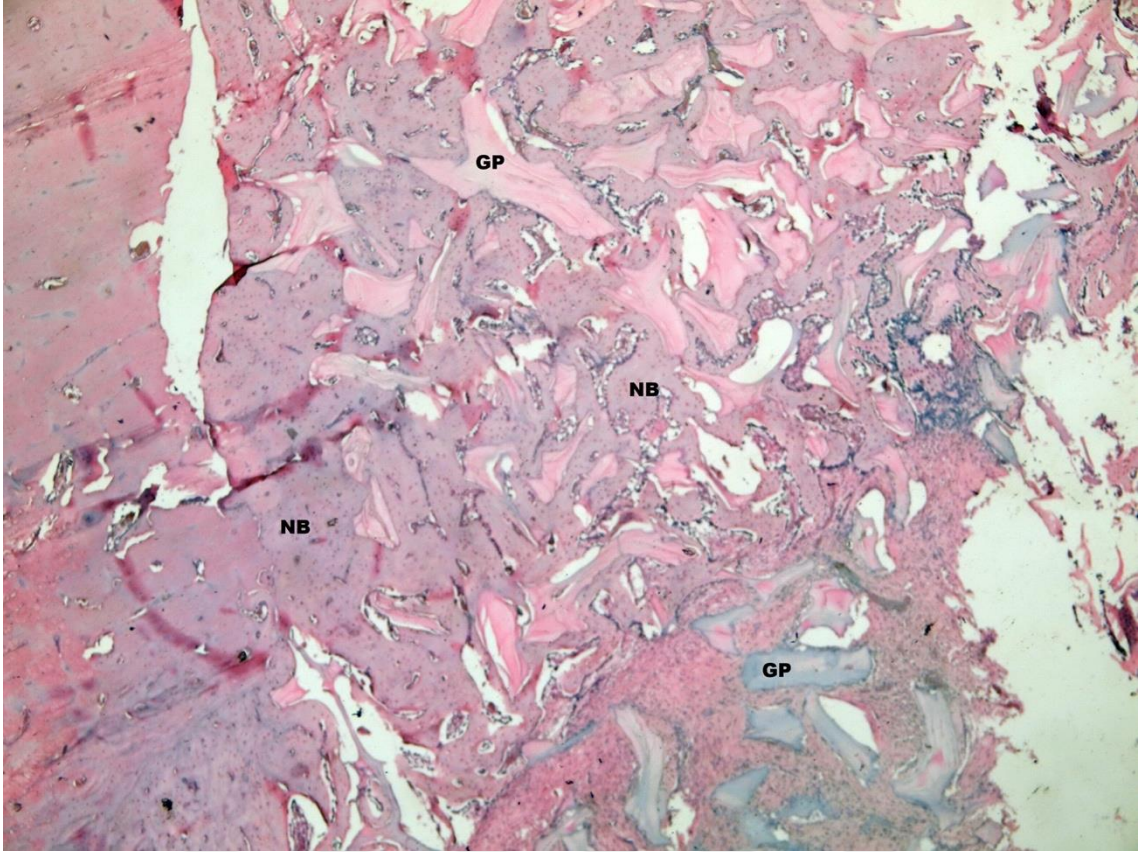
Şekil 4-1: 3. hafta Kontrol grubuna ait temsili histopatolojik görüntü. Yeni kemik yapım alanları (NB) ve bağ dokusu görülmektedir. H&Ex200



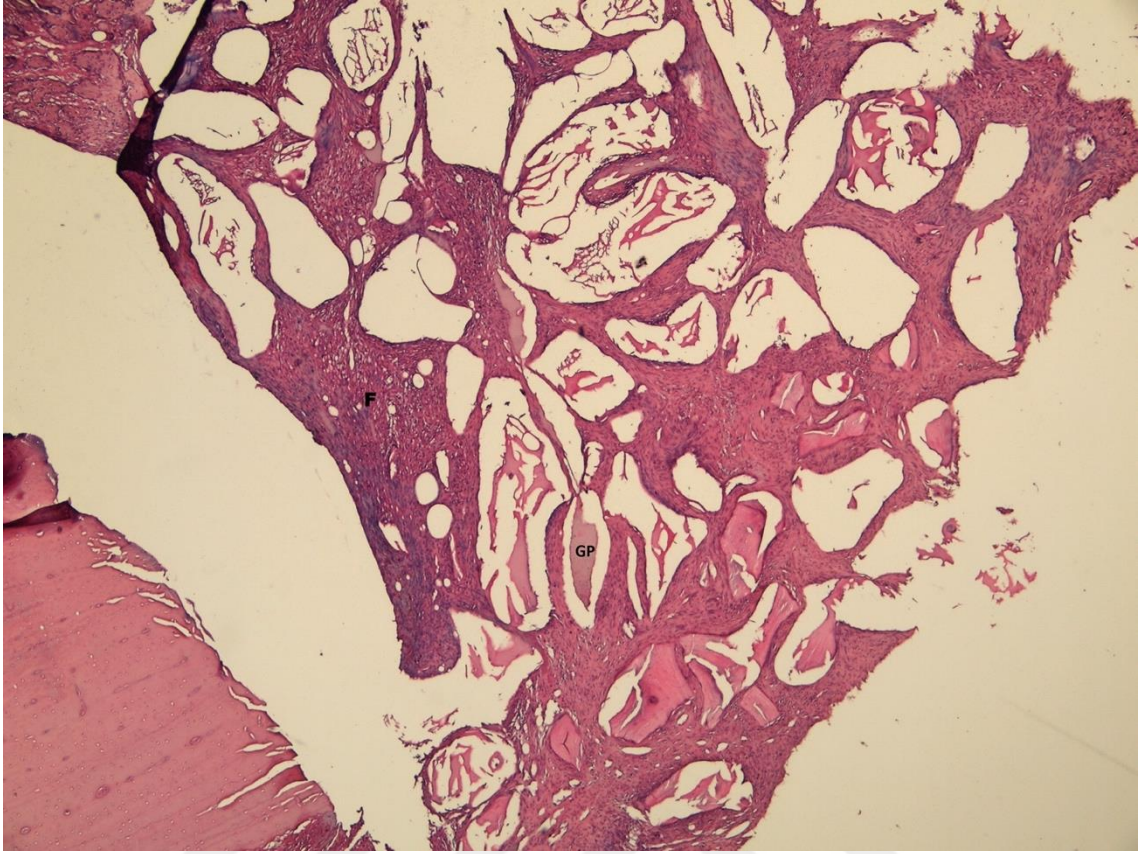
Şekil 4-2: 3. hafta Otojen grubuna ait temsili histopatolojik görüntü. Defekt kenarından (DE) itibaren kemik yapım alanları (NB) ve kalan geft partikülleri (GP) görülmektedir. H&Ex100



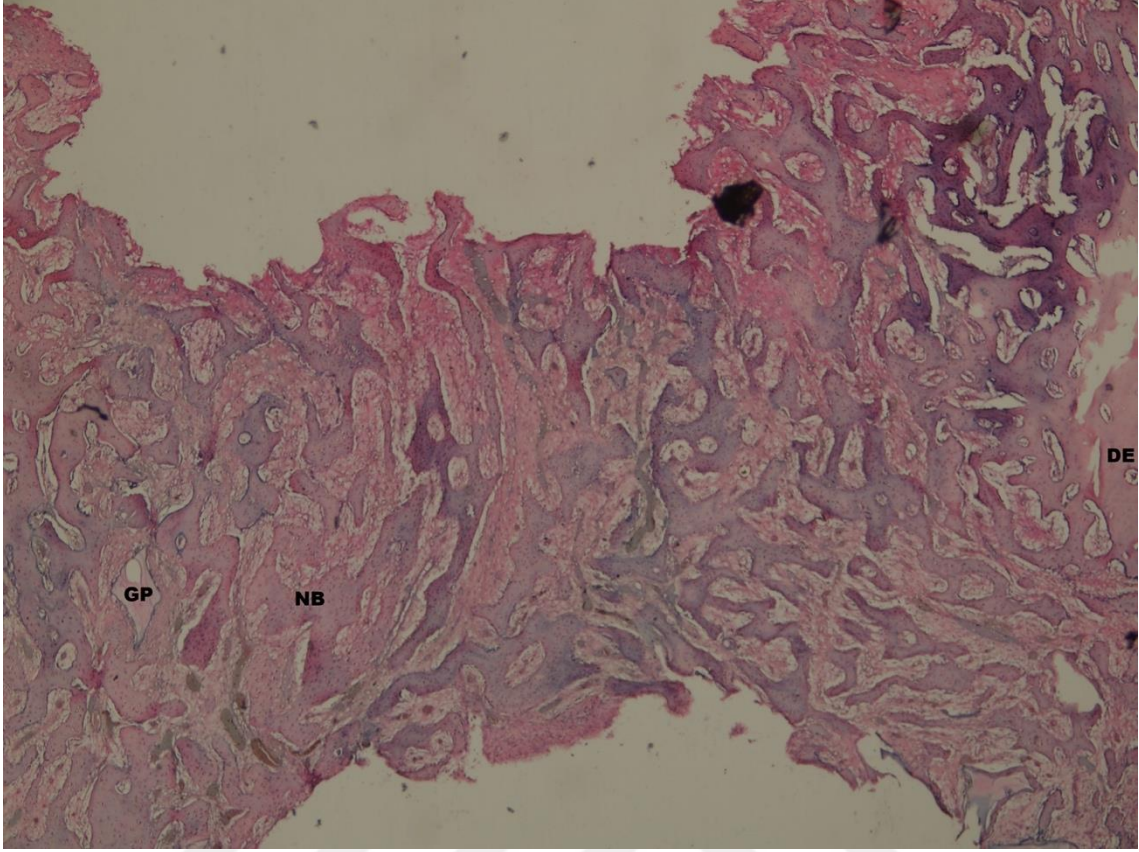
Şekil 4-3: 3. hafta Dentin grubuna ait temsili histopatolojik görüntü. Defekt kenarından (DE) itibaren yeni kemik yapım alanları (NB) ve kalan greft partikülleri (GP) görülmektedir. H&E x100



Şekil 4-4: 3. hafta Ksenogreft grubuna ait temsili histopatolojik görüntü. Yeni kemik yapım alanları (NB) ve kalan greft partikülleri (GP) görülmektedir. H&E x100

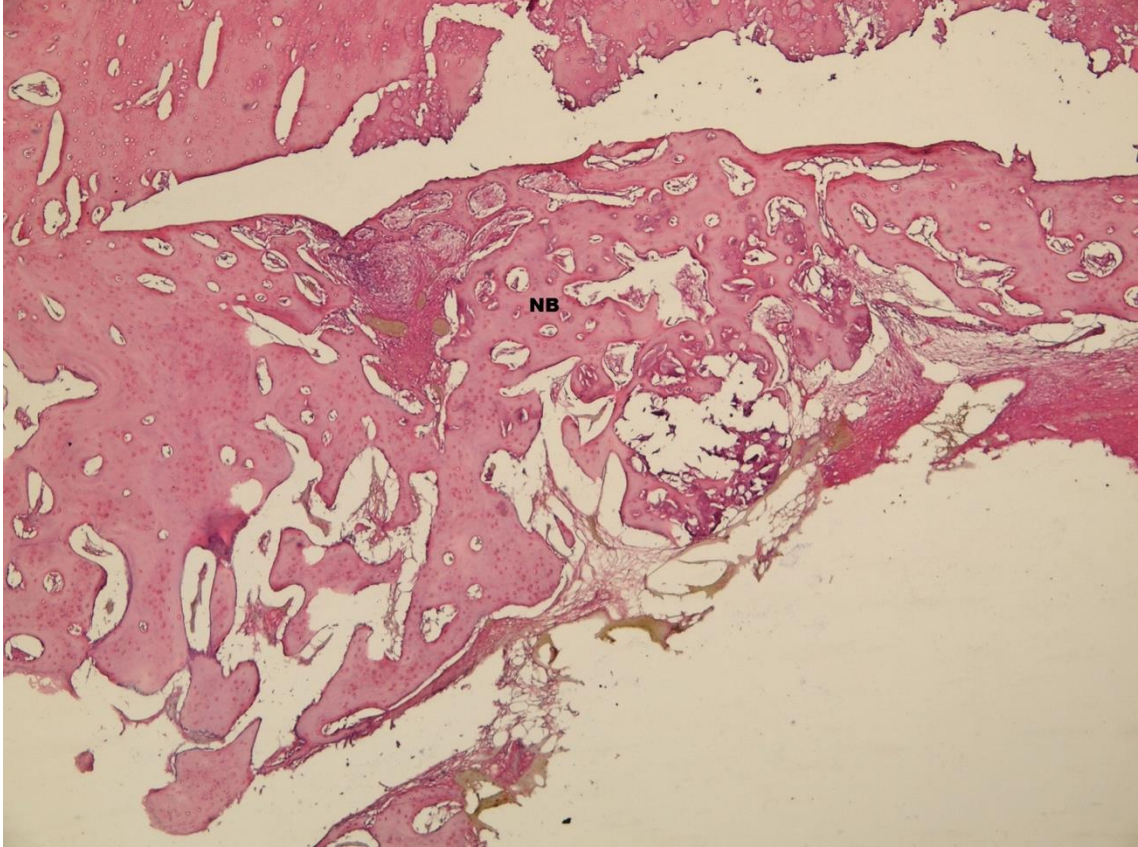


Şekil 4-5: 3. hafta Otojen+Ksenogreft grubuna ait temsili histopatolojik görüntü. Kalan greft partikülleri (GP) ve bağ dokusu (F) görülmektedir. H&E x100

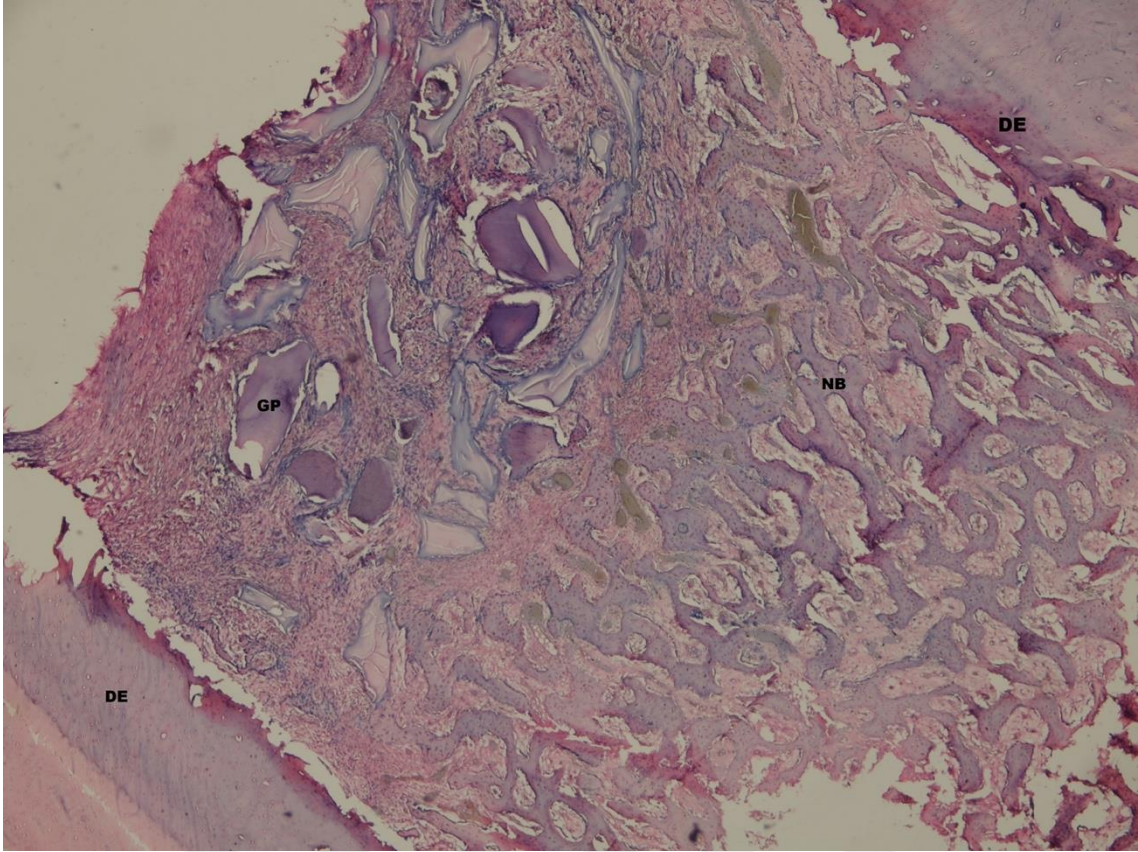


Şekil 4-6: 3. hafta Dentin+Ksenogreft grubuna ait temsili histopatolojik görüntü. Defekt kenarı (DE), kalan greft partikülü (GP) ve yeni kemik oluşumu (NB) görülmektedir. H&Ex100

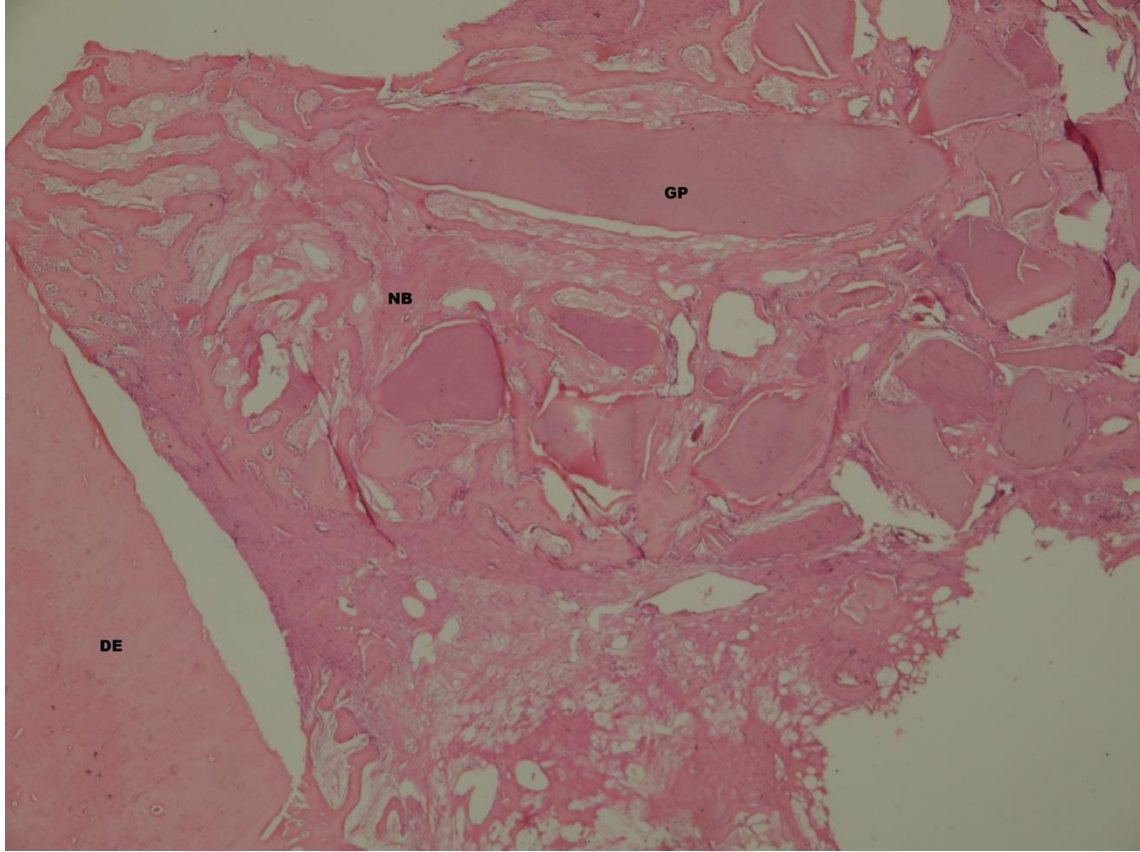
6. Hafta Histolojik Resimleri:



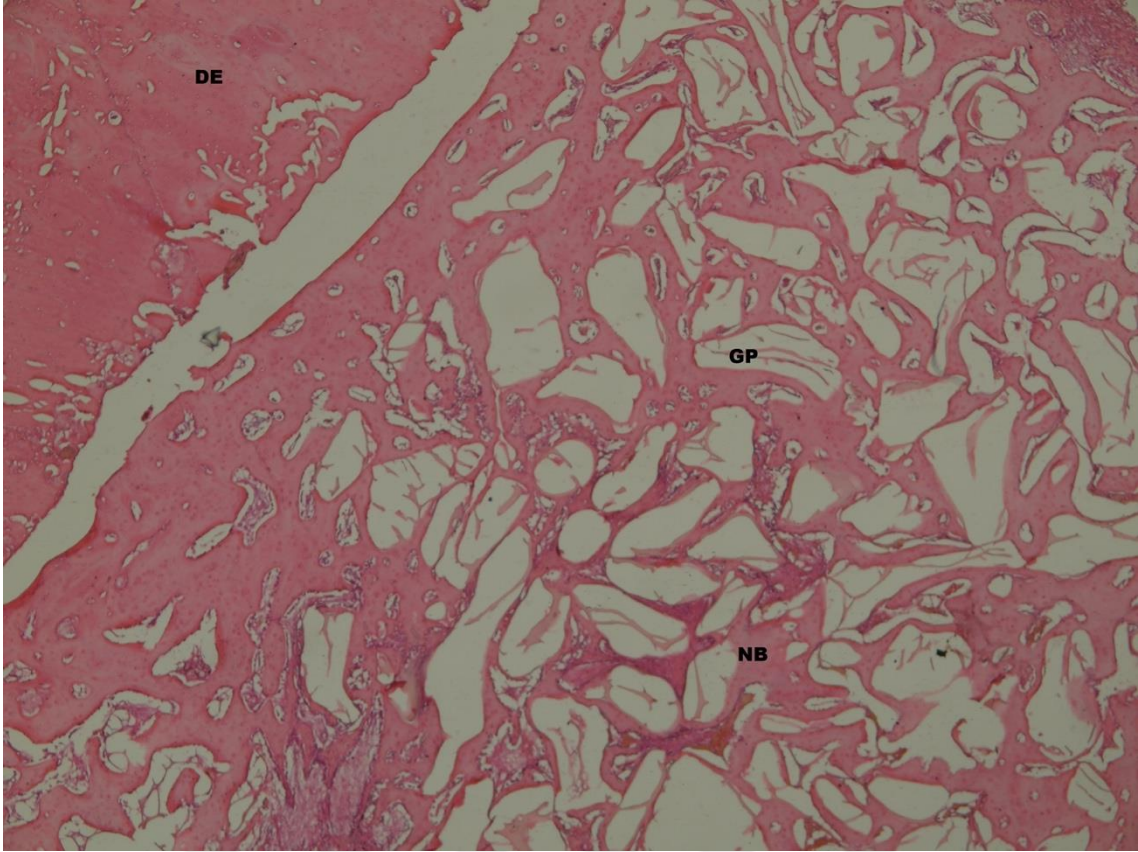
Şekil 4-7: 6. hafta Kontrol grubuna ait temsili histopatolojik görüntü. Yeni kemik alanları (NB) ve bağ dokusu görülmektedir. H&Ex100



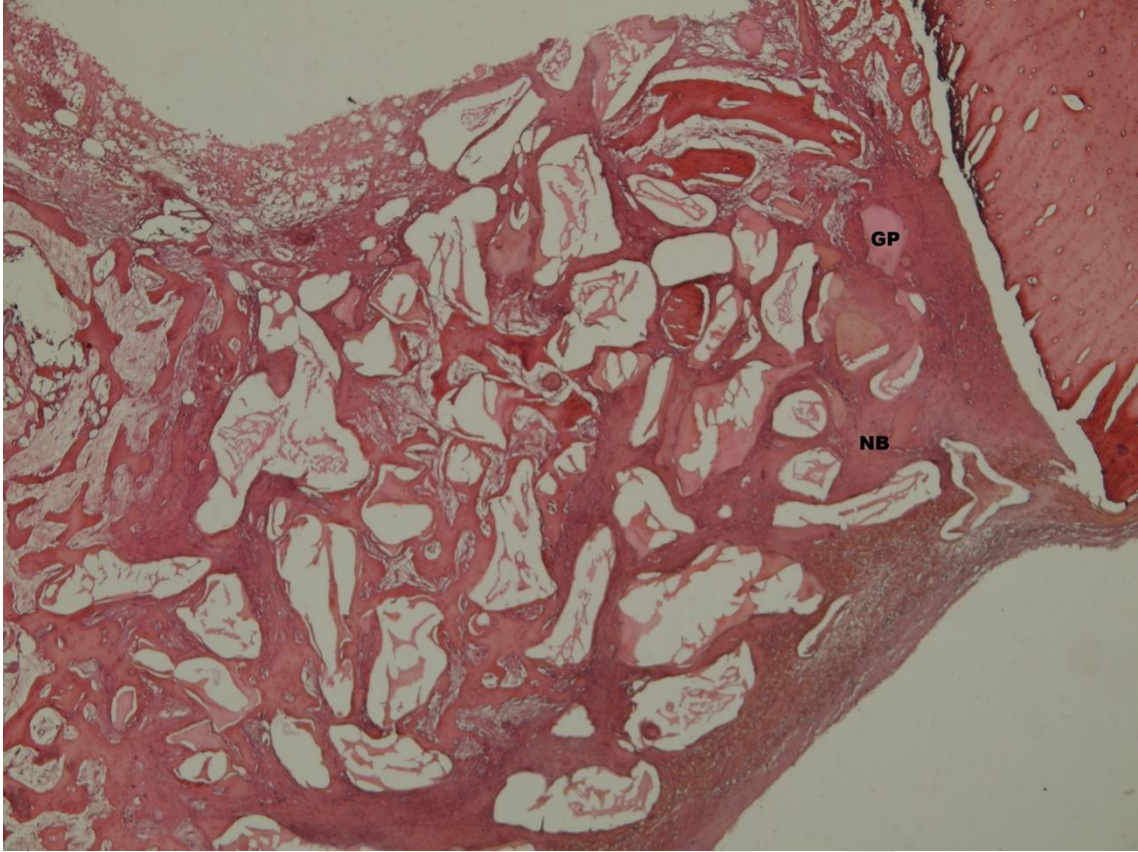
Şekil 4-8: 6. hafta Otojen grubuna ait temsili histopatolojik görüntü. Defekt kenarı (DE), yeni kemik oluşum alanları (NB) ve kalan greft partikülleri (GP) görülmektedir. H&Ex100



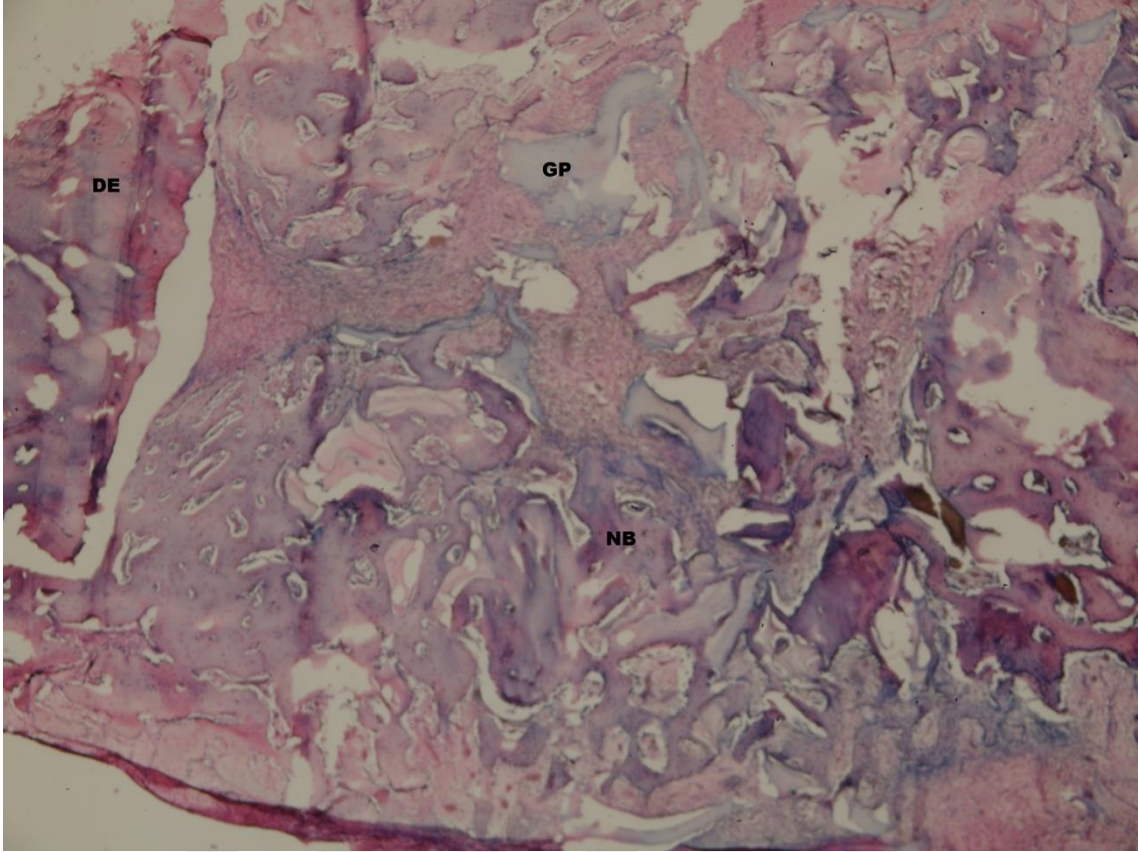
Şekil 4-9: 6. hafta Dentin grubuna ait temsili histopatolojik görüntü. Defekt kenarı (DE), yeni kemik yapım alanları (NB) ve kalan greft partikülleri (GP) görülmektedir. H&Ex100



Şekil 4-10. 6. hafta Ksenogreft grubuna ait temsili histopatolojik görüntü. Defekt kenarı (DE), yeni kemik oluşum alanları (NB) ve kalan greft partikülleri (GP) görülmektedir. H&Ex100



Şekil 4-11: 6. hafta Otojen+Ksenogreft grubuna ait temsili histopatolojik görüntü. Yeni kemik oluşum alanları (NB) ve kalan greft partikülleri (GP) görülmektedir. H&Ex100



Şekil 4-12: 6. hafta Dentin+Ksenograft grubuna ait temsili histopatolojik görüntü. Defekt kenarı (DE), yeni kemik oluşum alanları (NB) ve kalan greft partikülleri (GP) görülmektedir. H&Ex100

4.2 Histomorfometrik Bulgular

		Sakrifikasyon Haftası		p
		3. hafta	6. hafta	
Yeni oluşan kemik miktarı (%)	Medyan (Q1, Q3)	46.52 (43.07, 48.70)	68.87 (65.00, 71.19)	^a <0,001**
Rezidüel greft materyali miktarı	Medyan (Q1, Q3)	22.75 (18.29, 30.91)	12.88 (8.21, 19.67)	^a <0,001**
İltihap	Yok	29 (80.6)	30 (83.3)	^b 0.759
	Var	7 (19.4)	6 (16.7)	
^a Mann-Whitney U test		^b Pearson chi-square test		**p<0.01

Tablo 4-1: Haftalara göre değerlendirmeler

Sakrifikasyon haftaları arasında yeni oluşan kemik miktarı bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptanmıştır ($p<0.001$). Altıncı haftada sakrifiye edilen koyunlarda bu değerin daha büyük olduğu gözlenmiştir.

Sakrifikasyon haftaları arasında rezidüel greft materyali miktarı bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptanmıştır ($p<0.001$). Altıncı haftada sakrifiye edilen koyunlarda bu değerin daha küçük olduğu gözlenmiştir.

Sakrifikasyon haftaları arasında iltihap yüzdeleri bakımından fark saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 4-1).

Yeni Oluşan Kemik Miktarı (%)				
	3. hafta		6. hafta	
	Medyan (Q1-Q3)	Ort±SD	Medyan (Q1-Q3)	Ort±SD
¹ K	24,4 (23,6-24,8)	24,21±0,87	37,1 (36,4-39,3)	37,76±1,99
² O	51 (50,2-55)	52.27±3.61	65 (63,7-66,9)	61.47±1.15
³ D	45,3 (43-49,3)	46.04±3.36	69,6 (66-72,6)	69.48±3.29
⁴ X	45,7 (43,8-47)	45.49±1.77	70 (68,7-71,7)	70.23±1.84
⁵ O+X	48,4 (46,5-50,8)	48.33±2.53	71,1 (70,4-74,8)	72.11±2.51
⁶ D+X	45,5 (43,6-47,1)	45.37±1.85	70,7 (68,4-74,4)	71.25±3.16
^d p	<0.001**		<0.001**	
^{dd} Post Hoc Dunn test				
K-O	0.001**		0,030*	
K-D	0.015*		0,045*	
K-X	0.033*		0,024*	
K-O+X	0.001**		0,001**	
K-D+X	0.043*		0,006**	
O-D	0.420		0,645	
O-X	0.195		0,450	
O-O+X	1.000		0,030*	
O-D+X	0.135		0,150	
D-X	1.000		1,000	
D-O+X	1.000		1,000	
D-D+X	1.000		1,000	
X-O+X	1,000		1,000	
X-D+X	1,000		1,000	
O+X-D+X	1,000		1,000	

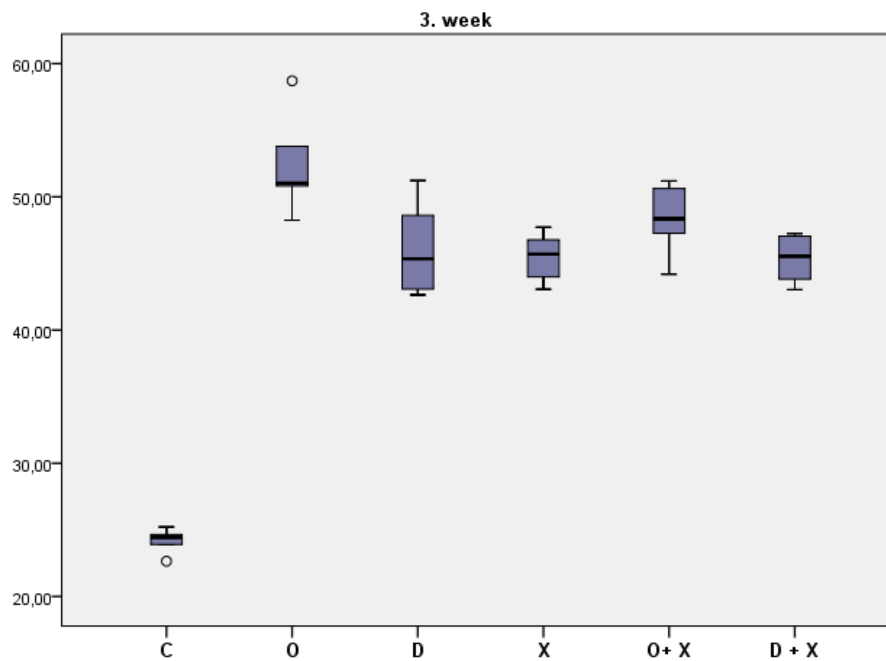
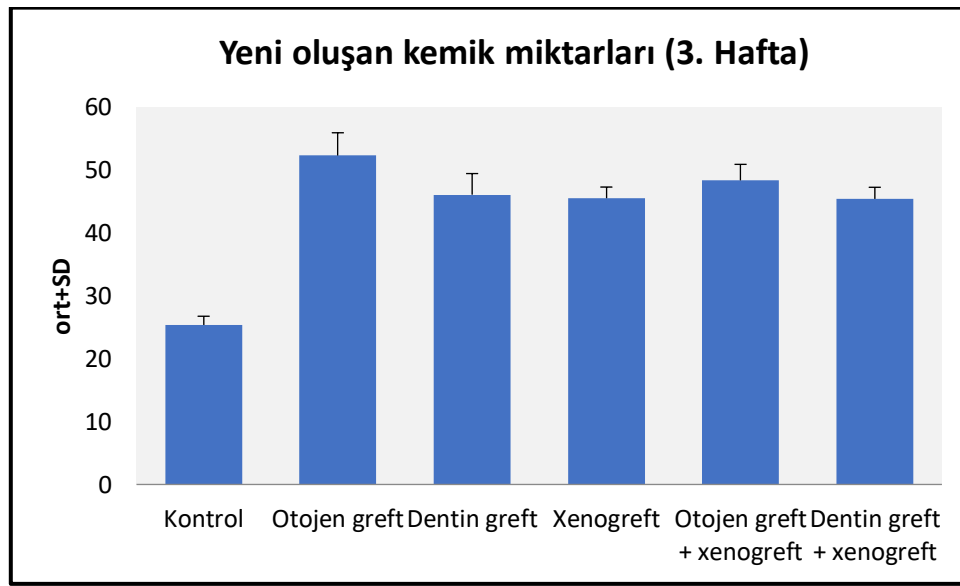
^dKruskal-Wallis test^{dd}Dunn test

**p<0.01

Tablo 4-2: Yeni oluşan kemik miktarlarının gruplara göre değerlendirilmesi

3. haftada sakrifiye edilen koyunlarda;

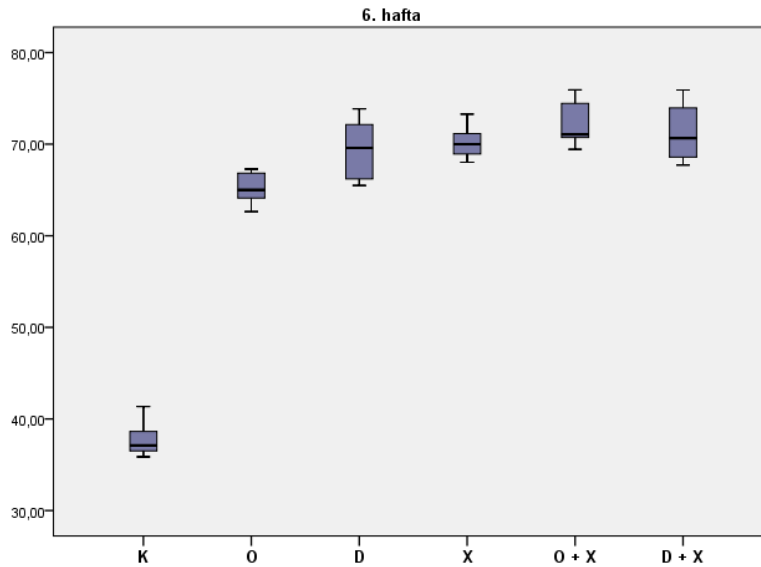
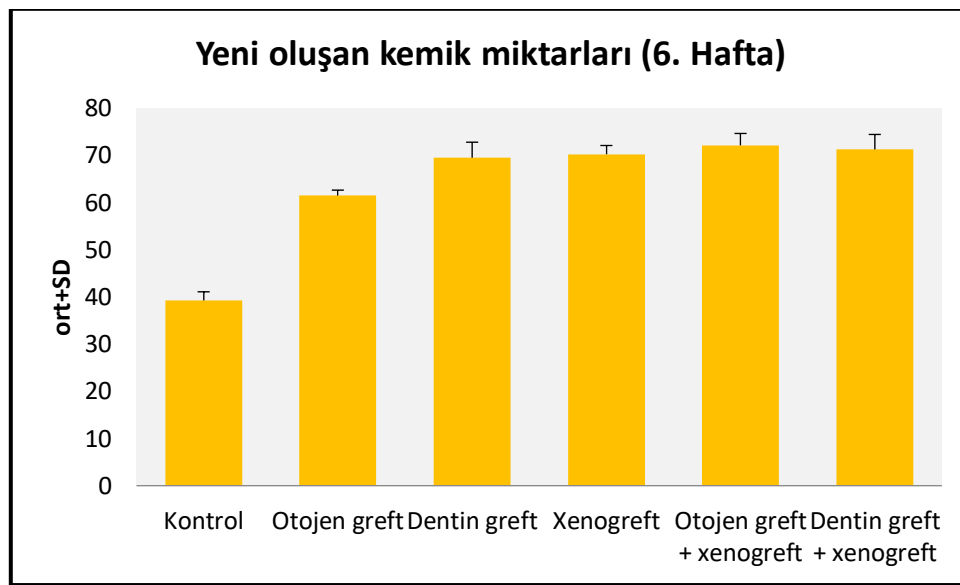
Kullanılan materyaller arasında yeni oluşan kemik miktarı bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptanmıştır ($p < 0.001$). Dunn-Bonferroni post-hoc kıyaslamalar sonucunda kontrol grubu değerlerinin O, D, X, O+X ve D+X grubundan istatistiksel olarak daha küçük olduğu saptanmıştır (sırasıyla, $p = 0.001$; $p = 0.015$, $p = 0.033$; $p = 0.001$; $p = 0.043$; $p < 0.05$). Diğer grupların yeni kemik ölçümleri arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$).



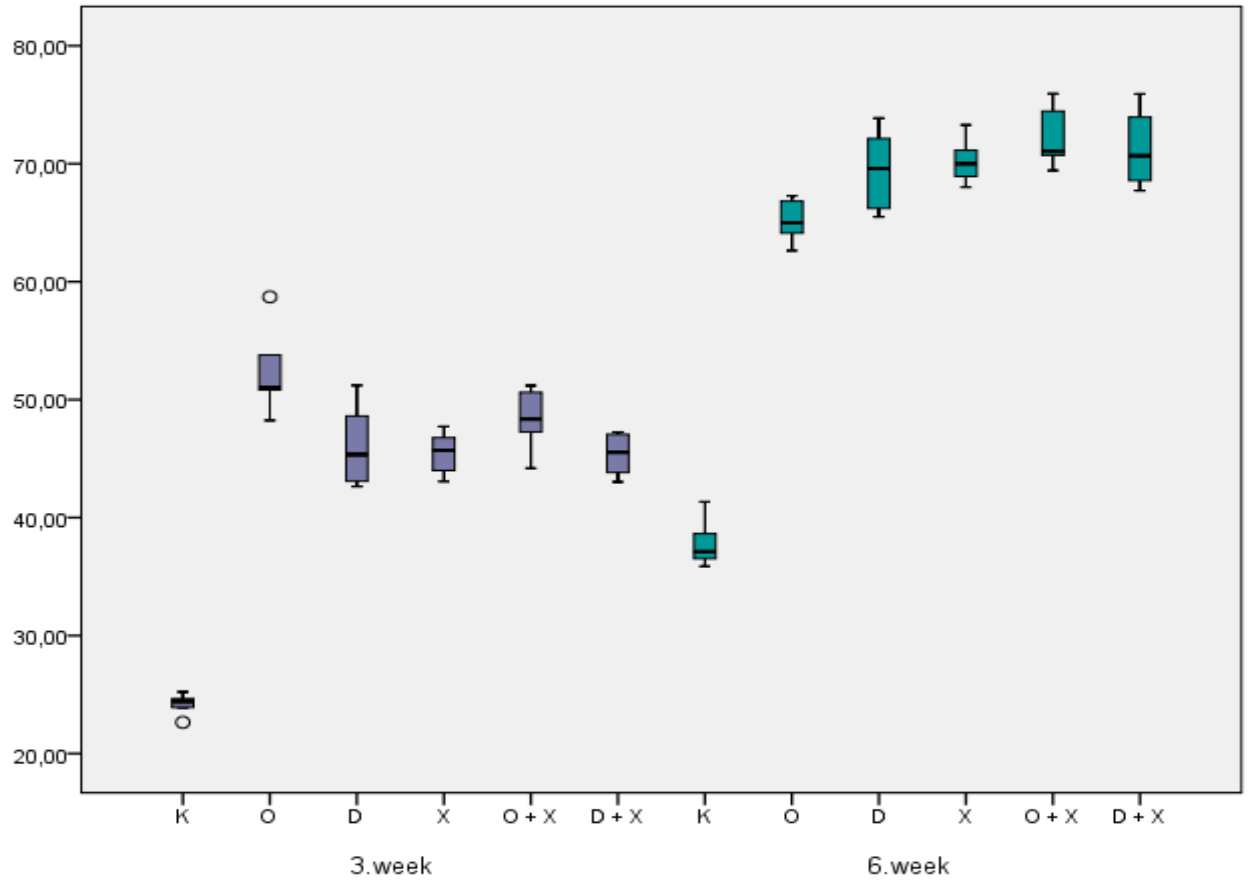
Şekil 4-13: 3. hafta yeni oluşan kemik miktarlarının gruplara göre değerlendirmeleri

6. haftada sakrifiye edilen koyunlarda;

Kullanılan materyaller arasında yeni oluşan kemik miktarı bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptanmıştır ($p < 0.001$). Dunn-Bonferroni post-hoc kıyaslamalar sonucunda kontrol grubu değerlerinin D, X, O+X ve D+X grubundan daha küçük olduğu saptanmıştır (sırasıyla, $p = 0.030$; $p = 0.045$; $p = 0.024$; $p = 0,001$; $p = 0,001$; $p < 0.05$). Aynı şekilde O grubu değerlerinin O+X grubundan daha küçük olduğu saptanmıştır ($p = 0.030$; $p < 0.05$). Diğer materyaller arasında farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$).



Şekil 4-14: 6. hafta yeni oluşan kemik miktarlarının gruplara göre değerlendirmeleri



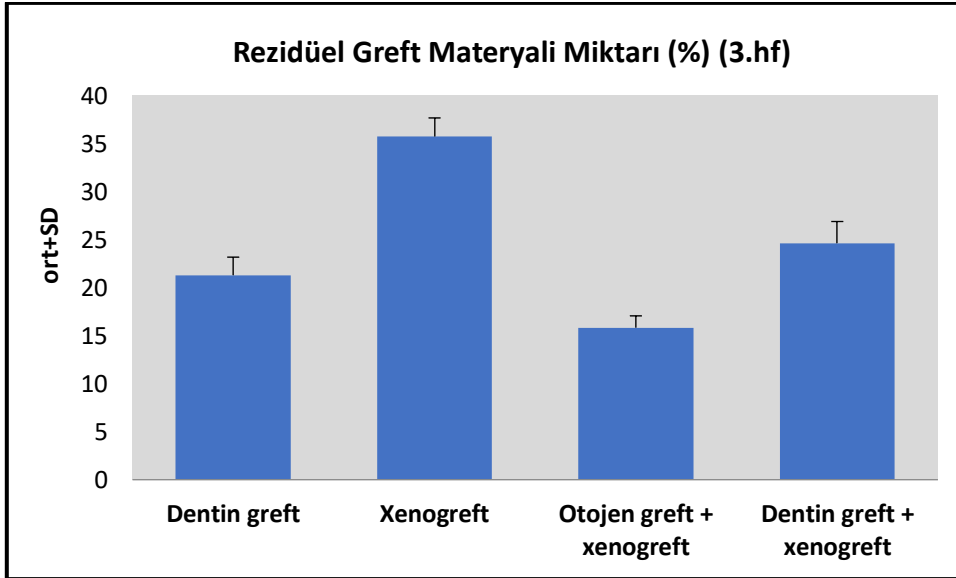
Şekil 4-15: 3. ve 6. hafta yeni kemik oluşum miktarlarının bütün gruplar arasında değerlendirilmesi.

Rezidüel Greft Materyali Miktarı (%)				
	3. hafta		6. hafta	
	Min-Mak (medyan)	Ort±SD	Min-Mak (medyan)	Ort±SD
³ D	19.4-24.3 (21)	21.3±1.88	6,4-9,8 (7,4)	7,79±1,29
⁴ X	33.8-38.8 (35.5)	35.74±1.93	16,3-24,2 (22,6)	21,57±3
⁵ O+X	14-17.2 (16.2)	15.83±1.23	6,5-11,5 (10,1)	9,32±2,07
⁶ D+X	22.7-28 (23.7)	24.63±2.26	14,3-19,7 (16,6)	16,97±2,28
^d p	<0,001**		<0.001**	
^{dd} Post Hoc Dunn test				
D-X	0.075		0.002**	
D-O+X	1.000		1.000	
D-D+X	1.000		0.090	
X-O+X	0.001**		0.030*	
X-D+X	1.000		1.000	
O+X-D+X	0.075		0.675	
^d Kruskal-Wallis test	^{dd} Dunn test	*p<0,05	**p<0.01	

Tablo 4-3: Rezidüel greft materyali miktarının gruplara göre değerlendirilmesi

3.haftada sakrifiye edilen koyunlarda;

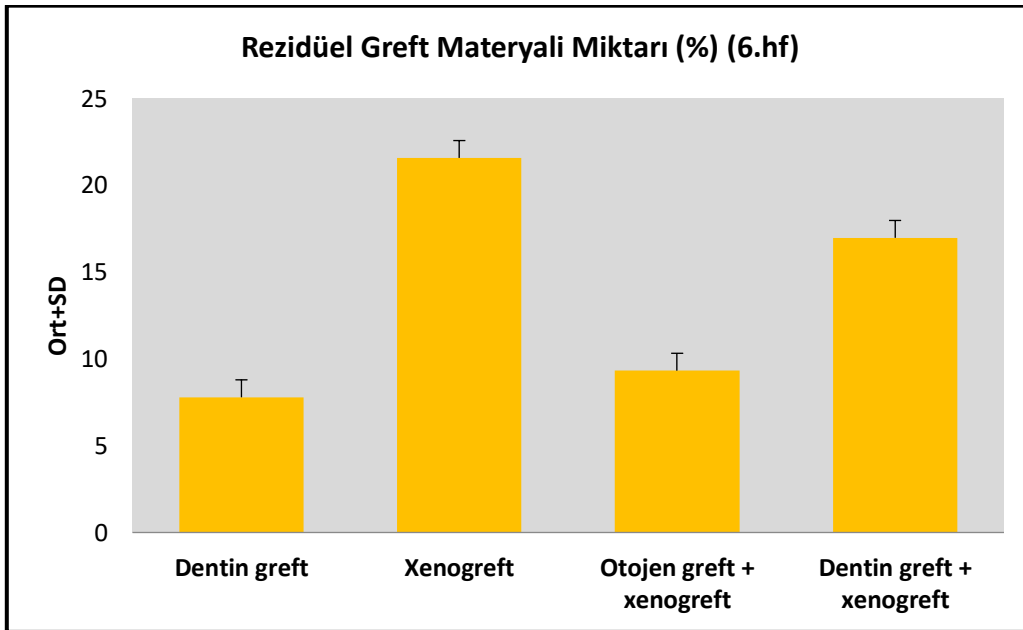
Kullanılan materyaller arasında rezidüel greft materyali miktarı bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptanmıştır ($p<0.001$). Dunn-Bonferroni post-hoc kıyaslamalar sonucunda O + X grubu değerlerinin X grubundan daha küçük olduğu saptanmıştır ($p=0.001$, $p<0.01$).



Şekil 4-16: Üçüncü hafta rezidüel greft materyali miktarının gruplara göre dağılımı

6.haftada sakrifiye edilen koyunlarda;

Kullanılan materyaller arasında rezidüel greft materyali miktarı bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptanmıştır ($p < 0.001$). Dunn-Bonferroni post-hoc kıyaslamalar sonucunda X grubu değerlerinin D ve O+X gruplarından daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p = 0.002$, $p = 0.030$ $p < 0.05$).



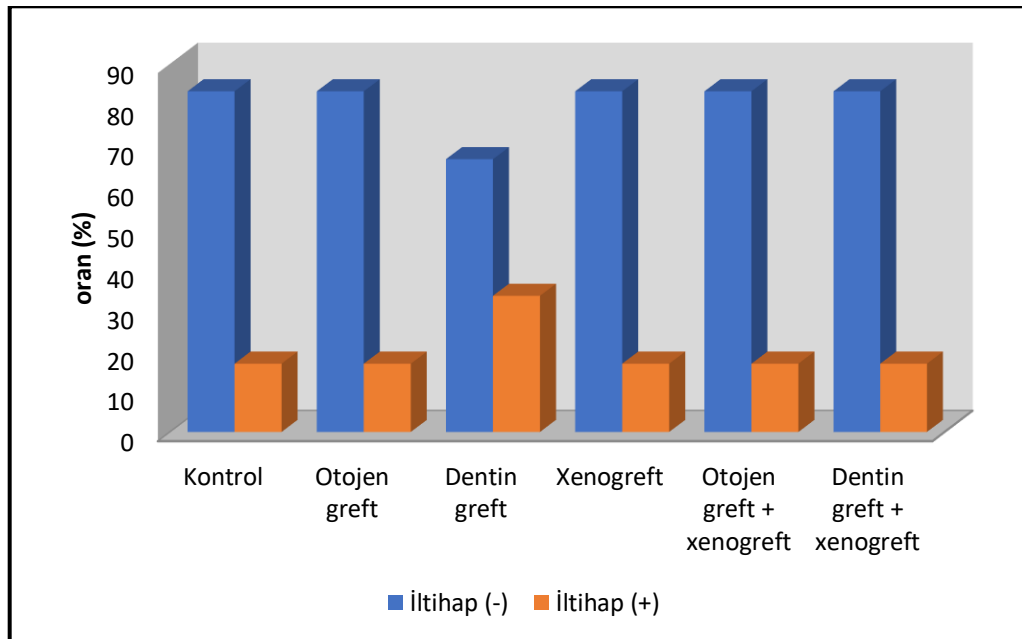
Şekil 4-17: Altıncı hafta rezidüel greft materyali miktarının gruplara göre dağılımı

	İltihap			
	3. hafta		6. hafta	
	Yok	Var	Yok	Var
¹ K	5 (83.3)	1 (16.7)	5 (83.3)	1 (16.7)
² O	5 (83.3)	1 (16.7)	5 (83.3)	1 (16.7)
³ D	4 (66.7)	2 (33.3)	5 (83.3)	1 (16.7)
⁴ X	5 (83.3)	1 (16.7)	5 (83.3)	1 (16.7)
⁵ O+X	5 (83.3)	1 (16.7)	5 (83.3)	1 (16.7)
⁶ D+X	5 (83.3)	1 (16.7)	5 (83.3)	1 (16.7)
^c p	^c 0.999		^c 0.999	

^cFisher-Freeman-Halton exact test

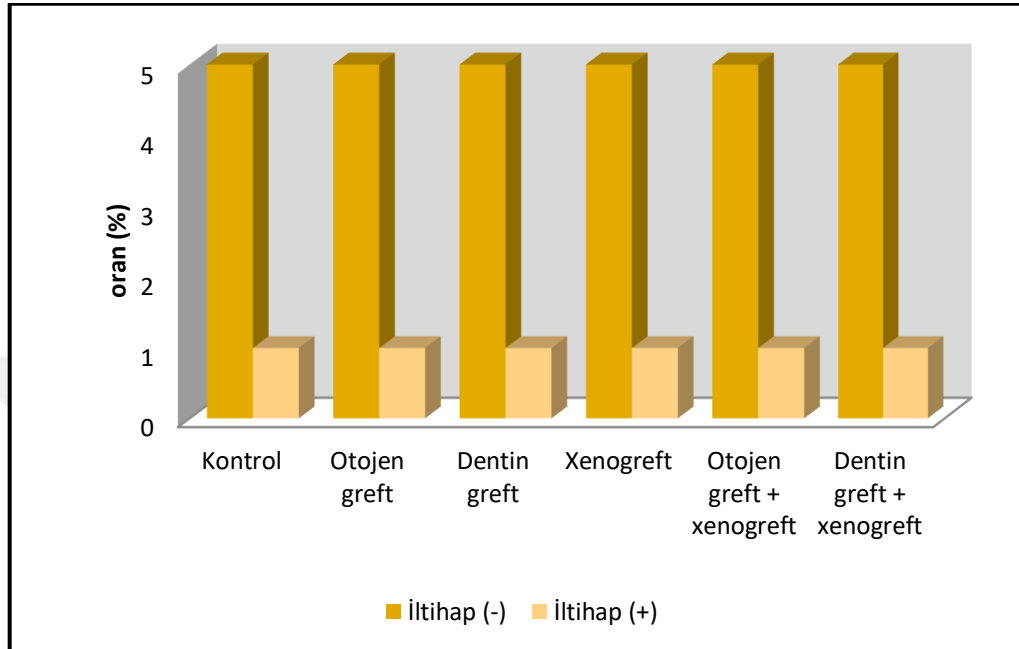
Tablo 4-4: Materyal gruplarına göre iltihap değerlendirmeleri

Kullanılan materyaller arasında iltihap görülme yüzdesi bakımından farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$).



Şekil 4-18: Gruplara göre 3.hafta iltihap oranlarının dağılımı

Kullanılan materyaller arasında iltihap görölme yüzdeleri bakımından farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$).



Şekil 4-19: Gruplara göre 6.hafta iltihap oranlarının dağılımı

5. TARTIŞMA

Bu çalışma, tek başına veya ksenogreft ile karıştırılmış dentin greftinin histolojik ve histomorfometrik etkinliğini değerlendirmekte ve bunu intraosseöz kemik defektlerinin tedavisinde kullanılan çeşitli greft materyalleriyle karşılaştırmaktadır. Sonuçlar, klinik rutinde sıklıkla kullanılan otojen greft, ksenogreft veya her ikisinin de uygulandığı defektlerle karşılaştırıldı. Dentin greftinin tek başına (grup D) veya ksenogreftle (grup D+X) kullanıldığı gruplar ile otojen greft (grup O), ksenogreft (grup X) ve otojen+ksenogreft (grup O+X) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. 3. ve 6. haftalarda yapılan değerlendirmelerde boş kontrol grubunda (grup K) yeni kemik oluşum oranı, her iki zaman diliminde de diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu. Bildiğimiz kadarıyla bu, mineralize dentin greft, otojen greft, ksenograft ve bunların kombinasyonlarının aynı deneysel modelde karşılaştırıldığı şimdiye kadar yapılmış ilk çalışmadır. Otojen greftler yüksek osteoindüktif özelliklere sahip olmalarına rağmen klinik olarak elde edilmesinin zahmetli olması, elde edilebilirliğinin sınırlı olması ve nispeten kısa rezorbsiyon süresi nedeniyle büyük defektlerde sıklıkla diğer greftlerle birlikte kullanılmaktadır (156). Otojen dentin ve alveolar kemik arasındaki yapısal benzerlikler nedeniyle otojen dentin greftinin birçok endikasyonda kullanılabileceği bildirilmektedir (157, 158).

Çalışmamızda otojen dentin partiküllerinin, kemik defektlerinde otojen kemiğe ve sığır kaynaklı ksenogreftte göre etkinliğinin karşılaştırılması, in vivo olarak koyun çalışmasıyla gözlemlenmiştir. Koyun tibiasındaki standardize oluşturulmuş 6 adet defekte 3 haftalık (erken dönem) ve 6 haftalık (geç dönem) sürelerde oluşan yeni kemik yüzdesi histolojik ve histomorfometrik incelemelerle değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda partikül otojen dentin grefti, otojen kemik ve sığır kaynaklı bir ksenogreft ile karşılaştırarak; klinikte başarıyla kullanılan %50 otojen + %50 ksenogreft karışımı yerine; %50 otojen + %50 dentin karışımı kullanıldığında yine aynı başarılı sonuçların elde edilebilirliğini sorgulayarak; granül formda ‘Otojen mineralize dentin greftleri (OMDG), otojen kemik greftine alternatif olabilir mi?’ sorusuna cevap aradık. Çalışmamız dahilinde aynı hayvan modelleri üzerinde ve aynı koşullarda oluşturulan defektlerde çeşitli greft varyasyonları kemik rejenerasyonuna katkıları konusunda birbirleri ile karşılaştırılmıştır.

Çalışmaların kıymetli ve doğru bilgiler barındırması için insan kemik iyileşme mekanizması ile seçilen deney hayvanındaki kemik iyileşmesinin birbirine benzer yakınlıkta olması gerekmektedir. Yeni bir ürün geliştirilirken ilk önce in-vitro olarak çalışılmakta, sonrasında küçük hayvan modelleri üzerinde deneysel çalışmalar uygulanmaktadır. Küçük hayvan modellerinin akabinde daha da öngörülebilir sonuçlar elde etmek için insanın biyolojik yapısına daha yakın olan köpek, koyun, domuz, maymun vb. gibi büyük hayvan modelleriyle deneyler yapılarak materyaller incelenmektedir (159).

Koyunlar; insan kemik yapısına benzer şekildeki proporsiyonu, remodelingi ve kemik iyileşme mekanizması ile ortopedi ve oral implantolojide yapılan araştırmalarda deney hayvanı olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Havers kanal sistemi, makroyapı ve primer kemik rejenerasyonu bakımından insan kemik yapısıyla son derece benzer özellikler sergilemektedir. Mikro kemik yapısı açısından değerlendirecek olursak koyun kemiği insan kemiğinden daha yoğun ve dayanıklıdır. Uygulanan çalışmalar neticesinde koyun metabolizmasının insana göre daha hızlı olduğu, bu da yeni kemik oluşumu süresinin kısılmasına neden olduğu ve küçük hayvan modellerinden rejenerasyon süresinin insan rejenerasyon hızına daha yakın hızda olduğu kaydedilmiştir. Hayvanların osteojenik özelliklerinin yaşa göre değişim göstermesinden dolayı, deney hayvanlarının aynı yaşta ve erişkin hayvan olmalarına dikkat edilmesi gerektiği belirtilmektedir. Literatürde, 9-10 yaş koyunların kemik yapısının, 60-70 yaş erkek veya postmenapozal periyottaki kadın kemiğinin mineral yapısı ve kalitesiyle benzer nitelikte olduğu bildirilmiştir. Yapılan birçok deneysel çalışma ışığında, koyunların kemikte yapılacak in-vivo araştırmalar için uygun bir hayvan olduğu kaydedilmiştir (160, 161, 162, 163). Ayrıca daha büyük defektler üzerinde çalışma imkanı sunmaktadır (164).

Dişi koyunların menstrual periotlarından dolayı endokondral gelişme ve mineral kemik yoğunluğunun baskılandığı ve dolayısıyla kemik rejenerasyonunun da kötü etkilendiği gözlemlenmiştir (165). Bu hususta çalışmamızı 2-3 yaş erişkin ve erkek koyun modeli üzerinde gerçekleştirmeyi uygun bulduk.

Koyun hayvan modellerinde; femur, tibia, çene ve iliyum kemiğinde, çeşitli kemik greft biyomateriyalleri üzerine çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Gerek yeni kemik oluşumu açısından gerekse uygulamadaki kolaylık ve kemiğin yapısal özellikleri olarak

bakıldığında koyundaki en uygun kemiklerin tibia ve femur kemikleri olduğu kaydedilmiştir (163, 166, 164).

Koyun hayvan modeli tibiasında yapılan çalışmalarda defekt boyutunun en az 5 mm olarak uygulandığı görülmektedir (164, 167, 168). Elde edilen bu bilgiler ışığında çalışmamızdaki defektler 10 mm aralıklarla yerleştirilip, 6 mm derinlik ve 6 mm çapta oluşturulmuştur. Hayvan etiği sebebiyle koyunların beslenmelerinde bir problem oluşmaması adına her hayvandan sadece 2 adet diş çekilmiştir. Bu dişlerden elde edilecek greft materyalleri daha büyük çapta oluşturulacak defektlere yeterli gelmeyeceği için ve koyunların tibialarında fraksiyona sebebiyet vermemek için defekt boyutunun çapı 6 mm olarak belirlendi. Diğer gruplara nazaran boş olan kontrol grubunda yeni kemik miktarının diğer gruplardan istatistiksel olarak düşük olması, yani erken dönemde $\%24,21 \pm 0,87$ ve geç dönemde $\%37,76 \pm 1,99$ olması defekt boyutunun da yeterli olduğunu bizlere göstermektedir.

Hayvanların kendi aralarında hareket halinde olmalarından dolayı cerrahi bölgenin hasar görmemesi için, her bir koyun kendi özel kafes odasında muhafaza edilmiştir. Deney süresi boyunca hiçbir komplikasyon oluşmamıştır.

Hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda örneklem adedinin doğru belirlenmesi için power analiz yapılarak hem ihtiyaç duyulandan fazla sayıda hayvan, kaynak ve zaman kaybının önüne geçilecek, hem de gereğinden az hayvan kullanılarak belirsiz sonuçların oluşması engellenecektir, böylelikle yapılan çalışmalar daha güvenilir hale gelmektedir. Bunu sağlayabilmek için etik olarak power analiz değerinin $\%80$ olarak optimum değerde belirlenmesi gerekmektedir (169). Çalışmamızda; yapılan optimum power (güç) analiz sonuçlarına göre 6 tane erkek erişkin koyun kullanılmıştır. Çalışmamızda etik kurul izni doğrultusunda 6 adet koyun kullanmamız, daha kesin sonuçlar elde etmemizi engellemiş olabilir.

Hayvan modelleri ile yapılan çalışmalarda kullanılacak biyomateryallere, doğru ve tarafsız değerlendirme yapılabilmesi için ‘Randomizasyon’ (Rastgeleleştirme) yapılması önem teşkil etmektedir. Rastgeleleştirme; elde edilen bulguların karşılaştırılacak biyomateryallerin doz ve şekillerinin dışında başka bir faktöre bağlı olmasını engellemektedir (170). Yaptığımız çalışmada; özellikle kemiğin beslenmesi bakımından oluşabilecek farklılıkların önüne geçebilmek için, her koyunun sol ve sağ

tibiasına longitudinal bir şekilde konumlandırılan defektlerin içine yerleştirilen biyomateriyaller randomize edilerek gruplandırılmıştır.

Koyunlarda iyileşme süresinin daha kısa olması sebebiyle 3. hafta (erken dönem) ve 6. haftada (geç dönem) sakrifikasyon yapılmıştır. Periodlar arasında yeni kemik oluşumu değerlerinde zamansal bir artışın tespit edilmesi, belirlenen sürelerin çalışma ile uyumlu olduğunu göstermektedir.

Yeni kemik rejenerasyonu operasyonlarından sonra oluşabilecek enfeksiyonları engellemek için antibiyotik kullanılması tavsiye edilmektedir (171). Yaptığımız çalışmada oluşabilecek enfeksiyondan kaynaklanabilecek komplikasyonları önlemek için post-operatif olarak başlanıp 5 gün süresince günde 1 kez 20mg/kg dozda seftriakson grubu antibiyotik (Novosef 500 mg i.m. Flakon, Zentiva, İstanbul, Türkiye) medikasyonu uygulanmıştır. Çalışmamızda kullandığımız hayvanlarda, 3 ve 6 haftalık sakrifikasyon sürelerine kadar herhangi bir komplikasyon ve yan etki gözlemlenmemiştir. Tibialar makroskobik olarak bir bütün halinde çıkarılmış ve bu kemiklerde enfeksiyon tespit edilmemiştir.

Otojen kemik grefti; alveolar kret ogmentasyonu için güvenilir bir prosedür olmasına rağmen, iyileşmenin tamamlanmasından sonra yaklaşık %50 rezorbsiyon sergiler (172, 173). Bu öngörülemeyen rezorpsiyonu önlemek için otojen kemik, hidroksiapatit veya deproteinize sığır kemiği gibi yapay kemik greftleri ile karıştırılır (174, 175). Biz de yaptığımız çalışmada O ile O+X grubuna baktığımızda istatistiksel olarak aynı görünse de; O grubunun daha fazla rezorbsiyona uğrayarak nispeten daha az kemik oluşturduğunu gözlemledik.

Günümüz diş hekimliğinde temel gaye dişlerin minimal invaziv yöntemlerle ağızda kalmaları sağlamaktır. Derin çürük, başarılı olmayan kanal tedavisi, travma ya da periodontal yıkım gibi durumlarda dişlerin çekimi kaçınılmaz hale gelmektedir (176). Diş çekimi sonrasında cerrahi travmadan dolayı periostun zarar görmesiyle oluşan vasküler yıkım ve enflamasyonun kemik rezorbsiyonuna sebebiyet verdiği düşünülmektedir (177, 178, 179). Sert dokudaki bu yıkımı yumuşak dokular da takip etmekte ve en nihayetinde bu durum tersinmez şekilde kendini göstermektedir (36).

Modern diş hekimliğinde kaybedilen dişlerin yerine uygulanan implantlar destekli protezlerin uzun dönem başarıları birçok çalışmada kaydedilmiştir (180).

Başarılı bir implant tedavisi için implantın ideal konumda pozisyonlandırılması, implant kemik osseointegrasyonunun sağlanması, yumuşak ve sert dokulardaki uygun kontürlerin oluşturulması gerekmektedir (35). Diş çekiminden sonra oluşan doku rezorbsiyonunu önlemek için membranlı veya membransız farklı greft materyalleriyle uygulanan soket koruma yöntemleriyle ogmentasyonlar tavsiye edilmektedir (181, 182, 183). Bugüne kadar yapılan çalışmalar ışığında soket koruma tekniğinde kullanılan greft materyalleri arasındaki tercih hussusunda bir fikir birliği oluşamamıştır.

Membran ile beraber greft uygulandığında oldukça başarılı sonuçlar kaydedilmiştir. Membran ile greft tek başına uygulandığında birlikte uygulandıklarından daha düşük başarı gösterdiği bildirilmiştir (184). Biz de yaptığımız bu çalışmada kolajen membran kullanarak yönlendirilmiş doku rejenerasyonu tekniğiyle greft içine yumuşak doku göçünü engelleyip daha başarılı sonuçlar elde etmeyi amaçladık. Literatürde membran kullanımının dentin greft başarısına etkisini değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır.

Dentin greftleri mineralize, parsiyel demineralize ve demineralize formda hazırlanabilir.

Mineralize partikül dentin greftin kemik rejenerasyonundaki etkinliğini değerlendiren sınırlı sayıda pre-klinik ve klinik çalışma bulunmaktadır. Mineralize dentin grefti eldesinde geliştirilen yöntemler, dentin grefti kaynağı ve ogmentasyondaki teknikler çeşitlilik göstermektedir. Bu sebeple mineralize dentin greftlerinde elde edilen sonuçlar bizi ümitlendirse de kesin bir yargıya varmak söz konusu olmamakla birlikte klinik olarak daha çok çalışmaya ihtiyacımız vardır.

Andersson ve arkadaşlarının 2009'da tavşan tibiasında ve angulus mandibularisinde oluşturdukları defektlere insan dişinden elde edilen mineralize dentin uygulamışlardır. Çekilen dişlerin periodontal dokuları, kron kısımları ve pulpaları elimine edilmiş ve dezenfeksiyon; %10 luk klorheksidin çözeltisi ile sağlanmıştır. Histolojik sonuçlarda replazman rezorpsiyonu ile yeni kemik oluştuğu gözlemlenmiştir (146).

2010 yılında Nampo ve arkadaşlarının rat üzerinde yapmış oldukları çalışmada otojen kemik, mineralize dentin greft ve boş bırakılan kontrol grubu karşılaştırılmıştır. Greft elde edilecek dişlerin periodontal dokuları ve pulpaları uzaklaştırılarak sadece kök

kısımları kullanılmıştır. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) testinde; P75, Nestin, P0 ve Musashi-1 genlerinin mineralize dentin grubunda fazla bulunmasını, dentinin nöral krest orjinli hücre içermesiyle açıklamışlardır. İmmünohistokimyasal incelemede dentin sialoproteinini sadece mineralize dentin grubunda, osteopontin proteinini ise hem mineralize dentin grubunda hem de otojen kemik grefti grubunda tespit etmişlerdir. Sonuç olarak mineralize dentin greftini, kemik greft materyali olarak kullanılabileceği kaydedilmiştir (185).

Bormann ve arkadaşları 2012 yılında yaptıkları hayvan çalışmasında dişlerin mine ve sementini elimine edip 1mm'lik kesitlere bölerek, otojen kemik ve β -TCP ile karşılaştırmışlardır. Sonuçlar; anjiogenesis ve kemik rejenerasyonu açısından karşılaştırıldığında bütün gruplarda birbirine yakın değerler kaydedilmiştir (141).

Yu-Chih Huang ve arkadaşları 2016 yılında yayınlanan tavşan kafası üzerinde yaptıkları çalışmalarında, ortodontik nedenlerle çekilmiş insan dişlerini tavşan kafası üzerinde oluşturdukları defektlere (6mm iç çapında) yerleştirmişlerdir. Çekilen dişler; ultrasonik temizleyicide sırasıyla deterjan, distile su ve %75 alkol ile yıkanmış, kron ve sement tabakası uzaklaştırılarak, 800°C de sinterlenerek organik komponent uzaklaştırılmıştır ve sonrasında 250-500µm boyutlarında partikül dentin elde edilip defektere uygulanmıştır. 1., 2., 4. ve 8. haftalar sonrasında yeni kemik oluşumu histolojik olarak ve micro CT (Bilgisayarlı Mikro Tomografi)'de incelenmiştir. Dentin partikülü ile tedavi edilen defektlerdeki kemik rejenerasyonunun kontrol grubuna göre tüm zamanlardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Microarray analizi için 3., 5. ve 7. günlerde alınan kan ve kemik dokusu örneklerine bakıldığında partikül dentinin doğal hidroksiapatite benzer fiziksel ve kimyasal özellikler sergilediği gözlemlenmiştir. Partikül dentinin; iyileşmenin erken evresinde, osteoblastogenezis aşamasında kemik yenilenmesini ve çoğalmasını hızlandırdığı kaydedilmiştir (186).

Mineralize dentin greftlerinin oral implantoloji, intraosseöz kemik defekt tedavisi ve sinüs lifting operasyonlarında soket koruma tekniği için kullanılabileceği bildirilmektedir (187, 188, 112). Mineralize dentin greftinin hazırlanması için; dişin kron kısmının dekapite edilmesi veya mine, sement, pulpa, periodontal ligamanlar, dolguların uzaklaştırılması gibi benzer protokoller kullanılmıştır. Çalışmaların büyük bir çoğunluğunda Smart Dentin Grinder TM (Kometabio, İstanbul, Türkiye) ya da başka özel bir öğütücü kullanılarak 300µm ile 1200µm arasında küçük dentin partikülleri elde

edilerek; 0,5M NaOH ve %30-%20 alkolden oluşan bazik alkol temizleyici ve steril fosfat tamponlu salin uygulanmıştır. Böylelikle dentinde bulunan organik kalıntılar, olası bakteriler ve toksinler preperattan uzaklaştırılmıştır (189).

Çalışmamızda kullanılan KometaBio Smart Dentin Grinder cihazını ilk olarak Binderman ve ark. 2014'te soket koruma işleminde kullanmışlardır. Histolojik ve radyografik incelemede yeni kemik oluşumu rapor edilmiştir. Öte yandan uygulanan dentin solüsyonundan sonra Taramalı Elektron Bilgisayarı (SEM) ile yapılan incelemede greft partiküllerinde mikroorganizmaya rastlanmamıştır (112).

Calvo ve arkadaşlarının 2018 yılında yayınladıkları çalışmalarında köpeklerin bilateral premolar dişlerini çekerek oluşturdukları çekim soketlerinde; kontrol grubu (boş) ve test grubu OMDG oluşturmuşlardır. Defektleri 30 ve 90 günün sonunda histolojik ve histomorfometrik olarak incelemişlerdir. Çekilen dişler KometaBio Smart Dentin Grinder'da; osteojenite için en optimal boyut olan 300µm-1200µm arasında partikülize edilmiştir. Ardından dentin cleanser solüsyonunda 15 dakika bekletilip steril salin slüsyonuyla yıkanarak defekte uygulanmıştır. 30. günde kontrol grubunda yeni kemik oluşumu $72,35 \pm 0,98$ iken kontrol grubunda $55,87 \pm 0,32$ olarak bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p < 0,005$). 90. günde ise bu değerler test grubunda $77,18 \pm 0,76$, kontrol grubunda $58,92 \pm 0,32$ olarak bulunmuş ve yine bulguların istatistiksel olarak anlamlı olduğu kaydedilmiştir ($p < 0,005$). Biz de yaptığımız çalışmada bu bilgilerle paralel olarak kontrol grubu ile OMDG arasında istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturacak düzeyde yeni kemik oluşumu tespit ettik. Bizim çalışmamızda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Dentin greftlerinin her iki zaman diliminde de yeni kemik oluşum oranları, boş defekt grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (190).

Daniele Cardaropoli ve arkadaşları 2019'da yayınlanan çalışmalarında çektikleri dişlerin oluşturduğu çekim soketine, çekilen dişten elde ettikleri dentin partiküllerini uygulamışlar ve 24. haftada bu bölgelere implantlar yerleştirmişlerdir. Steril salin eşliğinde dişlerin sement ve mine kısımları uzaklaştırıldıktan sonra Smart Dentin Grinder (KometaBio) ile 300-1200µm boyutlarında OMDG partikülleri oluşturulmuştur. 10 dk süresince 'basic alcohol cleanser' çözeltisinde bekletilip dentin tübülleri ve debris dahil bütün organik komponentin, bakterilerin ve toksinlerin uzaklaşması sağlanmıştır. Sonrasında steril salin ile yıkanıp, dentin partiküllerine PBS

uygulanmıştır. Dentin greft maddesi çekim socketinin %95'inden fazlasını doldurmuştur ve üzeri bağ dokusu grefti ile kapatılmıştır. 6 ay sonunda alınan örneklerde histoloji ve radyografik incelemeler yapılmıştır. Dental volumetrik tomografi sonucunda bukkal kemğin tamamen erimesine karşılık dentin greft partikülleri sayesinde yeni kemik remodelinginin sağlandığı ve yeni kemik dokusu ile dolarak alveol kret hacminin korunduğu tespit edilmiştir (115).

2019 yılında Ziv Mozor ve arkadaşlarının dört hasta üzerinde uyguladıkları klinik çalışmada periodontal sebeplerden dolayı çekilen dişlerin sement ve mine tabakalarını uzaklaştırıp kurutarak Smart Dentin Grinder (Kometabio) cihazında partikülize (300-1200 µm) etmelerini takiben, daha önce de belirtilen temizleme ve steril etme protokolü uygulanmıştır. Bakterilerin uzaklaştırılmasında antibiyotiklerin ve klorheksidinin toksisitesinden dolayı alkol tercih edilmiştir. Bazı kaynaklar sterilizasyon işleminde etilen oksit kullansa da bu materyalin greft için güvenli olup olmadığı konusu hala tartışılmaktadır. Uygulanan greftler PTFE membran (Cytoplast Single, Osteogenics) ile kapatılmıştır ve 4 hafta sonra membran çıkartılarak greftlenen bölge 2-7 ay iyileşmeye bırakılmıştır. Yapılan histolojik değerlendirmede; 2,5 ay sonra dentin greftinin çevresinde az miktarda yeni kemik oluşumları ve çok az mine kalıntıları gözlemlenmektedir. 3. ve 3,5. ayda yeni kemik oluşumunun artmakta olduğu ve 7. aya gelindiğinde %85 yeni kemik %25 rezidüel dentin olacak şekilde çekim socketinin kemikleştiği tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma mineralize dentinin, demineralize dentin kadar etkili olabildiği savunulmaktadır (191).

Soket dört duvarlı bir defekt olduğundan içerisine yerleştirilen greftler iyi beslendikleri ve stabil kaldıkları için, soket koruma işlemi başarılı sonuçlar vermektedir. Kaldı ki socketin doğal iyileşme potansiyeli de yüksektir. Fakat yapılan araştırmalarda boş bırkılan socketlere nazaran soket korumada materyal kullanımının kemik rezorbsiyonunu önlediği tespit edilmiştir (192).

Andrade ve ark. greftlenen socketlerin dikey ve yatay boyutlarının bazılarında korunmuş, bazılarında da artmış olduğunu tespit etti (192).

Soket koruma işlemiyle de benzerlikler gösteren çalışmamızda uyguladığımız test grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuçların çıkmamasının en büyük sebeplerinden biri de budur. Öte yandan klinikte sıklıkla kullanılan xenogreftler ile OMDG'nin birbirine yakın sonuçlar vermesi; dentin greftlerinin de güvenle

kullanılabileceğini bize göstermektedir. Kaldı ki dentin greftinin rezidü oranı daha az olduğu için kemik-implant temasının daha fazla olması beklenebilir. Bu konuda yapılacak daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Itzhak Binderman ve ark. Kometabio Smart Dentin Grinder ile yaptıkları klinik çalışmada partikül OMDG'yi; periodontal olarak hasarlı olan dişteki kemik defektinde, çekim soketine immediyat uygulayarak ve sinus liftling cerrahisinde kullanarak gözlemlerini yayınlamışlardır. Periodontal olarak hasarlı kökün 4 ay içinde cep derinliği 1-2 mm olarak ölçülerek tamamen iyileştiği görülmüştür. Alt çenede çekim soketine uygulanan mineralize dentinin 2 ay içerisinde yeni kemiğe dönüştüğü gözlemlenmiş ve implantlar yerleştirilmiştir. Bunun yanı sıra 1 senelik takipte sorunsuz bir iyileşme gözlemlenmiştir. Üst çenede diş çekiminde açılan oroantral açıklık da OMDG ile doldurulduktan 3 ay sonra histolojik ve radyografik olarak değerlendirildiğinde, o bölgede yoğun densitede yeni kemiğin oluştuğu kaydedilmiştir. Mineralize dentin greftinin; sert yapıda iyi özellikte kemik meydana getirdiğini ve demineralize kemikten daha güvenilir olduğunu vurgulamışlardır (112).

2016 da Pohl ve arkadaşları gömük yirmi yaş dişinden elde ettikleri OMDG'yi 6 hastada sinüs tabanı yükseltme tedavisinde kullanmışlardır. Dişlere öğütme işlemi dışında başka bir işlem uygulanmamıştır. Mikroskopik olarak bakıldığında dentinin osteokondüktif özelliğinden dolayı greft partikülleri çevresinde yeni kemiğin oluştuğu kaydedilmiştir. Az hasta sayısı ve kontrol grubunun olmayışı dikkate alınır, elde edilen bilgiler bize OMDG hakkında sadece küçük bir fikir verebilir (187).

Silvio Valtec ve arkadaşları 2017 yılında yayınlanan klinik çalışmalarında 4 adet hastada çekilen dişlerin mine, sement ve pulpalarını uzaklaştırıp partikülize hale getirip kan ile karıştırmışlar ve ardından uyguladıkları soket koruma işleminden 4 ay sonra bölgeden trefan frezlerle örnekler alarak, bölgeye implant uygulamışlardır. Yapılan histolojik incelemede dentin greftinin kemik rejenerasyonuna destek olduğu ve greftlenen bölgelerde herhangi bir enflamasyon sahasının tespit edilmediğini kaydetmişlerdir (188).

Lee ve Kim 2012 yılında yayınlanan mineralize dentin partikülleri ile yaptıkları retrospektif kohort çalışmasında dişleri 200-1000µm partikül boyutuna küçültüp, dehidratasyon, yağsızlaştırma, iyofilize işlemlerinden geçirip etilen oksit ile steril etmişlerdir. Dişlerin mine, sement ve pulpaları grefte dahil edilmiştir. Dentinin partikül

formunun yanı sıra blok dentin halinde ve kombine olarak (blok+partikül) da uygulanmıştır. Histolojik olarak 1 yıl sonra bakıldığında yeni kemik ve greft materyalinin bir bütün haline geldiği görülmüştür (193).

Chang ve Lee 2011 yılında yayınlanan klinik çalışmalarında 6 hastanın çekim soketine OMDG uygulamışlar, diğer 6 hastanın çekim soketini boş bırakmışlar ve 3,5 ay sonunda implantları yerleştirirken biyopsi alarak histolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirmeye tabi tutmuşlardır. Mineralize dentin greft 200-1000µm partikül boyutunda olup dehidratasyon, yağsızlaştırma, iyofilize edilme işlemlerinin ardından etilen oksit ile steril edilerek hazırlanmıştır. Mine, dentin ve sement içermektedir. Radyografik analizde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p<0,05$). Histomorfometrik analizde oluşan yeni kemik miktarı mineralize dentin greft uygulanan grupta ortalama $\%39 \pm 7,07$ bulunurken boş bırakılan kontrol grubunda $\%20 \pm 12,25$ olarak ölçümlenmiş ve mineralize dentinin istatistiksel olarak daha fazla yeni kemik oluşturduğu kaydedilmiştir (194).

Jun ve arkadaşlarının 2014 yılında yayınladıkları çalışmalarında, lateral pencere sinus lifting uygulanan 19 hastaya mineralize dentin greft, diğer 19 hastaya sığır kaynaklı kansellöz ksenogreft uygulanarak, 4 ay beklenilmiş ve implantlar yerleştirilmiştir. Otojen dişlerden yumuşak doku, pulpa ve kron kısmı uzaklaştırılarak, 0,5mm-1mm boyutunda partiküllere dönüştürülmüştür. Dehidratasyon, yağsızlaştırma (defatted), dondurma-kurutma ve etilen oksit ile sterilizasyon işlemlerinin ardından greftler sinüse uygulanmıştır. Radyografik olarak Micro-CT sonuçlarına göre yeni kemik oluşumu sığır kaynaklı ksenogreft grubunda $\%41,93$ iken mineralize dentin greft grubunda $\%37,91$ olarak kaydedilmiştir. Histomorfometrik olarak bakıldığında ksenogreft grubunda $\%26,49 \pm 7,13$ ve dentin grubunda $\%31,07 \pm 14,52$ yeni kemik oluşumu gözlenmiştir. Sonuç olarak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p<0,05$) (195).

Catherine Andrade ve arkadaşları 2019 yılında yayınlanan araştırmalarında sıvı fibrinojen ile dentin karışımından elde ettikleri blok haline getirilmiş dentin greftini çekim soketlerine uygulamışlardır. Çekilen dişler Kometabio cihazında partikülize edilerek, üretici firmanın tavsiye ettiği protokoller uygulanmıştır. Eş zamanlı olarak hastalardan alınan 6 tüp kan antikoagülan içermeyen beyaz tüpe konarak 4 tanesi 2700 rpm de 12 dk santrifüj edilmiş ve L-PRF (L-TZF; Lökositlen ve Trombozitten Zengin

Fibrin) elde edilmiştir. Geriye kalan 2 tüp 3 dk santrifüj edilerek tüplerin üzerinde sıvı fibrinojen elde edilmiştir. Daha sonra dentin greftler sıvı fibrinojen ile karıştırılıp ‘sıkılaştırılmış dentin blok greft’ elde edilmiş ve çekim soketlerine uygulanmıştır. Greftlenen bölge; ‘Xpression kutusu’nda membran haline getirilen L-PRF ile örtülerek kapatılmıştır. 4 aylık iyileşmenin ardından histolojik ve histomorfometrik analizler için biyopsiler alınıp implantlar yerleştirilmiştir. 4., 5. ve 6. ayda ‘Koni Işınlı Bilgisayarlı Tomografi’ (CBCT) değerleri karşılaştırılmıştır. Oluşan yeni kemik yüzdesi %56,5 ve rezidüel dentin %3,6 olarak gözlemlenmiştir. Değişik zaman aralıklarına göre yeni kemik oluşumuna bakıldığında; 4. ayda %26,3, 5. ayda %56,5 ve 6. ayda %66,5 olarak ölçümlenirken, rezidü dentin miktarı sırasıyla %10,4, %4,8 ve %0,9 olarak kaydedilmiştir. Histolojik olarak osteojenik aktivite açıkça gözlemlenmiştir. Bu çalışma sıkılaştırılmış dentin blok greft materyalinin 6 aylık takipte alveol kretinin dikey ve yatay yönde boyutsal stabilitesini korumaya yardımcı olduğunu ve hatta bir miktar da arttırdığını göstermektedir. Bu çalışmada demineralizasyon işlemi yapılmadan da başarılı kemik oluşumu ve greft rezorbsiyon yüzdesinin elde edilebildiği görülmektedir. Bu hususta dentin temizleyici solüsyonun tüm organik kalıntıları ortadan kaldırarak büyüme faktörlerinin salınımına katkı sağladığı düşünülmektedir (192).

Netaneli ve arkadaşları (2019) 15 hastada Kometabio cihazıyla elde ettikleri OMDG’yi rezorbe olan bir membran ile kapatıp soket koruma işleminde kullanmışlardır. 6 ay sonra trefan frezlerle örnekler alarak bunları histolojik ve histomorfometrik olarak incelemişlerdir. Dentin partiküllerinin yeni kemik ile ankiloze olduklarını ve inflamatuvar reaksiyon olmaksızın bağ dokusu ile çevrelendiğini ve görmüşlerdir. %30’ dan %80’e kadar yeni kemik formasyonu kaydedilmiştir. Elde edilen sonuçlar dahilinde, OMDG’nin soket koruma işlemi için tam biyoyumlu ve mükemmel osteokondüksiyon gösteren; otojen kemiğe alternatif olabilecek nitelikte bir greft materyali olduğu vurgulanmıştır (196).

OMDG ile yapılan klinik çalışmalarda iyileşme sürecindeki daha az enflamasyon, ameliyat sonrası major komplikasyonların ve yabancı cisim reaksiyonunun olmayışı gibi tatmin edici sonuçlar kaydedilmiştir (112, 192).

2018 yılında Çetiner ve arkadaşları Samsun’da; diş çekimini takiben Kometabio Smart Dentin Grinder cihazı ile OMDG’yi kullanarak klinik bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Kontrol grubu hastalarında soketler boş bırakılmış, diğer grupta

çekim soketleri OMDG ile doldurulmuş ve 3. grubun hastalarına ise PRF ile karıştırılmış OMDG uygulanmıştır. 3 ayın sonunda histolojik örnekler alınarak implantlar yerleştirilmiştir. Çıkan histomorfometrik sonuçlarda yeni kemik miktarında; kontrol grubu ($18,68 \pm 1,18$) ile OMDG grubu ($19,32 \pm 1,91$) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç çıkmazken ($p>0,05$), OMDG+PRF grubu ($28,08 \pm 1,44$) ile diğer gruplar arasında ileri fark olduğu tespit edilmiştir. Öte yandan dentin grubunda diğer gruplara göre daha fazla bağ dokusu olduğu kaydedildi. Bu da osteoblatik aktivitenin kademeli olarak arttığını bize göstermekle beraber, 3 ay değil de 6 aylık geç dönem kemik iyileşmesine bakılacak olsaydı, dentin greft grubundaki yeni kemik oluşum yüzdesinin artabilecek potansiyelde olduğunu hesaba katabiliriz. Elektron mikroskobundaki görüntülerde dentin partikülleri ile kemik arasında ağısı fibrillerin varlığı dikkati çekti (197).

Otojen mineralize dentin greft ile yapılan bütün çalışmalar bu greft materyalinin gerçek etkisi hakkında bize yardımcı bilgiler verse de çalışmaların standardize edilememesi bir dezavantaj olarak görülebilir.

Dentinin az miktarda elde edilebilmesi bir dezavantajdır. Dondurularak kurutulmuş kemik allogrefti ve demineralize dondurularak kurutulmuş kemik allogrefti yaygın şekilde uygulandığından, ‘allojenik dentin grefti’ kemik defektleri için alternatif bir çözüm olabilir. Allojenik dentin, allojenik kemiğe göre bazı avantajlara sahiptir. İlk olarak kadavralardan elde edilmektense dişhekimliği muayenelerinde çekilen dişlerden elde edilebilir. İkinci olarak allojenik dentin; bulaşıcı hastalık ve anitijenite yönünden düşük risk teşkil etmektedir. Çünkü allojenik kemik matriksinde sürekli remodeling meydana gelirken, yoğun kan damarlarına sahip olduğu için patojen istilasına maruz kalabilir; dentin matriksi bunun tam tersi olarak dentin matriksi organizasyonunu tamamlandıktan sonra tekrar yeniden şekillenme sergilemez (136).

Mineralize dentinin allojenik olarak kullanıldığı çalışmalar da mevcuttur. 2017 yılında Joshi ve arkadaşlarının 15 hastada uyguladıkları klinik çalışmada; allojenik mineralize dentin greftini; boş kontrol ve ksenojenik dentin grubuyla ogmente edilen bölgelerle karşılaştırmışlardır. Allojenik mineralize dentin greftinin kemik rejenerasyonu ve anjiogenezis açısından diğer gruplara göre üstün olduğunu bildirmişlerdir (198). Tabi ki güvenilir bir otojen dentin grefti ve allojenik dentin greftinin güvenliği ve etkililiği ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Birkaç klinik çalışma, DDM'nin diş çekimi sonrası kemik büyümesi ve alveolar kemiğin korunması için etkinliğini araştırmıştır (120, 113, 199). Bununla birlikte, DDM'nin sınırlı bulunabilirliği ve yetersiz osteoindüktivitesi nedeniyle daha küçük çaplı kemik defektlerinde daha sık kullanılmaktadır. DDM'nin osteojenik aktivitesini arttırmak için Um ve ark (199), BMP-2'yi DDM'ye ekleyip bu preparatı soket korumasında kullanarak; dışarıdan eklenen BMP-2'nin, DDM'den salınan büyüme faktörleriyle oluşturabileceği sinerjik etkinin yeni kemik oluşumunu artırabileceğini varsaymışlardır. DDM, mükemmel bir BMP-2 taşıyıcısıyken; Otojen PDDM ise hücre bağlanması ve farklılaşması için uygun bir substrat olabilir. Özellikle dentinin kısmi demineralizasyonu, hücrelerin substrata kolayca bağlanmasını sağlayan kolajen lifleri açığa çıkaracağı ve OPDDM'den salınan büyüme faktörlerinin aynı anda osteoblastik farklılaşmayı uyarabileceği iddia edilmiştir. Ayrıca, OPDDM'deki artık minerallerin osteoklastik aktiviteyi artırarak kemiğin yeniden şekillenmesini teşvik edebileceği öne sürülmüştür (136).

Koga ve arkadaşları, % 70 dentin demineralizasyonu ve görece büyük partikül boyutu (1000µm) ile daha iyi sonuçlar elde edilebileceğini savunmaktadırlar. Ancak daha iyi kemik oluşumunun sağlanması için değişik boyutlardaki partikül karışımını, farklı derecelerde yapılan demineralizasyon işlemini ve yüzey demineralizasyonunu araştırmayı önermişlerdir (134).

Calvo-Guirado ve arkadaşları 2019 yılında yayınlanan; OPDDG kimyasal bileşimini ve miktarını araştırdıkları çalışmalarında, çeşitli sebeplerden (periodontal, ağrı, travma vb.) dolayı çektikleri 100 adet diş Smart Dentin Grinder (Kometabio Inc., Cresskill, NJ, USA) cihazını kullanarak tavsiye edilen protokolde hazırlanmıştır. SEM'de yapılan X-ışını Enerji Dağılımı Analizinde (SEM-EDX) ortalama olarak Ca %23,42 ± 0,34 ve P % 9,51 ± 0,11 değerleri bulundu (75).

Yani kolajen bileşiklerinde hala kalsiyum ve fosfatın mevcut olduğu ve parçacıkların kimyasal bileşiminin, naturel kemikle hemen hemen aynı olduğu gözlemlendi. Parçacıkların özgül ağırlığını ölçmek için helyum gazı piknometresi kullanılmıştır. Çekilmiş dişlerden yapılan otojen partikül greft biyomateryali, kimyasal bileşimi ve elde edilen miktar nedeniyle kemik rejenerasyonu için potansiyel bir greft materyali olarak kabul edilebilir. Dişlerin partikülize hali, orijinal diş boyutunun 3 katı olarak ölçümlenmiştir, öyle ki iki mandibular lateral diş grefti, dört adet insiziv

mandibular çekim soketini doldurabilecek hacme sahip olduğu kaydedilmiştir. 0,25gr dişten 1cc'lik greft materyali elde edilebilmektedir. Öte yandan diş parçacıklarının ortalama gözenek boyutunun $0,431 \pm 0,213\mu\text{m}$ olduğu ve diş partiküllerinin %44,48 oranında intra ve ekstra porlara sahip, oldukça gözenekli bir yapıya sahip olmaları sebebiyle kan dolaşımını arttırıp, dentin grefti rezorpsiyon hızını azaltarak kemik rejenerasyonunu desteklediği iddia edilmektedir. Araştırmanın gösterdiği gibi, gözeneklilik derecesi ve yerleşimi, biyomateriyal greftlerin biyolojik davranışını doğrudan etkilemektedir (75).

2020 yılında yayınlanan klinik bir çalışmada 52 yaşındaki bir hastaya; bilateral sinüs lifting ve maksiller ön bölge ogmentasyonu uygulanmıştır. Periodontal sebeplerden çekilen 11 adet dişten; yumuşak doku ve sement uzaklaştırılmıştır. Dentini yaklaşık 1mm partikül boyutuna milleyen bir cihazla (Takigen, Tokyo, Japan) dentin; buz küpleri ile beraber öğütülmüştür. Dentin partikülleri %2 HNO₃ ile parsiyel olarak demineralize edilip, 0,1 M Tris-Hcl (hydroxymethyl aminomethane hidroklorid) (pH 7.4) ile yıkanmıştır. Elde edilen greftler otojen partikül kansellöz kemik (OPK) karıştırılarak sinüs liftingte ve ön bölge ogmentasyonunda kullanılmıştır. Ön bölgeye uygulanan ogmentasyon işleminden önce rezorbe olabilen bir membran, üzeri ise titanyum mesh ile kapatılmıştır. 3,5 ay sonra dental implantlar yerleştirilmiştir. 4 senelik Dental Volumetrik Tomografi (DVT) sonuçlarına göre kemik seviyesinde ve implant boyun bölgesinde hiçbir rezorbsiyon gözlenmemiştir. OPDDM ile OPK'nin %50 karıştırılarak kullanılması; kemiğin indüklenmesinde ve olgunlaşmasında sinerjik roller üstlenebilecekleri ve birbirlerinin dezavantajlarını telafi etmeleri açısından uzun vadeli prognoza bakıldığında alternatif bir tedavi yöntemi olabileceği öngörülmektedir. Örneğin OPK yüksek derecede osteoprogenitör hücreye sahipken çok çabuk rezorbe olmaktadır. Öte yandan APDDM'de daha az osteojenik potansiyel bulunmaktayken, geç rezorbe olması bir avantaj sağlamaktadır. Rezorbsiyon süresinin DDM'e göre uzamış olması, ogmentasyon sahasındaki kemik kazancının artmasına sebep olmuştur (136).

Çekilen dişlerin demineralize edilerek ogmentasyon işlemlerinde kullanılan formu DDM olarak isimlendirilmiştir. Dentin demineralize olurken yapısındaki büyüme faktörleri açığa çıkarak, aktive olur (200). Fakat demineralize olan dentin osteokondüktif olarak dayanıklılık özelliğini kaybetmesinden dolayı osteoindüksiyon özelliğinin daha sınırlı olduğu bilinen mineralize dentinin kullanılması kemik

kontürlerinin korunmasında, kemik ile kaynaşmasında ve implant desteğinin sağlanmasında daha etkili olmaktadır (112).

Catanzaro-Guimaraes ve arkadaşlarının 1986 yılında yaptıkları bir hayvan çalışmasında demineralizasyon işlemi için dentini 2°C 0,6'lık hidroklorik asitte 5 gün bekletmişlerdir. Ardından dentin greftlerini penisilin-streptomisin karışımında ve 70°C etil alkol solüsyonunda bekletmişlerdir. Sonuç olarak DDM'nin yeni kemik oluşumuna yardım ettiği gözlemlenmiştir (201).

Kim SG ve arkadaşları dentin partiküllerinin sterilizasyonunu 950°C'lik fırında yarım saat bekleterek uygulayıp; paris alçısı ile karıştırarak tatbik ettiklerinde yeni kemik rejenerasyonu açısından olumlu geri bildirimler gözlemlemişlerdir (72, 202).

Bakhtiar H. ve arkadaşları 2019 yılında yayınlanan araştırmalarında sığır dişlerini 250-500 µm partikül boyutuna getirip %17 EDTA çözeltisinde demineralize ederek peptin ile atelopektitize ederek 1., 7. ve 13. günlerde gerçekleşen değişimleri SEM ile inceleyip; 'Energy-Dispersive X-ray Spektroskopisi' ve 'Fourier Transform Infrared Spektroskopisi' de değerlendirmişlerdir. Dental pulpa kök hücrelerinden salınan dentin matriks, asidik fosfoprotein-1, dentin sialofosfoprotein ve osteopontin; gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu ile değerlendirilmiştir. 1. gün demineralizasyon ve atelopektidizasyon yapılan grupta bu proteinler istatistiksel olarak en yüksek değerlerde bulunmuştur. Örnekler daha sonra 30 gün süreyle sıçanlarda kas içine implante edilmiş ve enflamatuar hücreler histolojik olarak ölçülmüştür. Enflamatuar yanıtın ve agregasyonun en yüksek olduğu grup; 1 gün demineralizasyon yapılan grup iken, 1 gün demineralize-atelopektidize edilmiş grupta bu değerlerde anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir. 13 gün demineralize-atelopektidize edilen grupta enflamatuar yanıt, en düşük olarak tespit edilmiştir (203).

Young-Kyun Kim ve arkadaşları 2014 yılında, bir çeşit DDM olan AutoBt, ile yaptıkları sinüs lifting uygulamalarındaki bulgularını yayınlamışlardır. Lateral pencere tekniği ile sinüs lifting uygulanan 37 hastadan 17'sine AutoBt, 11'ine sentetik kemik grefti (Osteon-Genoss, Suwon, Korea) konularak immediyat implantasyon yapılmıştır. Operasyon öncesi-sonrası ve 1 senelik takipte, panoramik röntgen yardımıyla alveol kretinden ölçülen kemik miktarları değerlendirilmiştir. 1 senenin sonunda AutoBt grubunda ortalama 4,89 mm, sentetik kemik grefti uygulanan grupta ise ortalama 6,22 mm'lik kemik kazancı olduğu (P=0,460); kemik erimesinin ise sırasıyla AutoBT ve

sentetik kemik grefti grubunda 0,76 mm ve 0,53 mm olduğu ($p=0,570$) gözlemlenmiştir. Yani istatistiksel olarak bakıldığında anlamlı bir fark görülmemektedir. Bu çalışmada demineralize dentin greftinin (AutoBt) sinüs lifting uygulamasında da kullanılabileceği görülmektedir (158).

Yaptığımız in-vivo çalışmada; osteokondüktif özelliği yüksek olan, saflaştırılmış mineralize formda sığır kemiğinden üretilmiş bir ksenogreft olan Geistlich Bio-Oss® greftini kullandık. İnsandaki spongios kemik dokusuna benzer özellikte, inorganik formda ve mikro-makro gözeneklere sahip bir greft materyalidir. Bu ksenogreft; organik bileşenleri kimyasal yollarla elimize edilerek inorganik sığır kemiğine dönüştürülmüş biyouyumlu bir greft materyalidir. Zaman geçtikçe kemik yeniden şekillenmeye uğrar ve greft materyali etrafındaki kemik ile birleşir. Kullanım alanları arasında sinüs lifting, implant çevresindeki fenestrasyon ve dehiscensler, alveol kreti defektleri ve periodontal defektler sayılabilir. Büyük defeklerde izojenik kemik ile karıştırılmış formu daha başarılı sonuçlar verebilmektedir (204).

Geniş çaplı defektlerde kullanmak için, klinikte sıklıkla kullanılan %50 otojen greft + %50 ksenogreft karışımı ogmentasyon işlemlerinde kullanılmaktadır. Yapılan dentin grefti çalışmalarından yola çıkarak biz de yaptığımız çalışmada, dentinin osteoindüktif yapıda oluşunu varsayarak %50 dentin greft + %50 ksenogreft karışımını, %50 otojen greft + %50 ksenogreft karışımı ile karşılaştırdık. Elde ettiğimiz sonuçlara göre %50 dentin greft + %50 ksenogreft uygulamasının da kemik defektlerinde başarıyla kullanılabileceğini görmekteyiz.

Ksenogreftler günümüzde çoğunlukla sığır kaynaklı olanlardan kullanılırken, mercan kaynaklı ksenogreftler de mevcuttur (205, 206, 207, 208).

Bio-Oss®; osteogenez ve anjiogenez için yapı iskelesi görevindedir ve bu sayede kemik oluşumuna yardımcı olmaktadır. Bio-Oss® ile beraber geç rezorbe olan bir kolajen membran kullanılması sonucunda kemik rejenerasyonu için optimum yüzeyin sağlandığı bildirilmektedir (204). Biz de yaptığımız çalışmada Bio-Gide® kolajen membranını kullanarak aynı etkiyi elde etmeyi arzu ettik.

Ksenojenik kemik greftlerinin maliyeti yüksektir ve aynı zamanda antijen reaksiyonu ve bulaşıcı hastalık riski ihtiva etmektedir. Öte yandan sadece

osteokondüksiyon özelliği mevcuttur (176).

Bazı çalışmalarda çekim soketlerine yerleştirilen ksenogreftlerle, 9 ay sonunda %82,3 kemik elde edilirken (209); bazı araştırmacılar ksenogreft kullanılan soketlerin boş bırakılan soketlere nazaran daha başarısız olduğunu gözlemlemişlerdir (210). Hayvanlarda çekim soketlerine uygulanan Bio-Oss®'un, 3 ay sonunda alveol kretinde daha az rezorbsiyona sebebiyet verdiği gözlemlenmiştir (211).

İzojenik kemik grefti ile Bio-Oss® greftinin karşılaştırıldığı ogmentasyon çalışmalarında; Bio-Oss® greftindeki kemik miktarının radyografik incelemelerde istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha fazla olduğu kaydedilmiştir (212). Bizim çalışmamızda 6. hafta geç dönem yeni kemik oluşum yüzdelerinde; sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı olmasa da; Bio-Oss®, otojen greftten daha fazla ölçümlenmiştir. Yeni kemik yüzdelerinde sayısal farklar olsa da istatistiksel olarak anlamlı sonuçların oluşmama sebebi in-vivo deneyde 'Etik Kurul Kararı' ile belirlenen hayvan sayısının görece az olması olabilir.

Peng Li ve arkadaşları 2015 ve 2017 yılları arasında 43 hasta üzerinde yaptıkları klinik araştırmada periodontal olarak harap olmuş dişleri çekerek, immediyat implantasyon ile kemik ogmentasyonu uygulayıp, post operatif 6-18 ay sonra marjinal kemik rezorbsiyonunu ve implant stabilitesini incelemişlerdir. Çekilen otojen dişlerin mine tabakası uzaklaştırılmış ve ardından otomatik bir mil yardımıyla (Osteo-Mill, Tokyo Iken Co Ltd, Tokyo, Japan) 20 000 rpm'de 7-10 saniye süresince 300-1200 µm (0,5-1,0 mm) boyutlarında partikülize edilerek %2 HNO₃'te 20 dakika boyunca organik matriksin açığa çıkması için demiralize edilmiştir. %5'lik parasetik asit ile yıkandıktan sonra, bakteri ve smear tabakasının eliminasyonu için %75'lik etanol çözeltine 10 dakika tabi tutulmuştur. Hastaların yarısına Bioss®, diğer yarısına da otojen DDM ile ogmentasyon işlemi yapılmış ve bölgeye 2ml PRF uygulanarak Bio-Gide® membran ile kapatılmıştır. İmplant stabiliteyi Osstell Mentor (Integration Diagnostics AB, Goteborg, Sweden) cihazıyla ölçülmüş ve marjinal kemik 6. ve 18. aylarda panoramik radyografilerde incelenmiştir ve farklılık gözlemlenmemiştir. DDM'nin başlangıç radyografisindeki opaklığı, 6 ay içinde normal kemik görüntüsüne dönüşmüştür. Sonuç otojen DDM'nin immediyat implantasyonda ve kemik ogmentasyonunda alternatif materyal olarak kullanılabileceğini gözlemlemişlerdir (120).

Kim YK ve arkadaşları'nın 2014 yılında yayınlanan araştırmalarında aynı hastadan alınan kortikal mandibular kemik, çekilen dişin kökü ve ayrı bir grup olarak kök kısmı, ksenogreft, alloplast ve allogreft kullanarak oluşturdukları deney gruplarında bu greft materyalleri difraksiyon analiziyle karşılaştırılmış, kalsiyum fosfor oranları incelenmiş; fizyokimyasal ve yüzey özellikleri bakımından SEM kullanılarak incelenmiştir. Difraksiyon analizinde allogreft ve diş kökünün kortikal mandibular kemikteki gibi düşük kristalize yapı sergilediği gözlemlenmiştir. Otojen diş kaynaklı greft materyalinin yine otojen kemik ile benzer fizyolojik yapı gösterdiği bildirilmiştir (127).

AutoBT ve otojen blok kemik greftleri benzer seviyelerde kalsiyum iyonu çözünmesi gösterirken, bu durum Bio-Oss®' da daha düşük seviyede gözlemlenmektedir (131). Sinüs liftingte, peri-implanter defektlerde, kemik augmentasyonunda ve soket korumada AutoBT olumlu sonuçlar göstermiştir (131, 127, 158). Bormann ve arkadaşları (2012), hayvanda uyguladıkları dentin greftinin çevresinde erken anjiyogenez ve osseointegrasyon gözlemlemişlerdir (141). Sinüs elevasyonunda Bio-Oss® ile AutoBT'nin benzer histolojik değerler gösterdiği rapor edilmiştir (213). Osteokondüktivite açısından diğer greft materyalleriyle kıyaslandığında, AutoBT ile greftlenen bölgelerde olumlu veriler elde edilmiştir. Bazı çalışmalar AutoBT'nin osteoindüktif özelliği olduğunu savunsa da, özellikle BMP-2 seviyesinin ölçülmesi ve AutoBT'nin partikülize edilip, çeşitli işlemlere tabi tutularak saklanması işlemlerinde zarar görme ihtimalleri üzerinde daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir (214). Bunun yanında ikinci bir cerrahi seans gerektirmesi de dezavantaj olarak görülebilmektedir.

Kang-Mi Pang ve arkadaşları 2016 yılında yayınlanan klinik çalışmalarında 33 bölgede diş çekimi yapmışlardır. 2-4 hafta sonrasında bu bölgelerden 21'i otojen AutoBT ile 15'i ise Bio-Oss® ile greftlenmiştir. Greftlenen bölgeye membran uygulanmamıştır. Vertikal boyut 6 ay sonrasında ölçülerek kaydedilmiştir ve trefan frez ile örnek alındıktan sonra implantlar yerleştirilmiştir. AutoBT de kazanılan kemik miktarı $5,38 \pm 2,65\text{mm}$ iken Bio-Oss® $6,56 \pm 3,54\text{mm}$ olarak kaydedilmiştir. Histomorfometrik olarak bakıldığında AutoBT ile greftlenen bölgede $\%31,24 \pm 13,87$ iken Bio-Oss® ile greftlenen bölgede $\%35,00 \pm 19,33$ kemik kazanımı bulunmuştur. İmplant stability quotient (ISQ) değerleri AutoBT grubunda $72,80 \pm 10,81$ iken Bio-

Oss® grubunda $70,00 \pm 12,86$ olarak tespit edilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. AutoBT grubundaki rezidüel greft oranı $\%8,95 \pm 6,15$ iken Bio-Oss® grubunda $\%17,08 \pm 16,57$ olarak bulunmuştur (214).

Biz de kendi çalışmamızda D grubu ile X grubunu ve hatta D+X grubunu birbirleriyle karşılaştırdığımızda, yakın yeni kemik yüzdeleri görmekteyiz. Bu da mineralize olsun demineralize olsun dentin greftlerinin de klinikte yaygın kullanılan ksenogreftler yerine kullanılabileğini bize göstermektedir. Rezidüel greft miktarındaki değerler de bizim çalışmamız ile paralel doğrultudadır. Ksenogreftin rezidüsü, dentinden daha fazla bulunmuştur.

Rezidüel greft miktarı çok olduğunda kemik-implant teması azalmaktadır. Bizim çalışmamızda da görüldüğü gibi dentin partiküllerinin rezidüel kalıntılarının ksenogreftlerden daha az olması, implant sağ kalımı için dentin grefti kullanımını daha avantajlı durumda göstermekte olduğunu varsayabiliriz.

Yapılan DDM çalışmalarında, birbirinden farklı yöntemler kullanıldığı için ideal veya standart bir metod belirlenemediği için genel bir sonuca varmak oldukça zordur.

Elfana ve ark. 20 tane non-molar diş çekerek; 10 tanesine partikülize ettikleri OMDG, diğer 10 tanesine de ODDG (otojen demineralize dentin greft) kullanarak, kolajen membran ile kapatarak soket koruma tekniğini uygulamışlardır. Demineralizasyon işlemi 30 dakikada 0.6'lık HCL solüsyonu ile yapılmıştır. 6 ay sonunda alınan biopsiler histomorfometrik olarak incelendiğinde sırasıyla OMDG grubundaki yeni kemik ve rezidü yüzdeleri $\%37,55 \pm 8,94$, $\%17,05 \pm 5,58$ iken ODDG grubunda $\%48,4 \pm 11,56$, $\%11,45 \pm 4,13$ tür ($p > .05$). Kret redüksiyonları sırasıyla OMDG ve ODDG'de; kret genişliğinde $0,85 \pm 0,38$ mm ve $1,02 \pm 0,45$ mm, bukkal kret yüksekliğinde $0,61 \pm 0,20$ mm ve $0,72 \pm 0,27$ mm, lingual kret yüksekliğinde $0,66 \pm 0,31$ mm ve $0,56 \pm 0,24$ mm olarak ölçülmüştür ($p > .05$). Sonuç olarak OMDG ve ODDG'nin benzer etkiye sahip olduğu kanısına varılmıştır. Sayısal olarak bakıldığında OMDG'nin daha az rezorbe olduğu gözlemlenmektedir. Burdan diş greftlerini mineralize formda kullanmak osteoindüktif özelliğinin yanı sıra osteokondüktif özelliğini de güçlendirmektedir sonucunu çıkarabiliriz (215).

Dentin greftinin partikül formda kullanımının yanı sıra blok halinde de kullanılması söz konusudur.

2014 yılında Qin ve arkadaşlarının hayvan modeli üzerinde yaptıkları çalışmada dişler 8mm'lik blok parçalara ayrılarak antibiyotikli bir çözeltide bekletilmiştir. Defektlere titanyum vidalar ile sabitlenen diş bloklarının zamanla kemik ile ankiloze oldukları gözlemlenmiş ve bunda dentinde bulunan büyüme faktörlerinin etkili olduğu öne sürülmüştür (147).

Kabir ve arkadaşları 2016 yılında yayınladıkları çalışmalarında çekilen yirmi yaş dişlerinin mine ve pulpalarını uzaklaştırıp, dişler üzerine 1mm'lik 30 adet delik açarak 30 dakika süreyle 0,34 HNO₃ çözeltisinde bekletmişler ve blok DDM iskeleti elde etmişlerdir. 6 adet koyunun iliak kemiğinde oluşturulan kritik boyutlu defektlere (10mm x 15mm x 9mm) yerleştirilen blok DDM greftlerinin (uzunluk $13,8 \pm 0,92$, çap $8,41 \pm 0,76$) üzerlerine membran uygulanmamıştır. 2 ve 4 ay sonunda micro-CT ve 3D micro-CT ile incelenip, histolojik analizleri yapılmıştır. Bütün örneklerde DDM blok greftinin çevresinde, pulpa odasında ve açılan makro porların içinde kemik dokusunun ve kemik iliğinin olduğu gözlemlenmiştir. Burdan yola çıkan Kabir ve arkadaşları; uygulanan blok DDM greftinin osteoindüksiyon özelliği olduğunu savunmaktadır. 4 aylık zaman diliminde oluşan yeni kemik dokusunun 2. aya kıyasla daha fazla olduğu ve blok DDM içerisindeki kemik örgüsünün artmış olduğu belirgin bir şekilde gözlemlenmektedir. Orijinal kemik ile greftli bölge yeni oluşan kemik arasında istatistiksel olarak radyografik densite farkı saptanmamıştır. Histolojik analizde 2. ayın sonunda yeni kemiğin blok DDM'ye direkt olarak bağlandığı, osteoblast ve osteod hücrelerinin osteogenezis prosesini demonstre ettikleri görülmektedir. İndüklenmiş kemik köprülerinin DDM adacıkları arasında olduğu gözlemlenmektedir. 4. ayda daha gelişmiş bir kemik dokusu, çok sayıda osteoblast ve çok çekirdekli dev hücreler tespit edilmiştir. Histomorfometrik olarak bakıldığında 2. ayda $60,38 \pm 7,39$ ve 4. ayda $42,53 \pm 2,19$ olan blok DDM oranlarının; yeni kemik oluşumu açısından bakıldığında sırasıyla $4,2 \pm 0,54$ ve $31,1 \pm 15,16$ olarak bulunduğu ve aylara göre arttığı gözlemlenmektedir (216).

Büyük çaplı defektlerde dentinin blok halinde kullanılması yüksek stabilite ve kullanım kolaylığı açısından tavsiye edilmektedir (145). Birçok çalışmada blok halinde kullanılan tavşan kaynaklı veya insan kaynaklı dentin blok grefti; tavşan kafatasına yerleştirilmiş ve 3 ay içerisinde enfeksiyon görülmeksizin kemik-dentin ankilozunun olduğu ve kemikleşmenin başladığı gözlemlenmiştir (146, 147). Blok dentin

kullanılırken, greft üzerinde porlar oluşturulmasının vaskülarizasyonu ve osseointegrasyonu arttırdığı savunulmaktadır (141).

Schwarz ve arkadaşları 2016 yılında birbirine çok benzer iki adet çalışma gerçekleştirmişlerdir (150, 151). 8 adet köpek üzerinde uygulanan deneylerde köpeklerin üst premolar dişleri çekilmiş, alt çenede de 9mm x 6mm x 10mm ebatlarında 3'er adet defekt oluşturulmuştur. Elde edilen premolar dişlerin öncelikle kron kısımları separe edilmiştir. Kurgulanan 3 gruptan birinde premolar dişin köküne, kalsiyum hidroksit ile kanal tedavisi yapılmıştır (150). Kanal tedavisi yapılan kök, tedavi uygulanmayan diş kökü ve otojen blok greft, titanyum vidalar ile defekte sabitlenmiştir. Diş köklerinin kemiğe gelecek kısımlarındaki sement tabakası uzaklaştırılarak ankiloz oluşması için dentinin açığa çıkması sağlanmıştır. Bir gruptaki dişlere kanal tedavisi yapılmasının sebebi, pulpanın kemik oluşumuna etkisinin merak edilmesidir. 12 hafta submarginal iyileşen defeklere dental implantlar (4,1x10mm SLA® Institut Straumann AG, Basel, Switzerland) yerleştirilerek 3 hafta daha beklenmiş ve örnekler elde edilmiştir. Örnekler %10'luk neutral buffered formalin solüsyonunda 4-7 gün bekletildikten sonra, alkol ve xylene ile dehidrate edilmiştir. Metilmetakrilat uygulamasının ardından 40 µm incelikte kesilen örnekler Toluidine Blue ile boyanmıştır. Histomorfometrik analizde kemik-implant teması ve yeni kemik oluşumu açısından istatistiksel bir fark bulunamamıştır. Bunun yanında kanal tedavisi görmüş dişlerin uygulandığı donör sahalarda; oluşabilecek enfeksiyon sebebiyle daha çok ekspozisyon riski gözlemlenmiştir. Yaptığı benzer çalışmada ise erken dönem blok premolar dentin grefti ile otojen blok greftinin osseointegrasyonu eşit şekilde desteklediği kaydedilmiştir. Öte yandan İmplant Removal Tork (RT) değeri; otojen blok greft bölgesine nazaran dentin blok bölgesinde daha az bulunmuştur (152).

2018 yılında Schwarz ve arkadaşları bu sefer de klinik prospektif bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Seçilen 30 hastanın 15'ine otojen blok dentin grefti, diğer 15'ine ise otojen kortikal blok kemik grefti yerleştirilerek 26 hafta beklenmiş ve greftlenen bölgeye titanyum implantlar yerleştirilmiştir. Çekilen yirmi yaş dişlerinin kronları ve köklerdeki sement tabakası uzaklaştırılmıştır. Kökler yarıya bölünerek kanaldaki pulpa dokusu temizlenmiştir. Kemik rejenerasyonu açısından değerlendirildiğinde; otojen dentin blok greft uygulanan bölgelerde daha az rezorbsiyon ve daha çok kemik kazancı tespit edilmiş olsa da her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark

bulunamamıştır. Her iki grubun yumuşak doku iyileşmelerinin sorunsuz olduğu gözlemlenmiştir. Blok otojen dentin uygulamasının ogmentasyonda kemik rejenerasyonunu desteklediği sonucuna varılmıştır. Dentin blok greftin, implant stabilitesi ve başarısı üzerindeki etkinliği gelecek çalışmaların konusu olabilir (153).

Otojen kemik ile otojen diş köklerinin blok olarak köpek alveol kemiğine uygulandığı bir çalışmada, 12 hafta içerisinde her iki grupta da homojen olarak organize olmuş paralel fibrilli woven kemik oluşumu ve osteokalsin antijen reaktivitesi (medianOC: dişte %6,71 ve otojen kemikte %2,73) gözlemlenmiştir. Bunun yanında kemik hacmi/ doku hacmi; diş grubunda 0,34, otojen kemik grubunda 0,21 bulunarak mineralize blok diş greftinin erken dönem osseointegrasyonda otolok kemiğe alternatif olabileceği kaydedilmiştir (152). Biz de, yaptığımız çalışmada kullandığımız mineralize partikül dentin greftinin her bir granülünde ‘OC antijen reaksiyonu’ gerçekleştiğini öngörebiliriz.

Rucha Shah ve arkadaşları 2020 yılında yayınlanan klinik çalışmalarında blok dentin greft uygulamışlardır. Periodontal olarak hasarlı dişleri çekip; bu dişleri mine-sement sınırından keserek kron ile köklerini ayırmışlardır. Sement ve pulpa uzaklaştırılarak, blok greft olarak kullanılacak kök kısımları dentin temizleme solüsyonunda (KometaBio, New Jersey, USA) 10 dakika, PBS’de 2-3 dakika bekleterek bakterilerden ve organik debristen arındırmışlardır. Vidayla sabitlenen diş kökleri kolajen membran ile kapatılmıştır. 6 ay sonrasında kemik kazancı yaklaşık olarak ~5,8 mm bulunarak, istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç tespit edilmiştir. Histolojik olarak bakıldığında 6 ay içerisinde hiç dentin greft materyalinin kalmadığı ve hepsinin yeni kemik ile yer değiştirdiği görülmüştür (217).

2017 yılında Amit S. ve arkadaşları dentin greftler üzerinde yaptıkları kapsamlı review çalışmasında (18 in-vivo hayvan çalışması, 4 klinik randomize kontrollü, 1 kohort ve 3 kontrollü deney) diş kaynaklı kemik greftini incelemişlerdir. Klinik çalışmalarda %71,42 ve hayvan deneylerinde %55,56 oranında, kontrol grubuyla diş grefti arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Histolojik olarak dentin-kemik kompleksinin oluştuğu tespit edilmektedir. Radyografik olarak 3 boyutlu tomografide bakıldığında diş greftlerinin optikal dentisitelerinin daha büyük olduğu görülmüştür. Boş kontrol gruplarına ($1,33 \pm 2,31$) göre diş greftlerinde ($77,13 \pm$

15,30) istatistiksel olarak daha fazla kemik oluşumu sergilenmiştir (125). 1 senelik klinik takipte diş greftinin, sentetik kemik greftine (%30 HA + %70 β -TCP) nazaran daha fazla rezorbsiyona uğradığı kaydedilmiştir (158). Uzun zamanlı çalışmalara ihtiyacımız olsa da 2-24 hafta arasındaki değişken rezorbsiyon süreleri göz önüne alındığında diş greftlerindeki remodeling süreci hakkında net bilgilere ulaşamamaktayız. Yapılan çalışmalarda rezidüel diş grefti 6 ay içinde ortalama %29 ile %6,15 arasında ölçümlenmiştir. Öte yandan bu sonuçların sığır kaynaklı ksenogreftler ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı belirtilmektedir (214). Klinik ve in-vivo çalışmalarda çok çeşitli sonuçların ortaya çıkmasındaki sebep; diş greftlerini oluştururken standart bir protokolün bulunmamasıdır. Bu konu hakkında yapılacak daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Sonuç

Diş çekiminden 15 dakika gibi kısa bir süre içinde dişi greft haline getirerek soket koruma ve ogmentasyon işlemlerinde kullanabilmek, oldukça pratik ve başarılı bir yöntemdir.

Sonuçlarımız, otojen mineralize dentin ile osteojenik hücreler arasındaki benzer etkileşimi ortaya koymaktadır.

Soket koruma işlemi için bir biyomateriyal olarak otojen dişler, etkili bir kemik desteği sağlayarak; klinikte sık kullanılan otojen greft ve ksenogreftlere alternatif olarak güvenle ve başarıyla kullanılabilirler.

Otojen dişler, klinik, radyolojik ve histolojik sonuçlar açısından potansiyel arz etmektedir.

Bununla birlikte, bu greft etkinliği hakkında kesin bir sonuca varmak için hasta seçimi, dentin greftin elde edilme yolu, cerrahi prosedür ve diğer greftlerle karşılaştırma açısından standart protokollerle daha fazla araştırma yapılması şarttır. Özellikle dentin elde etme protokollerini birbiriyle karşılaştıran çok az sayıda çalışma vardır. Bu aşamadaki çalışmaların standardizasyonu ile daha kesin bilgilere ulaşabilmemiz mümkün olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Boskey AL, Posner AS. Bone structure, composition and mineralization. Orthop Clin North Am, 1984; 15: 597. [L] [SEP]
2. Rubin E, Farber JL. Pathology. JB Lippencott, Philedelphia, 1988. [L] [SEP]
3. Jee WSS. Integrated Bone Tissue Physiology: Anatomy and Physiology. In: [L] [SEP] Cowin SC, editor. Bone Mechanics Handbook. 2.ed. CRC Press, Florida; 2001. [L] [SEP] p.1-68. [L] [SEP]
4. Mercan AŞ. Farklı Antiembolik Ajanların Kırık İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Ratlarda İncelenmesi. T.C. Sağlık Bakanlığı Baltalimanı Metin Sabancı Kemik Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1. Ortopedi Ve Travmatoloji Kliniği, Uzmanlık Tezi 2008; İstanbul. [L] [SEP]
5. Junguiera LC, Carneiro J, Kelley RO. Temel Histoloji. 8.Baskı. İstanbul: Barış [L] [SEP] Kitabevi Ltd. Sti; 1998; 132-151. [L] [SEP]
6. Erdoğan D, Hatipoğlu M, Görgün M, Ilgaz C. Genel Histoloji, İkinci baskı. Ankara: Hatipoğlu Yayınevi; 1999. [L] [SEP]
7. Junqueira LC, Carneiro J. Basic Histology 10th ed. McGraw-Hill, New York, 2003; 144-146. Chapter 8. [L] [SEP]
8. Kierszenbaum AL. Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology, 1st ed. Mosby Inc, St. Louis, 2002; Chapter 5: 127-131. [L] [SEP]
9. Hollinger JO, Buck CD, Bruder PS. Biology of bone healing: Its impact on clinical therapy. In 'Tissue engineering: Applications in maxillofacial surgery and periodontics'. Lynch SE, Genco RJ, Marx RE. 1st ed. Quintessence Publishing, 1999; Chapter 1. [L] [SEP]
10. Cowin SC. Bone mechanics handbook. 2nd ed. Boca, Raton, London, New

- York, Washington: CRC Press, 2001; 1: 1-68, 2: 1-24.
11. Soydan N. Genel histoloji. İstanbul Üniversitesi Basımevi ve Film Merkezi, İstanbul. 1985; 100-119.
 12. Fawcett DW. Bloom and Fawcett: A Textbook of Histology. Twelfth Edition. New York: Chapman & Hall; 1994.
 13. Lowe JS, Anderson PG. Steven & Lowe's Human Histology. 4th Ed., Philadelphia, Elsevier Mosby. 2015; 246-259.
 14. Kierszenbaum AL, Tres LL. Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology. 4th Ed., Philadelphia, Elsevier. 2016; 145-179.
 15. Kalfas IH. Principles of Bone Healing. Neurosurg Focus. 2001;10:1-4
 16. Vasudeva N, Mishra S. Inderbir Singh's Textbook of Human Histology with Colour Atlas and Practical Guide. 7th Ed., New Delhi, Jaypee. 2014; 87-106.
 17. St. George's university of London, 2006
 18. Korkusuz F, Korkusuz P, Özkul A. Identification of substance P receptors on fibroblast-like cells derived from periosteum: An in-vitro cell culture study. Eklemleri Hastalıkları Cerrahisi, İstanbul, 2006; 17: 94-100.
 19. Jee WSS. Structure and function of bone tissue. In 'Principles of basic and clinical Science.' Bronner F, Worrell RV. CRC Press, Boca Raton, Florida, 1999; Chapter 1.
 20. Martin RB, Burr DB. Mechanical adaptation, in structure, function and adaptation of compact bone. Raven Press, New York, 1989; Chapter 2.
 21. Garg AK. Bone biology, harvesting and grafting for dental implants. Quintessence Publishing Co Inc, Chicago, 2004.
 22. Young B, Heath JW. Wheather's Functional Histology 4th ed. Churchill Livingstone, Edinburgh, 2000; 142-151.
 23. Gartner LP, James LH. Color Atlas of Histology. 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2000; Chapter 4; 73.

24. Lindhe J, Lang NP. Clinical Periodontoloji And İmplant Dentistry. 6nd ed. West Sussex, UK: Wiley Blackwell;2015.
25. Cruess RL. Healing of bone, tendon and ligament: Fractures. 2nd ed. Lippincott Co. Philedelphia, 1984; 248: 283-309. [L]
[SEP]
26. Marks SC, Popoff SN. Bone cell biology: The regulation of development, structure [L]
[SEP]and function in the skeleton. The American Journal of Anatomy, 1988; 183: 1-44. [L]
[SEP]
27. Parfitt AM. The physiologic and clinical significance of bone histomorphometric [L]
[SEP]data. In ‘Bone histomorphometry: Techniques and interpretation. Recker RR. CRC Press, Boca Raton, Florida, 1983; 143. [L]
[SEP]
28. Kılıçoğlu SS. Mikroskobi düzeyinde kırık iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, 2002; 55(2): 143-150. [L]
[SEP]
29. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Robbin’s Pathologic Basis of Disease. Fifth Ed. London: WB Saunders Co; 1994.
30. Brond AR, Rubin TC. Fracture Healing. Surgery of the Musculoskeletal System. 2nd ed. New York: Churchill Livingstone; 1990. p.93-114
31. Schindeler A, McDonald MM, Bokko P, Little DG. Bone remodeling during fracture repair: The cellular picture. Semin Cell Dev Biol. 2008; 19(5): 459-466.
32. Hayda RA, Brighton CT, Esterhai JL Jr. Pathophysiology of delayed healing. Clin Orthop Relat Res. 1998; 355 :31-40.
33. Schropp L, Wenzel A, Kostopoulos L, Karring T. Bone healing and soft tissue contour changes following singletooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry 2003b; 23(4): 313–323.
34. Khoury F, Antoun H, Missika P. Bone Augmentation in Oral Implantology. 1st Ed., United Kingdom, Quintessence Publishing Co. 2007; 10-11.
35. Darby I, Chen S, De Poi R. Ridge preservation: what is it and when should it be considered. Aust Dent J 2008; 53(1): 11-21.
36. Irinakis T. Rationale for socket preservation after extraction of a single rooted tooth when planning for future implant placement. J Can Dent Assoc 2006;

- 72(10): 917–922.
37. Sheety V, Bertolami CN. Principles of Medicine, Surgery and Anesthesia. In: Miloro M, Larsen PE, editors. Peterson's Principle of Oral and Maxillofacial Surgery. 2nd Ed., Ontario, BC Decker Inc. 2004; 3-14.
 38. Misch, C. E., & Suzuki, J. B. (2008). Tooth extraction, socket grafting, and barrier membrane bone regeneration. Contemporary Implant Dentistry, 3rd ed. St. Louis: Mosby, 870-904.
 39. ATAY, Mehtap Herdem; FR, Yılmaz. İki farklı kemik greftinin histopatolojik olarak incelenmesi. Dicle Tıp Dergisi, 2005, 32.4: 172-178.
 40. Elsalanty ME, Genecov DG (2009). Bone grafts in craniofacial surgery. Craniomaxillofac Trauma Reconstruction. 2: 125-134.
 41. Block MS, Haggerty CJ. Interpositional osteotomy for posterior mandible ridge augmentation. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 2009;67(11):31-9.
 42. Hepşenol AY. Atrofik kretli hastalarda farklı ogmentasyon yöntemleri uygulanarak yerleştirilen dental implantların klinik başarısının değerlendirilmesi: Ege Üniversitesi; 2008)
 43. Misch CE, Dietsh F. Bone-grafting materials in implant dentistry. Implant dentistry. 1993;2(3):158-66.
 44. Haggerty CJ, Vogel CT, Fisher GR. Simple bone augmentation for alveolar ridge defects. Oral and maxillofacial surgery clinics of North America. 2015;27(2):203-26.
 45. Marx RE. Bone and bone graft healing. Oral and maxillofacial surgery clinics of North America. 2007;19(4):455-66.
 46. Kökden A, Türker M. Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan kemik greftleri ve biyomateryaller. Cumhuriyet Üni. Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 1999; 2(2): 134-140.
 47. Bowers G, et al. Histologic comparison of regeneration in human intrabony defects when osteogenin is combined with demineralized freeze-dried bone allograft and with purified bovine collagen. Journal of periodontology 1991;62(11):690-702.
 48. Brydone AS, Meek D, MacLaine S. Bone grafting, orthopaedic biomaterials and

clinical need for bone engineering. Proc Inst Mech Eng H, 2010; 224(12): 29-43.

[L]
[SEP]

49. Palmer P, Palmer R. Dental implants. Implant surgery to overcome anatomical [L]
[SEP]difficulties. Br Dent J, 1999; 187(10): 532-540. [L]
[SEP]
50. Raghoobar GM, et al. Augmentation of the maxillary sinus floor with autogenous bone for the placement of endosseous implants: a preliminary report. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery 1993;51(11): 1198-1203.
51. Jensen J, Sindet-Pedersen S. Autogenous mandibular bone grafts and osseointegrated implants for reconstruction of the severely atrophied maxilla: a preliminary report. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery 1991;49(12):1277-1287.
52. Testori T, Weinstein R, Wallace S. Maxillary sinus surgery and alternatives in treatment. Quintessence Publ.; 2009.
53. Triplett RG, Schow SR. Autologous bone grafts and endosseous implants: complementary techniques. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery 1996;54(4):486-494. [L]
[SEP]
54. Misch CE. Günümüz Diş Hekimliğinde İmplantoloji. Üçüncü Baskı. Ankara: Atlas Kitapçılık Tic. Ltd. Şti.; 2011.
55. Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E. Bone substitutes: an update. Injury 2005;36(3):S20-S27. [L]
[SEP]
56. Barrack RL. Bone graft extenders, substitutes, and osteogenic proteins. The Journal of arthroplasty 2005;20:94-97. [L]
[SEP]
57. Buck BE, Malinin TI. Human Bone and Tissue Allografts: Preparation and Safety. Clinical orthopaedics and related research 1994;303:8-17. [L]
[SEP]
58. Misch CE, Dietsh F. Bone-grafting materials in implant dentistry. Implant

dentistry 1993;2(3):158-166.

59. Cheng EY, Gebhardt MC. Allograft reconstructions of the shoulder after bone tumor resections. *Orthop Clin North America*, 1991; 22: 37-48. ^[L]_[SEP]
60. Ehrler DM, Vaccaro AR. The use of allograft bone in lumbar spine surgery. *Clin Orthop* 2000;371:38-45. ^[L]_[SEP]
61. Sandhu HS, Grewal HS, Parvataneni H. Bone grafting for spinal fusion. *Orthop Clin North Am* 1999;30:685-698. ^[L]_[SEP]
62. Christiaan M, et al. Autogenous maxillary bone grafts in conjunction with placement of ITI endosseous implants: A preliminary report. *International journal of oral and maxillofacial surgery* 1992;21(2):81-84. ^[L]_[SEP]
63. Urist MR, et al. Inductive substrates for bone formation. *Clinical orthopaedics and related research* 1968;59:59-96.
64. Kao ST, Scott DD. A review of bone substitutes. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*, 2007; 19(4): 513-521. ^[L]_[SEP]
65. Ramirez-Fernandez MP, Calvo-Guirado JL, Delgado-Ruiz RA, Mate-Sanchez del Val JE, Gomez-Moreno G. Experimental model of bone response to xenografts of bovine origin (Endobon): A radiological and histomorphometric study. *J Clin Oral Implants Res*, 2011; 22(7): 727-734.
66. Garg AK. Current concepts in augmentation grafting of the maxillary sinus for placement of dental implants. *Dent Implantol Update*, 2001; 12(3): 17-22. ^[L]_[SEP]
67. Cornellini R, Cangini F, Martuscelli G, Wennström J. Deproteinized bovine bone and biodegradable barrier membranes to support healing following immediate placement of transmucosal implants: A short-term controlled clinical trial. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 2004; 24(6): 555-563. ^[L]_[SEP]
68. Precheur HV. Bone graft materials. *Dental Clinics of North America* 2007;

51(3): 729- 746.

69. Pasinli A, Aksoy RS. Yapay kemik uygulamaları için hidroksiapatit. *Biyoteknoloji Elektronik Dergisi*, 2010; 1(1): 41-51. ^[L]_[SEP]
70. Allison DC, Lindberg AB, Samimi B. A comparison of mineral bone graft substitutes for bone defects. *US Oncology and Hematology*, 2010; 7(1): 38-49.
71. Saygu I, Özdemir A. Alloplastik greft materyallerinin periodontal cerrahide kullanımı. *Akademik Dental Dişhekimliği Dergisi*, 2000; 2(1): 1-8.
72. Kim S, Yeo H, Kim YK. Grafting of large defects of the jaws with a particulate dentin-plaster of Paris combination. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1999; 88: 22- 25. ^[L]_[SEP]
73. Göksoy CV, Sağlam F, Sandallı P, Efeoğlu A, Onan U. Alveol kemiğin yapısı, rezorpsiyon mekanizmaları ve alloplastik kemik greftlerine yaklaşım. *Dişhekimliğinde Klinik*, 1996; 1: 29-33. ^[L]_[SEP]
74. Chew KK, Low KL, Sharif Zein SH, McPhail DS, Gerhardt LC, Roether JA, Boccaccini AR. Reinforcement of calcium phosphate cement with multi-walled carbon nanotubes and bovine serum albumin for injectable bone substitute applications. *J Mech Behav Biomed Mat*, 2011; 4(3): 331-339. ^[L]_[SEP]
75. Calvo-Guirado, J. L., Ballester Montilla, A., De Aza, P. N., Fernández-Domínguez, M., Gehrke, S. A., Pino, C. D., ... & Maté-Sánchez de Val, J. E. (2019). Particulated, Extracted Human Teeth Characterization by SEM–EDX Evaluation as a Biomaterial for Socket Preservation: An In Vitro Study. *Materials*, 12(3), 380.
76. Fan, H.; Ikoma, T.; Tanaka, J.; Zhang, X. Surface structural biomimetics and the osteoinduction of calcium phosphate biomaterials. *Nanosci. Nanotechnol.* 2007, 7, 808–813. ^[L]_[SEP]
77. Saldana, L.; Sanchez-Salcedo, S.; Izquierdo-Barba, I.; Bensiamar, F.; Munuera,

- L.; Vallet-Regi, M.; Vilaboa, N. Calcium phosphate-based particles influence osteogenic maturation of human mesenchymal stem cells. *Acta Biomater.* 2009, 5, 1294–1305. ^[1]_{SEP}
78. Gauthier, O.; Bouler, J.M.; Aguado, E.; Legeros, R.Z.; Pilet, P.; Daculsi, G. Elaboration conditions influence physicochemical properties and in vivo bioactivity of macroporous biphasic calcium phosphate ceramics. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 1999, 10, 199–204. ^[1]_{SEP}
 79. Rivera-Munoz, E.; Diaz, J.R.; Rogelio Rodriguez, J.; Brostow, W.; Castano, V.M. Hydroxyapatite spheres with controlled porosity for eyeball prosthesis: Processing and characterization. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2001, 12, 305–311. ^[1]_{SEP}
 80. Calvo-Guirado, J.L.; Aguilar-Salvatierra, A.; Ramírez-Fernández, M.P.; Maté Sánchez de Val, J.E.; Delgado-Ruiz, R.A.; Gómez-Moreno, G. Bone response to collagenized xenografts of porcine origin (mp3®) and a bovine bone mineral grafting (4BONE(TM) XBM) grafts in tibia defects: Experimental study in rabbits. *Clin. Oral Implants Res.* 2016, 27, 1039–1046. ^[1]_{SEP}
 81. Maté Sánchez de Val, J.E.; Calvo-Guirado, J.L.; Gómez-Moreno, G.; Pérez-Albacete Martínez, C.; Mazón, P.; De Aza, P.N. Influence of hydroxyapatite granule size, porosity, and crystallinity on tissue reaction in vivo. Part A: Synthesis, characterization of the materials, and SEM analysis. *Clin. Oral Implants Res.* 2016, 27, 1331–1338. ^[1]_{SEP}
 82. Carotenuto, G.; Spagnuolo, G.; Ambrosio, L.; Nicolais, L. Macroporous hydroxyapatite as alloplastic material for dental applications. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 1999, 10, 671–676. ^[1]_{SEP}
 83. Maté-Sánchez de Val J.E.; Calvo-Guirado J.L.; Delgado-Ruiz R.A.; Ramírez-Fernández M.P.; Negri B.; Abboud M.; Martínez I.M.; de Aza P.N.; Physical properties, mechanical behavior, and electron microscopy study of a new α -TCP block graft with silicon in an animal model. *J Biomed Mater Res A.* 2012 , 100, 3446–3454. ^[1]_{SEP}

84. Krekmanov, L. The efficacy of various bone augmentation procedures for dental implants: A Cochrane systematic review of randomized controlled clinical trials. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 2006, 21, 696–710. [L]
[SEP]
85. Chopra, P.M.; Johnson, M.; Nagy, T.R.; Lemons, J.E. Micro-computed tomographic analysis of bone [L]
[SEP]healing subsequent to graft placement. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 2009, 88, 611–618. [L]
[SEP]
86. Karaca İ., Çılbır Ö, Sabuncuoğlu B, Akbay C. Saf Mineralize Kemik Grefti P yrostun Membranlı ve Membransız Uy gu lama ların ın Ke mik Đyileşmesi Üzerindeki Etkilerinin Deneysel Olarak Đncelenmesi. *Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi* 1999; 2(2): 91-97.
87. Çehreli FG. Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonuna Yönelik Periodontal Cerrahi Girişimler. *Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg.* 2003; 13(2): 76-83.
88. Malmquist JP . Successful implant restoration with the use of barrier membranes. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 1999; 57(9): 1114–6.
89. Wang H, Boyapati L. ‘PASS’ principles for predictable bone regeneration. *Implant Dentistry* 2006; 15: 8-17.
90. Develioğlu H, Taner Đl. Duramater Membranın P roksimal Kemik içi Defektlerinde Kullanımı. *Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi* 2000; 3: 99-101.
91. Cortellin LP, Prato G, Baldi C, Clauser C. Guided Tissue Regeneration with Different Materials. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 1990; 10: 137-15
92. Sanrı M. Cerrahi Olarak Oluşturulan Kemik Defektlerinde Sığır Kaynaklı Anorganik Kemik Grefti ve Kanama Durdurucu Bitki Ekstresinin Kombine Kullanımının Kemik Rejenerasyonuna Etkisi. *Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi* 2013; Adana.
93. Görmez U. Dental Đmplant Çevresinde Cerrahi Olarak Oluşturulan Kemik

Defektlerinde Sığır Kaynaklı Laktoferrinin Kemik Rejenerasyonuna Etkisi. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi 2008; Adana. [1]
[2]

94. Fontana F, Santoro F, Maiorana C, Iezzi C, Piatelli A, Simion M. Clinical and histological evaluation of allogeneic bone matrix versus autogenous bone chips associated with titanium reinforced e-PTFE membrane for vertical ridge augmentation: A prospective pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008; 23: 1003-1012.
95. Caffesse RG, Nasjleti CE, Morrison EC, Sanchez R. Guided tissue regeneration: comparison of bioabsorbable and non-bioabsorbable membranes. Histologic and histometric study in dogs. *J Periodontol* 1994; 65: 583-91.
96. Bornstein M, Von Arx T, Bosshardt DD. Properties of barrier membranes. *Çinde Buser D editor. 20 years of guided bone regeneration in implant dentistry. 2th edition. Berlin: Quintessence; 2009. pp. 47-69.*
97. Karaman GT. Türk Toplumunda Üst 1. ve 2. Büyük Azı Dişlerinin Kanal Morfolojileri ve Yaş - Cinsiyete Bağlı Gösterdikleri Değişiklikler. Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi 2008; Ankara
98. Oi T, Saka H, Ide Y. Three-dimensional observation of pulp cavities in the maxillary first premolar tooth using micro-CT. *Int Endod J.* 2004; 1: 46-51
99. Chiego DJ. *Essentials of Oral Histology and Embryology: A Clinical Approach.* 4th Ed., Missouri, Elsevier. 2014; 101-150.
100. Pashley D. Pulpodentin Complex. Hargreves KM, Goodis HE. Seltzer and Bender's Dental Pulp. IL, Quintessence Publishing Co, Inc; 2002: 63-93.
101. Towbridge H, Kim S, Suda H. Structure and Functions of the Dentin and Pulp Complex. Cohen S, Burns RC, editors. *Pathways of the Pulp.* 8th Ed., St. Louis; Mosby. 2002; 411-419

102. Sturdevant JR, Lundeen TF, Sluder TB. Clinical Significance of Dental Anatomy, Histology, Physiology and Occlusion. Sturdevant JR, Heymann HO, Swift EJ. Sturdevant's Art & Science of Operative Dentistry. Fourth Edition, St. Louis, Mosby Inc.;2002;13-62.
103. Nanci, A. Ten cate's oral histology development, structure, and function, 8th ed., India, Elsevier. 2012; 165-183.
104. Kim YK, Lee J, Um IW, Kim KW, Murata M, Akazawa T, Mitsugi M. Tooth derived bone graft material. J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg. 2013; 39(3): 103-11.
105. Rosenberg, E., & Rose, L. F. (1998). Biologic and clinical considerations for autografts and allografts in periodontal regeneration therapy. Dental clinics of North America, 42(3), 467-490.
106. Younger, E. M., & Chapman, M. W. (1989). Morbidity at bone graft donor sites. Journal of orthopaedic trauma, 3(3), 192-195.
107. Giannoidis, P.V., Dinopoulos, H. & Tsiridis, E 2005 Bone substitutes; an update. Injury 36: 20-27
108. Lin, F.H., Chen, T.M., Lin, C.P. & Lee, C.J. (1999) The merit of sintered PDLA/TCP composites in management of bone fracture internal fixation. Artificial Organs 23:186-194.
109. Murata , M., Akazawa, T., Mitsugi, M., Kabir, M.A., Um, I.W., Minamida, Y., Kim, K.W., Kim, Y.K. & Qin, C. (2013) Autograft of dentin materials for bone regeneration. In: Pignatello, R., ed. Advances in Biomaterials Sciences and Biomedical Applications, 1st edition, 391–403. Croatia: InTech
110. Finkelman, R.D., Mohan, S., Jennings, J.C., Taylor, A.K., Jepsen, S. & Baylink, D.J. (1990) Quantitation of growth factors IGF-I, SGF/IGF-II, and TGF-beta in human dentin. Journal of Bone and Mineral Research 5: 717–723.

111. Andersson, L.; Blomlof, L.; Lindskog, S.; Feiglin, B.; Hammarstrom, L. Tooth ankylosis. Clinical, radiographic and histological assessments. *Int. J. Oral Surg.* 1984, 13, 423–431.
112. Binderman, I.; Hallel, G.; Casp, N.; Yaffe, A. A Novel Procedure to Process Extracted Teeth for Immediate Grafting of Autogenous Dentin. *J. Interdiscipl. Med. Dent. Sci.* 2014, 2.
113. Calvo Guirado, J.L. Nuevo procedimiento para procesar los dientes extraídos como injerto en alveolos postextracción. *Gaceta Dent.* 2017, 290, 96–113. ^[1]_{SEP}
114. Andersson, L. Dentin xenografts to experimental bone defects in rabbit tibia are ankylosed and undergo ^[1]_{SEP}osseous replacement. *Dent. Traumatol.* 2010, 26, 398–402.
115. Cardaropoli, D., Nevins, M., & Schupbach, P. (2019). New Bone Formation Using an Extracted Tooth as a Biomaterial: A Case Report with Histologic Evidence. *International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 39(2).
116. Nanci A, Smith CE. Matrix-mediated mineralization in enamel and the collagen-based hard tissues. In: Goldberg M, Boskey A, Robinson C, editors. *Chemistry and biology of mineralized tissues*. Rosemont, IL, 1999, American Academy of Orthopaedic Surgeons.
117. Hutmacher DW, Schantz JT, Lam CXF, Tan KC, Lim TC (2007) State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from a biomaterials perspective. *J Tissue Eng Regen Med* 1:245–260.
118. Bang, G. & Urist, M.R. (1967) Bone induction in excavation chambers in matrix of Decalcified dentin. *Archives of Surgery* 94: 781–789. ^[1]_{SEP}
119. Yeomans, J.D. & Urist, M.R. (1967) Bone induction by decalcified dentine implanted into oral, osseous and muscle tissues. *Archives of Oral Biology* 12: 999–1008.
120. Li, P., Zhu, H., & Huang, D. (2018). Autogenous DDM versus Bio-Oss granules in GBR for immediate implantation in periodontal postextraction sites: A

prospective clinical study. *Clinical implant dentistry and related research*, 20(6), 923-928.

121. Reis-Filho CR, Silva ER, Martins AB, Pessoa FF, Gomes PVN, de Araújo MSC, Miziara MN, Alves JB (2012) Demineralised human dentine matrix stimulates the expression of VEGF and accelerates the bone repair in tooth sockets of rats. *Arch Oral Biol* 57:469–476.
122. de Oliveira G, Miziara M, da Silva E et al (2013) Enhanced bone formation during healing process of tooth sockets filled with demineralized human dentine matrix. *Aust Dent J* 58:326–332.
123. Kim Y-K, Yun P-Y, Um I-W, Lee HJ, Yi YJ, Bae JH, Lee J (2014) Alveolar ridge preservation of an extraction socket using autogenous tooth bone graft material for implant site development: prospective case series. *J Adv Prosthodont* 6:521.
124. Bakhshalian N, Hooshmand S, Campbell SC, Kim JS, Brummel-Smith K, Arjmandi BH (2013) Biocompatibility and microstructural analysis of osteopromotive property of allogenic demineralized dentin matrix. *Int J Oral Maxillofac Implants* 28:1655–1662.
125. Gharpure, A. S., & Bhatavadekar, N. B. (2018). Clinical efficacy of tooth-bone graft: A systematic review and risk of bias analysis of randomized control trials and observational studies. *Implant dentistry*, 27(1), 119-134.
126. Huggins, C.; Wiseman, S.; Reddi, A.H. Transformation of fibroblasts by allogeneic and xenogeneic transplants of demineralized tooth and bone. *J. Exp. Med.* 1970, 132, 1250–1258.
127. Kim, Y.K.; Kim, S.G.; Yun, P.Y.; Yeo, I.S.; Jin, S.C.; Oh, J.S.; Kim, H.J.; Yu, S.K.; Lee, S.Y.; Kim, J.S.; Um, I.W.; Jeong, M.A.; et al. Autogenous teeth used for bone grafting: A comparison with traditional grafting materials. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.* 2014, 117, e39–e45.
128. Kim SG, Kim YK, Lim SC, Kim KW, Um IW (2011) Histomorphometric

- analysis of bone graft using autogenous tooth bone graft. *Implantology* 15: 134-141.
129. Murata M, Akazawa T, Mitsugi M, Um, IW, Kim, KW & Kim, YK (2011) Human Dentin as Novel Biomaterial for Bone Regeneration, *Biomaterials - Physics and Chemistry*, Rosario Pignatello , ISBN: 978-953-307-418-4, INTECK Publisher, Croatia. p127-140.
 130. Kim YK (2012) Bone graft material using teeth. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 38: 134-138. [SEP]
 131. Kim, Y.K., Kim, S.G., Bae, J.H., Um, I.W., Oh, J.S. & Jeong, K.I. (2014) Guided bone regeneration using autogenous tooth bone graft in implant therapy: case series. *Implant Dentistry* 23: 138–143.
 132. Rocchietta, I., Fontana, F. & Simion, M. (2008) Clinical outcomes of vertical bone augmentation to enable dental implant placement: a systematic review. *Journal of Clinical Periodontology* 35: 203–215.
 133. Minamizato T, Koga T, Takashi I, Nakatani Y, Umebayashi M, Sumita Y, Ikeda T, 133. Asahina I. Clinical application of autogenous partially demineralized dentin matrix prepared immediately after extraction for alveolar bone regeneration in implant dentistry: a pilot study. *International journal of oral and maxillofacial surgery* 2018; 47(1):125-132.
 134. Koga T, Minamizato T, Kawai Y, Miura K, I T, Nakatani Y, Sumita Y, Asahina I. Bone Regeneration Using Dentin Matrix Depends on the Degree of Demineralization and Particle Size. *PloS one* DOI: 10.1371/journal.pone.0147235.
 135. Kim YK, Kim SG, Byeon JH, Lee HJ, Um IU, Lim SC, Kim SY. Development of a novel bone grafting material using autogenous teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;109:496-503.
 136. Umebayashi, M., Ohba, S., Kurogi, T., Noda, S., & Asahina, I. (2020). Full regeneration of maxillary alveolar bone using autogenous partially demineralized dentin matrix and particulate cancellous bone and marrow for

- implant-supported full arch rehabilitation. *Journal of Oral Implantology*, 46(2), 122-127.
137. Sperling I, Itzkowitz D, Kaufman A, Binderman I (1986) A new treatment of heterotransplanted teeth to prevent progression of root resorption. *Endod Dent Traumatol* 2: 117-120.
 138. Andersson L, Bodin I, Sörensen S (1989) Progression of root resorption following replantation of human teeth after extended extraoral storage. *Endod Dent Traumatol* 5: 38-47.
 139. Malmgren B (2013) Ridge preservation/decoronation. *J Endod* 39: S67-72.
 140. Park CH1, Abramson ZR, Taba M Jr, Jin Q, Chang J, et al. (2007) Three-dimensional micro-computed tomographic imaging of alveolar bone in experimental bone loss or repair. *J Periodontol* 78: 273-281.
 141. Bormann KH, Suarez-Cunqueiro MM, Sinikovic B, Kampmann A, von See C, Binger T, Winkler M, Gellrich NC, Tavassol F, Rucker M. Dentin as a suitable bone substitute comparable to ss-TCP—an experimental study in mice. *Microvasc Res* 2012; 84(2): 116–22.
 142. Hurzeler MB, Zuhr O, Schupbach P, Rebele SF, Emmanouilidis N, Fickl S. The socket- shield technique: a proof-of-principle report. *J Clin Periodontol* 2010; 37(9):855–62.
 143. Baumer D, Zuhr O, Rebele S, Schneider D, Schupbach P, Hurzeler M. The socket- shield technique: first histological, clinical, and volumetrical observations after separation of the buccal tooth segment - a pilot study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2015; 17(1): 71–82.
 144. Guirado JL, Troiano M, Lopez-Lopez PJ, Ramirez-Fernandez MP, de Val JE, Marin JM, Gehrke SA. Different configuration of socket shield technique in peri- implant bone preservation: an experimental study in dog mandible. *Ann Anat.* 2016; 208: 109-115.

145. Gosain, A.K., Song, L., Yu, P., Mehrara, B.J., Maeda, C.Y., Gold, L.I. & Longaker, M.T. (2000) Osteogenesis in cranial defects: reassessment of the concept of critical size and the expression of TGF- β isoforms. *Plastic and Reconstructive Surgery* 106: 360–371.
146. Andersson, L., Ramzi, A. & Joseph, B. (2009) Studies on dentin grafts to bone defects in rabbit tibia and mandible; development of an experimental model. *Dental Traumatology* 25: 78–83.^[1]_{SEP}
147. Qin, X., Raj, R.M., Liao, X.F., Shi, W., Ma, B., Gong, S.Q., Chen, W.M. & Zhou, B. (2014) Using rigidly fixed autogenous tooth graft to repair bone defect: an animal model. *Dental Traumatology* 30: 380–384.
148. Schwarz, F., Mihatovic, I., Golubovic, V., & Becker, J. (2013). Dentointegration of a titanium implant: a case report. *Oral and maxillofacial surgery*, 17(3), 235-241.
149. Nyman, S., Karring, T., Lindhe, J. & Plantin, S. (1980) Healing following implantation of periodontitis-affected roots into gingival connective tissue. *J Clin Periodontol* 7: 394-401.
150. Schwarz, F., Golubovic, V., Becker, K., & Mihatovic, I. (2016). Extracted tooth roots used for lateral alveolar ridge augmentation: a proof-of-concept study. *Journal of clinical periodontology*, 43(4), 345-353.
151. Schwarz, F., Golubovic, V., Mihatovic, I., & Becker, J. (2016). Periodontally diseased tooth roots used for lateral alveolar ridge augmentation. A proof-of-concept study. *Journal of clinical periodontology*, 43(9), 797-803.
152. Becker, K., Drescher, D., Hönscheid, R., Golubovic, V., Mihatovic, I., & Schwarz, F. (2017). Biomechanical, micro-computed tomographic and immunohistochemical analysis of early osseous integration at titanium implants placed following lateral ridge augmentation using extracted tooth roots. *Clinical oral implants research*, 28(3), 334-340.

153. Schwarz, F., Hazar, D., Becker, K., Sader, R., & Becker, J. (2018). Efficacy of autogenous tooth roots for lateral alveolar ridge augmentation and staged implant placement. A prospective controlled clinical study. *Journal of clinical periodontology*, 45(8), 996-1004.
154. Lee EY, Kim ES, Kim KW. Scanning electron microscopy and energy dispersive X-ray spectroscopy studies on processed tooth graft material by vacuum-ultrasonic acceleration. *Maxillofacial plastic and reconstructive surgery* 2014; 36(3): 103.
155. Ondur, E., Bolukbasi Balcioglu, N., Soluk Tekkesin, M., Guzel, O., & Ersanli, S. (2020). Effects of Platelet-Rich Fibrin on hard tissue healing: A histomorphometric crossover trial in sheep. *Materials*, 13(7), 1695.
156. Johansson, B., Grepe, A., Wannfors, K., & Hirsch, J. M. (2001). A clinical study of changes in the volume of bone grafts in the atrophic maxilla. *Dentomaxillofacial Radiology*, 30(3), 157-161.
157. Kim, Y. K., Kim, S. G., Oh, J. S., Jin, S. C., Son, J. S., Kim, S. Y., & Lim, S. Y. (2011). Analysis of the inorganic component of autogenous tooth bone graft material. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 11(8), 7442-7445.
158. Kim, Y. K., Lee, J., Yun, J. Y., Yun, P. Y., & Um, I. W. (2014). Comparison of autogenous tooth bone graft and synthetic bone graft materials used for bone resorption around implants after crestal approach sinus lifting: a retrospective study. *Journal of periodontal & implant science*, 44(5), 216-221.
159. Brandacher G, Grahammer J, Sucher R, Lee WP. Animal models for basic and translational research in reconstructive transplantation. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 2012; 96(1): 39-50.
160. Auer JA, Goodship A, Arnoczky S, Pearce S, Price J, Claes L, Von Rechenberg B, Hofmann-Amtenbrinck M, Schneider E, Müller-Terpitz R, Thiele F, Rippe KP, Grainger DW. Refining animal models in fracture research: seeking consensus in optimising both animal welfare and scientific validity for

appropriate biomedical use. BMC Musculoskeletal Disorders, 2007; 8: 172.

161. Ferguson SJ, Langhoff JD, Voelter K, von Rechenberg B, Scharnweber D, Bierbaum S, Schnabelrauch M, Kautz AR, Frauchiger VM, Mueller TL, van Lenthe GH, Schlottig F. Biomechanical comparison of different surface modifications for dental implants. The Int Jou of Oral & Maxillofacial Implants, 2008; 23: 1037-46.
162. Langhoff JT, Voelter K, Scharnweber D, Schnabelrauch M, Schlottig F, Hefti T, Kalchofner K, Nuss K, von Rechenberg B. Comparison of chemically and pharmaceutically modified titanium and zirconia implant surfaces in implant dentistry: A study in sheep. The Int Jou of Oral & Maxillofacial Surg, 2008; 37: 1125-32.
163. Choo T, Marino V, Bartold PM. Effect of PDGF-BB and beta-tricalcium phosphate (b-TCP) on bone formation around dental implants: A pilot study in sheep. Clin Oral Impl Res, 2013; 24:158-166.
164. Bölükbaşı, N.; Yenyol, S.; Tekkesin, M.S.; Altunatmaz, K. The use of platelet-rich fibrin in combination with biphasic calcium ^[11]phosphate in the treatment of bone defects: A histologic and histomorphometric study. Curr. Ther. Res. Clin. Exp. 2013, 75, 15–21
165. Mills LA, Simpson AHRW. Instructional review: Research. In Vivo models of bone repair. The Jou of Bone and Joint Surg, 2012; 94(7): 865-874.
166. Van der Pol U, Mathieu L, Zeiter S, Bourban PE, Zambelli PY, Pearce SG, Boure LP, Pioletti DP. Augmentation of bone defect healing using a new biocomposite scaffold: An in vivo study in sheep. Acta Biomaterialia, 2010; 6: 3755-3762.
167. Frame JW. A convenient animal model for testing bone substitute materials. J Oral Surg, 1980; 38: 176.
168. Najjar TA, Kahn D. Comparative study of healing and remodeling in various

- bones. *J Oral Surg*, 1977; 35: 375.
169. Süt N. Klinik araştırmalarda örneklem sayısının belirlenmesi ve güç (power) analizi. *RAED Dergisi*, 2011; 3(1-2): 29-33.
 170. Beller EM, Gebiski V, Keech AC. Randomization in clinical trials. *MJA*, 2002; 177: 565-567.
 171. Peterson LJ. Antibiotic prophylaxis against wound infections in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg*, 1990; 48: 617-620. [L]
[SEP]
 172. Menezes JD, Pereira RS, Bonardi JP, Griza GL, Okamoto R, Hochuli-Vieira E. Bioactive glass added to autogenous bone graft in maxillary sinus augmentation: a prospective histomorphometric, immunohistochemical, and bone graft resorption assessment. *J Appl Oral Sci*. 2018;26:e20170296.
 173. Johnsson B, Grepe A, Wannfors K, Hirsch JM. A clinical study of changes in the volume of bone grafts in the atrophic maxilla. *Dermatomaxillofac Radiol*. 2001;30:157-161. [L]
[SEP]
 174. Rickert D, Vissink A, Slot WJ, Sauerbier S, Meijer HJ, Raghoobar GM. Maxillary sinus floor elevation surgery with BioOss mixed with a bone marrow concentrate or autogenous bone: test of principle on implant survival and clinical performance. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2014;43:243-247.
 175. de O.Gorla LF, Spin-Neto R, Boos FBDJ, dos S.Pereira R, Garcia-Junior IR, Hochuli- Vieira E. Use of autogenous bone and beta-tricalcium phosphate in maxillary sinus lifting: a prospective, randomized, volumetric computed tomography. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2015;44:1486-1491.
 176. Kumar NG, Chaudhary R, Kumar I, Arora SS, Kumar N, Singh H. To assess the efficacy of socket plug technique using platelet rich fibrin with or without the use of bone substitute in alveolar ridge preservation: a prospective randomised controlled study. *Oral and maxillofacial surgery* 2018; 22(2): 135-142.
 177. Wilderman MN. Repair after a periosteal retention procedure. *Journal of Periodontology* 1963; 34(6): 487–503.

178. Staffileno H, Levy S, Gargiulo A. Histologic study of cellular mobilization and repair following a periosteal retention operation via split thickness mucogingival flap surgery. *Journal of Periodontology* 1966; 37(2): 117–131.
179. Bragger U, Pasquali L, Kornman KS. Remodelling of interdental alveolar bone after periodontal flap procedures assessed by means of computer-assisted densitometric image analysis (CADIA). *Journal of Clinical Periodontology* 1988; 15(9): 558–564.
180. Pjetursson B, Asgeirsson A, Zwahlen M, Sailer I. Improvements in implant dentistry over the last decade: comparison of survival and complication rates in older and newer publications. *International journal of oral & maxillofacial implants* 2014; 29: 308-24
181. Paolantonio M, Dolci M, Scarano A, d'Archivio D, di Placido G, Tumini V, Piattelli A. Immediate implantation in fresh extraction sockets: A controlled clinical and histological study in man. *J Periodontol* 2001; 72(11): 1560–1571.
182. Fickl S, Zuhr O, Wachtel H, Bolz W, Huerzeler M. Tissue alterations after tooth extraction with and without surgical trauma: a volumetric study in the beagle dog. *Journal of Clinical Periodontology* 2008a; 35(4): 356–363.
183. Fickl S, Zuhr O, Wachtel H, Stappert CF, Stein JM, Hurzeler MB. Dimensional changes of the alveolar ridge contour after different socket preservation techniques. *Journal of Clinical Periodontology* 2008b; 35(10): 906–913.
184. Vignoletti F, Matesanz P, Rodrigo D, Figuero E, Martin C, Sanz M. Surgical protocols for ridge preservation after tooth extraction. A systematic review. *Clinical Oral Implants Research* 2012; 23, 22-38.
185. Nampo T, Watahiki J, Enomoto A, Taguchi T, Ono M, Nakano H, Yamamoto G, Irie T, Tachikawa T, Maki K. A new method for alveolar bone repair using extracted teeth for the graft material. *J Periodontol* 2010; 81(9): 1264-72.
186. Huang, Y. C., Lew, W. Z., Feng, S. W., Lai, W. Y., Abiko, Y., & Huang, H. M. (2016). Histomorphometric and transcriptome evaluation of early healing bone

- treated with a novel human particulate dentin powder. *Biomedical Materials*, 12(1), 015004.
187. Pohl V, Schuh C, Fischer MB, Haas R. A new method using autogenous impacted third molars for sinus augmentation to enhance implant treatment: case series with preliminary results of an open, prospective longitudinal study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2016; 31(3): 622–30.
 188. Valdec, S., Pasic, P., Soltermann, A., Thoma, D., Stadlinger, B., & Rücker, M. (2017). Alveolar ridge preservation with autologous particulated dentin—A case series. *International journal of implant dentistry*, 3(1), 1-9.
 189. Cenicante, J., Botelho, J., Machado, V., Mendes, J. J., Mascarenhas, P., Alcoforado, G., & Santos, A. (2021). The Use of Autogenous Teeth for Alveolar Ridge Preservation: A Literature Review. *Applied Sciences*, 11(4), 1853.
 190. Calvo-Guirado, J. L., Maté-Sánchez de Val, J. E., Ramos-Oltra, M. L., Pérez-Albacete Martínez, C., Ramírez-Fernández, M. P., Maiquez-Gosálvez, M., ... & Delgado-Ruiz, R. A. (2018). The use of tooth particles as a biomaterial in post-extraction sockets. *Experimental study in dogs. Dentistry journal*, 6(2), 12.
 191. Mazor, Z., Horowitz, R. A., Prasad, H., & Kotsakis, G. A. (2019). Healing dynamics following alveolar ridge preservation with autologous tooth structure. *Int. J. Periodontics Restor. Dent*, 39, 697-702.
 192. Andrade, C., Camino, J., Nally, M., Quirynen, M., Martínez, B., & Pinto, N. (2020). Combining autologous particulate dentin, L-PRF, and fibrinogen to create a matrix for predictable ridge preservation: A pilot clinical study. *Clinical oral investigations*, 24(3), 1151-1160.
 193. Lee JY, Kim YK. Retrospective cohort study of autogenous tooth bone graft. *Oral Biol Res*. 2012;36:39–43.
 194. Chung JH, Lee JH. Study of bone healing pattern in extraction socket after application of demineralized dentin matrix material. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg*. 2011;37:365–374.

195. Jun SH, Ahn JS, Lee JI, et al. A prospective study on the effectiveness of newly developed autogenous tooth bone graft material for sinus bone graft procedure. *J Adv Prosthodont*. 2014;6: 528–538.
196. Netaneli, E., Artzi, Z., Renert, U., & Mimon Gil, T. (2019). The particulated dentin—an autogenous reliable bone graft substitute in socket site preservation. *Clinical Oral Implants Research*, 30, 259-259.
197. Çetiner, E. Y. (2018). Diş çekimi soketlerine uygulanan otojen dentin greftinin kemik iyileşmesi üzerine etkilerinin incelenmesi.
198. Joshi CP, D'Lima CB, Samat UC, Karde PA, Patil AG, Dani NH. Comparative alveolar ridge preservation using allogeneous tooth graft versus free-dried bone allograft: A randomized, controlled, prospective, clinical pilot study. *Contemporary clinical dentistry* 2017;8(2):21
199. Um IW, Kim YK, Park JC, Lee JH. Clinical application of autogenous demineralized dentin matrix loaded with recombinant human bone morphogenetic-2 for socket preservation: A case series. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2019;21:4-10.
200. Murata M, Akazawa T, Mitsugi M, Um IW, Kim, KW, Kim YK. Human Dentin as Novel Biomaterial for Bone Regeneration. In: Rosario Pignatello R. (ed.) *Biomaterials- Physics and Chemistry*, InTech. 2011; 127-140.
201. Catanzaro-Guimaraes SA, Catanzaro BP, Garcia GR, Alle N. Osteogenic potential of autogenic demineralized dentin implanted in bony defects in dogs. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1986;15(2): 160–169.
202. Kim SG, Kim HK, Lim SC. Combined implantation of particulate dentine, plaster of Paris, and a bone xenograft (Bio-Oss) for bone regeneration in rats. *J Craniomaxillofac Surg* 2001; 29(5): 282-8.
203. Bakhtiar, H., Mazidi, A., Mohammadi-Asl, S., Hasannia, S., Ellini, M. R., Pezeshki-Modaress, M., ... & Kishen, A. (2020). Potential of treated dentin matrix xenograft for dentin-pulp tissue engineering. *Journal of*

endodontics, 46(1), 57-64.

204. Jensen T, Schou S, Svendsen PA, Forman JL, Gundersen HJ, Terheyden H, Holmstrup P. Volumetric changes of the graft after maxillary sinus floor augmentation with Bio-Oss and autogenous bone in different ratios: a radiographic study in minipigs. *Clin Oral Implants Res.* 2012 Aug;23(8):902-10.
205. Camargo P.M., Lekovic V., Weinlaender M., Nedic M., Vasilic N.: A controlled re-entry study on the effectiveness of bovine porous bone mineral used in combination with a collagen membrane of porcine origin in the treatment of intrabony defects in humans. *J. Clin. Periodontol.*, 27: 889-896, 2000.
206. Camelo M., Nevins M.L., Schenk R.K., Simion M., Rasperini G.: Clinical, radiographic, and histologic evaluation of human periodontal defects treated with Bio-Oss® and Bio-Gide®. *Int. J. Periodont. Rest. Dent.*, 18: 321-331, 1998. [1]
[SEP]
207. Paolantonio M.: Combined periodontal regenerative technique in human intrabony defects by collagen membranes and anorganic bovine bone. A controlled clinical study. *J. Periodontol.*, 73: 158-166, 2002.
208. Scabbia A., Trombelli L.: A comparative study on the use of a HA/collagen/chondroitin sulphate biomaterial (Biostite) and a bovine-derived HA xenograft (Bio-Oss) in the treatment of deep intra- osseous defects. *J. Clin. Periodontol.*, 31: 348-55, 2004.
209. Artzi Z, Tal H, Dayan D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets. Part 1: histomorphometric evaluations at 9 months. *J Periodontol* 2000; 71: 1015-23.
210. Heberer S, Al-Chawaf B, Jablonski C, Nelson JJ, Lage H, Nelson K. Healing of ungrafted and grafted extraction sockets after 12 weeks: a prospective clinical study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2011;26(2): 385-92.
211. Oltramari PV, Navarro RL, Henriques JF, Taga R, Cestari TM, Janson G, Granjeiro JM. Evaluation of bone height and bone density after tooth extraction:

an experimental study in minipigs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 104(5): 9-16.

212. Aghazadeh A, Rutger Persson G, Renvert S. .A single-centre randomized controlled clinical trial on the adjunct treatment of intra-bony defects with autogenous bone or a xenograft: results after 12 months. *J Clin Periodontol*. 2012 39(7):666-73.
213. Schmitt, C.M., Doering, H., Schmidt, T., Lutz, R., Neukam, F.W. & Schlegel, K.A. (2013) Histological results after maxillary sinus augmentation with straumann(r) boneceramic, bio-oss(r), puros (r), and autologous bone. A randomized controlled clinical trial. *Clinical Oral Implants Research* 24: 576–585.
214. Pang, K. M., Um, I. W., Kim, Y. K., Woo, J. M., Kim, S. M., & Lee, J. H. (2017). Autogenous demineralized dentin matrix from extracted tooth for the augmentation of alveolar bone defect: A prospective randomized clinical trial in comparison with anorganic bovine bone. *Clinical oral implants research*, 28(7), 809-815.
215. Elfana, A., El-Kholy, S., Saleh, H. A., & Fawzy El-Sayed, K. (2021). Alveolar ridge preservation using autogenous whole-tooth versus demineralized dentin grafts: A randomized controlled clinical trial. *Clinical Oral Implants Research*, 32(5), 539-548.
216. Kabir, M. A., Murata, M., Akazawa, T., Kusano, K., Yamada, K., & Ito, M. (2017). Evaluation of perforated demineralized dentin scaffold on bone regeneration in critical-size sheep iliac defects. *Clinical oral implants research*, 28(11), e227-e235.
217. Shejali, J., Thomas, R., Kumar, T., Shah, R., Mehta, D. S., & Gayathri, G. V. (2020). Immediate Ridge Augmentation Using Autogenous Tooth Root as a Block Graft in a Periodontally Hopeless Extraction Site: A Pilot Study. *Journal of Oral Implantology*, 46(1), 41-49.
218. Hanamura H, Higuchi Y, Nakagawa M, Iwata H, Nogami H, Urist MR.

- Solubilized bone morphogenetic protein (BMP) from mouse osteosarcoma and rat demineralized bone matrix. Clin Orthop Relat Res. 1980; 148: 281-90.
219. Kawai T, Urist MR. Bovine tooth-derived bone morphogenetic protein. J Dent Res. 1989; 68: 1069-74.
220. Chung PH. Tooth protein extracted from extracted tooth and method for using the same. Korea intellectual property rights information service. Patent. Application No. 10-2004-0 051812.
221. Avery JK. Oral development and histology. 3rd Ed., Stuttgart, Thieme Medical. 2002
- 