

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ALLOPLASTİK KEMİK GREFTLERİ İLE REKONSTRÜKTE
EDİLMİŞ KRİTİK BOYUT KEMİK DEFİKTLERİNDE OZON
TEDAVİSİNİN KARŞILAŞTIRMALI OLARAK İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Dt. Nihat LAÇİN

DANIŞMAN

Prof. Dr. Beyza KAYA

AĞIZ, DİŞ ve ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR 2014

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ALLOPLASTİK KEMİK GREFTLERİ İLE REKONSTRÜKTE
EDİLMİŞ KRİTİK BOYUT KEMİK DEFİKTLERİNDE OZON
TEDAVİSİNİN KARŞILAŞTIRMALI OLARAK İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Dt. Nihat LAÇİN

DANIŞMAN

Prof. Dr. Beyza KAYA

AĞIZ, DİŞ ve ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR 2014

**Bu Doktora Tezi Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.
Proje No: 14-DH-09**

T.C
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRLÜĞÜ

“Alloplastik Kemik Greftleri İle Rekonstrükte Edilmiş Kritik Boyut Kemik Defektlerinde Ozon Tedavisinin Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi” isimli Doktora Tezi 24.06.2014 tarihinde tarafımızdan değerlendirilerek başarılı bulunmuştur.

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Beyza KAYA

Tezi Teslim Eden : Dt. Nihat LAÇIN

Jüri Üyesinin

Ünvanı Adı Soyadı

Başkan : Prof. Dr. Beyza KAYA

Üye : Prof. Dr. Bahar GÜRSOY

Üye : Doç. Dr. S. Serhat ATILGAN

Üye : Doç. Dr. Ahmet DAĞ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ela TULES FIRAT

Yukarıdaki imzalar tasdik olunur.



Prof. Dr. Ali CEYLAN
Dicle Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bilgisine, disiplinine, mükemmeliyetçiliğine hayran kaldığım, Çene Cerrahisini severek öğrenmemde büyük emekleri olan, öğrencilik yıllarımda ve doktora döneminde derslerine girmekten büyük keyif aldığım, eğitimim sırasında ve bu tez çalışmasının tüm aşamalarında bilgi ve deneyimlerinden sürekli yararlandığım, yönlendirmeleriyle eğitimimde çok emeği geçen değerli tez danışmanım Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Beyza KAYA'ya,

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübesini benden esirgemeyen hayatım boyunca minnet ve şükranla anacağım derin bir sevgi ve saygı duyduğum hocam, Sayın Prof. Dr. Behçet EROL'a,

Doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocam Doç. Dr. S.Serhat Atılğan'a,

Doktora eğitimim süresince kendilerinden çok şey öğrendiğim, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'ndaki değerli hocalarıma,

Doktora eğitimim süresince birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım ve bana destek olan sevgili bölüm arkadaşlarıma ve diğer çalışanlarına,

Tez çalışmamın sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesinde emek ve sabır gösteren, Sayın Yrd. Doç. Dr. Ersin UYSAL'a,

Tez çalışmamın histopatolojik değerlendirmesinde desteğini esirgemeyip emek ve sabır gösteren, Sayın Prof. Dr.Engin DEVECİ ve Doç. Dr.Ayfer AKTAŞ'a,

Tüm hayatım boyunca hedeflerime ulaşmam için en büyük destekçim olarak sevgiyle her zaman yanımda hissettiğim, bugün bulunduğum yer için onlara teşekkürü borç bildiğim anneme, babama ve kardeşlerime, sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Ön Sayfalar	Sayfa No
Kapak	
İç Kapak	
Kabul ve Onay Sayfası.....	I
Teşekkür Sayfası	II
İçindekiler Dizini	III
Resimler Dizini	VI
Şekiller Dizini	VII
Tablolar Dizini	VIII
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini.....	IX
Türkçe Özet.....	X
İngilizce Özet	XI
1. Giriş ve Amaç.....	1
2. Genel Bilgiler	3
2.1. Kemiğin Yapısı.....	3
2.1.1. Kemiğin Mikroyapısal Bileşenleri	3
2.1.1.1. Kemik Hücreleri	4
2.1.1.1.1. Osteoprogenitör Hücreler	4
2.1.1.1.2. Osteoblastlar	5
2.1.1.1.3. Osteoklastlar	6
2.1.1.1.4. Osteositler.....	7
2.1.1.1.5. Kemik Yüzeyini Döşeyen Hücreler	8
2.1.1.2. Hücreler Arası Doku	8
2.1.1.2.1. Organik Matriks	9
2.1.1.2.2. Mineral Matriks	10
2.1.1.3. Çözünebilen Faktörler	10
2.1.1.4. Kemik Zarları	11
2.1.1.4.1. Periost.....	11
2.1.1.4.2. Endost.....	12
2.1.2. Kemik Tipleri	13
2.1.2.1. Primer Kemik Dokusu.....	13

2.1.2.2. Sekonder Kemik Dokusu.....	13
2.1.2.2.1. Kansellöz Kemik Dokusu.....	14
2.1.2.2.2. Kortikal Kemik Dokusu	14
2.1.3. Kemik İyileşmesi.....	15
2.1.3.1. İnflamasyon Fazı	16
2.1.3.2. Granülasyon Dokusu Fazı	17
2.1.3.3. Kallus Fazı.....	18
2.1.3.4. Yeniden Yapılanma Fazı	18
2.1.4. Kemik Büyümesi ve Gelişiminin Evreleri	18
2.1.4.1. İntramembranöz Kemikleşme	19
2.1.4.2. Enkondral Kemikleşme	20
2.1.4.2.1. Şekillenme (Modeling).....	21
2.1.4.2.2. Yeniden Şekillenme (Remodeling)	22
2.1.4.2.2.1. Aktivasyon Fazı.....	22
2.1.4.2.2.2. Rezorpsiyon Fazı	22
2.1.4.2.2.3. Geri Dönüşüm Fazı	23
2.1.4.2.2.4. Mineralizasyon Fazı	23
2.1.5. Kemik İyileşmesini Etkileyen Faktörler.....	23
2.1.5.1. Lokal Faktörler	24
2.1.5.2. Genel Faktörler.....	25
2.1.5.2.1. İyileşmeyi Etkileyen Sistemik Hormonlar	25
2.2. Greft Materyalleri.....	26
2.2.1. Otojen Greftler	26
2.2.1.1. Ağız İçinde Otojen Kemik Grefti Sağlanan Bölgeler.....	27
2.2.1.2. Ağız Dışında Otojen Kemik Grefti Sağlanan Bölgeler	27
2.2.2. Allogreftler	27
2.2.3. Ksenogreftler	28
2.2.4. Alloplastlar	29
2.3. Ozon	31
2.3.1. Ozonun Tarihçesi	31
2.3.2. Ozonun Fiziksel Özellikler.....	31
2.3.2.1. Stratosferik Ozon.....	32
2.3.2.2. Troposferik Ozon	33

2.3.3. Ozonun Kimyasal Özellikleri	34
2.3.4. Yapay Ozon Üretimi ve Ozon Jeneratörleri	34
2.3.5. Ozonun Kullanım Alanlar	36
2.3.5.1. Ozonun Medikal Kullanımı	36
2.3.6. Ozon Toksisitesi	40
2.3.7. Ozonun Diş Hekimliği Dallarında Kullanımı	40
2.3.7.1. Restoratif Diş Hekimliği	40
2.3.7.2. Periodontoloji	42
2.3.7.3. Protetik Diş Tedavisi	42
2.3.7.4. Cerrahi	42
3. Gereç ve Yöntem	45
3.1. Cerrahi Uygulamalar	45
3.2. Histokimyasal Boyama Yöntemleri	49
3.2.1. Hematoksilen Eozin Boyama Yöntemi	50
3.2.2. Trikrom Mason Boyama Yöntemi	50
3.3. İstatistiksel Değerlendirme.....	51
4. Bulgular	52
4.1. Histopatolojik Değerlendirme	52
4.2. Histopatolojik Değerlere Bağlı İstatistiksel Bulgular	60
5. Tartışma	71
6. Sonuç ve Öneriler	82
7. Kaynaklar.....	85
8. Özgeçmiş.....	102

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.	Deney Hayvanlarının Anestezisinde Kullanılan Anestezik Maddeler
Resim 2.	Cerrahi Prensipilere Uygun Hazırlanan Operasyon Bölgesi
Resim 3.	İnsizyonu Takiben Frontal Kemik Görünümü
Resim 4.	Trefin Frez
Resim 5.	Trefin Frezle Oluşturulan Kemik Defekti
Resim 6.	Ozon Cihazı
Resim 7.	Alloplastik Greft Materyali
Resim 8.	Defekt Bölgesine Uygulanan Kemik Grefti Görüntüsü
Resim 9.	Etrafında Sağlam Kemik Dokusuyla Çıkarılan Defekt Alanı
Resim 10.	Stereomikroskop
Resim 11.	4 Haftalık Defekt Grubu, H-E Bar 50µm
Resim 12.	4 Haftalık Defekt Grubu, Trikrom Mason Bar 50µm
Resim 13.	4 Haftalık Defekt+Ozon Grubu, H-E Bar 50µm
Resim 14.	4 Haftalık Defekt+Ozon Grubu, Trikrom Mason Bar 50µm
Resim 15.	4 Haftalık Defekt +Greft grubu, H-E Bar 50µm
Resim 16.	4 Haftalık Defekt+ Greft Grubu, Trikrom Mason Bar 50µm
Resim 17.	4 Haftalık Defekt+Greft+Ozon Grubu, H-E Bar 20µm
Resim 18.	4 Haftalık Defekt+Greft+Ozon Grubu, Trikrom Mason Bar 20µm
Resim 19.	8 Haftalık Defekt Grubu, H-E Bar 50µm
Resim 20.	8 Haftalık Defekt Grubu, Trikrom Mason Bar 50µm
Resim 21.	8 Haftalık Boş Defekt+Ozon Grubu, H-E Bar 50µm
Resim 22.	8 Haftalık Boş defekt+Ozon Grubu, Trikrom Mason Bar 50µm
Resim 23.	8 Haftalık Boş Defekt+Greft Grubu, H-E Bar 50µm
Resim 24.	8 Haftalık Boş Defekt+Greft Grubu, Trikrom Mason Bar 50µm
Resim 25.	8 Haftalık Boş Defekt+Greft+Ozon Grubu, H-E Bar 50µm
Resim 26.	8 Haftalık Boş Defekt+Greft+Ozon Grubu, Trikrom Mason Bar 50µm

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1:** Kemik hücrelerinin ve farklılaşma yollarının şematik gösterimi
- Şekil 2:** Osteositler
- Şekil 3:** Kansellöz ve kortikal kemiğin kollajen yapıları
- Şekil 4:** Kemik zarlarının histolojik görüntüsü
- Şekil 5:** Kansellöz kemiğin morfolojik yapısı
- Şekil 6:** Kortikal kemiğin morfolojik yapısı
- Şekil 7:** İntramembranöz kemikleşme
- Şekil 8:** Enkondral kemikleşme



TABLolar DİZİNİ

Tablo 1:	Ozonun fiziksel özellikleri
Tablo 2:	4. haftada tüm parametrelere göre grupların karşılaştırması
Tablo 3:	8. haftada tüm parametrelere göre grupların karşılaştırması
Tablo 4:	Aynı parametrelere bakılarak 4. ve 8. hafta grupları arasındaki farkların karşılaştırması
Tablo 5:	Tanımlayıcı istatistiksel değerler



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

µm:	Mikrometre
UV:	Ultraviyole
nm:	Nanometre
mm:	Milimetre
pH:	Power of Hydrogen
°C:	Santigrat Derece
LASER:	Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation
sn:	Saniye
SEM:	Scanning Electron Microscope (Taramalı Elektron Mikroskobu)
µ:	Mikron
cm:	Santimetre
O²:	Oksijen
O³ :	Ozon
PTH:	Parathormon
TGF:	Transforming Growth Factor (Dönüştürücü Büyüme Faktörü)
GAG:	Glikozaminoglikan
FGF:	Fibroblast Growth Factor (Fibroblast Büyüme Faktörü)
HA:	Hidroksiapatit
IL-1:	İnterlökin-1
IL-6:	İnterlökin-6
CFC:	Kloroflorokarbon
NO²:	Nitröz Oksit
OH:	Hidroksil
Kcal:	Kilokalori
ml:	Mililitre
NaOCl:	Sodyum klorür
H²O²:	Hidrojen Peroksit
dk:	Dakika

ÖZET

Alloplastik Kemik Greftleri İle Rekonstrükte Edilmiş Kritik Boyut Kemik Defektlerinde Ozon Tedavisinin Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi

Bu tez çalışmasında; kemik dokusuna yerleştirilen greft materyalleri ile osteogenezisin stimüle edilmesi ve osteokondüktif özelliğin kullanılmasının yanı sıra, ozonun bölgedeki kanlanmayı arttırarak osteogenezis üzerine etkilerinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmada toplam 56 adet Wistar cinsi ratın genel anestezisi 8 mg/100g intra-musküler ketamin ile sağlandı ve ratlar randomize 4 gruba ayrıldı.

1. Kontrol Grubu: 14 adet rat üzerinde kalvaryal kemik defekti oluşturuldu, herhangi bir işleme tabi tutulmadan defekt boş bırakıldı ve yara yeri primer suture edildi. Deneklerden 7 tanesi 4. hafta sonunda, geriye kalan 7 tanesi de 8. hafta sonunda sakrifiye edildi.

2. Deney Grubu: 14 adet rat üzerinde 8 mm kalvaryal kemik defekti oluşturuldu, boş defekte ozon uygulandı ve deneklerden 7 tanesi 4. hafta sonunda, geriye kalan 7 tanesi de 8. hafta sonunda sakrifiye edildi.

3. Deney Grubu: 14 adet rat üzerinde 8 mm kalvaryal kemik defekti oluşturuldu, hazırlanan defekte alloplastik kemik grefti uygulandı ve deneklerden 7 tanesi 4. hafta sonunda, geriye kalan 7 tanesi de 8. hafta sonunda sakrifiye edildi.

4. Deney Grubu: 14 adet rat üzerinde 8 mm kalvaryal kemik defekti oluşturuldu, hazırlanan defekte alloplastik kemik grefti ve ozon uygulandı ve deneklerden 7 tanesi 4. hafta sonunda, geriye kalan 7 tanesi de 8. hafta sonunda sakrifiye edildi.

Çalışma sonunda elde edilen spesimenler D.Ü.Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında histopatolojik olarak değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleri kullanılarak değerlendirildi.

Farklı parametreler ele alınarak yaptığımız deneysel çalışma değerlendirildiğinde osteogenezisi hızlandırması bakımından ozonun grefte üstünlük sağlamadığı düşüncesindeyiz. 4.ve 8.hafta bulguları değerlendirildiğinde yeni kemik formasyonu açısından en iyi sonucu greft+ozon uygulanan gruptan elde ettik. Sadece ozon uygulamasının bölgedeki hemostazı artırıp osteogenezisi arttırdığını söyleyebiliriz fakat anlamlı sayılabilecek yeterli etkiyi oluşturmadığını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler:

1. Ozon 2. Alloplastik Kemik greftleri 3. Osteokondüktif 4. Osteogenezis

ABSTRACT

Comparative Evaluation of Ozone Treatment in Critical Size Bone Defects Reconstructed with Alloplastic Bone Grafts

This research aims to stimulate osteogenesis with graft materials placed on bone tissue and use its osteoconductive feature; and to evaluate histopathologically the effect of ozone on osteogenesis by increasing blood supply.

In this research, general anesthesia of totally 56 Wistar rats were provided with 8 mg/100g intra-muscular ketamine and the rats were divided into 4 groups randomly.

1. Control Group: Calvarial bone defect was created on 14 rats, the defect was left empty without any intervention and the wound area was sutured. 7 of the rats were sacrificed at the end of 4th week and the rest 7 were sacrificed at the end of 8th week.

2. Experimental Group: 8mm- calvarial bone defect was created on 14 rats, ozone was treated on the empty defects. 7 of the rats were sacrificed at the end of 4th week and the rest 7 at the end of 8th week.

3. Experimental Group: 8mm-calvarial bone defect was created on 14 rats. Alloplastic bone graft was treated on prepared defect. 7 of the rats were sacrificed at the end of the 4th week and the rest 7 at the end of 8th week.

4. Experimental Group: 8mm-calvarial bone defect was created on 14 rats. Alloplastic bone graft and ozone were treated on prepared defect. 7 of the rats were sacrificed at the end of the 4th week and the rest 7 at the end of 8th week.

Specimens obtained at the end of the research were evaluated histopathologically at Dicle University, Medicine Faculty, the laboratory of Histology Department. Obtained results were assessed using Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U tests.

When the research which was conducted considering different parameters is evaluated, it is thought that ozone is not superior to graft in terms of accelerating osteogenesis. When the results of 4th and 8th weeks are evaluated, the best results are seen in graft+ozone group in terms of new bone formation. It can be said that the treatment of ozone by its own increases hemostasis and indirectly increases osteogenesis, but this is not a significant effect.

Anahtar Kelimeler:

1. Ozone
2. Alloplastic Bone Graft
3. Osteoconductive
4. Osteogenesis



1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kemik dokusu birçok çevresel etken nedeniyle yapısal bütünlüğünü yaşamın çeşitli evrelerinde kaybedebilir. Kemik dokusunda iyileşmenin, çok sayıda biyokimyasal, biyomekanik, hücrel, hormonal, patolojik faktörler ve sistemik hastalıklar tarafından etkilendiği bildirilmiştir.

Kemik iyileşmesi, ağız, diş ve çene cerrahisi dalını yakından ilgilendirmesi nedeniyle, literatürde yer alan en fazla çalışma yapılmış konulardan biridir. Kemik iyileşmesinde temel amaç, kendiliğinden ve hızlı bir şekilde iyileşmeyi sağlamaktır. Uygun büyüklükte kemik defektlerinde bunu sağlamak mümkün olsa da; farklı vücut bölgelerinde, belli büyüklüğün üzerindeki kemik defektleri kendiliğinden iyileşememekte ve cerrahi müdahaleye ihtiyaç duyulmaktadır.

Ozon (O^3) üç oksijen atomundan oluşan, doğada gaz halinde bulunan bir moleküldür. Atmosferik oksijenden (O^2) daha yüksek bir enerjiye sahiptir.

Ozon, stomatolojide yaygın olarak kullanılır; hem dezenfektan olarak hem de diş çekimi sonrasında yara iyileşmesinde, oral enfeksiyonlar, kandida veya parodontitis vakalarında, stomatit, yumuşak dokuda enfekte yaraların tedavisinde, cerrahi işlemlerden önce oral kavitenin yıkanmasında kullanılır.

Ozon tedavisinin özellikle enflamatuvar sürecin yoğun olarak yaşandığı ve immün sistemin ön planda yer aldığı fizyopatolojik durumlarda tedavi edici etkisi çok yüksektir. Ozon uygulamaları yara iyileşmesi, yaşa bağlı maküler dejenerasyon, iskemik ve enfeksiyöz hastalıklarda yapılan vaka analiz çalışmalarında olumlu etkiler göstermiştir. Bunun yanında basit dental ve oral enfeksiyonlardan hepatite kadar uzanan enfeksiyöz hastalıklarda etkin olarak uygulanmaktadır.

Cerrahi işlemler, konjenital nedenler veya travma sonucu maksillofasiyal bölgede meydana gelebilen kemik defektleri, estetik ve fonksiyonel bozukluklara neden olabilir. Bu nedenle meydana gelen deformitelerin kemik greftleriyle rekonstrükte edilmesi gerekir. Bu amaçla günümüzde farklı greft materyalleri kullanılmaktadır.

Greft materyallerinin etkinliğini arttırmak için çeşitli biyomateriyallerle kombine edilmesi ve aynı zamanda sistemik veya topikal ilaç uygulamalarıyla bu etkinliğin artırılması gündeme gelmiştir, bu konuda güncel birçok çalışma mevcuttur.

Kemik defektlerinin tamiri için kullanılan greftlerin osteojenik aktivitelerinin olması için kemik rejenerasyonunu stimüle edici özelliklerinin bulunması gerekmektedir. Bu amaçla genellikle tercih edilen greft materyalleri hidroksiapatitler, trikalsiyum fosfatlar ve bunların farklı kombinasyonlarıdır.

Kemik defektlerinin kritik sorunlarından biri de greft materyalinin istenenden önce rezorbe olması ve defektlerdeki osteogenez süresinin uzun olmasıdır. Bu rezorpsiyon süresini uzatmak ve osteogenezi hızlandırmak içinde birçok çalışma yapılmıştır. Bunun içinde kan akımını hızlandıran, güçlü bakterisit ve fungusit etkisi olan ozondan yararlanmak gündeme gelmiştir. Bu deneysel çalışmada kullanılması planlanan ozonun kan akımını düzenlemesi, güçlü bakterisit ve virüs etkisinin olması; ozonun enflamatuvar ve enfeksiyöz hastalıklarda terapötik ajan olarak kullanılmasını sağlamıştır. Oral cerrahide, ozonize su; hemostazı sağlamak, bölgeye lokal oksijen salınımını arttırmak ve bakteriyel proliferasyonu inhibe etmek amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca ozonize suyun, osteotomi sonrası enfeksiyona karşı profilaktik olarak kullanılmasında önerilmiştir.

Bu araştırmamızda; kemik dokusuna yerleştirilen greft materyalleri ile osteogenezisin stimüle edilmesini ve osteokondüktif özelliğin kullanılmasının yanısıra ozonun bölgedeki kanlanmayı artırarak osteogenezis üzerine etkilerinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Böylece uygulanan greftin bölgede daha uzun süre kalmasını ve daha iyi bir osseöz yapı oluşmasını hedefliyoruz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemiğin Yapısı

Kemik yapısı, kalsiyum, fosfat ve diğer iyonları barındırıp, gerektiğinde kana geçişini sağlayan, kemik iliği stromal hücrelerinin hematopoetik hücrelerle ilişkisi ile de hematopoezde görev alan, yaşayan, dinamik, konnektif, ileri derecede özelleşmiş bir bağ dokusudur (1). Kemik, embriyolojik olarak mezenşimal hücrelerden encondral ya da membranöz kemikleşme yolu ile farklılaşan bir dokudur. Kemikler iskelet sistemini oluşturup kaslarla birlikte hareketi sağlar, vücudu destekler, hayati bazı organları çevreleyip korur, kan hücrelerinin yapıldığı kemik iliğini içerir ve metabolik önemi olan kalsiyum deposu olarak görev alırlar. Kemik; bir çatı içerisinde bütünleşmiş birçok hücreden oluşan, metabolik ve biyolojik yönden dinamik bir dokudur. Bu özelliği dikkate alındığında, büyüme ve iyileşmesi çok sayıda biyokimyasal, biyomekaniksel, hücresel, hormonal ve patolojik olayın zincirleme reaksiyonu gibi düşünülebilir (2-4).

Genel erişkin uzun kemik yapısı (humerus, femur, tibia gibi) ortasında silindirik yapıda diyafiz ve her iki ucunda yuvarlak yapıda epifizlerden oluşur (5-7). Uç kısımların eklem kıkırdığı ile kaplı olması ve çoğunun uç kısımlarının merkezden geniş olması; eklem bölgesine gelen kuvvetlerin eşit dağılmasını sağlayıcı unsurlardır (8).

Kemik ekstrasellüler matriksi, kalsifiye olan özel bir bağ dokusudur. Vücudun en sert yapısı olmasına rağmen, kendi içerisinde dışarıdan gelen kuvvetlerle şekillenebilecek kadar dinamik bir dokudur. Üzerine gelen basınç rezorbsiyona neden olurken, gerilim kuvveti yeni kemik oluşumuna yol açar (4).

2.1.1. Kemiğin Mikroyapısal Bileşenleri

- Hücreler
- Matriksler (Organik matriks, İnorganik matriks)
- Çözünebilen sinyal faktörleri
- Periost ve Endost (9)

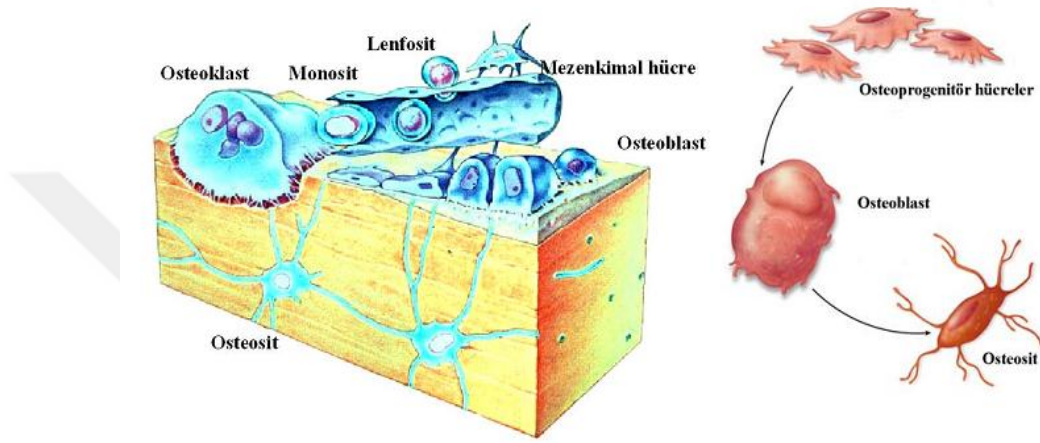
Bu bileşenlerin oluşturduğu makroyapılar ise;

- Kortikal kemik
- Kansellöz kemik olarak adlandırılırlar (9,10).

2.1.1.1. Kemik Hücreleri

Kemiğin hücresel elemanları; osteoklastlar, osteoblastlar, osteositler, kemik yüzeyini döşeyen hücreler, kemik iliği hücreleri ve kemiğin büyüme ve gelişimini düzenleyen immun hücrelerden oluşur (20) (Şekil 1).

Ayrıca, osteoprogenitör hücreler adı verilen, periost ve endosta bulunan ve ancak aktive olduklarında ayırt edilebilen, osteoblastlara dönüşebilme özelliği olan mezenkimal hücreler de bulunmaktadır (11-14).



Şekil 1: Kemik hücrelerinin ve farklılaşma yollarının şematik gösterimi. Osteoklastlar, kemik iliğinde yer alan makrofaj öncülerinden köken alan monositlerin füzyonuyla oluşur. Osteoprogenitör hücreler ise kemikteki aktiviteye göre osteoblastlara, osteoblastlar da osteositlere farklılaşabilir (Kierszenbaum A.L. Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology, Mosby Inc., St. Louis, Chapter 5, page 127, 2002).

2.1.1.1.1 Osteoprogenitör Hücreler (Osteojenik Prekürsör Hücreler)

Periost ve endost tabakalarında bulunan bu hücreler embriyonal mezenkimden kaynak alıp stromal hücrelerin farklılaşması sonucu oluşurlar (15).

Büyüme sırasında aktif olan bu hücreler, erişkin hayatında kemik internal reorganizasyonu, kırık iyileşmesi veya farklı tipteki yaralanma durumunda da aktive olabilir, osteoblast veya osteoklast gibi diğer tip kemik hücrelerine dönüşebilirler (16,17).

Osteoprogenitör hücreler, kemiğin tüm yüzeylerinde bulunur. Periostun derin tabakasını ve internal medüller yüzeye uzanan endostu yaparlar. Periost; kaba, vasküler

bir konnektif doku tabakasıdır. Kemiğin eklem oluşturmayan yüzeylerinde bulunur. “Fibröz tabaka” olarak adlandırılan kalın dış tabakası, düzensiz, yoğun konnektif dokudan oluşur. Daha ince ve zayıf iç tabakası ise “osteojenik tabaka” olarak adlandırılır ve osteojenik hücreler tarafından oluşturulur.

Kemik hücresi olma yönünde koşullanmış olan hücreler, mezenkim hücreleridir. İğ şeklinde fibroblastlara benzerler. Mitozla bölünüp çoğalırlar, çoğalan hücrelerin bir bölümü osteoblastlara dönüşür. Kemiklerde yıkılan, kemik dokusunun birim yapısı olarak kabul edilen osteonların yerine, yenilerinin yapımı sırasında ya da kırıklarda yeni kemik dokusu şekillenirken aktifleşerek bölünürler. Bölünerek osteoblastları oluştururlar. Periostun iç katında, Havers ve Volkman kanallarındaki bağ dokusunda, endostta bulunurlar (18,19).

2.1.1.1.2. Osteoblastlar

Bazofil boyanan 20-30 μ genişliğinde, kübik şekilli hücrelerdir. Osteoblastların çok sayıda girintili çıkıntılı endoplazmik retikulumları, bol serbest ribozom ve poliribozomları olduğu görülür. Golgi bölgesi gelişmiştir ve mitokondriler çok sayıdadır. Geniş ovoid çekirdek dış merkezli olarak yerleşmiştir. Hücre yüzeyinde az miktarda kısa mikrovilluslar vardır (20,21).

Osteoblastlar; matür, metabolik yönden aktif, kemik üreten hücrelerdir. Bu hücreler matriksi oluşturan osteoidi meydana getirirler. Kemik yapım aktivitesi sonlanmaya başladığında, osteoblastların bir kısmı osteositlere dönüşürken, diğer kısmı ise periost ve endosteal tabakanın örtücü yüzey hücrelerine dönüşürler (22,23).

Osteoblastlar; kemik matriksinin organik kısımlarının, kollagen liflerin, proteoglikanların ve glikoproteinlerin sentezinden sorumludurlar. Henüz kalsifiye olmamış olan bu dokuya ‘osteoid’ adı verilir. Osteoblastlar meydana getirdikleri osteoid içinde kalırlar. Bu doku kalsifiye olunca osteoblastlar aktivitelerini azaltır, şekilleri basıklaşır ve osteositlere dönüşürler. Kemiğin inorganik kısımlarının yapılabilmesi, osteoblastların varlığına bağlıdır (24).

Osteoblastlar, kutuplaşmış hücrelerdir. Kemik trabeküllerinin ya da lamellerin yüzeyinde tek sıra halinde dizilirler. Matriksin sekresyonu, daha önce yapılmış kemik matriksi ile temas halinde olan osteoblast yüzeylerinde olur. Böylece yeni fakat kalsifiye olmamış matriks, osteoblastlar ile daha önce meydana gelmiş kemik matriksi

arasında yer alır. Bu olay kemik appozisyonudur. Kemik yapımı süresince, kemik trabekül ve lamellerin üzerinde devamlı bir osteoblast sırası bulunur (25-35).

Osteoblastlar, osteoklastların kemik iliğinde oluşumu ve PTH'nin osteoklastları uyarma aşamasında varlıkları şart olan hücreler olup, yüzey hücreleri ve osteositlerin de dahil oldukları osteoblastik seri hücreleri mekanik yüklenme, hormonlar ve diğer faktörlerin uyarısını algılayarak kemik döngüsünü kontrol ederler (36).

2.1.1.1.3. Osteoklastlar

Bu hücreler kemik dokusunun rezorbsiyonu ve yeniden şekillenmesini sağlayan, sitoplazmik uzantıları olan çok çekirdekli, dev hücrelerdir. Sitoplazmik uzantıları oldukça düzensiz olup kemiği yıkıma uğratırlar. Kandan gelen monositlerin birleşmeleriyle şekillenir ya da kemik iliği prekürsör hücresinden gelişirler. Bu hücreler kemik rezorbsiyonunun başladığı bölgelerde, enzimatik olarak açılmış Howship lakunalarında bulunurlar (24).

Osteoklastlar; kemik matriksine hücum eden asit, kollajenaz, proteolitik ve hidrofilik enzimleri salgırlar. Kemik yüzeylerine tutunmuş bu hücrelerin fonksiyonu, salgıladıkları enzimler yardımı ile kemiğin organik, inorganik matriksini ve kalsifiye kartilajını çözmek ve kalsifiye olmuş temel maddeyi serbest hale getirmektir. Bu süreç sonunda, Howship Lakünaları olarak adlandırılan kemik yüzeyi eroziv alanları oluşur. Osteoklastlar, kemik rezorbsiyonu sırasında meydana gelen artıkların ortadan kaldırılmasında da aktif olarak rol alırlar (27,28).

Osteoklastlar, osteoblastlarla birlikte kemiğin mekanik etkenlere bağlı olarak şekillenmesini kontrol ederler (36,37).

Bu hücreler kemik yapımı sırasında trabeküllerin yüzeyinde ya da kompakt kısımların iç yüzlerinde yerleşerek, bu alanları rezorbe ederler. Böylece kemikler genişleyip uzayabilme olanağına kavuşur. Kemiklerde bu yıkım sırasında açığa çıkan kalsiyum kana geçerek, kan kalsiyum düzeyini ayarlarlar. Böylece osteoklastlar; hormonal ve hücrel mekanizmaların kontrolünde kemik rezorbsiyonunu gerçekleştirirler (25-28, 38,39).

Osteoklastların kemik yüzeyine yakın olan kısımlarında hücre duvarı çok sayıda katlanma yaparak yüzeyi arttırır. Bu kısımlar mineralize yüzeye tutunarak rezorpsiyon

bölgesini belirler. Bu özellikleriyle osteoklastlar, kemik matriksinin hem organik hem de inorganik kısımlarının çözünmesini sağlarlar (37,40).

Osteoklastların kemik yıkımı bölgesini nasıl seçtikleri bilinmemekle beraber, kemik yüzey hücrelerinin, kontrakte olarak açtıkları ve random olarak osteoklastların, açık kemik yüzeyine yapıştıkları ve kemik yıkımını başlattıkları kabul edilmektedir (36, 37, 40).

Osteoklastlar, kemik mineral yapısını çözerek kalsiyumun açığa çıkmasını sağlarlar. Osteoklastların etkileri bifosfonatların, kalsitonin ve östrojen hormonlarının etkileriyle azalır; paratiroid, tiroksin hormonları ve D vitamini ile artar (5,15,36,37).

Osteoklastların yaşam süreleri 3-4 hafta olup, östrojen ve TGF- β osteoklast apoptozisini uyaran faktörlerdir (36).

2.1.1.1.4. Osteositler

Osteositler; kemik matriksi içerisinde hapsolmuş matür osteoblastlardır. Osteoblastlardan kaynaklanan osteositler, matriks lamelleri arasında bulunan lakünalar içine yerleşmişlerdir. Kalsifiye kemik dokusu içerisinde yer alırlar (4,25) (Şekil 2).

Her lakünada, sadece bir osteosit vardır. Osteositler lakünelara uyacak şekilde yassı veya oval biçimdedirler. Lakünalardan her yöne uzanan dar, ince tünellere de ‘kanalikuli’ denir. Her bir osteositten çıkan sitoplazmik uzantılar, kan damarlarına ve diğer osteositlere uzanarak bir ağ oluştururlar (4).

Kemik matriksinin yapısal ve metabolik bütünlüğünün korunmasını sağlarlar (37,41).

Mekanik zorlama kuvvetlerindeki değişikliklere yanıt verecek ve bu algılanan bilgileri sıvı akımını düzenleyerek yüzeydeki osteoblastik hücrelere kanalcıklar ve boşluk bağlantıları aracılığıyla iletebilecek şekilde konumlanmışlardır. Boşluk bağlantıları iki komşu hücre sitoplazması arasındaki iletişimi kalsiyum gibi küçük iyon taşınmasıyla kurarlar (42,43).

Bu hücreler, olgun kemikte en fazla bulunan hücre tipidir. Yaşlanmayla, östrojen hormonunun azalmasıyla ve glukokortikoid yapıda hormonların artmasıyla osteositlerin sayısı azalır (37,40).



Şekil 2: Osteositler (5)

2.1.1.1.5. Kemik Yüzeyini Döşeyen Hücreler

Kemik yüzeyinde düzleşmiş ve uzamış halde bulunan ve kemik yapımına katılmayan osteoblastlar, kemik yüzeyini döşeyen hücreler olarak adlandırılırlar (44-46).

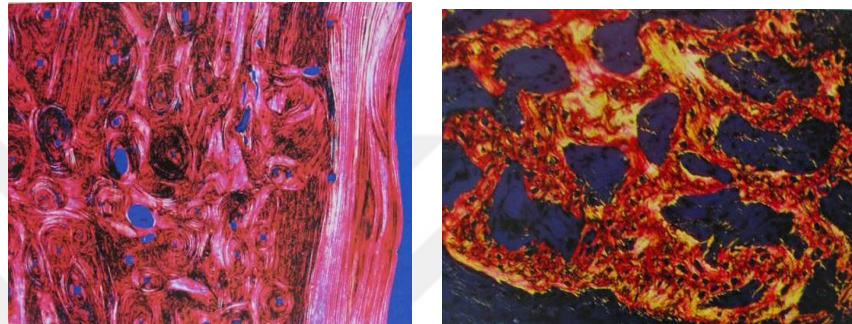
Erişkin iskeletinin büyük bir kısmını örterler (10,46). Kemik ve ekstrasellüler sıvı kompartmanı arasında bariyer oluşturdıkları ve kemikte yeni kemik oluşumunun veya rezorpsiyonunun hangi bölgede gerçekleşeceğini düzenledikleri tahmin edilir (21,47).

Bu hücreler komşu hücrelerle ve osteositlerle iletişim halindedirler. Yaş ilerledikçe bu işi hücrelerin yoğunlukları azalmaktadır. Kemik yüzeyindeki bu aktif olmayan hücreler her zaman aktif osteoblastlara dönüşme kapasitesine sahiptirler. Bu hücre engeli, kemik içine çevre sıvılardan kalsiyum ve fosfat giriş ve çıkışını düzenleyerek mineral dengenin sağlanmasında rol oynar ve uygun mikro ortamı koruyarak kemik kristallerinin büyümesini kontrol eder (44-46).

2.1.1.2. Hücreler Arası Doku (Kemik Matriksi)

Kemik matriksi, organik ve inorganik yapılardan meydana gelir ve %10-29'unu su, %60-70'ini inorganik yapı (kemik tuzları) ve % 30-40'ını ise organik yapı oluşturur. Organik yapının % 90-96'sı, bağ dokusunun ana bileşeni olan ve tüm vücut proteinlerinin 1/3'ünü oluşturan kollajendir. Kemik kollajeni diğer bölgelerde görülen kollajenden, mineralize olması ve birbirlerine paralel seyreden "lamellae" denilen bantlar şeklinde döşenmesi yönünden farklılık gösterir (Şekil 3). Kemik organik

yapısında kollajen dışında, “non-kollajenöz proteinler” olarak da adlandırılan proteoglikanlar ve glikoproteinler bulunur. Proteoglikanlara örnek olarak çeşitli glikozaminglikanlardan (GAGs) oluşan, versican decorin biglycan, fibromodulin, osteoglisin ve osteoaderin verilebilir. Glikoproteinler arasında ise; osteonektin, trombospondins, fibronektin, vitronektin, fibrilin, osteopontin ve kemik sialoproteinleri sayılabilir. Non-kollajenöz proteinlerin; büyüme faktörlerinin salınımında, hücrelerin inorganik matrikse tutunmalarında ve organik matriksin kalsifikasyonunda etkili oldukları ileri sürülmüştür (3,4).



Şekil 3: Kansellöz ve kortikal kemiğin kollajen yapıları (A) Tipik, gelişigüzel kollajen lif dağılımı sergileyen kansellöz kemik kesiti. (B) Kortikal kemikte kollajen liflerin düzenli, paralel ve havers sistemini oluşturan yapısını gösteren kemik kesiti (3).

2.1.1.2.1. Organik Matriks

- a) Kollajen ve
- b) Esas maddeden meydana gelir.

a) Kollajen

Kollajen; 1000 aminoasit kapsayan üç polipeptit zincirin üçlü sarmal şeklini alarak, hidrojenle birbirlerine bağlanması sonucu oluşan, uç uca kollajen birimlerinden meydana gelen bir yapıdır. Kollajen liflerin sentezi, mezenkimal kökenli osteoblastlar tarafından meydana getirilir. Kollajenin kapsadığı aminoasitlerin 113’ü glisindir. Bunun dışında, %21-23 oranında protein ve hidroksiprolin ile az miktarda hidroksilizini içerir. Beş farklı tipi bulunan kollajen yapının bileşimi dokudan dokuya değişebileceği gibi, bir doku içinde birden fazla tipi de bulunabilir (2, 3, 48).

Şimdiye kadar 18 çeşit kollajen tespit edilmiştir. Dokularda en çok görülen kollajen tipleri şunlardır;

Tip I: Kemik omurga diskleri ve tendonlarda bulunur.

Tip II: Kıkırdak dokularda bulunur.

Tip III: Kıkırdaktan daha yumuşak ve daha kolay eğilebilen dokularda bulunur.

Tip IV: Genelde bazal membranda bulunur.

Tip V: Kemik, kıkırdak ve bazal membranda bulunur.

b) Esas madde

Esas madde kollajen fibriller ve kemik kristalleri etrafındaki değişik makromoleküler yapılardır. Çeşitli glikozaminoglikanlar, gliko ve mukoproteinler ile fosfolipidlerden oluşur. Biyokimyasal olarak incelendiğinde; yapısında glikozaminoglikan olarak kondroitin sülfat A ve C, hyalüronik asit ve keratosülfat bulunur (49).

2.1.1.2.2. Mineral Matriks (Kemik Tuzları)

Kemik matriksi, organik ve inorganik bileşenleri olan bir yapıdır. Matriksin kuru ağırlığının yaklaşık %50'si inorganik madde tarafından oluşturulmaktadır. İnorganik yapı içerisinde, yüksek oranlarda kalsiyum ve fosfat bulunur. Bunlar moleküller kemikte hidroksiapatit kristalini oluştururlar. Bu kristal yapıların, 20-40 nm uzunluğa ve 3-6 nm genişlikte sahip iğne biçimli kristaller olduğu bilinmektedir. Kalsiyum ve fosfatın yanısıra magnezyum, bikarbonat, sodyum, hidroksil, potasyum, klor, sitrat ve flor da inorganik kemik matriksi içinde yer almaktadırlar. Hidroksiapatitlerin yüzey iyonları, hidrate olmuş durumdadır. Oluşan bu tabakaya “hidrasyon tabakası” denir. Bu katman, kristaller ile vücut sıvıları arasındaki iyon değişimini sağlar. Kemik matriksinin inorganik komponentinin yaklaşık %90-95'lik kısmı, tip I kollajenden oluşmaktadır (2, 3, 48, 50).

2.1.1.3. Çözünebilen Faktörler

Dönüştürücü büyüme faktörü (TGF) iltihap ve doku tamirinden sorumlu olup, TGF kondrosit ile osteoblastlarda sentezlenir ve enondral kemikleşme sırasında hücre dışı matrikste birikir. Onarım zincirinde rol almak üzere trombositlerden de salınır.

Makrofajlardan salınan en güçlü kemotaktik ajandır. Hücrenin integrin reseptörlerini uyarmak yoluyla hücre dışı matriks bileşenlerinden olan kollajen, fibronektin ve proteoglikanların oluşumunu artırır. Bağ dokusunda hasara yol açan proteolitik enzimleri baskılar ve granülasyon dokusu oluşumuna yol açar (51).

Fibroblast büyüme faktörü (FGF), monositler, makrofajlar, osteoblastlar ve kondrositler tarafından sentezlenir ve birçok mezodermal ve nöroektodermal hücreyi etkiler. Bazik formu olan FGF-2'nin sistemik olarak verildiğinde kırık iyileşmesini hızlandırdığını, lokal uygulamanının da kemik rejenerasyonunu stimüle ettiğini bildirmişlerdir (52).

Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), trombositler, monositler, makrofajlar ve endotelyal hücreler tarafından sentezlenerek mezodermal hücrelerin DNA sentezini ve hücre replikasyonunu stimüle eder. Bunun yanında özellikle fibroblastlar, monositler ve düz kas hücreleri için kemotaktik etkileri de vardır. Fibroblast çoğalmasını, mezenkimal hücre mitozunu, monosit ve makrofajların kırık bölgesine göçüne neden olduğu ve PDGF uygulamasıyla kallus yoğunluğunun ve hacminin arttığı bildirilmiştir (53).

2.1.1.4.Kemik Zarları

Kemiklerin iç ve dış yüzeyleri, kemiği oluşturan hücreler ve bağ dokusundan oluşan tabakalarla örtülüdür. Bunlardan dış yüzde olanına periost (periosteum), iç yüzde olanına ise endost (endosteum) denir (26,54-56)(Şekil 4).

2.1.1.4.1. Periost (Periosteum)

Periost, eklem yüzeyleri dışında kemikleri saran sıkı bağ dokusu membranıdır (40). Periost gelişme döneminde iki katlıdır. Dış tabaka fibroblast içeren kalsifiye olmayan düzensiz sıkı bağ dokusu yapısındadır, aynı zamanda kollajen lifler bakımından zengindir. İç tabakayı ise, osteoprogenitör hücreler oluşturur. Bu osteoprogenitör hücreler, konumları ve yassı şekilleri ile tanınırlar. Kemik yapımı ve onarımı sırasında iç tabaka çok aktiftir. Olgunlaşan kemiklerde ise çok incilir, fakat yine de bir miktar osteoprogenitör hücre yedek olarak saklanır.

Periost tabakası, damardan zengindir. Bunlardan bir kısmı, foramen nutrisyumdan kemik dokusuna girerek kemiği besler. Ayrıca bu tabaka, olgun

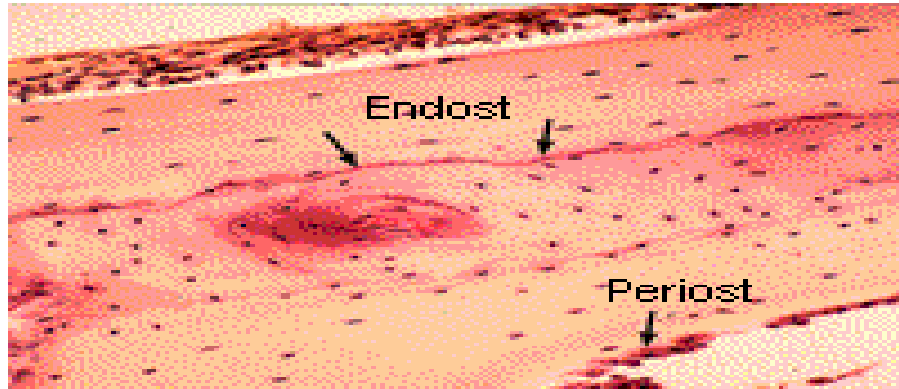
kemiklerde kemik dokusuna sıkı bir şekilde yapışmıştır. Dış kattan ayrılan kollajen lifler (Sharpey lifleri) kemik dokusuna girerek, dış sirkumfarensiyel lamellerle yüzeye yakın ara lamellerin derinlerine kadar iner ve böylece periostu kemiğe bağlar (2,54).

2.1.1.4.2. Endost (Endosteum)

Endosteum, kemiğin içindeki bütün boşlukları örter ve tek katlı yassı osteoprogenitör hücreler ile çok az miktarda bağ dokusundan oluşmuştur. Kompakt kemiklerin iç yüzleri ile spongioz kemikleri oluşturan trabeküllerin dış yüzleri, endosteum ile örtülüdür.

Retiküler bağ dokudan oluşan endost hem osteogenik hem hemopoietik özellik gösterir. Kemik iliği dokusunun devamı olan retiküller, bağ dokusundan yapılmıştır. Kemik dokusuna dönük kısmında ise, tek sıra halinde osteoprogenitör hücreler bulunur. Endosteum içinde osteoblastlar ve zaman zaman aralarında osteoklastlar bulunur.

Periosteum ve endosteumun temel işlevi; kemik dokusunun beslenebilmesi, büyüebilmesi ve onarımı için gerekli olan yeni osteoblastları aralıksız olarak sağlamaktır (2, 3, 54, 57) .



Şekil 4: Kemik zarlarının histolojik görüntüsü (57).

2.1.2. Kemik Tipleri

Kemiğin mikroskobik araştırması, primer ve sekonder olmak üzere 2 farklı tip kemik dokusu olduğunu göstermiştir. Primer kemik; embriyolojik gelişim sürecinde, kırık ve diğer onarım olaylarında ilk ortaya çıkan kemik türüdür.

Sekonder kemiğin lameller halinde organize olmuş kollajen lif dağılımının aksine; primer kemik, rastgele ve değişik yönlerde dağılmış ince kollajen lifleri ile tanınır. Primer kemik geçicidir ve yetişkinlerde yerini sekonder kemiğe bırakır (26,58).

2.1.2.1. Primer Kemik Dokusu

Primer kemik dokusu, intrauterin hayatta şekillenir. Buna, olgunlaşmamış kemik dokusu veya nonlameller (Woven, reticulated) kemik de denir. Yerini daha sonra, sekonder kemik dokusu yani olgunlaşmış kemik dokusu alır. Primer kemik dokusunda kollajen lifler dağınık seyreder ve ağlar kollajen yapar. Bu ağlar düzensiz kollajen demetler halindedirler. Kollajen lifler ve osteoblastlar ile döşeli, düzensiz vasküler boşluklardan oluşurlar. Mineral komponenti sekonder kemikten azdır. Temel madde yeterince kalsifiye olmamıştır. Doku, hücrelerden oldukça zengindir. Nonlameller kemik, embriyolojik dönemde ve kırık iyileşme sürecinde kallus oluşumunu sağlar (3,59). Kafadaki yassı kemik eklemleri, diş alveolleri ve tendonların kemiğe tutunduğu yerler gibi birkaç yer dışında yerini sekonder kemiğe bırakır (60,61).

2.1.2.2. Sekonder Kemik Dokusu

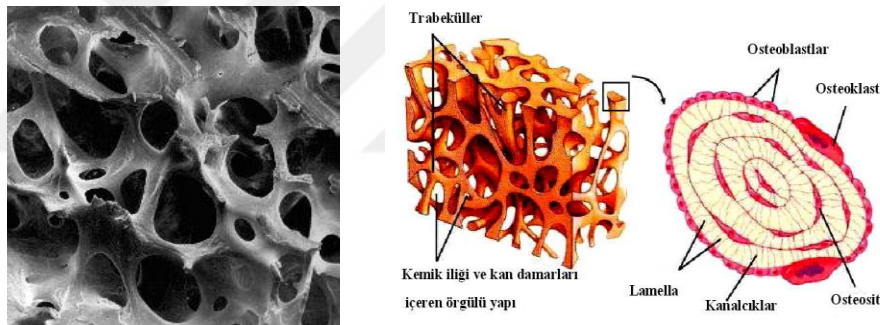
Bu doku, lamelli bir yapı gösterir. Her lamelde bulunan kollajen fibriller birbirlerine paraleldir, ancak komşu lamellerdekilere çapraz yönde ve spiraller yaparak seyrederler. Fibrillerin bu özel seyirleri sayesinde, sekonder kemik dayanıklılık kazanır. Primer ve sekonder kemik dokularında HA kristalleri, çoğunlukla kollajen fibrillerin üzerlerine çökelmiştir. Bu yapı kemik dokusunun sertliğini sağlamada önemlidir. (54).

Sekonder kemik dokusu, primer kemik dokusundan daha kalsifiye bir yapıya sahiptir. Primer ve sekonder kemik dokularında osteositler bulunur. Bu hücreler primer kemik dokusunda dağınık yerleşmişken, sekonder kemik dokusunda komşu lamellerin aralarına sıkışmışlardır. Erişkinlerde, sadece sekonder kemik dokusu bulunur. Sekonder kemik dokusunun spongioz kemik (süngerimsi, kansellöz) ve kortikal kemik (kompakt, lameller) olmak üzere iki türü vardır (54, 62, 63).

2.1.2.2.1. Kansellöz (Spongioz, Süngerimsi) Kemik Dokusu

Kemik trabeküllerinin birbiriyle anastomozlaşarak oluşturduğu süngerimsi bir yapıdır. Kansellöz kemik (trabeküler kemik) kortikal kemik yüzleri arasında, balpeteği görünümlü, boşluklarında hematopoetik elemanlar içeren, 1 mm kalınlığında trabeküllerden oluşur. Spongioz kemiğin trabekülleri arasında birbirleriyle bağlantılı irili ufaklı boşluklar bulunur ki, bunların içi de kemik iliği ile doludur. Spongioz kemik mekanik etkilere karşı zayıftır ve kolaylıkla kırılır. Vücut kemiklerinin hacimsel olarak %20'sini teşkil eder (64,65).

Bu kemik yapısı kısa ve uzun kemiklerin metafiz ve epifizlerinin iç kısımları ile yassı kemiklerin iç yüzeylerinde bulunur. Birbiriyle anastomozlaşan ince kemik trabeküllerinden oluşmuştur. Trabeküllerin aralarında kemik iliği ile dolu, düzensiz şekilli boşluklar vardır. Bunlar kemik iliğinde bol olarak bulunan kan damarlarından, sitoplazma uzantıları aracılığıyla besin maddelerini alırlar (57,62) (Şekil 5).

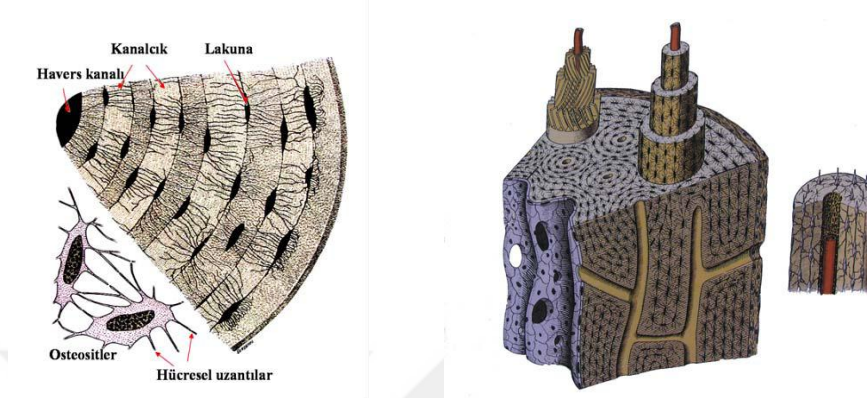


Şekil 5: Kansellöz kemiğin morfolojik yapısı (A) Kansellöz kemiğin gevşek trabeküler yapısının görünümü. (B) Kansellöz kemiğin trabeküler yapısının ve kemik iliği ile kan damarı içeren örgülü yapının şematik görünümü (57).

2.1.2.2.2. Kortikal (Kompakt, Lameller) Kemik Dokusu

Bu kemik tabakası tüm kemiklerin dış yüzeylerinde bulunur. Nonlameller kemikten yeniden yapılanma sonucu oluşurlar. Yassı kemiklerin iç ve dış tabakalarını, uzun kemiklerin dış yüzünü meydana getirirler. Kortikal kemiğin ana yapısı, “Havers sistem” olarak adlandırılan osteonlardır. Osteonlar; uzunlamasına dizili vasküler havers kanallarını saran silindirik şekilli vasküler kemikten oluşmuştur. Horizontal dizilimli Volkman kanalları, komşu osteonları birleştirir. Kortikal kemiğin mekanik gücü, osteonların sıkı dizilimine bağlıdır. Bu kemik balpeteği görünümlü hematopoetik

elemenlar içeren ağ ve kemik trabeküllerden oluşur. Trabeküller, kortekse dik yerleşimli olduklarından dış yüklenmeye yapısal karşı koyma gücü sağlarlar. Kansellöz kemik internal endostal yüzeyde, sürekli yeniden yapılanma oluşturmaktadır (3, 26, 66-69) (Şekil 6).



Şekil 6: Kortikal kemiğin morfolojik yapısı (A) Havers ve Volkmann kanallarının kemik yapı içerisindeki yerleşimleri. (B) Birden fazla paralel ve farklı yönlerde dizili kollajen liflerinden oluşmuş lameller yapılar izlenmektedir (3).

Kompakt kemik dokusunda iki türlü kanal bulunur. İlki havers kanallarıdır ve kompakt kemiğin uzun eksenine paralel aralıklarla yerleşirler. Diğeri ise Volkman kanalları olup, bu kanallar komşu Havers kanallarını birbirlerine bağlayan yan kollarıdır. Kemiklerin foramen nutrisyumlarından giren kan damarları, Volkman kanallarından geçerek Havers kanallarına ulaşır ve dallanarak iki yönde seyrederler. Buradan ayrılan yan kollar da, daha içteki Volkmann kanallarından geçerek daha derinlerdeki Havers kanallarına girerler ve en son içteki kemik iliği boşluğuna ulaşırlar. Böylece kompakt kemiğin tüm kısımlarına kan damarları ulaşmış olur (26, 70, 71).

2.1.3. Kemik İyileşmesi

Kemik iyileşmesi, orijinal kemik yapı ve fonksiyonunu geri kazandırabilmek için kompleks rejeneratif prosesler barındıran fizyolojik olaylar dizisidir. Kemik yapılanması iki ayrı mekanizmayla gerçekleşir: endokondral ve membranöz kemik yapımları (72).

Endokondral kemikleşme uzun kemiklerin epifizyal yüzeyi ve mandibulanın kondil başında meydana gelir ve kemik uzamasında rol oynar (73, 74).

Endokondral kemikleşme sırasında mezenkim doku, kemiğin hyalin kıkırdak modelini oluşturur ve bu kıkırdak model rezorbe olarak yerini yeni kemiğe bırakır. Bu olay doğum öncesi başlar ve büyüme tamamlanıncaya devam eder (21, 40, 75, 76).

Membranöz kemik formasyonu ya da primer kemik iyileşmesi, mezenkimal hücrelerin osteoidi üreten osteoblastlara diferansiyasyonu ile gerçekleşir. Bu osteoid daha sonra kemik formu oluşturmak üzere mineralize olur (73,75).

Mandibula (koronoid prosesin bir bölümü ve midsemfiz bölgesi dışında), kranyum kubbesi (supraperiostal sırttan oksipital perotubetantia'ya kadar), parietal kemikler, oksipital ve temporal kemiklerin squamaz kısımları, squama frontalis, sfenoidin büyük kanadının bir kısmı, ilium, skapula ve klavikulanın intramembranöz kemikleşme geçirir. 7. haftaya kadar klavikula intrauterin hayatta mineralize olan ilk kemiktir ve hemen bunun ardından mandibula mineralize olur (21, 75, 77).

Kemiklerde meydana gelen kırıklar 2 yolla iyileşir:

- Primer kırık iyileşmesinde, kırık bölgesinde herhangi bir dış kallus yapısı oluşmaz ve eksiklik intramembranöz kemikle dolar.
- Sekonder kırık iyileşmesinde, organizma kırık bölgesinin dışarıdan saran bir kallus oluşumu ile hareketsizliğini sağlar ve kırık bölgesini endokondral kemikleşme ile tamir eder (78,79).

Sekonder kırık iyileşmesi 4 evreden oluşur:

- İnflamasyon fazı
- Granülasyon dokusu fazı
- Kallus fazı
- Remodelasyon fazı

2.1.3.1. İnflamasyon Fazı

Bir kemik kırığında travmanın şiddetine bağlı olarak periost ve endosta yırtıklar ve kırık kemik uçlarında yer değişimi meydana gelir. Kırık uçlarını karşılıklı çaprazlayan kan ve lenf damarlarının yaralanmasıyla bu uçlar arasındaki kemik iliğinde

ve etrafında kan ve lenf sıvısı toplanır. Vazodilatasyon ve plazma eksudasyonuna bağlı olarak, kırık bölgesinde ilk 24 saat içinde ödem oluşur. Polimorf çekirdekli lökositler, monosit ve lenfositleri içeren akut inflamasyon hücreleri, ödemli bölgeye doğru göç eder. Ortama; interlökin-1 (IL-1), IL-6 gibi iltihapsal sitokinler ve TGF- β , PGDF gibi iyileşmeyi ve hücre sel yanıtı düzenlediği düşünülen büyüme faktörlerinden oluşan sinyal molekülleri salgılanır (64,80).

Taşan kan, sellüler debris ve doku fragmanları kırık sahasını bir hematoma içine sarar. Hematomun basıncı kırık uçlarının bir arada tutulmasına yardım eder. Oluşan hematoma, çevre yumuşak doku sahalarıyla sınırlanmış hipoksik asidik bir oluşumdur. Kanamanın durmasını ve pıhtılaşmayı sağlamak için trombosit ve trombotik faktörler yaralanma bölgesine salınır. Trombositler hızla hasarlı damarları tıkar ve hematoma içinde nekrotik pıhtı oluşturmak üzere fibrin depo edilir (64,80).

Pıhtı, önce akut inflamasyon hücreleri ile, bir kaç gün içinde de kronik enfeksiyon hücreleri ve makrofajlar ile dolar. Toplanan mezenkimal hücreleri pıhtıyı organize ettikten hemen sonra, içe doğru büyüyen kapillerler ile birlikte pıhtı 3 ya da 4 gün içinde reperatif fibrovasküler granülasyon dokusu ile yer değiştirir (64).

2.1.3.2. Granülasyon Dokusu Fazı

Lokal uyarılara cevap veren öncü hücreler yeni damar, fibroblast, hücrelerarası madde, destek hücreleri ve diğer hücreleri oluşturmak üzere farklılaşarak, oluşmuş olan hemotoma organize etmeye başlarlar. Öncü hücrelerin organizasyonu ve ayrımlaşmasıyla oluşan yumuşak granülasyon dokusu kırık bölgesinde bir miktar stabilite temin eder. Bu evrede kırık bölgesi pH'sı asidiktir (14, 47, 64).

Tamir sürecinde rol oynayan hücrelerin mezenkimal kaynaklı olduğu ve bunların kollajen, kıkırdak ve kemik dokusunu yaptığı bilinmektedir. Büyük bir kısmı granülasyon bölgesinden, periostun yeni kemik oluşturma yeteneğine sahip tabakasından ve endosttan salgılanır. Fibroblastlar kollajen, kondroblastlar kollajen ve glikoaminoglikanları, osteoblastlar ise osteoid maddeyi salgılarlar. Kallus adı verilen ve yara bölgesini bir zarf gibi çevreleyip, bölgenin hareket etmemesini sağlayarak iyileşmeye yardımcı olduğu düşünülen bu yapı; fibröz doku, kıkırdaktan ve olgunlaşmamış kemik dokusundan oluşur (64).

2.1.3.3. Kallus Fazı

Kallus fazında osteoid doku ve kıkırdak matriksin mineralizasyonu gerçekleşir. Osteoid doku mineralizasyonu osteoblastlar tarafından başlatılıp devam ettirilir. Kalsifiye doku içinde kalan osteoblastlar osteositlere dönüşerek dağınık trabeküler kemik ağını yaparlar. Osteoblastlar, tropokollajen salgılayarak kollajen liflerin dizilimini düzenlerler. Bunların üzerine kalsiyum iyonlarının çökmeye başlamasıyla sert kallus oluşur (64).

Kıkırdak dokuda alkalın fosfataz salgılanarak kıkırdak matriks kalsifiye olmaya başlar. Kalsifiye doku içinde kalan kondrositler difüzyonla beslendiklerinden ölmeye başlarlar ve bulundukları yerlerde lakünalar meydana gelir. Rezorbe olan kalsifiye kıkırdak matriks yerinde osteoblastlar tarafından osteoid doku ve fetal yeni kemik yapımı sürecine bağlı olarak kıkırdak doku ile kemik dokusu yer değiştirir. Yaralanmadan sonra kallüs mineralizasyonu için 4 -16 hafta arasında zaman gerektirir (47, 64, 81).

2.1.3.4. Yeniden Yapılanma Fazı

Kemik iyileşmesinin en uzun süren fazı olup, mekanik olarak kuvvetli fakat mikroskobik olarak düzensiz kallus, normal kemiğin lameller içeriği ile değişir. Kemik iliğinin bulunduğu bölgedeki kallus dokusu osteoklastlar tarafından rezorbe edilir ve kemik dokusu olağan görünümünü kazanır (64, 82, 83).

2.1.4. Kemik Büyümesi ve Gelişiminin Evreleri

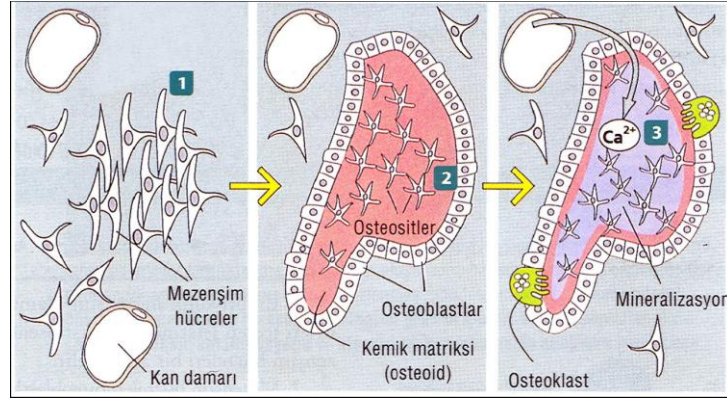
Kemiklerin büyümesi genetik özelliklere bağlı olduğu kadar fiziksel etkenlerle de yakından ilgilidir. Kemiğin enine büyümesi ya da genişlemesi yüzeyindeki periost tabakasından oluşan osteoblastlar sayesinde gerçekleşir. Kemiklerin boylarının uzaması ise kıkırdak taslağın yeni kemik dokusuyla düzenli olarak yer değiştirdiği endokondral kemikleşme sayesinde olur (5, 6, 84).

Kemikte gelişim ve büyüme embriyonik dönemde başlayıp, genç erişkin döneme kadar devam eder. İntramembranöz ve endokondral olmak üzere 2 tür kemikleşme vardır. Bunlardan intramembranöz kemikleşme bağ dokusu, endokondral kemikleşme ise kıkırdak dokunun katılımıyla oluşmaktadır. Kemikleşme hangi türde olursa olsun, ilk oluşan kemik dokusu birincil kemik olarak adlandırılan olgunlaşmamış

kemiktir. Oluşan bu birincil kemik kalıcı olmayıp yerini olgun lamelli kemik dokuya bırakmaktadır.

2.1.4.1. İntramembranöz Kemikleşme

Mezenşimal bağ dokusundan direkt olarak kemik şekillenmesidir (Şekil 7). Organizmada kafatası, sternum, pelvis gibi yassı kemiklerde, yüz kemiklerinde, mandibulanın processus coronoideus ve simfisis dışındaki bölgelerinde, kısa ve uzun kemiklerin kompakt kısımlarında görülür. Mezenşim hücreleri önce hızlı bölünme gösterir ve osteoprogenitör hücreye farklılaşırlar, daha sonra da osteoblastlara dönüşerek kemik matriksini şekillendirirler. Bu dokuda bol kılcıl damar gözlenir. Bu damarlar osteoid dokuya kalsiyum ve fosfor iyonlarını taşır. İyonlar, osteoblastların salgıladığı alkalin fosfataz aracılığıyla kalsiyum fosfat moleküllerine dönüşerek kalsifikasyonu sağlarlar. Oluşan dokuya kemik trabekülleri denir. Trabeküller içinde kalan osteoblastlar aktivitesi azalmış osteositlere dönüşür. Şekillenen trabeküllerin yüzeyine osteoprogenitör hücrelerden farklılaşan osteoblastlar tek sıra halinde dizilirler ve kemik lamelleri yaparlar. Bu olayın ardı ardına tekrarlanması sonucu birincil kemik trabeküllerinin yüzeylerinde ve kenarlarında lamelli ikincil kemik yapısında katmanlar meydana gelir ve trabeküller kalınlaşıp uzarlar. Bu sırada osteoklastlar kemikleri iç yüzlerinden rezorbe ederken, osteoblastlar da bir taraftan yeni kemik lamelleri eklerler. Böylece birincil kemik dokusu içeren trabeküller tamamen ortadan kalkar, geriye sadece ikincil kemik yapısındaki trabeküller kalır. Komşu trabeküller birbirleriyle kaynaşarak spongiyöz kemiği şekillendirirler. Bu kemiklerin iç ve dış yüzlerinde yine intramembranöz yolla bir miktar kompakt kemik eklenir ve kemikleşme sona erer. Trabeküllerin aralarında kalan mezenşim dokusundan da kemik iliği şekillenir (20,84-87).



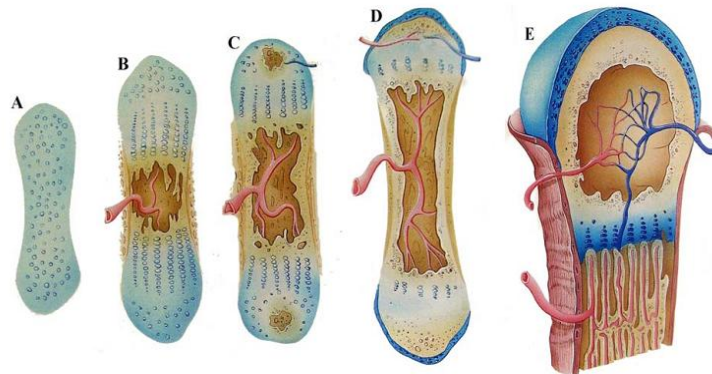
Şekil 7: (1) İntramembranöz kemikleşme. (2) Mezenkimal bağ dokusundan direkt olarak kemik şekillenmesi. (3) Mezenşim hücreleri hızlı bölünme gösterir ve osteoprogenitör hücelere farklılaşarak, sonra da osteoblastlara dönüşerek kemik matriksini şekillendirirler (3).

2.1.4.2. Enkondral Kemikleşme

Kemik oluşumu için kıkırdak çatının varlığı gereklidir. Uzun ve kısa kemikler bu yolla kemikleşirler. Bu iyileşme iki aşamada oluşur:

I- Hyalinize kıkırdak bir çatının oluşması

II-Kıkırdak yapının büyümesi ve kemik çatı için bir model olması, rezorbsiyonu ve yeni kemik oluşumu (88-90) (Şekil 8).



Şekil 8: Enkondral kemikleşme. (A) Hyalin kıkırdak model (B) Diyafiz kıkırdağını örten perikondriumun iç katındaki mezenkim hücreleri osteoprogenitör hücelere, onlar da osteoblastlara farklılanır. Osteoblastlar üst üste yerleşen kemik lamellerini yapar. Böylece yeni kemiğin periosteumu ile kıkırdak dokusu arasında kemik manşet oluşur. (C) Kemik manşet, kondrositlerin beslenmesini bozarak, kondrositlerde hipertrofiye, ardından ölümlerine neden olur. Kıkırdak modelin ortasında

kemik iliği kavitesi oluşur. **(D)** Kıkırdak modelin epifizleri ile diyafizi arasında kondrositler çoğalarak alt alta dizilen gruplar yaparlar. **(E)** Eski ve yeni kemikleşme bölgeleri arasında sadece epifiz plağı kalır (Gartner L.P., James L.H. Color Atlas of Histology, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Chapter 4, page 73, 2000).

İntramembranöz kemikleşme, mezenkimal dokular içerisindeki kemik oluşumdur. Çoğu yassı kemik bu yolla iyileşir. Organizmada kafatası, sternum, pelvis gibi yassı kemiklerde, yüz kemiklerinde, mandibulanın “processus coronoideus ve simfizisi” dışındaki bölgelerinde, kısa ve uzun kemiklerin kompakt kısımlarında görülür. Mezenkimal hücreler osteoblastlara farklılaşarak, kemik matriksini oluştururlar. Oluşturdukları trabeküler kemik yapıları “primer kemikleşme merkezi” olarak adlandırılır. Trabeküllerin kollajen yapıları birbirine paralel yapıda değildir. Kalsifikasyon ve osteoid oluşumunu takiben osteoblastlar “osteosit” haline gelir (91).

Mezenkimal hücrelerin mitotik çoğalması ile osteoprogenitör hücreler ve osteoblastlar oluşarak yeni kemik oluşumuna devam edilir. Kansellöz yapı içerisindeki trabeküler yapı yeterli olunca, içerisindeki interstisyel vasküler bağ dokusu kemik iliği haline gelir. Oluşan birçok kemikleşme merkezi birleşerek, oksipital kemik gibi yapıları yaparlar. Fontaneller, birleşmemiş kemikleşme merkezleridir (2-4, 56, 91-93).

2.1.4.2.1. Şekillenme (Modeling)

Kemiğin büyümesi ve şekillenmesi birbirlerini takip eden olgulardır. Büyümeyi kontrol eden yerel etkenler aynı zamanda bu yapılanmaya uygun bir kemik şekillenmesi de başlatırlar. Şekillenme süreci genel olarak, rezorpsiyon ve yeni kemik oluşumu mekanizmaları sayesinde kemik yüzeylerine daha fazla kemik dokusu eklenmesi ya da varolan kemik dokusunun azalması şeklinde tanımlanabilir. Büyüme sırasında yeni kemik oluşumu kemik yıkımından daha fazladır. Şekillenme olayı kemiklerin büyümesini, şeklini, direncini ve anatomik özelliklerini belirler. Bununla beraber şekillenme kortikal tabakanın kalınlığını artırarak ve kemik iliğinin bulunduğu boşluğun çapını genişleterek uzun kemiklerin uç kısımlarını şekillendirir. Ayrıca kafatası konturlarının değişmesinden de sorumludur. Erişkinlik dönemi ile beraber etkinliğini yitirir (5, 6, 74, 94).

2.1.4.2.2. Yeniden Şekillenme (Remodeling)

Kemiğin metabolik ve biyomekanik olarak çevre şartlarında varlığını sürdürebilecek yapıda olabilmesi kemiğin yeniden şekillenmesi sayesinde olur. Metafizde oluşan olgunlaşmamış kemik yapısal olarak olgun kemikten daha kalitesizdir, ayrıca ilerleyen yaşla beraber olgun kemiğin kalitesinde azalma görülür. Bu nedenlerden dolayı kalitesi düşen kemiğin yerine yeniden şekillenmeyle yeni lameller kemik yapımı gerçekleşir. İnsanlarda zamanla primer kemik dokusu rezorbe olarak yerini sekonder kemiğe bırakır. Primer kansellöz yapıdan sekonder kansellöz yapıya geçişte yeniden şekillenmeye bağlı olarak aşırı miktarda kemik kaybı görülür. Bu sekonder kemik sürekli olarak yok edilir ve yeni kuşak kemikle yer değiştirir. Bu süreç insan hayatı boyunca devam eder. Erişkin bir bireye ait kortikal kemiğin turnover (kendini yenileme) hızı 20 yıl iken, kansellöz kemiğin 1-4 yıldır. Kemiğin bu şekilde sürekli yenilenmesi iskelet yapının dayanıklılığını, kemik dokudaki hasarların onarımını, kan hücrelerinin üretilmesindeki devamlılığı ve kalsiyum metabolizmasının düzenlenmesini sağlamaktadır (5,6).

Sağlıklı ve osteoporotik kemikte ‘remodeling’in 4 safhası tanımlanmıştır (6,95).

2.1.4.2.2.1. Aktivasyon fazı, kemik yüzeyi üzerindeki bir lokusa bir osteoklast ekibinin çekilmesi olarak tanımlanır. Bu terim osteoklastların aktivitesi ile ilgili değildir. Normalde aktivasyon her 10 saniyede bir tekrarlanır ve sıklığı kemik dokusu üzerindeki yeni remodeling alanlarının sayısını belirler. Paratiroid hormon ve tiroid hormonları aktivasyon sıklığını artırır. Gonadal steroidler ve kalsitonin aktivasyonu inhibe eden faktörlerdir (96,97).

2.1.4.2.2.2. Rezorpsiyon fazında, osteoklastlar kansellöz kemiğin yüzeyi üzerinde 20 mikrometre/ gün hızı ile 4-12 gün içinde 40-60 mikrometre derinliğinde bir erozyon kavitesi açarlar. Daha sonra multinükleer hücreler yerini mononükleer hücrelere bırakır. Bu hücreler rezorpsiyon kavitesinin yüzeyini düzleştirirler. Sonraki 7-10 gün boyunca proteoglikanlar, glikoproteinler ve asit fosfatazdan zengin ancak kollajenden fakir bir semen maddesi depolanır (96,97).

2.1.4.2.2.3. Geri dönüşüm (reversal) fazı olarak adlandırılan bu evre osteoklastik kemik rezorpsiyonunun bitmesi ile kemik formasyonu arasındaki zaman aralığını ifade eder. Rezorpsiyon ve geri dönüşüm fazları tamamlandıktan sonraki eşleşme (coupling) fazında osteoblastlar erode olan yüzeye gelirler ve orada osteoid matriksi sentezlerler. Yeni oluşturulan kemiğin miktarı mevcut osteoblastların sayısı ve aktivitesi ile de ilgilidir. Osteoblastlar rezorpsiyon kavitesi içinde bir hücre tabakası oluştururlar ve mineralize olmamış kemik dokusu ve diğer matriks proteinlerini içeren osteoid matriks katlarını sentez ederler. Formasyon fazının başlangıcında matriks sentezi hızlıdır. Yeni oluşan osteoid lamelleşmiş bir kollajen düzenlemesine sahiptir. Kansellöz kemikte lameller genellikle trabeküllere paraleldir (96,97).

2.1.4.2.2.4. Mineralizasyon (Formasyon) fazında ise; matriks sentezinden birkaç gün sonra yeni oluşturulan osteoid mineralize olur. Matriks sentezinin başlangıcı ile mineralizasyonun başlangıcı arasındaki gecikme normal kemikte osteoid dokunun görülmesine neden olur. Bu esnada osteoidin hem matürasyonu hem de diğer kemik proteinleri ile birleşmesi sağlanır. Osteoblastın matriks sentezi tamamlandıktan sonra osteoblastın morfolojisi değişir ve mineralizasyon sırasında uzunlaşır. Mineralizasyon bittikten sonra dinlenme durumundaki osteoblastlar yassılaşır ve remodeling sona erer (96-98).

2.1.5. Kemik İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Kırık iyileşmesi; travmanın derecesi, yara uçlarının birbirlerine göre konumu, yara bölgesinin damarlanması, kemiğin tipi, immobilizasyon derecesi, lokal nekroz ve yumuşak doku hasarının miktarı, enfeksiyon varlığı gibi lokal faktörlerden ve yaş, diyabet, anemi, tüberküloz gibi sistemik hastalıklar, paratiroid hormonu, kalsitonin, insülin, büyüme hormonu gibi hormonlar, A, C ve D vitaminleri, kondroitin sülfat ve egzersizler gibi genel faktörlerden etkilenmektedir (64,99).

Bunlar lokal ve genel faktörler olarak iki ana başlık altında toplanır.

2.1.5.1. Lokal Faktörler

Travmanın şiddeti iyileşmeyi geciktirir. Kemik ve yumuşak doku kaybı olabilir. Bu da kırık iyileşmesi üzerine olumsuz etki yapar (100).

Karşılıklı gelen kansellöz kemik uçları kortikal kemiğe oranla daha süratle kaynar, çünkü kan ve hücreden zengindir ve birim alana düşen kemik temas yüzeyi daha fazladır. Kortikal kemikte ise birim temas yüzeyi daha az ve kanlanma daha zayıftır (101).

Enlemesine kırıklara göre kaymamış veya az kaymış spiral ve oblik kırıklarda iyileşme daha iyi olur. Spiral ve oblik kırıklarda kırık yüzeylerindeki damarlanma, kırık iyileşmesine yardım ederken, enlemesine kırıklarda damarlar aynı düzeyde kesilmiştir (102).

Kırık uçları arasındaki kallusun beslenmesi granülasyon dokusu ve kırık bölgesine gelen kan damarlarıyla olur. Uçların birbirinden uzak kalması sonucu bu dolaşımının bozulması kırık iyileşmesini birinci derecede bozan nedendir (102).

Kırık bölgesinde, cilt veya mukoza da yaralanmışsa; bu tür açık kırıklarda kallus ve kırık iyileşmesi için osteoblastik faaliyetle yatak görevi yapacak olan kırık hematoma ortadan kalkar ve dış ortamdan gelen bakteriler sonucu enfeksiyon gelişebilir, kırık iyileşmesi gecikebilir veya tamamen bozulabilir (103).

Enfeksiyon gelişirse, kırık yerindeki granülasyon ve kemikleşme dönemindeki dokuları harap olur, fibröz doku ve nedbe dokusu geliştirerek kırık iyileşmesini bozulur (103).

Kırık bölgesinde, yumuşak doku yaralanması meydana geldiğinde damarlarla beslenme bozulur. Kırık fragmanlarını stabilize edecek olan yumuşak dokuların yaralanması kırık tespitini bozarak kırık iyileşmesini güçleştirir (100).

Kırıklara gereken tespit uygulanmazsa kırık uçlar hareket ederek kırık bölgesindeki yeni damarlar parçalanır veya tıkanır, sonuçta kırık kemik onarımı bozulur. Redüksiyon ve manipulasyon denemelerinin tekrarlanması ve zorlanması da kırık iyileşmesini geciktirir (81).

Ayrıca, dejeneratif, metabolik, tümoral, enfeksiyon hastalıkları veya radyoterapi nedeniyle direnci azalan kemiklerde ufak travmalar kırılabilirliği artırır (47).

Kırık bölgesinde herhangi bir sinirin zarar görmesi sonucu iyileşme bozulduğu bildirilmiştir (100).

Düşük kuvvette lazer uygulamasının hayvan deneylerinde morfolojik, biyokimyasal, radyolojik ve ultrastrüktüel olarak kırık iyileşmesi üzerine hızlandırıcı etkisi olduğu gösterilmiştir (95).

Günde yaklaşık iki saat, 2-3 atmosfer basınç altında oksijen uygulanmasının kırık iyileşmesine yardım ettiği gözlenirken, günde altı saatlik dozda uygulamaların kırık iyileşmesini geciktirdiği izlenmiştir (104).

Deneysel ve klinik araştırmalar düşük şiddette ses dalgalarının uzun kemiklerde kırık iyileşmesini hızlandırdığını göstermiştir (100).

İyi redükte ve tespit edilmiş kırık kemiklere erken fonksiyon ve kontrollü yük verilmesinin kemik gelişimini uyardığı bildirilmiştir (100).

2.1.5.2. Genel Faktörler

- Sigara kullanımı,
- Malnütrisyon,
- Diabet,
- Romatoid artrit,
- Osteoporoz.

İyileşmenin ilk haftası içinde steroid kullanımı, sitotoksik ajanların kullanımı, nonsteroid antienflamatuvar ajanlar engelleyici etki göstermektedirler. Yine ilk 2 hafta içinde radyoterapi uygulaması ile hücre proliferasyonunda önemli engelleme olur (60).

2.1.5.2.1. İyileşmeyi Etkileyen Sistemik Hormonlar

- Östrojenler
- Glukokortikoidler
- Paratiroid hormon (PTH)
- Kalsitonin (64).

2.2. Greft Materyalleri

Kemik greftleri 4 gruba ayrılır:

- * Otojen greftler
- * Homojen greftler
 - Allogreftler
 - İzogreftler
- * Heterojen greftler (Ksenogreftler)
- * Alloplastik greftler (15).

2.2.1. Otojen Greftler

Hem donör hem de alıcının aynı kişi olduğu materyallerdir. Kemik parçası aynı hastada uzak bir sahaya (Heterotopik) transplante edilebilir veya aynı bölgede (Ortotopik) kullanılabilir (85,86).

Otogreftler en sık olarak kalvaryumdan, iliak kemikten ve kostalardan; ağız içinden ise simfizden, ramustan, tüber bölgesinden, ekzostozlardan, iyileşme durumundaki diş çekim soketinden ve interseptal alveol kemiğinden elde edilir (105,106).

Otojen kemik grefti kullanımının konakçı reddi, enfeksiyona gösterdiği direnç, kemik gelişimi için sahip oldukları potansiyel ve rekonstrükte ettikleri alanı taklit edebilme özelliği veya hastalık transferi komplikasyonlarını ortadan kaldırma gibi avantajları vardır (105,106).

Kortikal greftler, form sağlayıp, dayanıklı ve sert bir yapı oluştururken, osteogenezisi artırıcı yetenekleri yoktur. Kansellöz kemik ve kemik iliğinin primer avantajı, belirgin şekilde osteogenezisi artırma yetenekleridir. Bu yetenekleri, osteojeniteyi indüklemeye kapasitelerinin olması kadar, osteoblastlara dönüşebilen canlı hücrelere sahip olmalarına bağlıdır. Bu greftlerin bilinen tek dezavantajı; mekanik sağlamlığı sağlayamamalarıdır (105,106).

Kortikokansellöz kemik greftleri hem kortikal hem de kansellöz kemiklerin kuvvetli özelliklerini aynı derecede kombine etmemektedir. Kortikokansellöz kemik, daha nonpöröz bir yapısı olan kortikal kemik tabakasına sahip olduğu için kansellöz

kemik kadar osteogenezisi artırıcı özelliğe sahip değildir. Kortikokansellöz greftlerin avantajı; kortikal greftler gibi mekanik sağlamlık ve form kazandırmak, bir miktar da osteogeneziste artma elde etmektir (106,107).

2.2.1.1. Ağız İçinde Otojen Kemik Grefti Sağlanan Bölgeler

İntraoral olarak otojen kemik grefti sağlamak amacıyla başta simfizisis bölgesi, ramusun ön yüzü, tüber çıkıntısı, torus bölgeleri olmak üzere ağız içindeki uygun alanlar kullanılabilir. Literatürlerde, kısıtlı miktarda otojen kemik grefti gereken durumlarda yeni bir donör alan olarak zigomatik buttres'in kullanılabileceğini rapor edilmiştir. Greftlerin alınmasında frezler, testereler, lazerler ve ultrasonik enstrümanlar kullanılabilir (88). Başka bir çalışmada ramus bölgesinden otojen kemik grefti almak için Er, Cr: YSGG lazer kullanıldığı belirtilmiştir (108).

2.2.1.2. Ağız Dışında Otojen Kemik Grefti Sağlanan Bölgeler

İnsan vücudunda ağız içi haricinde başta kranial kemik, kaburgalar, iliak kemik, tibial kemik olmak üzere uygun bölgeler kullanılabilir. Ağız dışı bölgelerden otojen kemik greftinin alınmasının hastane şartlarında yapılması önerilir. Diğer yandan hastane şartlarına gereksinim olmaksızın klinik koşullarda da iliak bölgeden otojen kemik grefti alınabileceğini rapor eden çalışmalar da mevcuttur (109).

2.2.2. Allogreftler

Allogreftler, alıcı ile aynı türden olan, ancak genetik olarak farklı bireylerden elde edilen kemik dokularıdır. Taze dondurulmuş kemik, dondurulmuş kurutulmuş kemik ve demineralize edilmiş kemik matriksi olarak sınıflandırılabilirler (37,110).

Allogreftlerin immünolojik komplikasyonlarını ve hastalık taşıma potansiyellerini ortadan kaldırmak için hazırlanmalarındaki son teknikler, dondurma, dondurup kurutma gibi kriyobiolojik metodlar yada radyasyona tabi tutmadır (106,111).

Vericiden alıcıya geçebilecek önemli virüsler vardır ki bunlar; HIV, Jakob-Creutzfeldt hastalığı (CJD) ve Hepatit oluşturan virüs serileridir (106,112).

Demineralize edilmiş kemik matriksi, kemikte mevcut olan mineral yapının ortadan kaldırılmasıyla elde edilir. Bu işlem sırasında kemiğin mekanik özellikleri

azalır. Ancak, kemik matriksinde mevcut olan BMP gibi proteinler açığa çıkar. Bu tür kemik greftleri yerleştirildikleri bölgelerde osteoindüktif etki gösterirler (37,113-115).

Alıcı kemikte ve çevre dokularda revaskülarizasyonun iyi olması durumunda allojenik banka kemiği otojen greftten beklenen kadar iyi sonuç verir (106,116).

Dondurulmuş kurutulmuş kemiklerde osteojenik indüksiyon kapasitesi az olduğundan ve rezorbsiyonu sırasında bir miktar fibröz doku ile yer değiştirdiğinden, greft bölgesinde bir küçülme beklenir. Bu durumda, greft tamamen yer değiştirdikten sonra kemik kaybının en az %50 olacağı göz önünde bulundurulmalıdır (106,116).

Banka kemikleri osteoindüksiyon, osteokondüksiyon ve rezorbsiyon kombinasyonları ile iyileşir (106,117-119).

Araştırmacılar, liyofilize veya diğer allojenik insan kemiklerinin aksine antijeni çıkartılmış (deantijenize) allojenik kemiğin osseoindüktif olduğunu, kısmen ya da tamamen demineralize edilmesinden dolayı da osseokondüktif olduğunu bulgulamışlar. İnsan allojenik kemiğinin, hazırlanması sırasında kemik matriksi içerisindeki mikroorganizmaların tamamen zarar görmesinden dolayı, HIV dahil enfeksiyöz hastalıkların taşınmaması konusunda güvenilir olduğunu belirtmişlerdir (106,116).

2.2.3. Ksenogreftler

Bu tür kemik greftlerinde alıcı ile vericinin türleri birbirlerinden farklıdır. Genellikle memeli hayvanların kemiklerinden ya da mercanların dış iskeletlerinden elde edilirler. Memeli hayvanlardan at, sığır ve domuz sıklıkla greft kaynağı olarak kullanılırlar. Bu kemikler etilen diamin gibi organik çözücülerde bekletilerek organik bileşenlerinden arındırılırlar. Daha sonra geride kalan inorganik matriks sterilize edilerek kullanıma hazırlanır. Bu şekilde greft materyalinin immun yanıt meydana getirmesi engellenir. İnorganik ve proteinsiz olan bu yapı doymamış kalsiyum apatit kristallerinden oluşur (60, 106, 109, 113, 120).

Anorganik dana kemiği ile yapılan çalışmalarda greftin osteotomi alanlarında başarılı sonuçlar verdiği ancak, posttravmatik deformite ve hipoplastik alan düzeltmelerinde yetersiz kaldığı görülmüştür (106,121).

Sığır kemiklerinden elde edilen ksenogreftlerin biyolojik özelliklerini arttırmak için bu greft materyallerinin ince bir nano-kristal film kalınlığında kalsiyum fosfat tabakası ile kaplanması yöntemi kullanılmaktadır. Kaplamayı oluşturan kalsiyum ve

fosfat iyonları çözünerek konak kemiğin osteojenik hücrelerinin daha hızlı farklılaşmasını sağlamakta ve matriks işlevi görmektedir. Ayrıca, kalsiyum fosfat kaplamanın kandan PGDF ve TGF β gibi büyüme faktörlerini bölgeye çektiği ve osteoblastların farklılaşmasını sağladığı öne sürülmektedir (60,122).

Pyrost %93'ü HA, %7'si alpha-TCP olan tamamen deproteinize ksenojenik kemik greft materyalidir. Oral ve maksillofasiyal cerrahide kemik defektlerinde, greft gerektiren çeşitli osteotomilerde ve kimi zaman da kemik greftleriyle karıştırılarak kullanılmaktadır (106, 114, 123, 124).

Mercan, kemiğe yapısal olarak yakınlığı ve biyolojik olarak inert bir madde olması nedeni ile ideal bir greft materyalidir. Doğal mercan, osteoklastlar tarafından yavaş yavaş rezorbe edilirken, serbest kalsiyum iyonları osteoblastlar tarafından kullanılarak yeni kemik oluşturulur (86,110).

Blok formları, plastik ve rekonstrüktif cerrahi ile maksillofasiyal cerrahide onlay greft olarak kullanılırken, granül formları periodontal kemik defektlerinde, çekim kaviterlerinde ve küçük kist operasyonlarından sonra kullanılmaktadır (106, 125, 126).

2.2.4. Alloplastlar

Otogreftlerin sınırlı miktarda elde edilmesi, allogreft ve ksenogreftlerin hastalık transfer riski gibi istenmeyen özelliklerinden dolayı, günümüzde araştırmacılar sentetik yolla üretilmiş greft materyallerine yönelmişler ve birçok sentetik materyal kemik defektlerinde kullanılmak üzere üretilmişlerdir. Bu konuda birçok materyalin bulunması, bu materyallerin iyi bir şekilde araştırılmasını zorunlu kılar. Alloplastlar, son yıllarda maksillofasiyal iskeletin onarımında kullanılan gerekli bir materyal haline gelmiştir (15,127).

İdeal bir alloplast şu özellikleri taşımalıdır:

- *Sitotoksik, karsinogen, iritan olmamalı, alerji yapmamalı, spesifik ve non-spesifik immün sistem mekanizmalarını harekete geçirmemeli

- *Mekanik basınçlarla fiziksel değişikliklere uğramamalı, kırılma ve bükülmeye karşı dirençli olmalı

- *Değişik sistemlerle bozulmadan steril edilebilmeli

- *Uygulandıktan sonra özelliklerinde ve yapısında herhangi bir değişiklik olmamalı

- *Kullanımı ve depolanması kolay olmalı
- *Enfeksiyona dirençli olmalı
- *Ucuz ve elde edilmesi kolay olmalı
- *Osteokondüktif ve osteoindüktif özellikte olmalı
- *Minimal düzeyde fibrotik reaksiyon göstermeli
- *Kolayca şekillendirilmeli
- *Hidrofilik yapıda olmalı ve
- *İmplant edildiği dokuya fiziksel olarak benzemelidir (128, 129,130).

Otojen kemik greftleriyle karşılaştırıldığında, alloplastik implantların bazı avantajları göze çarpmaktadır. En göze çarpan avantajı, donör sahaya ihtiyaç duyulmamasıdır. Ek bir operasyon alanı ve ilave anestezi süresi oluşmaz. Ayrıca, istenilen miktarda ve büyüklükte elde edilebilmektedirler (131-133).

Alloplastların çoğu sadece osteointegrasyon ve osteoindüksiyon özelliklerini taşımaktadır. Bazen yabancı cisim ve enflamasyon reaksiyonuna da neden olabilmektedirler. Enflamasyon alanında greftin rezorbe olması ihtimali, dezavantajlarından (132).

Alloplastik materyallerin başarı veya başarısızlığı kimyasal birleşimi, biyostabilitesi, fiziksel formu, mekanik özellikleri ve implant yapılacak olan saha gibi birçok etkene bağlıdır. Vücutta genel olarak bulunan maddelerin, alloplastların kimyasal yapısında bulunması implantın başarı oranını artırır. İskelet sistemi primer olarak kalsiyum, yumuşak dokularda da hidrokarbondan oluşur. Genelde alloplastlar bu iki yapının temel taşı olan karbon ve kalsiyumdan elde edilmişlerdir (132).

Periyodik tabloda karbonun (C) atom numarası 6'dır. Çevresindeki kimyasal ve fiziksel özellikleri bakımından en uygun madde ise silikondur. Atom numarası 14 ve periyodik tabloda karbonun tam altında yer alır ve yumuşak doku augmentasyonunda implantın uygun manüplasyonuna izin verir. Kalsiyumun (Ca) atom numarası 20 olup, çevresindeki en uygun element ise, hemen altındaki atom numarası 22 olan titanyumdur. İskelet sistemi titanyumun implant olarak kullanımına izin verir. Bu iki elementin karbon ve kalsiyum ile benzerliğinden dolayı yabancı cisim reaksiyonu gerçekleşmemektedir. Buna göre biyouyumlu implant olarak en sık kullanılan maddelerin, silikon ve titanyumdan oluşması gerekmektedir. Genel olarak alloplast

materyallerin elemental özellikleri, kalsiyum ve karbona yaklaştıkça uzun dönem başarısı artmaktadır (132).

2.3. Ozon

Ozon (O^3) üç oksijen atomundan oluşan, doğada gaz halinde bulunan bir moleküldür (134). Atmosferik oksijenden (O^2) daha yüksek bir enerjiye sahiptir (135).

2.3.1. Ozonun Tarihçesi

Marum M. V. 1785 yılında, içinden elektrik kıvılcımları geçirilen havayla yaptığı deneyde “elektrik sel maddenin kokusu” olduğunu tespit etmiştir. Aynı deneyleri 1840 yılında tekrarlayan Alman kimyager Schöbein F, oluşan kokunun Yunanca “koklamak” manasına gelen “ozoin” kelimesinden gelen ozon adını verdiği bir gazdan ortaya çıktığını buldu (136). Ozon molekülü keşfedildikten bir süre sonra tıbbi amaçlı kullanılmaya başlanmış (137) ve 1856 yılında ameliyathane dezenfeksiyonunda kullanıma girmiştir (138). Daha sonra Monako şehrinin su arıtma tesisinde kullanılmaya başlanmıştır (139). Soret 1865 yılında, ozonun kimyasal formülünü bulmuştur (140). Mariniak ve Delarive, ozonun oksijenin allotropik formu olduğunu belirtmiş, Mulliken ve Dewar ise, ozonun moleküler yapısını ortaya çıkarmışlardır (141). Nicola Tesla 1900 yılında ilk ozon jeneratörü patentini almıştır (138). Clarke HJ, 1902 yılında ozonu anemi, kanser, diyabet, influenza ve morfin zehirlenmesinde kullanmıştır (138). Birinci Dünya Savaşı sırasında Wolf A, kangren ve yaraları ozon ile tedavi etmiştir (142). Ozon uygulaması, Amerika Birleşik Devletlerinde 1880 yılından 1932 yılına kadar alternatif tedavi yöntemi olarak kabul edilmiştir (143). Warburg O, 1926 yılında kanserin hücre düzeyinde oksijen azlığından meydana geldiğini bildirip, bu tespiti ile 1931 ve 1944 yıllarında Nobel ödülü almıştır (138).

Günümüzde ozon; su arıtma, gıda endüstrisi, kağıt endüstrisi, tekstil sektörü, tıp gibi birçok farklı alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (138).

2.3.2. Ozonun Fiziksel Özellikleri

Ozon, oda sıcaklığında açık mavi renkli bir gaz olarak bulunur. Havadaki konsantrasyonu 2 milyonda bir (ppm) iken kendine has bir kokusu vardır (144). Tablo 1’ de ozonun fiziksel özellikleri gösterilmektedir.

FİZİKSEL ÖZELLİK	DEĞERİ
Moleküler Ağırlık	48
Kaynama Noktası (101kPa)	-111.9
Erime Noktası	-192.7
Kritik Sıcaklık	-12.1
Kritik Basınç	5.53Mpa
Yoğunluk (Gaz formunda)	2,144kg.m ³
Yüzey Gerilimi	3,84 * 10 N ⁻² .mm ⁻¹
Isı Kapasitesi (Gaz Formunda)	1884 J.kg ⁻¹ .K ⁻¹
Isı Kapasitesi (Sıvı Formunda)	818 J.kg ⁻¹ .K ⁻¹
Buharlaşma Enerjisi	15.2 kJ.mol ⁻¹

Tablo 1. Ozonun fiziksel özellikleri (145)

Atmosferin özellikle üst tabakalarında oldukça bol bulunan bir moleküldür (4). Ozon gazının bulunduğu iki bölge ekolojik işlev açısından önem taşımaktadır. Bunlardan biri çok az yoğunlukta bulunduğu, yeryüzüne yakın, çeşitli atmosfer olaylarının yer aldığı, atmosferin ilk tabakası olan troposfer tabakasıdır (10 ile 15 kilometreye (km) kadar). Diğeri ise yoğun olarak bulunduğu, yaklaşık 20 ile 30 km yükseklikteki kuru, soğuk ve bulutsuz olan ikinci atmosfer tabakası stratosferdir (50 ile 60 km' ye kadar) (146).

2.3.2.1. Stratosferik Ozon/İyi Ozon

Stratosfer tabakasında atmosferdeki toplam ozon gazının %90' ı bulunmaktadır. Burada ozon molekülü ve ozon atomu güneş ışınlarının etkisiyle bir yandan ozon tabakasını oluştururken, bir yandan da güneş ışınlarının etkisi ozonu parçalamaktadır (147). Bu tabaka güneşten dünyamıza ulaşan ışınların %9'unu oluşturan kısa dalga boylu (280-320 milimikron) ve zararlı ultraviyole (UV) ışınlarının çoğunu soğurur ve %2 ile 4' ünün geçişine izin verir. Bu fonksiyonuyla adeta bir kalkan görevi görür (146). O₂, atmosferin üst tabakalarına çıktığında güneşin UV ışınlarına maruz kalır ve ozona dönüşür. Oluşan ozon tabakası, UV ışınlarını filtre eden koruyucu bir tabakadır (148). Stratosferdeki rüzgarlar, ozonu dünya etrafında dolandırarak ozon tabakasının

korunmasını sağlamaktadır (149). Ozon molekülü stratosferde UV radyasyon alınca oksijen atomu ve molekülüne ayrışırken yani harcanırken, bir yandan da kloroflorokarbon (CFC) gazları tarafından yok edilir. Böylece ozon tabakasında bir delik meydana gelir (150). Dünyada gün geçtikçe artan zararlı maddeler stratosfere geçerek, bu bölge kısmen hareketsiz olduğu için, uzun yıllar boyunca burada kalacaktır. Bu durumun koruyucu ozon tabakasının etkisini azaltmasıyla, çok tehlikeli UV ışımalarının doğrudan dünyaya ulaşması tehlikesi belirecektir (146).

2.3.2.2. Troposferik Ozon/Kötü Ozon

Bu tabakadaki ozon, sera etkisini artırıcı gazlardan olup, kısmen stratosferden taşınma ile kısmen de insan aktiviteleri ile serbest kalan nitrojenoksit (NO^2) gibi gazların atmosferdeki diğer gazlarla reaksiyonu sonucu oluşmaktadır (151). Yer yüzeyine yakın bu ozonun en büyük kaynağı motorlu araçların egzozlarından çıkan gazların (çoğunluğunu NO^2 oluşturur), güneş ışınları tarafından ayrıştırılmasıdır. Bu nedenle yazın ve güneşli günlerde ozon miktarı artarken, akşamları ve bulutlu havada azalır. Bu yolla oluşan ozonun solunum sistemi için toksik etkiye sahip olabileceği dikkate alınmalıdır (134). Eğer ozon gazı miktarı, yeryüzüne yakın hava tabakalarında yüksek yoğunlukta bulunursa (>180 mikrogram (^{g})/ m^3) insan sağlığına zarar verir (solunum rahatsızlığı, görme problemleri, baş ağrısı gibi). Atmosferik ozonla en çok etkileşen yapılar; solunum sistemi ve cilt dokularıdır (152). Orman ağaçlarının vaktinden önce yaprak dökmesine ve ilkbaharda yapraklanmanın gecikmesine neden olur (153).

Ozon, stratosfer tabakasında 1 ile 10 ppm konsantrasyonda gaz formunda bulunur. Devamlı olarak üretilir ve moleküler oksijene parçalanır (143,154). Ozon, tabiattaki en etkili oksidan bileşiğidir ve birçok moleküle karşı duyarlıdır (155). Güneşten gelen zararlı B ve C UV ışınları stratosferik ozon tarafından absorbe edilirler (154). Bundan dolayı ozonun; stratosferin termal yapısında ve dünya üzerindeki ekolojik iskeletin sağlanmasında önemli rolü vardır (156). Ozonun mikroorganizmaları yok etme özelliğinin yüksek olmasından dolayı keşfinden sonraki ilk yıllarda içme sularının dezenfeksiyonunda kullanılmıştır (139). Birçok araştırmacı suyu kısa sürede dezenfekte edebilme özelliğinin kullanılması gerektiğini vurgulamıştır (157). Ozonun mevcut dezenfeksiyon etkisi güçlü okside edici özelliğinden kaynaklanmaktadır.

Sadece virüs ve bakterileri öldürmekle kalmaz, tüm mikroorganizmalar ve onların toksinlerini de okside edebilir. Ozon ayrıca fenoller, pestisitleri, deterjanları, kimyasal atıkları ve aromatik bileşikler de etkili şekilde nötralize edebilir (142). Ozon, su arıtımında kullanılan kimyasallar arasında, alkali çözeltilerde 2,07 voltluk oksidasyon potansiyeli ile güçlü oksidanlar arasında yerini alır. Bu nedenle, sularda bulunan patojenleri etkin bir şekilde dezenfekte edebilmesinin yanı sıra, sudaki organik ve inorganiklerin çoğunu da oksitleyebilme kapasitesine sahiptir (158). Klorin ile karşılaştırıldığında düşük konsantrasyonlarda hızlı etki göstermekte ve diğer dezenfektan ajanların karakteristik özelliği olan koku ve tat gibi özellikleri bulunmamaktadır (159).

2.3.3. Ozonun Kimyasal Özellikleri

Ozon (O^3 molekül ağırlığı= 47,98 g/mol); üç atomlu, endotermik ve termodinamik olarak oldukça kararsız bir oksijen bileşiğidir. Kısa yarılanma ömrü ile basınç ve ısı gibi çevre koşullarına bağlı olarak kısa süre içinde moleküler oksijenden atomik oksijene dönüşür (160). Ozonun suda ayrışma işlemi, ikinci oksidan olarak oluşan hidroksil (OH) molekülü; ayrışmayı hızlandırır (31). Üç oksijen molekülü, 68,4 KiloKilokalori (Kcal) enerji ile iki ozon molekülünü meydana getirir.

Oksijen atomu doğada çeşitli formlarda bulunabilir:

- 1- Serbest atomik parçacık (O) formu, yüksek oranda duyarlı ve kararsızdır.
- 2- Oksijen (O^2) molekülü formu, en kararlı ve sık bulunan formudur. Gaz formunda renksiz, sıvı formunda açık mavi renktedir.
- 3- Ozon (O^3) formunun, yoğunluğu oksijenin bir buçuk katı kadar fazladır. Yüksek enerjili bir moleküldür. Gaz formunda açık mavi, katı formunda koyu mavi renktedir.
- 4- O^4 molekülü formu, yüksek oranda kararsız ve az bulunan bir formudur. Kolay bir şekilde iki atomlu oksijen molekülüne (O^2) dönüşür (161).

2.3.4. Yapay Ozon Üretimi ve Ozon Jeneratörleri

Yapay ozon üretimi ilk olarak 1857 yılında, Siemens Firması' nın endüstriyel ozon jeneratörünü geliştirmesiyle başlamıştır. Geliştirilen bu jeneratör corona discharge

esasına dayanmaktadır. Jeneratörde ortak merkezli iki cam tüp kullanılmıştır; dıştaki tüpün dış kısmı ve içteki tüpün iç kısmı kalay ile kaplanmıştır. Hava dairesel alanda sirküle olmaktadır. Bu teknoloji daha sonra, kullanılmakta olan havanın soğutma suyu sirkülasyonu ile soğutulması tekniğinin ilave edilmesi ile geliştirilmiştir. Bu da daha düşük sıcaklık artışına ve dolayısıyla ozonun sıcaklıktan dolayı daha az bozunmasına yol açmaktadır. Ozon üretimi; ara bir basamak olan atomik oksijen radikallerinin oluşmasını (oksijen molekülü ile reaksiyona girebilen) kapsamaktadır(162).

Oksijen molekülünü parçalayarak, elde edilen atomlardan birini, bir başka oksijen molekülüne bağlayarak ozon elde edilmesini sağlayan makinelere genel olarak ozon jeneratörleri adı verilmektedir (162).

Ozon jeneratörlerinin çalışması prensip olarak 3 ana yöntemeye dayanmaktadır:

a. UV Ozon Jeneratörleri: Dalga boyu 220 nanometre (nm)' den kısa ışın veren UV lambalarının etrafından hava geçirilmesi sonucunda üretilen ozon gazı; gıdaların korunmasında, bira fabrikalarında, otel ve hastanelerde ortam havasını temizlemede kullanılmaktadır. UV jeneratörlerinden elde edilen ozon miktarı, su dezenfeksiyon/arıtma işlemleri için yeterli değildir. Yüksek konsantrasyonda ve daha fazla ozon üretimi için corona-discharge teknolojisinin kullanılması gerekmektedir (162).

b. Düşük Frekans Ozon Jeneratörleri: Yüksek frekans ozon jeneratörlerine göre aynı miktar ozon üretimi için 2 kat fazla elektrik enerjisi tüketmektedirler (162).

c. Corona-Discharge Esaslı Ozon Jeneratörleri: Sabit elektrik akımı vererek elektronları hızlandırmak suretiyle kinetik enerji kazandırarak, oksijen molekülündeki oksijen-oksijen çift bağını parçalamak esasına dayanmaktadır.

Bu işlem sonunda açığa çıkan iki oksijen atomu; ozonu oluşturmak üzere diğer oksijen molekülü ile reaksiyona girmektedir. Tıp ve diş hekimliğinde en çok tercih edilen jeneratör tipidir. Uygulaması basittir ve doz ayarı mevcuttur (135).

Ozon üretimi için başlıca iki tip cihaz kullanılmaktadır:

a. Plaka Tip Ozon Jeneratörü (plate-type): Bu cihazlarda dielektrik olarak kalın düz plakalar ve metal elektrotlar kullanılmaktadır. Kullanma güçlüğü nedeniyle plaka tip ozon jeneratörleri, fazla kullanım alanı bulamamıştır.

b. Tüplü Tip Ozon Jeneratörleri: Bu cihazlarda ise, kalınlığı daha az olan cam tüpler ve tüplerin ortasında madeni ayrı bir tüp kullanılmaktadır(162).

Ozonytron®(Mymed, Almanya), Cytozon®(Hansler, Almanya), HealOzone®(CurOzone ABD, Kavo Almanya), Neo Ozone Water-S®(KORM Electronics, Japonya), Ozi-Cure®(Centurion, Güney Afrika), Sander Ozonizer (Eltze®, Almanya) dış hekimliğinde sıklıkla kullanılan ozon jeneratörleridir.

2.3.5. Ozonun Kullanım Alanlar

Günümüzde ozonun yaygın olarak kullanıldığı sektörler; su arıtımı, koku giderme, dezenfeksiyon, gıda endüstrisi, yıkama, kağıt endüstrisi, çiçekçilik, tekstil, hava ve koku temizlemesi, soğuk hava depoları, medikal kullanım olarak sıralanabilir (138,163).

2.3.5.1. Ozonun Medikal Kullanımı

Ozonun medikal kullanımının ilk olarak 1880 yılında Kellogg J.H. tarafından gerçekleştirildiğini yazan kaynaklar bulunmakla birlikte, daha yaygın görüşe göre kabul edilen ilk medikal kullanımı Birinci Dünya Savaşı sırasında Alman askerlerinin kangren ve benzeri ciddi yaralanmalarını tedavi eden Wolff A.'ya dayanır. Bilimsel bir toplantıda ozonun tedavi edici bir ajan olarak gündeme alındığı ilk önemli organizasyon ise 1935 yılında Berlin'de toplanan 59. Alman Cerrahi Birliği (59th Meeting of the German Surgical Society) toplantısı olup, burada Payr E. "Cerrahide Ozon Uygulamaları" başlıklı kendi vakalarından oluşan derleme türünde bir sunum yapmıştır (137).

Günümüzde ozon tedavisi pek çok ülkede tedavi modeli olarak kabul görmüştür (10). Ancak birçok çalışma, ozonun klinik değerlendirmesini yaparken tedavi edici etkilerinden çok zararlı etkilerini temel almaktadır (164).

Ozonun medikal uygulaması; %100 saf oksijen şeklinde, %0,05 O³ ile %99,95 O² şeklinde veya %5 O³ ile %95 O² şeklindedir. Tıbbi oksijenden elektronik boşalmalarla üç atomlu ozon oluşur. Ozon çok yüksek oksidasyon gücüne sahip olduğu için tıpta "aktif oksijen" olarak tanımlanır. Ozonun metabolizmadaki etkisi, konsantrasyonuna ve kullanıldığı doza bağlı olarak değişiklik gösterir (17) ve 260 farklı hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (165).

Ozonun bilinen etkileri şunlardır(166):

1. Bakterisit, virüs ve fungusit etki
2. Sistemik hemostazı onarıcı etki
3. Kanın oksijen taşıma fonksiyonunun restorasyonu
4. Pro ve anti-oksidan sistemlerin optimizasyonu
5. Mikrodolaşım ve periferik kan dolaşımının restorasyonu
6. Kanın pıhtılaşmasının azaltılması
7. Hematopoezin stimülasyonu
8. Karbonhidrat, protein ve lipid gibi biyolojik substratların metabolizmalarının optimizasyonu (biyoenerjetik, biyosentetik etki)
9. Biyolojik aktif maddelerin üretiminin aktivasyonu
10. İmmünomodülatör etki (küçük dozlarda immünostimülasyon, yüksek dozlarda immünosüpresyon)
11. Analjezik etki
12. Detoksifikasyon

Ozone suyun kullanım alanları; yara tedavisi, mantar enfeksiyonları, liken veya küfler, zona, herpes zoster, dış kulak yolu enfeksiyonudur (167).

Gastroenterolojide; gastrit, özefajit, peptik ülser ve kronik kolesistitte kullanım alanı mevcuttur. Kolit, proktit, anal fistül ve primer olarak anüs bölgesindeki operasyonlardan sonra ozonlu su ile lavman ve rektal yıkamalar tavsiye edilir. Yüksek miktarda aktif oksijen içeren taze hazırlanmış su (veya serum fizyolojik); üretra, mesane, abdomen yıkanmasında ve vajinal spreyleme için dezenfektan olarak çok etkilidir. Kulak-burun-boğaz hastalıklarının tedavisinde, boğaz gargarası, paranasal sinüslerin yıkanması ve inhalasyon için kullanılır.

Ozon, stomatolojide yaygın olarak kullanılır; hem dezenfektan olarak hem de diş çekimi sonrasında yara iyileşmesinde, oral enfeksiyonlar, kandida veya parodontitis vakalarında, stomatit, yumuşak dokuda enfekte yaraların tedavisinde, cerrahi işlemlerden önce oral kavitenin yıkanmasında kullanılır (166).

Ozon tedavisinin özellikle enflamatuar sürecin yoğun olarak yaşandığı ve immün sistemin ön planda yer aldığı fizyopatolojik durumlarda tedavi edici etkisi çok yüksektir. Ozon uygulamaları yara iyileşmesi, iskemik ve enfeksiyöz hastalıklarda yapılan vaka analiz çalışmalarında olumlu etkiler göstermiştir. Bunun yanında basit

dental ve oral enfeksiyonlardan hepatite kadar uzanan enfeksiyöz hastalıklarda etkin olarak uygulanmaktadır (165).

Ozon tedavisi belirli bir miktarda oksijen/ozon karışımının vücut boşluklarına ya da dolaşım sistemine uygulanmasıdır; bu karışımın intravenöz, intramuskuler, intraartiküler, intraplevral, intrarektal ve intradiskal uygulanabildiği gibi topikal de uygulanabilir (158).

Ozonun diğer bir uygulama şekli minör hemoterapidir. Bu yöntem daha çok alerjik durumlarda, fönkölozda ve destek kanser tedavisinde kullanılır (135,142).

Uygulama şekli şöyledir: Hastadan alınan 5 ml kan aynı miktarda 80 ile 100 mikrolitre (μ l)/ml konsantrasyonundaki oksijen/ozon karışımı ile 1 dk. inkübe edilir. Bu sırada ozonun, yine aynı şekilde kanda önce çözünüp sonra da biyolojik moleküller ile reaksiyona girmesi beklenir. Daha sonra bu kan, gluteus kasına yavaşça enjekte edilir. Enjeksiyon yerinde hafif derecede steril enflamasyon meydana gelmekte, bölgeye nötrofil ve monositler gelerek denatüre proteinleri ve parçalanmış eritrositleri fagosite etmektedir. Eğer kan içinde HCV, HBV ve HIV gibi virüsler var ise, ozon tarafından inaktive edilip parçalanmış virüs atıkları bölgeye gelen immün hücreler tarafından ortadan kaldırılır. Böylece bu işlem bir çeşit aşı etkisi yaratır ve immün sistemi bu antijenlere karşı uyarır (168).

Doğru dozaj ve konsantrasyonda kullanımının güvenli, etkili ve yan etkisiz olduğu düşünülen ozonun tedavisinde kullanıldığı hastalıklar şöyle sıralanabilir; kan dolaşım problemleri, kan şekeri dengelenmesi, aşırı ürik asit seviyeleri, aşırı kan lipid seviyeleri, virüs, bakteri, mantar kaynaklı kronik-akut enfeksiyonlar, migren, akne, immün sistemin genel zayıflığı, ciddi cilt hastalıkları, bronşial astım, egzema, kanserde destek tedavi ve alerjiler (169-172).

Ozon terapi ilaç olarak düşünülmemelidir. Vücudun yeniden sağlığına kavuşmasında bir araçtır. Yapılan çalışmalarda insan kanına belli konsantrasyonda ozon uygulanması ile immün sistemin aktive olduğu ve ilgili kan hücrelerinin sayısında artışlar olduğu saptanmıştır (169,173). Ancak terapötik etkinin sağlanmasında doğru konsantrasyon ve doğru zaman aralıkları ile uygulanması gerekmektedir. Ozon uygulaması ile sağlanan oksijen metabolizmasının gelişimi, bağışıklığın sağlanması, hücre enerjisinin artması, anti-oksidan aktivasyonu gibi biyolojik etkilerinden dolayı tıp alanında kullanımı yaygınlaşmıştır (171,174).

Ozon otohemoterapi, rektal uygulama ve topikal uygulamalar olmak üzere üç şekilde uygulanmaktadır.

Otohemoterapi

Major Otohemoterapi: Damar yolundan özel bir sistemle alınan 200 ml kan ozon ile karıştırılır ve ardından oksijenle yıkanan kan serum sistemiyle aynı damardan vücuda geri verilir. İşlem 15-20 dakika sürer.

Minor Otohemoterapi: Damardan alınan 5-10 ml kan ozon ile karıştırılarak tekrar damar yoluyla vücuda verilir. Bu yöntem daha çok alerjik hastalıklar ve genel olarak bağışıklık sisteminin güçlendirilmesinde kullanılmaktadır.

Rektal uygulama

Bu yöntem ile uygulanan gazın barsak çeperi tarafından hızla emilimi beklenir. Özellikle barsakların enflamatuvar hastalıklarında (kolit, crohn) yoğun kullanılır. Hastalar kendi kendilerine de uygulayabilmektedir (172).

Topikal uygulamalar

Eklem İçi Uygulama: Ozon gazı ağırlı iltihabi eklem içerisine yavaşça enjekte edilerek uygulanmaktadır.

Ozonlu Su: Ozonun sudan geçirilmesiyle elde edilen ozonlu su cilt enfeksiyonları, yaralar ve yanıkların temizlenmesinde kullanılabilmektedir. Dişeti hastalıkları, aftlar, cerrahi sonrası pansuman amacıyla da uygulaması yaygındır.

Torbalama Yöntemi: Kapalı bir sistemde özel bir bot veya torba içerisinde dolaştırılarak vücudun farklı bölgelerine uygulanır. Bu yöntemle ülserlerin, yaraların, açık yaraların, ameliyat sonrası oluşan lezyonların tedavisinde kullanılır.

Ozonlu Yağ: Asit derecesi düşük saf zeytin yağının içerisinden özel yöntemlerle ozon gazının geçirilmesiyle ozonlanan yağ, özellikle ciltte görülen sivilce, egzema, uçuk, böcek ısırıkları, mantar, yatak yaraları gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır.

Ozon Sauna: Ozon gazı sauna kabini içinde baş dışarıda kalacak şekilde belirli basınç ve sıcaklıkta vücuda periyodik olarak uygulanır. Ozonun okside edici etkisi kanda bulunan konsantrasyonuna bağlıdır. Kanda lenfosit, monosit, granülosit, platellet, eritrosit gibi yapılarla reaksiyona girerek önemli anti-oksidan sistemler aktive olmakta

ve anti-oksidan enzimler üretilmeye başlanmaktadır. Ancak önerilen dozun üzerinde kullanımı sitotoksik etkiye neden olarak hemoliz oluşturmaktadır (172, 175, 176).

2.3.6. Ozon Toksisitesi

1984 yılında Almanya’da gerçekleşen emboli nedenli ölüm vakasından sonra birçok ülkede damar içi ozon kullanımı tıbbi yetki olmadan kullanılamamaktadır. Ozonun bildirilen yan etkilerinin kullanım hatalarından kaynaklı lokal etkiler olduğu bildirilmektedir. Özellikle ozonun solunması solunum sistemi ve diğer organlar için toksik etki oluşturmaktadır. Bilinen yan etkileri arasında üst solunum yolu irritasyonları, rinit, baş ağrısı, öksürük, nadiren bulantı yer almaktadır. Bunun dışında ozonun yan etkileri yok denecek kadar azdır. İntoksikasyon durumunda hasta sırt üstü yatar pozisyona getirilir, nemli oksijen solutulur ve hastaya askorbik asit, E vitamini ve asetilsistein verilir (177).

Ozonun kullanımının kontrendike olduğu bazı durumlar bulunmaktadır.

Bunlar:

- Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz enzim eksikliği (favizm),
- Hamilelik,
- Anjiyotensin çevirici enzim (ACE) inhibitörü tedavisi görenler,
- Hipertiroidi,
- Şiddetli anemi
- Kanama bozukluğu,
- Kontrol altına alınamayan kardiyovasküler hastalıklar,
- Astım şeklinde sıralanabilmektedir (177).

2.3.7. Ozonun Diş Hekimliği Dallarında Kullanımı

2.3.7.1. Restoratif Diş Hekimliği ve Endodonti

Diş çürüklerini önlemek amacıyla birçok antimikrobiyal ajan ile ilgili in vivo ve in vitro çalışmalar yapılmış ve ozonun çürük tedavisinde kullanımı gündeme gelmiştir (178). Yapılan çalışmalar, ozon uygulamasının pit ve fissür çürüklerinde (179), kavitasyon oluşmamış oklüzal çürüklerde (180) ve başlangıç aşamasındaki kök çürüklerinde (179,181) belirgin derecede fayda sağladığını göstermektedir.

Teorik olarak ozon, aktif çürük lezyonlarındaki bakteri sayısını azaltır böylece çürüğün ilerlemesi geçici olarak durdurulur, tüm bunların sonucunda ise dişin restorasyon ihtiyacı önlenmiş ya da ertelenmiş olur (182). Farklı çalışmalarda, çürük lezyonlarını önlemede ozon uygulamasını takiben 3, 6 veya 18 aylık periyotlarda, işlem sonrası günlük remineralizasyon kiti de kullanmak koşuluyla, lezyonun durdurulduğu gözlenmiştir (134). Çocuklarda çürük dentinin büyük bir kısmını mekanik olarak temizledikten sonra gaz ozonun uygulanmasıyla kalan dentin çürüğünün ilerlemesinin önlendiği görülmüştür (183). Diş üzerinde demineralizasyon ilerlediği zaman, mineral kaybı artar ve plağı oluşturan mikroorganizmaların bozunması ile kök yüzeyinde bulunan kollajenler açığa çıkar (184).

Streptokokus mutans ve *Lactobasillus asidofilus*, dişler üzerinde çürüklerin başlaması ve ilerlemesi için temel bir yapı olan (185) biyofilm tabakasında bulunan karyojenik bakteriler olup, çürüğün gelişmesinde önemli rol oynarlar (186). Diş yüzeylerini biyofilm tabakasından korumak ve bakterilerin çoğalmasını azaltmak, çürüğün başlamasını ve ilerlemesini önler (187). Ozonun diş çürüklerinin tedavisinde kullanımı tam olarak belirginlik kazanmamıştır ve ozonun çürük lezyonlarını durdurmak ve tedavi etmek için uygulanan yöntemlere alternatif geçerli bir yöntem olarak kullanılabileceği konusunda henüz yeterli bulguya ulaşılammıştır (182,188). Ancak; yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar, primer diş çürüklerinde görülen bakterilerin ozon ile azaltıldığını ve yapılan bir başka *in vitro* çalışma ozonize suyun deneysel olarak oluşturulan dental plakta mevcut *Streptokokus mutans* sayısını azalttığını göstermiştir (180, 189, 190).

Konvansiyonel kök kanal tedavisinde irrigan olarak kullanılan NaOCl, H₂O₂ ve CHX solüsyonlarının; hemoraji, ödem, deri ülserasyonu, mukozal deskuamasyon, dişlerde renklenme, yara iyileşmesinde gecikme gibi yan etkileri bulunmaktadır (191). Bu sebeplerden dolayı araştırmacılar, *Enterecoccus faecialis* ve *Candida albicans* gibi mikroorganizmaların rol oynadığı (192), polimikrobiyal bir patoloji olan apikal periodontitisin tedavisi için yüksek oranda antibakteriyel etki gösteren ve minimal yan etki oluşturan bir ajan bulmaya odaklanmışlardır. Ozon oksidatif gücü ve antimikrobiyal etkinliğiyle endodontide kullanılmaya başlanmıştır (135).

2.3.7.2. Periodontoloji

Ozonize suyun periodontal ligamentlere uygulanmasıyla başarılı sonuçlar alınmıştır (193). Nagayoshi ve arkadaşları (2004) yaptıkları çalışmada, dental plak üzerine ozonize su uygulaması sonucunda plak içerisinde hiçbir mikroorganizmanın kalmadığını saptamışlardır (189). İn vitro ortamda oluşturulan dental plak formasyonunun ozon tarafından güçlü bir şekilde inhibe edildiği ve bu sonuçlar ışığında; ozonun dental plaktaki mikroorganizmalardan kaynaklanan enfeksiyonları önlemede etkili olacağı düşünülmektedir (135).

Huth ve arkadaşları (2006) yaptıkları in vitro çalışmada, ozonun hem gaz hem de sıvı formlarını; %2 ve %0,2' lik CHX, %5,25 ve %2,25' lik NaOCl ve %3'lük H₂O₂ gibi antiseptiklerle ve 1 dk. aralıkla, 24 saatlik periyotta metranidazol ile karşılaştırmışlardır. Ozonun oral epitelyum ve fibroblast hücreleri üzerine herhangi bir toksik etkisi olmadığını saptamışlardır (194).

2.3.7.3. Protetik Diş Tedavisi

Ozonun dezenfektan etkisi hareketli protezleri temizlemede de kullanılmaktadır (195). Hareketli protezlerin üzerinde bulunan tipik bakteri suşlarında olan Streptokokus mutans (su: IDD 973), Staphylococcus aureus (su:209-P) ve Candida albicans (su:LAM 14322) üzerine ozonun etkisi incelenmiştir (196). 10 ppm konsantrasyonda protez temizleme solüsyonu olarak kullanılan ozonun, metisilin rezistansı gösteren Staphylococcus aureus ve Escherichia coli T1 faj suşlarına karşı etkili olduğunu göstermektedir (197). Gaz ozonun sıvı formuna göre daha etkili olması protez dezenfeksiyonunda daha fazla tercih edilmesini sağlamıştır. Geçerli tüm sonuçlar ozonun etkili bakterisit, virüsit ve fungusit özelliği olduğunu göstermektedir (167).

2.3.7.4. Cerrahi

Kan akımını düzenlemesi, güçlü bakterisit, virüsit ve fungusit etkiye sahip olması; ozonun enflamatuvar ve enfeksiyöz hastalıklarda terapötik ajan olarak kullanılmasını sağlamıştır (198-200). Oral cerrahide, ozonize su; hemostazı sağlamak, bölgeye lokal oksijen sağlanmasını arttırmak ve bakteriyel proliferasyonu inhibe etmek amacıyla kullanılmaktadır (180). Ayrıca ozonize suyun, osteotomi sonrası enfeksiyona karşı profilaktik olarak kullanılması da önerilmiştir (167).

Ozon avasküler nekroz ile ilgili patolojilerde etkilidir. Etkilerini şu şekilde gösterir:

- a. Endojen antioksidan sistemi koruyarak ve/veya stimüle ederek ve ksantin/ksantin oksidaz yolunu bloke ederek, serbest radikal sentezini aktive eder (201).
- b. Kan dolaşımını aktive ederek, kırmızı kan hücrelerini ve hemoglobinin konsantrasyonunu artırır (142). Diyapedez ve fagositozu çoğaltarak ve mononükleik fagositik sistemi stimüle eder (142,202). Bu değişiklikler maksilla ve mandibulada fazla miktarda bulunan kapillerler gibi küçük çaplı damarlarda daha fazla gözlenir. Damarlar hızlı bir şekilde kan elemanlarıyla dolar ve dolaşımda gözle görülür bir aktivasyon meydana gelir. Tüm bu oluşan değişiklikler de vasküler yatağı daha zengin ve belirgin kılar (142,203).
- c. Tüm biyolojik reaksiyonları, bölgesel doku oksijenizasyonunu, kalsiyum, fosfor ve demir metabolizmasını ve bakterisit olayları stimüle ederek gösterir (142,204).

Yapılan çalışmalarda, periimplantitis tedavisinde en önemli noktanın, implant yüzeyi dekontaminasyonu ile çevre dokular ve periodontal patojen bakterilerin rekolonizasyonunun önlenmesi olduğu konusunda fikir birliğine varılmıştır (205).

Yüksek dozda radyoterapi tedavisini takiben ozon uygulamasının yara iyileşmesini hızlandırmada etkili olduğu gözlenmiştir (135). Özellikle maksilla veya mandibulada radyoterapi sonrası oksijenin oldukça azaldığı alanlarda, damarlanmanın bozulması sonucunda, spongiöz medullar bölgelerde yetersiz damarlanma meydana gelir. Böylece aseptik osteonekroz oluşur (206). Diş çekimi veya implant uygulaması gibi cerrahi işlemlerde hasarlı alanın iyileşmesi sağlıklı kemiğin iyileşmesinden daha uzun sürer (206-208). Ozon, benzer şekilde radyoterapi sonrası iyileşmesi bozulmuş yara yüzeylerinde başarılı olur (206).

Avulse dişler üzerinde yapılan çalışmada dişler 2 dk. boyunca ozonize su ile irriga edilip immünohistokimyasal olarak incelendiğinde, diş yüzeyinde kalan periodontal hücrelerin zarar görmediği ve kök yüzeyinin kontamine olmadığı saptanmıştır (134).

Ozon aynı zamanda dil yaraları, aftöz ülserler, kuru soketler gibi yumuşak doku lezyonlarının tedavisinde kullanılabilmektedir. İmplant uygulamalarında ise; implant

uygulaması öncesinde ve hemen sonrasında ozon tatbik edilerek yara iyileşmesi artırılır ve immün sistem aktive edilir (198).

Diş hekimliğinde ozon tedavisinin avantajları;

- Ozon tedavisi hastaya ağrı hissi yaşatmayan bir tedavi yöntemidir. Bu nedenle çürük lezyonu temizlenirken lokal anesteziye gerek duyulmamaktadır.
- Geleneksel çürük temizleme yöntemleri kullanılmadığından gürültülü el aletleri, su spreyi veya tükürük emiciye gerek yoktur. Non invaziv yöntemdir.
- Geleneksel yöntemler gibi tedavi süresi uzun sürmez.



3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Dicle Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı'nın 12.11.2013 tarih ve 2013/55 protokol sayılı onayı ile, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri ve Uygulama Merkezi'nde (DÜSAM) gerçekleştirilmiş olup, histopatolojik incelemeler ise, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Çalışmada, ağırlıkları 280-300 gram arasında değişen, 56 adet Wistar cinsi erkek rat kullanıldı. Sıçanlar tek olarak uygun kafeslerde, $22\pm2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta ve 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ortamın sağlandığı koşullarda barındırıldı. Deneklerin beslenme ihtiyaçları standart laboratuvar yemi ve su verilerek düzenli olarak karşılandı.

Araştırmamız, birbirini takip eden aşamalardan oluşmaktaydı. Bu aşamalar sıralanacak olursa;

56 adet deney hayvanı 14'er adet olmak üzere 4 ayrı gruba rastgele ayrılmıştır.

Çalışmamızda oluşturulan 4 grup şu şekilde sınıflandırıldı;

1. Kontrol Grubu(A Grubu): 14 adet rat'a kalvaryal kemik defekti oluşturularak herhangi bir işleme tabi tutulmadan defekt boş bırakılarak yara yeri primer suture edildi. Deneklerden 7 tanesi 4. hafta sonunda, geriye kalan 7 tanesi de 8. hafta sonunda sakrifiye edildi.

2. Deney Grubu(B Grubu): 14 adet ratta 8 mm kalvaryal kemik defekti oluşturuldu, boş defekte ozon uygulandı ve deneklerden 7 tanesi 4. hafta sonunda, geriye kalan 7 tanesi de 8. hafta sonunda sakrifiye edildi.

3. Deney Grubu(C Grubu): 14 adet ratta 8 mm kalvaryal kemik defekti oluşturularak hazırlanan defekte alloplastik kemik grefti uygulandı ve deneklerden 7 tanesi 4. hafta sonunda, geriye kalan 7 tanesi de 8. hafta sonunda sakrifiye edildi.

4. Deney Grubu(D Grubu): 14adet ratta 8 mm kalvaryal kemik defekti oluşturularak hazırlanan defekte alloplastik kemik grefti ve ozon uygulandı, deneklerden 7 tanesi 4. hafta sonunda, geriye kalan 7 tanesi de 8. hafta sonunda sakrifiye edildi.

3.1.Cerrahi Uygulamalar

Deney hayvanlarında intraperitoneal 3mg/kg xylazine (Rompun %2; Bayer) ve 90mg/kg Ketamin HCl (Ketalar; Eczacıbaşı-Warner Lambert) ile genel anestezi uygulandıktan sonra deney hayvanlarının kalvaryum bölgeleri tıraş edilip antiseptik solüsyonla temizlendi. (Betadine, Kansuk, Türkiye) edildi (Resim 1).

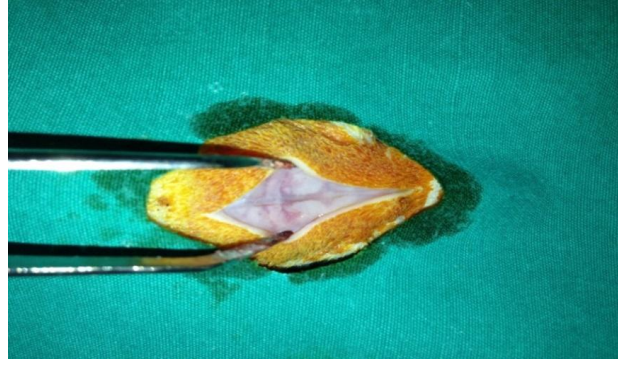


Resim 1. Deney hayvanlarının anestezi için kullanılan anestezi maddeleri

Deneklerde kafa derisi enseden alına kadar tıraş edilen bölgede, orta hatta longitudinal bir deri insizyonu yapılarak frontal kemik ortaya çıkartıldı (Resim 2,3).



Resim 2. Cerrahi prensiplere uygun hazırlanan operasyon bölgesi



Resim 3. İnsizyonu takiben frontal kemiğin görünümü

İnce periost elevatörü ile periost flepleri kaldırılarak özel olarak tasarlanmış trefin frez ile orta hatta 0,8 cm çapında dairesel tam kat kemik defekti oluşturuldu (Resim 4,5).



Resim 4. Trefin Frez



Resim 5. Trefin frezle oluşturulan kemik defekti

Çalışmamızdaki 2. deney grubunda boş defekte, 4. deney grubunda ise greft uygulandıktan sonra Coro-tip aplikatör ile 12 sn boyunca topikal Ozon (Prozone W&H, Bürmoos, Avusturya) uygulaması yapıldı (Resim 6).



Resim 6. Ozon cihazı

Çalışmamızdaki 3. ve 4. deney gruplarının defekt bölgelerine alloplastik greft materyali(BioGraft –HT) yerleştirildi (Resim 7,8).



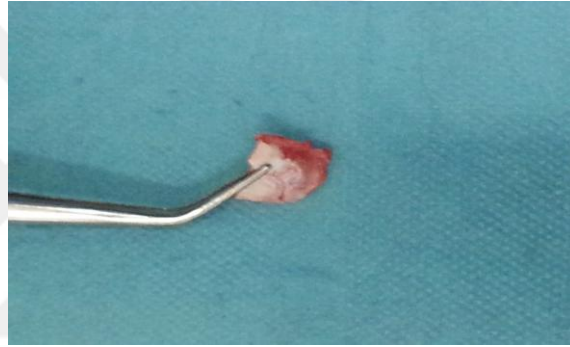
Resim 7. Alloplastik greft materyali



Resim 8. Defekt bölgesine uygulanan kemik grefti görüntüsü

Gruplara uygun materyal yerleştirildikten sonra, cilt altı dokular 6/0 vikril suture, cilt ise, 5/0 ipek suture kullanılarak kapatıldı. Olası enfeksiyondan korunmak için her ratın gluteal kasına operasyondan hemen sonra tek doz antibiyotik (gentamisin 0.05ml/kg) enjeksiyonu yapıldı. Deney hayvanlarının birbirlerine zarar vermelerini önlemek için ayrı ayrı kafeslerde barındırıldı.

Tüm gruplardaki deney hayvanlarının yarısı 4. hafta sonunda, geriye kalan kısmı ise 8. hafta takipleri sonunda aşırı doz sodyum thiopentone'un (Pental Sodyum, İ.E. Ulugay İlaç San. T.A.Ş.) intraperitoneal enjeksiyonu ile sakrifiye edilerek ense bölgesinden açılan horizontal kesi ile kalvaryum üzerindeki cilt tamamen kaldırıldı. Defekt alanı, etrafında sağlam kemik olacak şekilde kemik forsepsi ile bölgeden alınarak (Resim 9) %10'luk formalin solüsyonuna konuldu.



Resim 9. Etrafında sağlam kemik dokusuyla çıkarılan defekt alanı

3.2. Histokimyasal Boyama Yöntemleri

Bu çalışmada gruplarda yer alan deney hayvanlarından alınan kalvaryal kemik dokuları, defekt alanının tamamının yer almasına özen gösterilerek, nötral tamponlanmış formalin fiksatifinde 16 saat süre ile bekletildi ve fiksasyon sağlandı. Daha sonra akan su altında 12 saat boyunca yıkama işlemi gerçekleştirildi. Dehidratasyon için artan derecelerde ve her birinde 12 saat olmak üzere, %50, %70, %80, %90, %96 'lık etanol içerisinde bekletildi. Ardından %99.9'luk etanol içerisinde 2x15 dk. bekletilerek dehidratasyon tamamlandı. Dokuların saydamlaştırılması için, 2x15 dk. ksilol kullanıldı. Daha sonra 58-60 C° olarak ayarlanmış etüv içerisinde 2x1 saat sıvı parafin içerisinde infiltrasyon işlemi gerçekleştirildi. Son olarak dokular parafine gömüldü ve bloklandı. Parafin bloklardan mikrotom (Leica RM 2265) ile 5-6 µm kalınlığında seri kesitler elde edildi. Elde edilen seri kesitler Hematoksilen-Eozin (H-E) ve Trikrom mason histokimyasal boyama yöntemleri kullanılarak boyandı. Elde

edilen örnekler stereomikroskop (Nikon Eclipse TS100) ile değerlendirilip, aynı mikroskobun kamera sistemi ile görüntüler elde edildi (Resim 10).



Resim 10. Stereomikroskop

3.2.1.Hematoksilen-Eosin (H-E) Boyama Yöntemi

Deparafinize edilerek distile suya kadar getirilen parafin kesitler, Harri's hematoksin solüsyonunda 9 dk. kadar bekletildi. Çeşme suyunda boya artıkları giderildikten sonra, %1'lik asit alkol solüsyonunda çalkalandı. Amonyaklı suda çekirdeklerin parlak mavi olması sağlandı. Distile suda yıkanan kesitler, eosin solüsyonuna alınıp 2 dk. kadar bekletildi. Dehidratasyon ve parlatma için yükselen derecelerde etil alkol serilerinden ve ksilolden geçirilen kesitler entelan ile kapatıldı.

3.2.2. Trikrom Mason Boyama Yöntemi

Mikrotomda kesilen parafin doku örnekleri ksilol ve alkol serilerinden geçirildikten sonra distile suya getirildi. Daha sonra Weigert solüsyonunda çekirdekler 10 dk. boyandı. 5 dk. çeşme suyunda yıkandıktan sonra, fosfotunstik asitte 10 dk. bekletildi. Ardından Light Green solüsyonunda 10 dk. bekletildikten sonra, distile suda çalkalandı ve % 1'lik gliseal asetik asitte 1 dk. süreyle tutuldu. Distile suda tekrar çalkalandıktan sonra, dehidratasyon için yükselen alkol serilerinden (%70,80,90,96'lık) geçirildi ve ksilolde parlatma işlemi yapıldıktan sonra entelenle üzerine lamel kapatıldı. Daha sonra stereomikroskopta (Nikon Eclipse TS100) incelemeler yapılarak histopatolojik görüntüler elde edildi.

Elde edilen histopatolojik görüntüler 7 parametreye bakılacak şekilde değerlendirildi. Bu parametreler:

- 1- Hücre infiltrasyonu
- 2- Osteoklastik aktivite
- 3- Osteoblastik aktivite
- 4- Matriks oluşumu
- 5- Kemik trabekülü
- 6- Damar dilatasyonu ve hemoraji
- 7- Kollojen lif şeklinde sıralanmaktaydı.

Bu parametrelerin değerlendirilmesinde Toker ve arkadaşlarının(2009) sunduğu histopatolojik değerlendirme kriterleri referans alınarak aşağıdaki skorum yöntemi kullanıldı. Skorum aşağıdaki rakamlar kullanılarak yapıldı.

- 0- Hiç yok
- 1- Az
- 2- Orta
- 3- İyi
- 4- Çok iyi şeklinde numaralandırıldı.

3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Araştırmanın istatistiksel olarak değerlendirilmesi, Dicle Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu Bilgisayar Teknolojileri Bölümün'de yapıldı. Verilerin analizinde değişkenlere bağlı olarak, gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U non-parametrik istatistik testleri kullanılmış olup, sonuçlar ortalama ve standart sapma değerleri cinsinden verilmiştir. İstatistikler ve analizler SPSS 22.0 for Windows bilgisayar paket programı kullanılarak yapılmış olup, $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

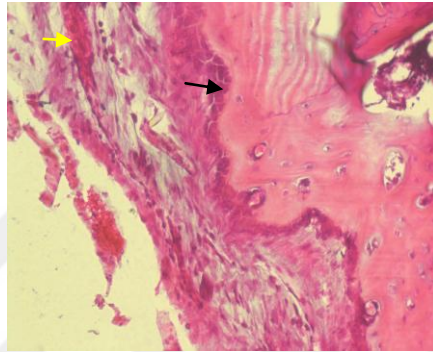
4. BULGULAR

4.1. Histopatolojik Değerlendirme

4. Hafta Bulguları

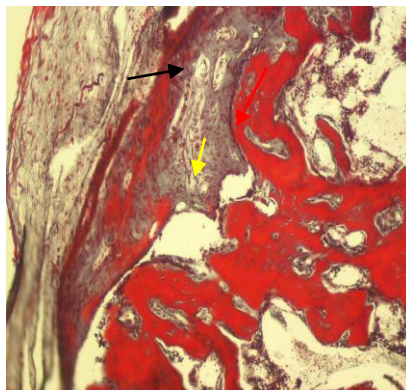
1. A Grubu:

Yassı kemik etrafında defekt alanının bulunduğu bölgede osteoklast hücrelerinde belirgin bir artış gözlenmiştir. Kan damarlarında hemoraji ve dilatasyon, mononükleer hücre infiltrasyonunda artış gözlemlendi infiltrasyonunda artış gözlemlendi.



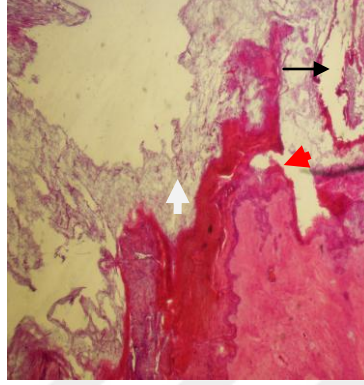
Resim 11. 4. Hafta A Grubu: Osteoklast hücrelerinde artış (siyah ok), damarlarda hemoraji ve dilatasyon (sarı ok). H-E Bar 50µm

Aynı grubun başka bir kesitinde kollojen liflerde ve fibröz dokuda artış, damar duvarında yırtılmaya bağlı olarak serbest halde dağılmış eritrositler, bu alanda yoğun mononükleer hücre infiltrasyonu ve yer yer ödem gözlemlendi.



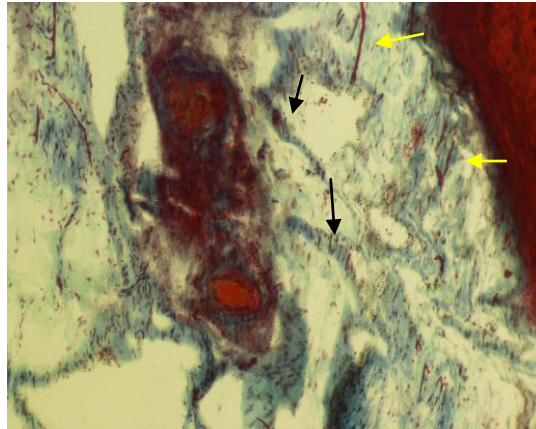
Resim 12. 4. Hafta B Grubu: Kollojen liflerde ve fibröz dokuda artış (kırmızı ok), hücre infiltrasyonu (sarı ok), serbest halde dağılmış eritrosit (siyah ok). Trikrom mason Bar 50µm

2. B Grubu: Bu gruba ait kesitlerde damarlarda dilatasyon belirgin bir şekilde artmış, fibröz dokuda defekt grubuna göre azalma ve osteoblastik aktivitede azalma görüldü.



Resim 13. 4. Hafta B Grubu: Damarlarda dilatasyon belirgin bir şekilde artmış (siyah ok), fibröz dokuda defekt grubuna göre azalma (beyaz ok), osteoklastik aktivitede azalma (kırmızı ok). H-E Bar 50µm

Bu gruba ait başka bir kesitte kollojen lifler belirgin bantlar şeklinde dizilmiş, bağ dokudaki hücrelerde artış gözlenmiş, yeni kemik trabekülleri şekillenmiş ve kemik matriksi belirginleşmeye başlamıştır.

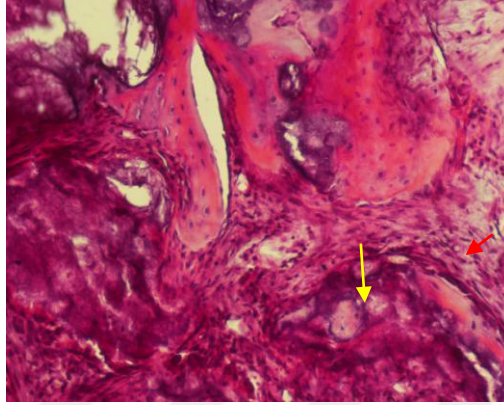


Resim 14. 4. Hafta B Grubu: Kollojen lifler bantlar şeklinde (siyah ok), yeni kemik trabekülleri belirginleşmeye başlamış (sarı ok).

Trikrom mason Bar 50µm

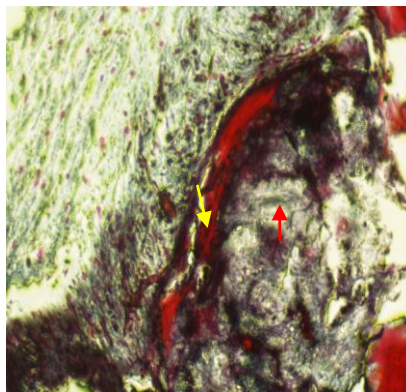
3. C Grubu:

Osteoblastlarda belirginleşme, kemik trabekülleri etrafında lifsel yapıda bir artış, greft rezorbsiyonunda azalma ve bağ doku hücrelerinde artış izlendi. Osteoblastlarda ve hücre infiltrasyonunda azalma gözlemlendi.



Resim 15. 4.Hafta C Grubu: Kemik trabekülü etrafında osteoblastlar belirgin (kırmızı ok), greft rezorbsiyonu (sarı ok). H-E Bar 50µm

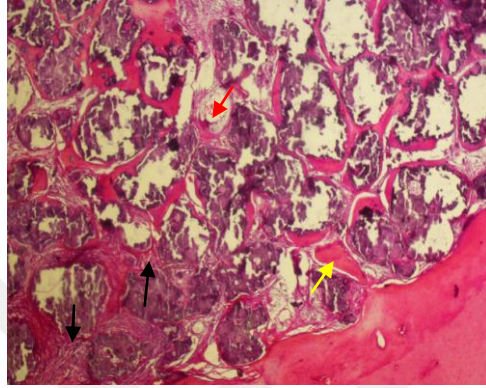
Aynı grubun başka bir kesitinde damarların etrafında kemik trabekülleri daha da belirginleşti ve kollojen lifler bantlar şeklinde izlendi. Bağ doku hücrelerinde azalma ve yer yer serbest halde eritrosit dağılımı görüldü. Kemik trabeküllerinde az sayıda osteosit hücrelerine rastlandı.



Resim 16. 4. Hafta C Grubu: Kollojen lifler bantlar şeklinde (kırmızı ok), kemik trabekülünde az sayıda osteosit hücreleri (sarı ok). Trikom mason Bar 50µm

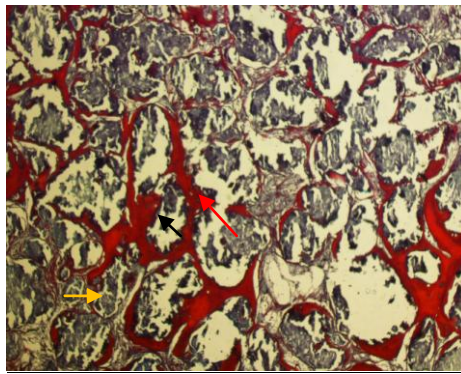
4. D Grubu:

Bu gruba ait kesitlerde greft rezorbsiyonu başlamış, dağınık bir biçimde greft etrafında sıkı bağ doku lifleri ile birlikte osteoblastik aktivitenin artmasına bağlı olarak kemik trabekülleri belirginleşmiştir. Matriks gelişiminde arma ve kemik trabeküllerinin içerisinde az sayıda osteosit hücrelerine rastlandı.



Resim 17. 4. Hafta D Grubu: Graft etrafındaki sıkı bağ dokusunda bir artış (siyah ok), matriks oluşumunda artma (sarı ok), greft rezorbsiyonu belirgin (kırmızı ok). H-E Bar 20µm

Bu gruba ait başka bir kesitte greft etrafında sıkı bağ dokusu özellikle kollojen lifler yönünden zengin, bağ dokusunda yeni kemik oluşumu artmaya başlamış, osteosit hücreleri yeni kemik trabeküllerinde lakünaları ile birlikte belirginleşmiştir.

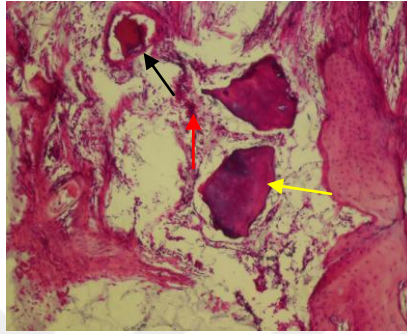


Resim 18. 4. Hafta D Grubu: Kemik trabekülünün periferinde osteoblast hücrelerinde artış (siyah ok), yeni kemik trabeküllerinde lakünası belirgin (kırmızı ok), osteositler greft alanlarında bağ dokusundan kaynaklı daralma (turuncu ok). Trikróm mason Bar 20µm

8. Hafta Bulguları

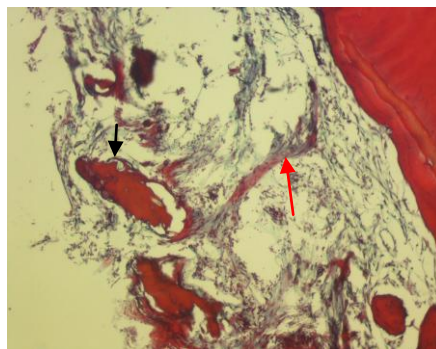
1. A Grubu:

Bu gruba ait kesitlerde kemik trabekülleri belirgin olmakla beraber osteoblastlar trabekül etrafında tek sıra dizilmiş halde yassı görünmektedir. Hücre infiltrasyonu özellikle trabekül etrafında yoğunlaşma gösterirken, yer yer ödem alanlarına da rastlandı. Damarlar dilate olup hemorajik görünümdeydi.



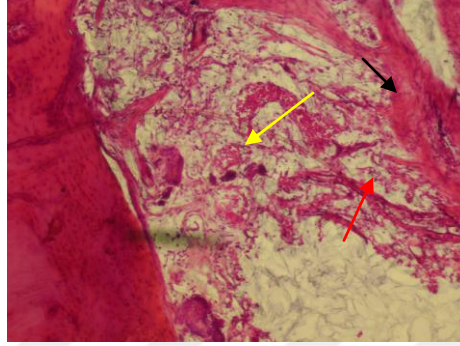
Resim 19. 8.Hafta A Grubu: Kemik trabekülleri etrafında yassı osteoblast hücreleri (matriks oluşumu aktif) (sarı ok), infiltrasyon alanları ve ödem (kırmızı ok), damar dilatasyonu ve hemoraji (siyah ok). H-E Bar 50µm

Bu gruba ait başka bir kesitin histolojik incelemesinde kollojen lifler bantlar şeklinde, kemik trabekülleri yer yer adacık biçiminde, trabeküllerde osteoblastik aktivite artmış ve matriks gelişimi başlamıştır. Bağ doku ara maddesi artmıştır. Tam olarak olgun kemik hücresi bu grupta ortaya çıkmamıştır.



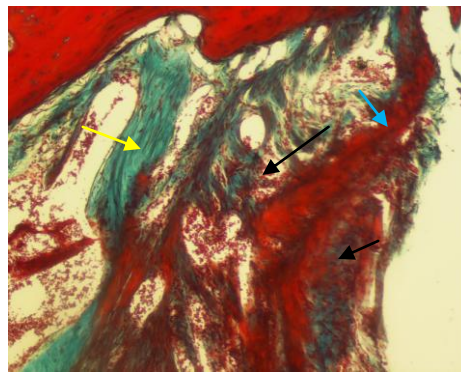
Resim 20. 8.Hafta A Grubu: Kollojen lifler bant biçiminde (kırmızı ok), yeni kemik adacıklarında matriks oluşumu aktif ve periferde tek sıra osteoblast hücreleri (siyah ok). Trikrom mason Bar 50µm

2. B Grubu: Defekt alanının olduğu bölgelerde inflamatuvar hücreler adacık tarzında görülürken, damarlarda hemoraji ve dilatasyon izlendi. Yeni kemik oluşumu sırasında matriks gelişimi belirginleşmeye başladı. Yer yer kemik trabeküllerine rastlandı.



Resim 21. 8.Hafta B Grubu: Defekt alanının olduğu bölgelerde inflamatuvar hücreler adacık biçiminde (sarı ok), damarlarda hemoraji ve dilatasyon (kırmızı ok), kemik matriks gelişiminde belirginleşme ve kemik trabekülleri (Siyah ok). H-E Bar 50µm

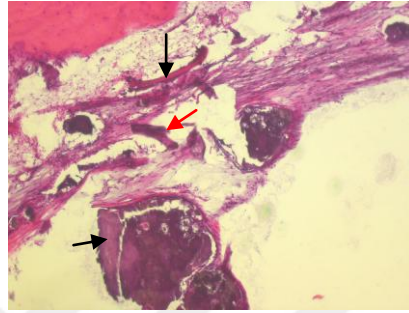
Bu gruba ait başka bir kesitte kollojen liflerde belirgin bir kalınlaşma, defekt alanında yoğun kanama odakları, kemik matriksinde genişleme ve yeni kemik trabekülleri oluşmaya başladı.



Resim 22. 8.Hafta B Grubu: Kollojen liflerde belirgin bir kalınlaşma (sarı ok), defekt alanında yoğun kanama odakları (siyah ok), kemik matriksinde genişleme ve yeni kemik trabekülleri (mavi ok). Trikrom mason Bar 50µm

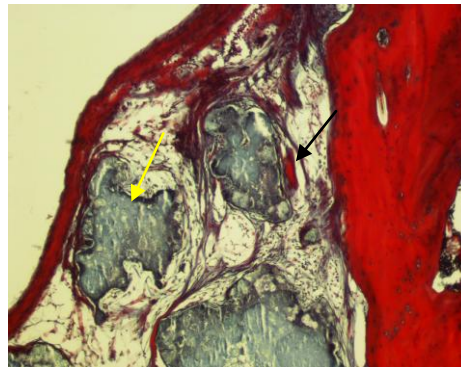
3. C Grubu:

Bu grubun histolojik incelemesinde greft alanlarının etrafında artan bağ dokusu ile birlikte yeni kemik trabekülleri görülmeye başlandı. Hücre infiltrasyonu devam ederken bağ doku alanlarında serbest halde dağılmış eritrositlere rastlandı. Kemik trabeküllerinin periferinde osteoblast hücreleri belirgin bir şekilde izlenmekteydi. Graft rezorbsiyonu dağınık bir şekilde izlendi ve greft alanları gittikçe küçülmeye başlamıştı.



Resim 23. 8.Hafta C Grubu: Graft alanlarının etrafında artan bağ dokusu ile birlikte yeni kemik trabekülleri (siyah ok), kemik trabeküllerinin periferinde osteoblast hücreleri belirgin halde(kırmızı ok). H-E Bar 50µm

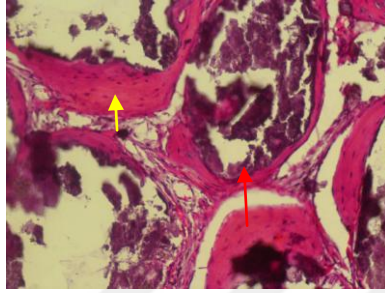
Bu gruba ait başka bir kesitte kollojen lifler greft alanlarını sıkı bir şekilde sararak rezorbe olan grefti daha da küçültmüştür. İnflamatuvar hücreler bunların arasında difüz bir şekilde yayılmış, yeni kemik parçacıkları greft periferinde belirginleşmeye başlamıştır.



Resim 24. 8.Hafta C Grubu: Kollojen lifler greftin etrafını sıkıca sararak rezorbe olan greft alanını küçültmüştür (sarı ok), greftin periferinde yeni kemik trabeküllerinde belirginleşme (siyah ok). Trikrom mason Bar 50µm

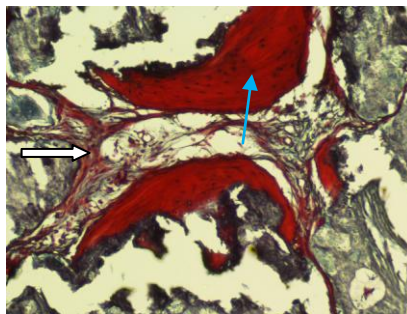
4. D Grubu:

Bu grubun histolojik incelemesinde daralan greft alanlarının etrafını yeni kemik trabekülleri çevirerek olgun yassı kemik yönünde gelişme başlamış, osteoblastik aktivite hızlanarak osteositlere dönüşüm sağlanmıştır. Hücre infiltrasyonu gittikçe azalmış ve rezorbe olan greft alanlarının yerinde olgun kemik trabekülleri şekillenmiştir.



Resim 25. 8. Hafta D Grubu: Daralan greft alanlarının etrafını yeni kemik trabekülleri çevreleyerek olgun yassı kemik yönünde gelişme başlamış (kırmızı ok), osteoblastik aktivitedeki artışa bağlı olarak osteositler oluşmaya başlamış (sarı ok). H-E Bar 50µm

Aynı gruba ait başka bir histolojik kesitte rezorbe greft alanlarında küçülme meydana gelmiş, olgun kemik partiküllerinden oluşan yapılar belirginleşmiş, bağ dokuda fibril gelişimi hızlanarak kemik trabeküllerinin arasına yerleşmiştir.



Resim 26. 8.Hafta D Grubu: Osteositler sayıca artmış (mavi ok), kollojen lifler sıkı bir biçimde dizilmiş (beyaz ok).

Trikrom mason Bar 50µm

4.2. Histopatolojik Değerlere Bağlı İstatistiksel Bulgular

Çalışmada kullanılan toplam 56 adet örneğin tüm parametrelere bakılarak elde edilen 4. hafta değerleri tablo 2’de gösterilmiştir.

Hafta	Parametreler	Gruplar	B	C	D
4	Hücre infiltrasyonu (Ki-kare =10,714 p=0,013)	A	ns	ns	p=0,002
		B		ns	ns
		C			ns
4	Osteoklastik aktivite (Ki-kare =22,224 p=0,000)	A	p=0,001	p=0,001	p=0,001
		B		ns	ns
		C			ns
4	Osteoblastik aktivite (Ki-kare =22,096 p=0,000)	A	p=0,003	p=0,000	p=0,001
		B		ns	p=0,004
		C			ns
4	Matriks oluşumu (Ki-kare =22,990 p=0,000)	A	p=0,002	p=0,001	p=0,001
		B		ns	p=0,002
		C			ns
4	Kemik trabekülü (Ki-kare =24,199 p=0,000)	A	p=0,000	p=0,000	p=0,001
		B		p=0,002	p=0,001
		C			ns
4	Damar dilatasyonu ve hemoraji (Ki-kare =15,141 p=0,002)	A	ns	ns	ns
		B		ns	p=0,003
		C			p=0,002
4	Kolojen lif (Ki-kare =6,925 p=0,013)	A	ns	ns	ns
		B		ns	ns
		C			ns

Tablo 2: 4. haftada tüm parametrelere göre grupların karşılaştırması

Kruskal-Wallis testi ile yapılan karşılaştırmalarda;

- 4. haftada hücre infiltrasyonu 4 grupta önemli düzeyde değişmiştir ($p=0.013$). Mann-Whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalarda bu anlamlı değişimin A grubu ve D grubu arasındaki farktan kaynaklandığı tespit edilmiştir ($p=0,002$).

- 4. haftada osteoklastik aktivite 4 grupta önemli ölçüde değişmiştir ($p=0.000$). Mann-Whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalarda bu anlamlı değişimin A grubu ile B grubu ($p=0,001$), A ile C ($p=0,001$) ve A grubu ile D ($p=0,001$) grupları arasındaki anlamlı farktan kaynaklandığı gözlemlendi. Bu gruplar dışındaki ikili karşılaştırmalarda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmedi ($p>0.05$).

- 4. haftada osteoblastik aktivite 4 grupta önemli ölçüde değişmiştir ($p=0.000$). Mann-Whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalarda bu anlamlı değişimin A grubu ile B ($p=0,003$), A grubu ile C ($p=0,000$), A grubu ile D ($p=0,001$) grupları ve B grubu ile D grupları ($p=0,003$) arasındaki anlamlı farktan kaynaklandığı gözlemlendi. Bu gruplar dışındaki ikili karşılaştırmalarda gruplar arasında anlamlı değişim gözlenmedi ($p>0.05$).

- 4. haftada matriks oluşumu 4 grupta önemli ölçüde değişmiştir ($p=0.000$). Mann-Whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalarda bu anlamlı değişimin A grubu ile B ($p=0,002$), C ($p=0,001$), D ($p=0,001$) grupları ve B grubu ile D grupları ($p=0,002$) arasındaki anlamlı farktan kaynaklandığı gözlemlendi. Bu gruplar dışındaki ikili karşılaştırmalarda gruplar arasında anlamlı değişim gözlenmedi ($p>0.05$).

- 4. haftada kemik trabekülü 4 grupta önemli ölçüde değişmiştir ($p=0.000$). Mann-Whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalarda bu anlamlı değişimin A grubu ile B ($p=0,002$), C ($p=0,001$), D ($p=0,001$) grupları ve B grubu ile C ve B grubu ile D grupları ($p=0,002$) arasındaki anlamlı farktan kaynaklandığı gözlemlendi.

Bu gruplar dışındaki ikili karşılaştırmalarda gruplar arasında anlamlı değişim gözlenmedi ($p>0.05$).

- 4. haftada damar dilatasyonu ve hemoraji 4 grupta önemli ölçüde değişmiştir ($p=0.002$). Mann-Whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalarda bu anlamlı değişimin B ve D grupları ile C ve D grupları arasındaki anlamlı farktan kaynaklandığı gözlemlendi. Bu gruplar dışındaki ikili karşılaştırmalarda gruplar arasında anlamlı değişim gözlenmedi ($p>0.05$).

- 4. haftada kollojen lif açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p=0,074$).

Çalışmada kullanılan toplam 56 adet örneğin farklı parametrelere kullanılarak tüm gruplardan elde edilen 8. hafta değerleri tablo 3'te gösterilmiştir.

Hafta	Parametreler	Gruplar	B	C	D
8	Hücre infiltrasyonu (Ki-kare =20,868 p=0,000)	A	ns	ns	p=0,001
		B		ns	p=0,001
		C			p=0,001
8	Osteoklastik aktivite (Ki-kare=22,940 p=0,000)	A	p=0,002	p=0,002	p=0,001
		B		ns	p=0,001
		C			p=0,002
8	Osteoblastik aktivite (Ki-kare =21,006 p=0,000)	A	ns	ns	p=0,001
		B		ns	p=0,001
		C			p=0,000
8	Matriks oluşumu (Ki-kare =19,563 p=0,000)	A	ns	ns	p=0,001
		B		ns	p=0,001
		C			p=0,000
8	Kemik trabekülü (Ki-kare =20,774 p=0,000)	A	ns	p=0,001	p=0,001
		B		ns	p=0,004
		C			ns
8	Damar dilatasyonu ve hemoraji (Ki-kare =22,642 p=0,000)	A	ns	p=0,001	p=0,001
		B		p=0,002	p=0,001
		C			ns
8	Kolojen lif (Ki-kare=10,200 p=0,017)	A	ns	ns	p=0,037
		B		ns	p=0,010
		C			p=0,010

Tablo 3: 8. haftada tüm parametrelere göre grupların karşılaştırması

Kruskal-Wallis testi ile yapılan karşılaştırmalarda;

- 8. haftada hücre infiltrasyonu 4 grupta önemli ölçüde değişmiştir ($p=0.000$). Mann-Whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalarda bu anlamlı değişimin A grubu ile D ($p=0,001$), B grubu ile D ($p=0,001$) ve C grubu ile D grupları ($p=0,001$) arasındaki anlamlı farktan kaynaklandığı gözlemlendi. Bu gruplar dışındaki ikili karşılaştırmalarda gruplar arasında anlamlı değişim gözlenmedi ($p>0.05$).

- 8. haftada osteoklastik aktivite 4 grupta önemli ölçüde değişmiştir ($p=0.000$). Mann-Whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalarda bu anlamlı değişimin A grubu ile B ($p=0,002$), C ($p=0,002$), D ($p=0,001$), B grubu ile D ($p=0,001$) ve C grubu ile D grupları ($p=0,002$) arasındaki anlamlı farktan kaynaklandığı gözlemlendi. Bu gruplar dışındaki ikili karşılaştırmalarda gruplar arasında anlamlı değişim gözlenmedi ($p>0.05$).

Kruskal-Wallis testi ile yapılan karşılaştırmalarda 8. Haftada osteoblastik aktivite 4 grupta önemli ölçüde değişmiştir ($p=0.000$). Mann whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalarda bu anlamlı değişimin A grubu ile D ($p=0,037$), B grubu ile D ($p=0,010$) ve C grubu ile D grupları ($p=0,010$) arasındaki anlamlı farktan kaynaklandığı gözlemlendi. Bu gruplar dışındaki ikili karşılaştırmalarda gruplar arasında anlamlı değişim gözlenmedi ($p>0.05$).

Kruskal-Wallis testi ile yapılan karşılaştırmalarda 8. Haftada matriks oluşumu 4 grupta önemli ölçüde değişmiştir ($p=0.000$). Mann whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalarda bu anlamlı değişimin A grubu ile D ($p=0,001$), B grubu ile D ($p=0,001$) ve C grubu ile D grupları ($p=0,000$) arasındaki anlamlı farktan kaynaklandığı gözlemlendi. Bu gruplar dışındaki ikili karşılaştırmalarda gruplar arasında anlamlı değişim gözlenmedi ($p>0.05$).

Kruskal-Wallis testi ile yapılan karşılaştırmalarda 8. Haftada kemik trabekülü 4 grupta önemli ölçüde değişmiştir ($p=0.000$). Mann whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalarda bu anlamlı değişimin A grubu ile C ($p=0,001$) , A grubu ile D ($p=0,001$) ve B grubu ile D grupları ($p=0,004$) arasındaki anlamlı farktan kaynaklandığı gözlemlendi. Bu gruplar dışındaki ikili karşılaştırmalarda gruplar arasında anlamlı değişim gözlenmedi ($p>0.05$).

Kruskal-Wallis testi ile yapılan karşılaştırmalarda 8. Haftada damar dilatasyonu ve hemoraji 4 grupta önemli ölçüde değişmiştir ($p=0.000$). Mann whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalarda bu anlamlı değişimin A grubu ile C ($p=0,001$), A grubu ile D ($p=0,001$) ve B grubu ile C ($p=0,002$) , B grubu ile D grupları ($p=0,001$) arasındaki anlamlı farktan kaynaklandığı gözlemlendi. Bu gruplar dışındaki ikili karşılaştırmalarda gruplar arasında anlamlı değişim gözlenmedi ($p>0.05$).

Kruskal-Wallis testi ile yapılan karşılaştırmalarda 8. Haftada kollojen lif 4 grupta önemli ölçüde değişmiştir($p=0,017$). Mann whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalarda bu anlamlı değişimin A grubu ile D ($p=0,001$) , B grubu ile D ($p=0,001$) ve C grubu ile D grupları($p=0,001$) arasındaki anlamlı farktan kaynaklandığı gözlemlendi. Bu gruplar dışındaki ikili karşılaştırmalarda gruplar arasında anlamlı değişim gözlenmedi ($p>0.05$).

Çalışmada kullanılan toplam 56 adet örneğin aynı parametreler kullanılarak elde edilen 4. ve 8. hafta değerleri arasında oluşan farklar tablo 4'te gösterilmiştir.

Hafta	Parametreler	Kontrol	Boş Defekt+Ozon	Boş Defekt+Graft	Boş Defekt+ Graft+ Ozon
4 ve 8. hafta	Hücre infiltrasyonu	ns	ns	ns	$p=0,002$
4 ve 8. hafta	Osteoklastik aktivite	$p=0,015$	ns	ns	ns
4 ve 8. hafta	Osteoblastik aktivite	$p=0,001$	$p=0,007$	$p=0,010$	$p=0,001$
4 ve 8. Hafta	Mmatiks oluşumu	$p=0,001$	$p=0,003$	ns	$p=0,001$
4 ve 8. hafta	Kemik trabekülü	$p=0,000$	$p=0,002$	$p=0,002$	$p=0,015$
4 ve 8. hafta	Damar dilatasyonu ve hemoraji	ns	ns	$p=0,002$	ns
4 ve 8. hafta	Kolojen lif	ns	ns	ns	ns

Tablo 4: Aynı parametrelere bakılarak 4. ve 8. hafta grupları arasındaki farkların karşılaştırması

Mann-Whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalara göre 4. ve 8. haftada hücre infiltrasyonu açısından yapılan karşılaştırmada sadece D grubunda ($p=0,002$) istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür. Öteki gruplarda anlamlı fark izlenememiştir.

Mann-Whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalara göre 4. ve 8. haftada osteoklastik aktivite açısından yapılan karşılaştırmada sadece A grubunda ($p=0,015$) istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü. Öteki gruplarda anlamlı fark izlenememiştir.

Mann whitney U testi ile osteoblastik aktivite açısından yapılan ikili karşılaştırmada A grubunda($p=0,001$) , B grubunda ($p=0,007$), C grubunda($p=0,010$) ve D ($p=0,001$) gruplarında 4. ve 8. hafta grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir.

Mann whitney U testi ile matriks oluşumu açısından yapılan ikili karşılaştırmada A grubunda ($p=0,001$), B grubunda ($p=0,003$) ve D ($p=0,001$) gruplarında 4. ve 8. hafta grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir. C grubunda istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi.

Mann whitney U testi ile kemik trabekülü açısından yapılan ikili karşılaştırmada A grubunda($p=0,000$) , B grubunda($p=0,002$), C grubunda($p=0,002$) ve D ($p=0,015$) gruplarında 4. ve 8. hafta grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir.

Mann whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalara göre 4. ve 8. haftada damar dilatasyonu ve hemoraji açısından yapılan karşılaştırmada sadece C grubunda($p=0,002$) istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür. Öteki gruplarda anlamlı fark izlenememiştir.

Kollojen lif açısından Mann whitney U testi ile yapılan ikili karşılaştırmalarda 4. ve 8. hafta grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi.

Çalışmada kullanılan toplam 56 adet örneğin farklı parametreler kullanılarak elde edilen tanımlayıcı değerleri tablo 5’te gösterilmiştir.

Gruplar		Parametreler	Mean	Std. Deviation	N
4. hafta	A Grubu	Hücre infiltrasyonu	3,71	,488	7
		Osteoklastik aktivite	3,57	,535	7
		Osteoblastik aktivite	,00	,000	7
		Matriks oluşumu	,00	,000	7
		Kemik trabekülü	,00	,000	7
		Damar dilatasyonu ve hemoraji	2,71	,488	7
		Kolojen lif	1,71	,488	7
		Total	1,67	1,625	49
	B Grubu	Hücre infiltrasyonu	3,00	,816	7
		Osteoklastik aktivite	1,57	,535	7
		Osteoblastik aktivite	1,14	,690	7
		Matriks oluşumu	1,00	,577	7
		Kemik trabekülü	1,14	,378	7
		Damar dilatasyonu ve hemoraji	3,00	,577	7
		Kolojen lif	2,00	,577	7
		Total	1,84	,986	49
	C Grubu	Hücre infiltrasyonu	3,00	,816	7
		Osteoklastik aktivite	1,29	,488	7
		Osteoblastik aktivite	2,14	,378	7
		Matriks oluşumu	1,71	,488	7
		Kemik trabekülü	2,14	,378	7
		Damar dilatasyonu ve hemoraji	2,86	,378	7

		Kolojen lif	2,14	,690	7
		Total	2,18	,755	49
	D Grubu	Hücre infiltrasyonu	2,29	,488	7
		Osteoklastik aktivite	,29	,488	7
		Osteoblastik aktivite	2,57	,535	7
		Matriks oluşumu	2,71	,488	7
		Kemik trabekülü	2,71	,488	7
		Damar dilatasyonu ve hemoraji	1,71	,488	7
		Kolojen lif	2,57	,535	7
		Total	2,12	,949	49
	Total	Hücre infiltrasyonu	3,00	,816	28
		Osteoklastik aktivite	1,68	1,307	28
		Osteoblastik aktivite	1,46	1,105	28
		Matriks oluşumu	1,36	1,096	28
		Kemik trabekülü	1,50	1,106	28
		Damar dilatasyonu ve hemoraji	2,57	,690	28
		Kolojen lif	2,11	,629	28
		Total	1,95	1,138	196
8.hafta	A Grubu	Hücre infiltrasyonu	3,29	,488	7
		Osteoklastik aktivite	2,71	,488	7
		Osteoblastik aktivite	1,86	,690	7
		Matriks oluşumu	2,00	,577	7
		Kemik trabekülü	1,86	,378	7
		Damar dilatasyonu ve	3,14	,378	7

	hemoraji			
	Kolojen lif	2,29	,488	7
	Total	2,45	,738	49
B Grubu	Hücre infiltrasyonu	2,86	,378	7
	Osteoklastik aktivite	1,29	,488	7
	Osteoblastik aktivite	2,29	,488	7
	Matriks oluşumu	2,29	,488	7
	Kemik trabekülü	2,29	,488	7
	Damar dilatasyonu ve hemoraji	2,86	,378	7
	Kolojen lif	2,14	,378	7
	Total	2,29	,645	49
C Grubu	Hücre infiltrasyonu	2,86	,378	7
	Osteoklastik aktivite	1,00	,577	7
	Osteoblastik aktivite	2,86	,378	7
	Matriks oluşumu	2,14	,378	7
	Kemik trabekülü	3,14	,378	7
	Damar dilatasyonu ve hemoraji	1,86	,378	7
	Kolojen lif	2,14	,378	7
	Total	2,29	,791	49
D Grubu	Hücre infiltrasyonu	1,14	,378	7
	Osteoklastik aktivite	,00	,000	7
	Osteoblastik aktivite	4,00	,000	7
	Matriks oluşumu	4,00	,000	7
	Kemik trabekülü	3,57	,535	7
	Damar dilatasyonu ve hemoraji	1,29	,488	7

Total	Kolojen lif	2,86	,378	7
	Total	2,41	1,526	49
	Hücre infiltrasyonu	2,54	,922	28
	Osteoklastik aktivite	1,25	1,076	28
	Osteoblastik aktivite	2,75	,928	28
	Matriks oluşumu	2,61	,916	28
	Kemik trabekülü	2,71	,810	28
	Damar dilatasyonu ve hemoraji	2,29	,854	28
	Kolojen lif	2,36	,488	28
	Total	2,36	,984	196

Tablo 5: Tanımlayıcı İstatistiksel Değerler

5. TARTIŞMA

Tıp dünyasında gerçekleştirilen deneysel çalışmalarda hayvan modelleri büyük önem taşır. Stevenon ve ark. hayvan modellerinin seçiminde, çalışmanın gerektirdiği koşullara uygunluk ve konuyla ilgili yeterli kaynak bulunmasının belirleyici etkenler olduklarını bildirmişlerdir (210). Bu çalışmadaki hayvan modelinin seçiminde aşağıdaki temel hususlara dikkat edilmiştir:

- Yeterli sayıda ve deney koşullarına uygun nitelikte denek elde edilebilmesi
- Çalışılacak bölgede deneklerin yaşamsal önem taşıyan yapılarının olmaması
- Cerrahi yöntem açısından kolay çalışılabilmesi
- Planlanan ölçüm parametrelerinin basit ve hassas bir şekilde uygulanabilir olması
- Deneklerin genel fizyoloji ve dokularının iyileşmesi hakkında yeterli kaynak bulunması

Yeni kemik yapımının incelendiği deneysel çalışmalarda kullanılan deney hayvanlarının yaşı önemlidir. Genç hayvanlarda yeni kemik yapımı daha hızlı olmaktadır. Ratlarda ilk üç aya kadar yeni kemik yapımının hızlı olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur (211-213). Bu bilgiler göz önüne alınarak çalışmamızda 13 haftalık ratlar kullanılmıştır.

Kritik boyutlu bir defekt özellikle hayvanların belirli kemiklerindeki yaşam boyu iyileşemeyen en küçük kemik içi yara olarak tanımlanabilir. Bu tip defektler kemik dolumundan çok, fibroz bağ dokusuyla dolumu ve iyileşme eğilimi göstermektedirler. Kritik boyutlu bir defektin belirlenmesine etki eden iki faktör yaş ve hayvan türü önemli görülmektedir (214-216).

Kritik boyutlu defektin boyutunu, Takagi ve Urist, ratta 8 mm, fare ve tavşanda 15 mm, köpekte ve maymunda 20 mm olarak rapor etmişlerdir (217).

Schmitz ve arkadaşları ise 3, 4, 5 ve 8 mm lik defektlerde çalışma yapmışlar ve 8 mm lik defektin ideal bir defekt olduğunu savunmuşlardır (218).

Literatürde belirtilen bilgileri göz önünde bulundurarak ratlarla yaptığımız çalışmada 8 mm'lik kritik boyut defektler oluşturuldu.

Çalışmamızda kalvaryal model üzerinde çalışılmasının nedeni çalışılması kolay bir alan ve cerrahi posedür kolaylıkla uygulanabilir olmasıdır. Bunun dışında kemik

iyileşmesini rahatlıkla inceleyebiliriz ve bölgeden majör kan damarı ve sinir geçmemektedir. Kalvaryal defektler maxillofasial bölgede olduğu gibi özellikle de atrofik mandibulaya benzer şekilde iki kortikal ve arasını dolduran kansellöz kemikten oluşurlar (219,220). Doku spesimenlerini hazırlamak kolaydır ve parametreler hızlıca değerlendirilebilir (221).

Çalışmamızda 8 mm çapında kritik kemik defekti oluşturuldu. Çünkü daha büyük çaplarda rejenarsyon yerine skar dokusu şeklinde iyileşme görülmektedir (222-226). Kontrol grubunda yeterli kemik rejenarasyonu olmaması bu görüşü doğruladı.

Kemik dokusu, vücudun iskeletini oluşturan mineralize olmuş bağ dokusudur. Yapısal olarak kemik, kas hareketleri için bir çatı oluşturmali, iç organları ile kemik iliğini korumalı ve fiziksel stres değişikliklerine uyum sağlamalıdır. Metabolik olarak iskeletsel fonksiyonlar, bir depo ve hemostatik tamponlayıcı bir sistem olarak görev görürler. Buna ilaveten, iskeletsel sistem toksisite oluşturacak şekilde artan çeşitli eser elementlere karşı da önemli bir koruyucudur. Kemiğin mekanik fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için hafif, yüksek gerilime karşı dirençli, sert fakat kırılman olmanması gerekir. Bu da, ancak dens kortikal kemik ile spongioz trabeküler kemik kombinasyonundan oluşan ve hafifçe deforme olabilen mineralize kollajen bir yapı ile sağlanabilir (27,28, 227).

Oral ve maksillofasial cerrahide, kemik rejenerasyonunun sağlanması, osteotomi açıklıklarının kapatılması, alveoler augmentasyonlar yapılması amacı ile değişik kemik greft materyalleri kullanılmaktadır (228-236). Ancak hangi greft materyallerinin hangi defektlerde kullanılması gerektiği tam olarak açık değildir. Otogreftler en çok tercih edilen greftlerin başında gelir (237-247). Ancak otojen kemik greftlerinin bilinen dezavantajları nedeniyle, araştırmacılar başka materyaller bulmaya yönelmişlerdir (212, 213,248-251).

Akkiz veya konjenital nedenlerle oluşmuş kemik defektlerinde ve dentofasiyal deformiteler nedeniyle gerçekleştirilen osteotomi alanlarında sıklıkla kemik grefti endikasyonu oluşmaktadır. Bu tip defekt alanları spontan iyileşmeye bırakılırsa, fibrotik yapının migrasyonunu takiben bölgede matür fibröz doku oluşumu başlar. Bu tip gerçekleşen bir fibrotik iyileşmeyle birlikte klinik olarak kaynamama (non-union) ve enkapsülasyon gibi komplikasyonlar da oluşabilmektedir. İşte bu komplikasyonlardan

kaçınmak için, kemik hücrelerinin bölgede rejenerasyonunu sağlamak amacıyla defektlerin greft materyalleri ile rekonstrüksiyonuna ihtiyaç vardır (252,253).

Osteokondüktif materyaller kemik ortamına yerleştirildiklerinde, kemik oluşturan hücrelerin tutunması ve çoğalması, yeni damarların oluşumu ile kemik matriksinin oluşumu ve kalsifikasyonu için bir yapı iskeleti olarak işlev gören materyallerdir. Osteoindüktif materyaller ise, yerleştirildiği ortamdaki farklılaşmamış mezenkimal kök hücreleri, kemik oluşturan hücrelere dönüşmeleri yönünde uyararak işlev gören materyallerdir (254,255).

İdeal kemik grefti materyalinin hem osteokondüktif, hem de osteoindüktif özelliği olmalıdır (256,257). Otojen kemik grefti, tüm bu özellikleri taşıması nedeniyle günümüzde hala altın standarttır. Ancak, ikinci bir cerrahi alan gerektirmesi, şekillendirme güçlüğü, enfeksiyon, rezorbsiyon ve donör alan morbiditesi gibi dezavantajları da mevcuttur (255-257). Bu dezavantajlardan kaçınmak ve ideal bir kemik grefti kaynağı olarak kullanılmak üzere, pek çok malzeme geliştirilmiştir. Çalışmamızda kullanılan alloplastik kemik grefti de, temelde kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda kullanılmak üzere geliştirilmiş bir üründür.

Yukarıdaki çalışmaların yanı sıra bu konuda yapılmış birçok araştırmada, greft ile rekonstrükte edilmeyen defektlerde bölgeye bağ dokusu hücrelerinin göç edip fibrotik iyileşme prosedürünü aktif hale getirdiği rapor edilmiştir. Kemik iyileşme prosedürünün bağ dokusuna göre yavaş olması ve osteoblastlar oluşuncaya kadar defektin bağ dokusu ile dolması osteogenezisi olumsuz yönde etkilemektedir. Böyle bir durum sonucu oluşan fibrotik dokunun ise kemik dokusu gibi fonksiyon göstermeyip, kuvvetlere karşı dirençli olmaması en büyük dezavantajdır. Kemik dokusu gibi yapısal olarak sağlam olmayan fibrotik dokunun, defekt alanının fonksiyonunu yerine koymaması; psödoartroz, enkapsülasyon, kaynamama gibi olası problemleri de gündeme getirmektedir (258).

Bununla birlikte kemik defektlerine yerleştirilen greft materyalinin, implante edildiği dokuya uyum göstermesi ve aynı zamanda yeni doku oluşumuna katkıda bulunması, yani ideal greft özelliklerini taşıması tartışmaların değişmeyen başka bir noktası olmuştur (258).

İdeal kemik greftini bulmak amacıyla birçok madde denenmiş ve halen denenmekte olup, istenilen özellikleri %100 sağlayan greft materyali henüz bulunamamıştır. Bu duruma karşın kemik en çok transplante edilen dokudur.

Yapılan araştırmalarda, dünya çapında en çok tercih edilen greft, otojen kemik grefti olarak göze çarpmaktadır. 1996 yılında Amerika’ da kullanılan greftlerin %60’ı otojen greft iken, %34’ü allogreft ve %7’si de diğer materyallerden oluşmaktaydı (259).

Otojen kemik; osteokondüksiyon, osteoindüksiyon için gerekli olan kemik mineralleri, kollajen, büyüme faktörleri ve osteoprogenitör hücreleri içerir. Kemik kalitesi ve miktarı yönüyle en sık tercih edilen otojen greft, iliak kemik greftidir. Bununla birlikte; ikinci bir operasyon bölgesi gerektirmesi, operasyonun süresinin uzaması, sınırlı miktarda elde edilmesi, donör alan morbiditesi ve komplikasyonları, ilave kan kaybı gibi dezavantajlarından dolayı otojen grefte alternatifler aranmıştır (260).

Yakın zamanlarda otogreftte alternatif olarak en sık allogreftler tercih edilmekteydi. Ancak mevcut hastalık transfer riski, yabancı cisim reaksiyonu gibi riskleri ortadan kaldırmak için uygulanan işlemlerin osteojenik özellikleri zayıflatmasından dolayı allogreftlerin kullanımı da kısıtlanmıştır (261,262).

Alternatif bulma amacıyla yapılan son yıllardaki araştırmalarda, sentetik materyallerde büyük gelişmeler yaşanmıştır. Bu araştırmaların öncesinde sentetik materyaller, otogreft ve allogreftlere göre çok sık tercih edilmemekteydi. Dünya çapında tüm greftler içinde sentetik greft kullanımı sadece %10 oranıyla sınırlıydı (263). Bu sınırlı kullanımlarının nedeni; tahmin edilemeyen rezorbsiyon süreleri, şekillendirmedeki zorluk, yabancı cisim reaksiyonu ile yetersiz yapılmış klinik ve deneysel çalışmalardı. Bu komplikasyonlar, mevcut sentetik materyallerin modifiye edilmesi, yeni sentetik materyallerin elde edilmesi ve bu konuda yapılan araştırmaların sayısının artması ile oldukça azalmıştır. Sentetik materyaller ile ilgili çalışmalar arttıkça, otogreftlere ve allogreftlere olan üstünlükleri ortaya çıkmış ve kullanımları yaygınlaşmıştır (264).

Araştırmacılar, biyolojik özellikleri kemik dokusuna en uygun olan ve kemik rejenerasyonunu kolaylaştıran, sentetik kemik greft materyalleri üzerinde çalışmalarını yoğunlaştırmışlardır (265-272). Bu çalışmalarda kemik greftlerinin osteogenezis, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon olmak üzere 3 ana fonksiyonundan

yararlanılması amaçlanmaktadır (273-277). Ancak otogreftlerin alındığı yerde oluşabilen komplikasyonlar, anestezi süresinin uzması veya alınan greftin yetersiz olması, hastayı olumsuz yönde etkilemektedir. Bu tür olumsuz durumları ortadan kaldırmak için, kemik greftlerinin yerini alabilecek mercan türevi greftlerin kullanımı ile ilgili çalışmalara ağırlık verilmeye başlanmıştır (278-281).

Sentetik kemik greft materyallerinden olan doğal mercan kaynaklı greftler alveoler kret yükseltmesinde, kemik içi defektlerde, madde kaybı olan kırıklarda, fasiyal kemik defektlerinde, ortognatik cerrahide, maksiler sinüs tabanında kullanılmaktadır (246,282-287). Kemik ve kemik dışı dokularda yapılan pek çok araştırmada, doğal mercanın, iltahaba neden olmayan, immün cevap oluşturmeyen doku uyumlu bir madde olduğu, kemik oluşumunu sağlamadığı, sadece kemik oluşumuna yol gösterici özelliği olduğu bildirilmiştir (288). Bu nedenle mercan kaynaklı greftler istenilen özelliklerde bir materyaldir. Mineral içeriği bakımından kemikle büyük benzerlikler gösterir. İmmünolojik reaksiyonlara neden olmazlar (289). İntraossöz ve subperiostal uygulamalar sonrası düzenli rezorpsiyon ve değişime uğrama özelliği vardır (290).

Otogreftlerin sınırlı miktarda elde edilmesi, allogreft ve ksenogreftlerin hastalık transfer riski gibi istenmeyen özelliklerinden dolayı, günümüzde araştırmacılar sentetik yolla üretilmiş greft materyallerine yönelmişler ve birçok sentetik materyal kemik defektlerinde kullanılmak üzere üretilmişlerdir. Bu konuda birçok materyalin bulunması, bu materyallerin iyi bir şekilde araştırılmasını zorunlu kılar. Alloplastlar, son yıllarda maksillofasiyal iskeletin onarımında kullanılan gerekli bir materyal haline gelmiştir (15,127).

Otojen kemik greftleriyle karşılaştırıldığında, alloplastik implantların bazı avantajları göze çarpmaktadır. En göze çarpan avantajı, donör sahaya ihtiyaç duyulmamasıdır. Ek bir operasyon alanı ve ilave anestezi süresi oluşmaz. Ayrıca istenilen miktarda ve büyüklükte elde edilebilmektedirler (131-133).

Alloplastların çoğu sadece osteointegrasyon ve osteoindüksiyon özelliklerini taşımaktadır. Bazen yabancı cisim ve enflamasyon reaksiyonuna da neden olabilmektedirler. Enflamasyon alanında greftin rezorbe olması ihtimali dezavantajlarından biridir (132).

Alloplastik materyallerin başarı veya başarısızlığı birçok etkene bağlıdır. Örneğin; kimyasal birleşimi, biostabilitesi, fiziksel formu, mekanik özellikleri, implant yapılacak olan saha gibi. Vücutta genel olarak bulunan maddelerin, alloplastların kimyasal yapısında bulunması implantın başarı oranını artırır. İskelet sistemi primer olarak kalsiyum, yumuşak dokularda da hidrokarbondan oluşur. Genelde alloplastlar bu iki yapının temel taşı olan karbon ve kalsiyumdan elde edilmişlerdir (132).

Bizim çalışmamızda 350-500µm çapında pöröz bifazik sentetik hidroksiapatit ve β-trikalsiyum fosfat granülleri kombinasyonundan oluşan alloplastik greft materyali kullanılmıştır.

Ozon tedavisi, 1840 yılında ilk tanıtıldığından günümüze kadar çeşitli hastalıklar için büyük fayda sağlayan bir tedavi modeli olmuştur. Antimikrobiyal gücünün yanında dolaşımsistemini stimüle etme özelliği ve immün yanıtı desteklemesi; hepatit, herpes simpleks, herpes zoster, dolaşım sistem bozukluğu, immün sistem hastalıkları ve benzeri 260' ın üzerinde hastalığın tedavisinde tercih edilen bir terapödik ajan olmasını sağlamıştır (291).

Martinez-Sanchez ve ark. diyabetik ayak gelişmiş hastalarda yaptıkları çalışmada ozon tedavisinin etkinliğini değerlendirmişlerdir. Yapılan çalışmada rektal yolla ozon gazı tedavisi uygulanan hastalarda sistemik antibiyotik uygulamasına göre yara iyileşmesi hızlanmış, hastanede kalma süreleri kısalmış, kan şekeri düzeyleri kontrol altına alınabilmiş ve antioksidan enzim düzeylerinde artış tespit edilmiştir (292).

Guerra ve ark. diş çekimi sonrası alveolit gelişen hastalar üzerinde yaptıkları çalışmada; çalışma grubuna topikal ozon (ozonize edilmiş zeytinyağı), kontrol grubuna ise topikal analjezik ve sistemik antibiyotik uygulamışlardır. Sonuç olarak; ozon grubunda herhangi bir sistemik uygulamaya gerek duyulmaksızın daha hızlı iyileşme gerçekleştiğini bulmuşlardır (293). Başka bir çalışmada gecikmiş yara iyileşmesinde ozonize sıvının pozitif etkisi gösterilmiştir (294).

Stübinger ve ark. yüksek doz radyoterapi alan 11 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada 1 ile 3 cm² arasındaki boyutlarda olan nekrotik doku ile kaplı enfekte yara yüzeylerini kürete edip temizlemişler, ardından 4 gün boyunca günde 15 dk. topikal ozon gazı uygulamışlardır. Uygulamanın sonunda 9 hastada tamamen iyileşme sağlandığını gözlemlemişlerdir (167).

Ozonize suyun oral cerrahide osteotomi işlemi sırasında soğutma amacıyla kullanılması işlem sonrası enfeksiyon gelişme oranını azaltmaktadır (295). Andreas Filippi (1999), 250 hasta üzerinde yaptığı çalışmada, üçüncü molar cerrahisi sırasında ozonize suyun irrigasyon ve çalkalama işleminde kullanılmasının postoperatif enfeksiyöz komplikasyonların ortaya çıkmasını azalttığını göstermiştir (296).

Andreas Filippi (2001) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise, 30 hastanın palatinal mukozasında 2,5 mm çapında 3 adet yara yüzeyi oluşturulmuştur. Oluşturulan yara yüzeylerinden 1.' si ozonize suyla, 2.' si tuzlu suyla günlük olarak 1 hafta boyunca yıkanmış, 3. grup ise cerrahi müdahale sonrası herhangi bir işleme tabi olmamıştır. Yapılan incelemeler sonucunda 2. 4. ve 7. gün yara iyileşmelerinde ozon grubunun diğer 2 gruba göre belirgin bir şekilde hızlı iyileşme gösterdiği görülmüştür (297).

Yapılan çalışmaların ışığında ozonun; endojen antioksidan sistemin korunması ve uyarılması, fibroblastik ve anjiogenetik aktivitenin artırılması etkileri sadece lokal olarak kalmayıp yakın komşuluklarda da etkinlik gösterir, böylece sağlıklı kemik oluşumu hızlanır. Bunun sonucunda diş çekimi sonrası hastaların şikayetleri tolere edilebilir düzeyde kalır (298).

Agrillo ve ark. bifosfanat kullanan 15 hastada ozonun diş çekimi sonrası yara iyileşmesine olan etkisini araştırmak üzere yaptıkları çalışmada, tüm hastalara diş çekiminden 1 hafta önce ve çekimi takiben 1 hafta sonra β -laktam antibiyotikle kombine bölgeye topikal ozon gazı uygulamışlardır. Hastaların klinik ve radyolojik takiplerinde çekim soketinde tamamen iyileşme tespit etmişlerdir (299).

Agrillo ve ark. bifosfanat kullanan hastalarda cerrahi işlem sonrası oluşan nekrotik kemiği tedavi etmek amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada sekestretomi işlemi öncesi ve sonrası 1 hafta boyunca β -laktam antibiyotik ile topikal ozon gazını kombine olarak kullanmışlar ve hastaları gözlemlemişlerdir. Hastaların %54'lük kısmında tamamen iyileşme, %10'luk kısmında semptomlarda belirgin azalma izlenirken sadece %16'lık kısmında iyileşme gözlenmemiştir (300).

Karapetian ve ark. periimplantitis tespit edilen 25 tam dişsiz hasta üzerinde bir çalışma yapmışlardır. İmplant etrafında kemik dokusu kaybı ve patojenik bakteri kolonizasyonu (*A. actinomycetemcominicens*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *B. forsythus*) gözlenmiştir. İmplant çevresi cerrahi olarak temizlenip greftlenmiş ve hastalar postoperatif 3 gruba ayrılmıştır. Birinci gruba topikal diyod lazer (Helbo®-

Medizin-Technik, Austria), 2. gruba topikal ozon (Ozonytron®, Mymed, Germany), 3. gruba ise topikal antibiyotik (Atridox®, Atrix Lab. GmbH, Germany) uygulamışlar ve hastaları 6 ay süreyle takip etmişlerdir. Sonuç olarak, tüm gruplar bakteri rekolonizasyonunda belirgin bir azalma gösterebilirler de lazer grubunda diğer 2 gruba göre daha belirgin bir azalma gözlenmiştir (205).

Ozon gazı doğal bir dezenfektan olması sebebiyle kullanımı hızla yaygınlaşan bir dezenfektan ajandır. Güçlü antibakteriyel, antiviral ve antifungal etkisi ile beraber yara iyileştirici özelliği de ozonun kullanım alanlarını genişletmektedir. Havada bulunan oksijenin parçalanması yoluyla elde edildiği için dezenfeksiyon görevini tamamladıktan sonra ham maddesi olan oksijene dönüşür. Bu durum ozona dezenfeksiyon sonrasında artık ve kalıntı bırakmayan tek dezenfektan olma özelliğini ve avantajını sağlamıştır (301).

Çalışmamızda kullandığımız ozon cihazı Prozone (W&H, Bürmoos, Avusturya) aldığı kuru havadaki oksijen molekülünü parçalayarak oksijen atomuna çevirir. Stabil olmayan oksijen atomu, iki atomlu oksijenle birleşerek üç atomlu ozonu oluşturur. Prozone önceden belirlenmiş dört kullanım süresine sahiptir. 6, 12, 18 ve 24 saniyelik kullanım süreleri farklı endikasyonlar için belirlenmiştir. Kavite dezenfeksiyonu için 6 saniye, cerrahi müdahaleler için 12 saniye, periodontal tedaviler için 18 saniye ve endodontik tedaviler için 24 saniyelik ozon gazı uygulanmaktadır. Cihazın her hastada değişen plastik, tek kullanımlık coro-tip, endo-tip ve perio-tip olmak üzere üç farklı aplikatörü bulunmaktadır. Prozone cihazının en önemli avantajı kullanımının kolay ve güvenli oluşudur. Çalışmamızda coro-tip aplikatör ile 12sn topikal ozon uygulaması yapıldı.

Kazancıoğlu ve ark. 30 adet wistar rat kullanarak tüm ratlarda 5 mm çapında kritik boyut kemik defekti oluşturmuşlardır. Tüm defektlere bifazik kalsiyum fosfat grefti yerleştirdikleri çalışmada üç grup oluşturularak lazer ve ozonun yeni kemik formasyonu üzerine etkisini histomorfometrik olarak karşılaştırmışlar ve her iki grupta da kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde kemik formasyonu gözlenmiştir (302).

Bu çalışmadan farklı olarak bizim çalışmamızda 5 mm lik defekt yerine 8 mm' lik defekt oluşturulmuştur. Fakat çalışmaya paralel olarak B, C ve D gruplarında A grubuna oranla daha fazla kemik oluşumu tespit edildi.

Çalışmamızda grupların karşılaştırılmasında hücre infiltrasyonu, osteoklastik aktivite, osteoblastik aktivite, kemik trabekülü, damar dilatasyonu ve hemoraji, matriks oluşumu ve kollojen lif açısından gruplar karşılaştırılmıştır. Ayrıca tüm parametreler kendi içinde sakrifikasyon zamanlarına göre ikili olarak mukayese edilmiştir.

Hücre infiltrasyonu 4. haftada D grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli fark göstermiştir. Öteki gruplar arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi.

Osteoklastik aktivite açısından yapılan incelemede tüm gruplarda kontrol grubuna oranla önemli düzeyde artış tespit edilmiştir. Fakat kontrol grubu dışındaki gruplar arası yapılan karşılaştırmalarda belirgin bir fark görülmedi.

Özdemir ve ark. ozon uygulamasının kalvaryal defektlerde otojen kemik grefti iyileşmesi üzerine etkisini araştırdıkları bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmanın sonucuna göre yapılan histolojik incelemelerde ozon uygulanan grupta osteoblastik aktivite artışı ve kemik formasyonu açısından belirgin bir fark tespit etmişlerdir (303).

Bizim çalışmamızda da buna paralel olarak osteoblastik aktivite yönüyle 4. hafta sonunda yapılan histopatolojik incelemede tüm gruplarda kontrol grubuna oranla anlamlı bir artış gözlemlendi. Bunun haricinde D grubunda B grubuna oranla belirgin fark görüldü. Öteki gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi.

Ayrıca osteoblastik aktivite artışı bakımından 8. hafta grupları arasında D grubunda öteki tüm gruplara göre anlamlı fark görüldü. Fakat B ve C gruplarında kontrol grubuna ve birbirlerine göre anlamlı fark izlenmedi. Bu sonuçlardan hareketle sadece topikal ozon uygulamasının greft uygulamasından osteoblastik aktivite bakımından üstün olmadığını söyleyebiliriz.

Yeni kemik trabekülü oluşumu açısından yapılan histolojik değerlendirmeler de 4.hafta sonunda tüm gruplarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında belirgin bir artış görüldü. Ayrıca C ve D gruplarında B grubuna oranla daha fazla kemik trabekülü oluşumu görüldü. C grubuyla D grubu arasında ise kemik trabekülü oluşumu açısından önemli bir fark görülmedi. Bu sonuca göre sadece topikal ozon uygulamasının yeni kemik trabekülü oluşumu açısından greft uygulamasından üstün olmadığını söyleyebiliriz.

Matriks oluşumu açısından yapılan histolojik değerlendirmeler de 4. hafta sonunda tüm gruplarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında belirgin bir artış görüldü.

Ayrıca, D grubunda B grubuna oranla belirgin fark görüldü. Öteki gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi.

Damar dilatasyonu ve hemoraji açısından 4. haftadaki grupları karşılaştıracak olursak kontrol grubuyla çalışma gruplarının karşılaştırılmasında anlamlı bir fark görülmedi. Fakat B ve C gruplarıyla D grubu arasında önemli bir fark tespit edildi. Öteki gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda anlamlı fark görülmedi.

Kollojen lif yönüyle 4. hafta grupları arasında yapılan karşılaştırmada anlamlı bir fark görülmedi.

Çalışmamızda 8. haftada sakrifiye edilen gruplarda hücre infiltrasyonu açısından bakacak olursak sadece D grubuyla öteki gruplar arasında anlamlı fark gözlendi. Öteki gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda önemli bir fark görülmedi.

Osteoklastik aktivite yönüyle bakacak olursak kontrol grubuyla tüm gruplar arasında önemli düzeyde fark izlendi. Bunun yanı sıra D grubuyla öteki gruplar arasında da belirgin bir fark görüldü.

Matriks oluşumu açısından değerlendirecek olursak sadece D grubuyla öteki gruplara göre anlamlı sayılabilecek fark görüldü. Geriye kalan gruplar arasında kontrol grubuna ve birbirlerine göre anlamlı bir fark görülmedi.

Erdemci ve ark. ratlar üzerinde yaptığı çalışmada sistemik ozon uygulamasının alveolar kemik iyileşmesi üzerine etkisini incelemişlerdir. 112 adet wistar ratın kullanıldığı çalışmada sakrifikasyon 14 ve 28. günde yapılmıştır. Yapılan değerlendirmelerde sistemik ozon uygulamasının ekstraksiyon sonrası alveolar kemik iyileşmesi belirgin bir şekilde arttığı tespit edilmiştir (304).

Bu çalışmaya benzer şekilde bizim çalışmamızda 56 adet erkek wistar rat kullanıldı. Kontrol grubu, boş defekt+ozon grubu, boş defekt+greft grubu ve boş defekt+greft+ozon grubu olarak 4 grup oluşturuldu. Erdemci ve arkadaşlarının çalışmasından farklı olarak ratlardan yarısı 4. hafta sonunda geriye kalan yarısı 8. hafta sonunda sakrifiye edildi. Her grup kendi içinde 2 alt gruba ayrıldı. Tüm ratların kalvaryumunda 8 mm çapında kritik boyut kemik defekti oluşturuldu. Ozon uygulanan gruplara 12 sn boyunca topikal ozon uygulandı.

Bizim çalışmamızda bu çalışmaya paralel olarak ozon uygulamasının kemik iyileşmesini hızlandırdığı tespit edildi.

Ayrıca, yine aynı çalışmaya benzer şekilde kemik trabekülü yönüyle 8. haftada C ve D gruplarında kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde artış izlendi. Bunun yanı B grubuyla kıyaslandığında D grubunda kemik trabekülünde önemli fark izlendi. Sadece ozon uygulanan grupla kontrol grubu arasında anlamlı bir fark görülmedi.

Damar dilatasyonu ve hemoraji yönüyle bakıldığında C ve D gruplarında kontrol grubuna göre belirgin bir fark görüldü. B grubuyla kontrol grubu arasında anlamlı bir fark görülmedi. Bunların yanı sıra B grubuyla kıyasla C ve D gruplarında belirgin ölçüde artış izlendi. C grubuyla D grubu arasında anlamlı bir fark görülmedi.

8. haftada sakrifiye edilen gruplara kollojen lif açısından bakacak olursak sadece D grubuyla öteki gruplar arasında anlamlı fark gözlemlendi. Öteki gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda önemli bir fark görülmedi.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Wistar cinsi erkek ratlarda oluşturduğumuz kritik boyut kemik defektlerinde ozon ve greftin osteogenezis üzerine olan etkisini araştırdığımız bu çalışmada 7 adet parametre üzerinden değerlendirmeler yapıldı ve aşağıdaki sonuçlar elde edildi:

- 4. haftada hücre infiltrasyonu açısından gruplar karşılaştırıldığında, sadece D grubunda kontrol grubuna oranla hücre infiltrasyonunda artış tespit edildi. Öteki gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi.

- 4. haftada osteoklastik aktivite açısından tüm deney gruplarında kontrol grubuna oranla anlamlı bir artış görüldü. Fakat deney grupları arasında yapılan karşılaştırmalarda anlamlı bir fark ortaya çıkmadı.

- 4. haftada osteoblastik aktivite açısından gruplar değerlendirildiğinde, üç çalışma grubunda da kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi. Ayrıca D grubuyla B grubu arasında anlamlı bir fark gözlemlendi. B ve C grupları arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi. Bu sonuçlara bakılırsa topikal ozon uygulamasının sadece greft uygulamasına osteoblastik aktivite bakımından üstünlük sağlayamadığını söyleyebiliriz. Fakat ozon ve greftin birlikte kullanımının faydalı olabileceği düşünülebilir.

- 4. haftada matriks oluşumu açısından gruplar değerlendirildiğinde, üç çalışma grubunda da kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi. Ayrıca, D grubuyla B grubu arasında anlamlı bir fark gözlemlendi. B ve C grupları arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi. Böylece greft ve ozonun matriks oluşumu bakımından birbirine üstünlük sağlayamadığını söyleyebiliriz.

- Kemik trabekülü açısından 4. hafta grupları değerlendirildiğinde, üç deney grubunda da kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi. Ayrıca, C grubu ve D gruplarında B grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi. Bu sonuçlara göre sadece greft uygulamasının sadece ozon uygulamasına göre kemik trabekülünü daha çok arttırdığını söyleyebiliriz.

- Damar dilatasyonu ve hemoraji açısından 4. hafta grupları değerlendirildiğinde, D grubunda B ve C gruplarına oranla anlamlı fark gözlemlendi. Grupların hiçbirinde kontrol grubuna oranla anlamlı bir fark gözlemlenmedi.

- Kollojen lif oluşumu açısından 4. hafta grupları değerlendirildiğinde, kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış gözlenmedi.

- 8. hafta grupları hücre infiltrasyonu açısından değerlendirildiğinde, D grubunda tüm gruplara oranla anlamlı istatistiksel artış tespit edilmiştir.

- 8. hafta grupları osteoklastik aktivite açısından değerlendirildiğinde, çalışma gruplarında kontrol grubuna oranla anlamlı bir artış gözlemlendi. Ayrıca D grubunda B ve C gruplarına kıyasla belirgin artış gözlemlendi. Bu sonuçlar göz önüne alındığında greft ve ozonun osteoklastik aktivite artışı bakımından birbirine üstünlük sağlamadığını söyleyebiliriz. Fakat ozon ve greftin birlikte kullanımının yararlı olacağını söyleyebiliriz.

- 8. hafta grupları osteoblastik aktivite açısından değerlendirildiğinde, D grubunda tüm gruplara oranla anlamlı istatistiksel artış tespit edilmiştir. B ve C gruplarında kontrol grubuna ve birbirlerine oranla anlamlı bir fark gözlenmedi.

- 8. hafta grupları matriks oluşumu açısından değerlendirildiğinde, D grubunda tüm gruplara oranla anlamlı istatistiksel artış tespit edilmiştir.

- Kemik trabekülü yönüyle 8. hafta grupları değerlendirmeye alındığında, C ve D gruplarında kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak belirgin artış gözlemlendi. B grubuyla kontrol grubu arasında anlamlı bir fark görülmedi. Ayrıca, D grubunda B grubuna kıyasla belirgin trabekül artışı görüldü. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde greft uygulamasının topikal ozon uygulamasına kıyasla kemik trabekülü artışında daha etkili olduğunu söyleyebiliriz.

- Damar dilatasyonu ve hemoraji yönüyle 8. hafta grupları incelendiğinde, C ve D gruplarında kontrol grubu ve B grubuna kıyasla belirgin artış gözlemlendi. C grubuyla D grubu arasında anlamlı fark görülmedi.

-8. hafta grupları kollojen lif oluşumu açısından değerlendirildiğinde D grubunda tüm gruplara oranla anlamlı istatistiksel artış tespit edilmiştir.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre aşağıdaki önerilerde bulunabiliriz:

-Farklı parametreler ele alınarak yaptığımız deneysel çalışma değerlendirildiğinde, osteogenezisi hızlandırması bakımında ozonun grefte üstünlük sağlamadığı düşüncesindeyiz.

- 4. ve 8. hafta bulguları değerlendirildiğinde; yeni kemik formasyonu açısından en iyi sonuç greft+ozon uygulanan gruptan elde edildi. Sadece ozon uygulamasının bölgedeki hemostazı arttırıp osteogenezis üzerine olumlu etkisi olduğunu söyleyebiliriz. Bununla birlikte, anlamlı sayılabilecek yeterli etkiyi oluşturmadığını belirtebiliriz.

- Teknolojideki hızlı gelişmeler sonucu üretilen yeni greft materyalleri ve farklı ozon uygulama yöntemlerinin kullanımıyla daha fazla in vivo ve in vitro osteogenezis çalışmalarına ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.



7. KAYNAKLAR

- 1- Tanakol R. Fizyopatolojik Etmenler İçinde Osteoporoz Y(Ed.) Gökçe Kutsal Güneş Kitabevi Ltd.Şti, Ankara 2005;3-70.
- 2- Bancroft JD, Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th ed. Churchill Livingstone, Newyork 1996; 15: 309-339.
- 3- Junqueira LC, Carneiro J. Basic Histology, 10th ed. McGraw-Hill, New York 2003;8: 144-146.
- 4- Leslie P, Gartner, James L. Hiatt: Color textbook of Histology. 2th edition, W.B Saunders company 2001;129-155.
- 5- Hüsmani T. Siklosporin-A uygulanan sıçanlarda, antioksidanların (selenium ve vitamin E), çekim yarası iyileşmesi üzerine etkilerinin histopatolojik ve biyokimyasal olarak incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi İstanbul 2007.
- 6- Jee WSS. Integrated bone tissue physiology: Anatomy and physiology. In Cowin SC(Ed) Bone Mechanics Handbook 2 ed. Florida CRC press; 2001;1-68.
- 7- Jee WSS. The skeletal tissues in Cell and Tissue Biology in Weiss L(Ed) A textbook of Histology Baltimore 1988; Urban and Schwarzenberg.
- 8- Parfitt AM. Problems in the application of in vitro systems to the study of human bone remodeling. Calcif Tissue Int1995; 56(1): 5-7.
- 9- Archer WH. Oral and Maxillofacial Surgery WB Saunders Publishing Philadelphia 1975;1427-1453.
- 10- Hollinger O, Buck CD, Bruder PS. Biology of Bone Healing: Its Impact on Clinical Therapy. In Lynch S, Genco RJ, Marx RE. (Eds) Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics. 1st edition Quintessence Publishing 1999; chap 1
- 11- Atalay B. Deneysel Olarak Demir Eksikliği Anemisi Yapılan Sıçanlarda Kemik Defektlerine Yerleştirilen Greft Materyallerinin Kemik İyileşmesine Etkisinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi İstanbul 2007.
- 12- Gürsoy N. Ortodontinin biyolojik temelleri, Kafa, yüz, çene büyüme ve gelişimi. Doyuran matbaası İstanbul 1988.
- 13- Güven Y. Kıkırdak Kemik ve Diş Biyokimyası. İÜ Dişhekimliği Fakültesi Biyokimya ders notları Mart 1998.
- 14- Ham AW, Cormack DH. Histophysiology of Cartilage, Bones and Joints Philadelphia1979 JB Lippincott.
- 15- Tuskan C, Yaltırık M. Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan biyomateryaller. İÜ Dişhekimliği Fakültesi Yayınları İstanbul 2002 Bölüm I,II.
- 16- Bloom W, Fawcett DW. A textbook of histology. 10th ed WB Saunders Philadelphia 1975; chap 10.

- 17- Çakarer S. Sıçan tibialarında oluşturulan distraksiyon osteogenezisinde trombin peptidi (TP508) uygulamasının kemik üzerindeki histopatolojik etkilerinin incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi İstanbul 2008.
- 18- Robbins SL, Kumar V. Basic Pathology, Fourth Ed. WB. Saunders Company, Philadelphia PA 19105, 1987.
- 19- Clarke M, Brayer J, Heintz K, et al. Differential absorbtion and distribution of epidermal growth factor in diabetic nod mice. Journal of Diabetes and Its complications 2001;15: 103-111.
- 20- Junguiera LC, Carneiro J, Kelley RO. Temel Histoloji. 8.Baskı. İstanbul: Barış Kitabevi Ltd. Şti. 1998; 132-151
- 21- Çankaya AB. Deneysel olarak oluşturulan kemik defektlerinde iki farklı kriyojen madde olan sıvı nitrojen ve karbondioksit gazı uygulamasının kemik iyileşmesi üzerine olan etkilerinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, 2006.
- 22- Jungueira L C, Carneriro J, Kelley R O. Basic Histology. 6. Baskı, ALange Medical Book, 1989.
- 23- Thibodeu A G, Patton K T. Anatomy&Physiology. 5.Baskı, St Louis, Mosby, 2002.
- 24- Bayar G R. Ooferektomi Uygulanmış Tavsanlarda Periosteal Distraksiyon ile Elde Edilen Yeni Kemik Dokuların Degerlendirilmesi, Dishekimligi Bilimleri Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Programı Doktora Tezi, GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2004.
- 25- Kierszenbaum AL. Histoloji ve hücre biyolojisi: Patoljiye giris. Mosby Inc, St. Louis, Palme yayıncılık 2006, çeviri editörü: Prof. Dr. Ramazan Demir, 4. baslık, sayfa 118.
- 26- Gartner LP, Hiatt JL. Cartilage and Bone. Color Textbook of Histology, 2nd ed, Gartner LP, Hiatt JL (eds.) W. B. Saunders, Philadelphia, S:129-154, 2001.
- 27- Becker K L. Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism. JB Lippincott Co, Philadelphia 1990.
- 28- Rothman R H, Simeone F A. The Spine. 2. baskı, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1975.
- 29- Boden SD: Bioactive factors for the bone tissue engineering. Clin Orthop1999; 367: 84-94.
- 30- Khan SN, Bostrom MP, Lane JM. Bone growth factors. Orthop Clin North Am. 2000;31: 375-388.
- 31- Mathes SJ. Repair and grafting of bone. In: Plastic surgery. 2nd ed. Saunders Elsevier Inc, Philadelphia 2006; 639-718.
- 32- Atalay B. Deneysel Olarak Demir Eksikligi Anemisi Yapılan Sıçanlarda Kemik Defektlerine Yerlestirilen Greft Materyallerinin Kemik İyileşmesine Etkisinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, 2007.
- 33- Ham AW, Cormack DH. Histophysiology of Cartilage, Bones and Joints. Philadelphia, JB Lippincott, 1979.
- 34- Owen M. The origin of bone cells. Int Rev Cytol1970; 28: 213.
- 35- Young RW. Nucleic acids, protein synthesis and bone. Clin Orthop Rel Res 1963; 26: 147.
- 36- Gürgen T. Jinekolojik yünden Osteoporoza Yaklaşım. İçinde Gökçe Kutsal Y(Ed.) Osteoporoz. Güneş Kitabevi Ankara 2005;213-230.

- 37- Şirin SY. Deneysel olarak meydana getirilen kemik defektlerine yerleştirilen farklı tipteki yapay kaynaklı greft materyallerinin kemikleşmesinde hiperbarik oksijen uygulamasının etkilerinin incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, 2005.
- 38- Gürkan T. Jinekolojik yönden Osteoporoza Yaklaşım. İçinde Gökçe Kutsal Y(Ed.) Osteoporoz. Günes Kitabevi Ankara 2005;213-230.
- 39- Şirin SY. Deneysel olarak meydana getirilen kemik defektlerine yerleştirilen farklı tipteki yapay kaynaklı greft materyallerinin kemikleşmesinde hiperbarik oksijen uygulamasının etkilerinin incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, 2005.
- 40- Soydan N. Genel Histoloji. İstanbul, İ.Ü. Basımevi ve Film Merkezi 1982.
- 41- Black DM, Bauer DC, Lu Y. Should BMD be measured at multiple sites to predict fracture risk in elderly woman? J Bone Miner Res 1995; 10(1): 140.
- 42- Baron R. Anatomy and ultrastructure of bone, in Favus, M. 1.(Ed.), Primer on the Metabolic Bone Disease and Disorder of Mineral Metabolism, 4th ed. Lippincottwilliams & Wilkins, 1999, chap. 1.
- 43- Fawcett DW, Bloom W. A textbook of histology. WB Saunders Comp. 10th ed.Philadelphia, London, Toronto 1975; 244-282.
- 44- Cowin SC. Bone Mechanics Handbook. 2nd edn. Boca, Raton, London, New York, Washington: CRC Press. 2001; Bölüm 1: 1-68, Bölüm 2: 1-24.
- 45- Erdem MA. Kemik defektlerinde elektromanyetik alanın iyileşme üzerine biyokimyasal ve histopatolojik etkilerinin deneysel olarak araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi İstanbul 2006.
- 46- Erickson EF, Axelrod DW, Melsen F. Bone Histomorphology, Raven Press, New York, 1994.
- 47- Frost HM. The biology of fracture healing and over view for clinicians part I.Clin. Orthop Rel Res 1979; 248: 283-293.
- 48- Kierszenbaum AL. Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology, 1st ed. Mosby Inc, St. Louis, Chapter 5, page 131, 2002.
- 49- Kayalı H. Genel Histoloji.İstanbul Üniversitesi Cerrahpasa Tıp Fakültesi Yayınları, 1989.
- 50- Garg A: Bone Biology, Harvesting, Grafting for Dental Implants: Rationale and Clinical Applications. Florida, 2004 Quintessence Publishing Co,3-56.
- 51- Wozney JM, Rosen V, Byrne M, Celeste AJ, Moutsatsos I, Wang EA. Growth factors influencing bone development. J Cell Sci Suppl. 1990; 13: 149.
- 52- Aybar B. Periapikal Lezyonlarda Prostaglandinler (PGE 2, PGF 2) ve Bazı Biyokimyasal Parametrelerin İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, İstanbul, 1997.
- 53- Buckwalter JA, Einhorn AT, Bolander EM, Cruess LR. Healing of the musculoskeletal tissues. In Rockwood AC, Gren PD, Bucholz WR, Heckman DJ (Eds) Rockwood and Gren's Fractures in Adults. 4th edition. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996; chap 5.

- 54- MüftüoğluSF(2005).KemikDokusu.EFGerişim:
[http://www.medinfo.hacettepe.edu.tr/ders/TR/D2/1/1930_files/frame.htmslide0024.ht].Erişim
Tarihi: 08.02.2006.
- 55- Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. Science. 1993; 260: 920-926.
- 56- Miloro M. Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery Secon Ed. BC Decker Inc
Hamilton London, 2004.
- 57- Kierszenbaum A.L. Histology and Cell Biology: An Introductionto Pathology, Mosby Inc St.
Louis2002;5: 127.
- 58- Wozney JM, Rosen V, Byrne M, Celeste AJ, Moutsatsos I, Wang EA. Growth factors
influencing bone development. J Cell Sci Suppl. 1990; 13: 149.
- 59- Eşrefoğlu M. Genel ve Özel Histoloji, Malatya, 2004 Pelikan Yayıncılık,110.
- 60- Kalfas HI. Principles of Bone Healing. Neurosurg Focus. 2001; 10(4); 1-4.
- 61- Sandy C, Marks JR, Popoff SN. Bone cell biology: The regulation of development, structure and
function in the skeleton. The American Journal of Anatomy 1988; 83(1): 1-44.
- 62- Caranza FA, Newman MG, Takei HH. Carranza's Clinical Periodontology 9. Edition, USA WB.
Saunders Co 2002;812-819.
- 63- Erdoğan D, Hatipoğlu M, Ilgaz C. Genel Histoloji, Ankara, 1999 Hatipoğlu Yayınevi, 107-117.
- 64- Kabaca G. Diabetik Sıçanlarda Selenyumun Kemik İyileşmesi Üzerine Etkileri. İstanbul
Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, 2007.
- 65- Duthie RB. Bone and Joint Tissues. In: Kyle J,Karey LC (Eds). Scientific Foundations of
Surgery 4.ed. Heinemann Medical Books, Londra 1989: 150-166.
- 66- Pieri F, Lucarelli E, Corinaldesi G, Iezzi G, Piattelli A, Giardino R. Mesenchymal stem cells and
platelet-rich plasma enhance bone formation in sinus grafting: a histomorphometric study in
minipigs. J Clin Periodontol 2008; 35: 539-546.
- 67- Moy P. K, Lundgren S, Holmers RE. Maxillary sinus augmentation: histomorphometric analysis
of graft materials for maxillary sinus floor augmentation. Journal of oral and maxillofacial
surgery 1993;51: 857-862.
- 68- Kalfas HI. Principles of Bone Healing. Neurosurg Focus. 2001; 10(4): 1-4.
- 69- Sandy C, Marks JR, Popoff SN. Bone cell biology: The regulation of development, structure and
function in the skeleton. The American Journal of Anatomy 1988; 83(1): 1-44.
- 70- Duthie RB. Bone and Joint Tissues. In: Kyle J,Karey LC (Eds). Scientific Foundations of
Surgery 4.ed. Heinemann Medical Books, Londra, 1989: 150-166.
- 71- Hollinshead HW, Rosse C. Textbook of Anatomy. 4.ed. Harper & Row Publishing, Philadelphia,
1985: 24-30.
- 72- Oral O. L-Dopa'nın allojenik kemik grefti uygulanan ve uygulanmayan kemik defektlerinde
iyileşme üzerindeki etkilerinin incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
Doktora Tezi 2000.

- 73- Feinberg SE, Steinberg B, Helman J. Healing of traumatic injuries. In: Fonseca RJ, Walker RV, Betts NJ, Barber HD (Eds) Oral and maxillofacial trauma. Vol 1. 2nd Ed. Philadelphia (PA): WB Saunders Co. 1997: 13–59.
- 74- Gorski JP. Is all bone the same. Distinctive distributions and properties of non collagenous matrix proteins in lamellar vs. woven bone imply the existence of different underlying osteogenic mechanisms. Crit Rev Oral Biol Med 1998; 9: 201-223.
- 75- Miloro M. Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery Secon Ed. BC Decker Inc Hamilton London, 2004.
- 76- Radi Z, Khan K. Effects of Cyclooxygenase Inhibition on Bone, Tendon and Ligament Healing, Inflammation Research Journ, 2005; 1: 358-366.
- 77- Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. Science. 1993; 260: 920-926.
- 78- Çakar S. Sıçan tibialarında oluşturulan distraksiyon osteogenezisinde trombin peptidi (TP508) uygulamasının kemik üzerindeki histopatolojik etkilerinin incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, 2008.
- 79- Kılıçoğlu SS. Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2002; 55: 143-150.
- 80- Heppenstall RB. Fracture healing. Fracture Treatment and Healing. Philadelphia: Saunders; 1970: 35- 64.
- 81- Marks SC, Popoff SN. Bone cell biology: The regulation of development, structure and function in the skeleton. The American Journal of Anatomy. 1988; 182: 1-44.
- 82- Buser D, Dahlin C, Schenk RK. Guided Tissue Regeneration in Implant Dentistry. Quintessence, Chicago, 1984.
- 83- Schenk RK. Histophysiology of bone remodeling and bone repair. In Lin OCC, Chao EVS (Eds) Perspective on Biomaterials. Amsterdam, Elsevier Science Publisher, 1976: 75- 94.
- 84- Gartner LP, James LH: Color Atlas of Histology, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Chapter 4, page 73, 2000.
- 85- Bancroft JD, Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th ed. Churchill Livingstone, Newyork 1996;15: 309-339.
- 86- Kierszenbaum AL. Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology, 1st ed. Mosby Inc., St. Louis 2002; 5: 131.
- 87- Cotran RS, Kumar V, Robbins SL: Robbin's pathologic basis of disease. 6th ed. WB Saunders Co, London, 1999.
- 88- Radi Z, Khan K. Effects of Cyclooxygenase Inhibition on Bone, Tendon and Ligament Healing, Inflammation Research J 2005; 1: 358-366.
- 89- Kılıçoğlu, SS. Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2002; 55: 143-150.
- 90- Kafkas İH.(2001). Kemik İyileşmesinin Temelleri. Neurosurgical Focus, vol 10. Erişim: [http://meds.ktu.edu.tr/~sbaykal/kemik_fuz.htm]. Erişim Tarihi: 08.02.2006.

- 91- Cotran RS, Kumar V, Robbins SL: Robbin's pathologic basis of disease. 6th ed. WB Saunders Co, London, 1999.
- 92- Gartner LP, James LH: Color Atlas of Histology, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2000; 4: 73.
- 93- Feinberg SE, Steinberg B, Helman J. Healing of traumatic injuries. In: Fonseca RJ, Walker RV, Betts NJ, Barber HD (Eds) Oral and maxillofacial trauma. Vol 1. 2nd Ed. Philadelphia (PA): WB Saunders 1997;Co 13-59.
- 94- Meade JB, Cowin SC, Kiawitter JJ, Van Buskirk WC, Skinner HB. Bone remodeling due to continuously applied loads. Calcif Tissue 1984; 36: 25-30.
- 95- Oral CK. Laser'in Ağız Cerrahisi Girişimlerinde İyileşme Üzerine Etkilerinin Deneysel Araştırılması, Doktora Tezi, 1987.
- 96- Parfitt AM, Mathews C, Rao D. Impaired osteoblast function in metabolic bone disease. In DeLuca HF, Frost HM, Jee WSS, Johnston CC, Parfitt AM (Eds). Osteoporosis: Recent Advances in Pathogenesis and Treatment, University Park Press, Baltimore 1981: 321-330.
- 97- Taşan E. Normal kemik yapım-yıkım döngüsü ve osteoporozun patogenezi. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli tıp eğitimi etkinlikleri osteoporoz sempozyumu, İstanbul 26 Şubat 1999: 17-32
- 98- Eriksen EF. Normal and pathological remodelling of human trabecular bone: three dimensional reconstruction of the remodeling sequence in normals and in metabolic bone disease. Endocrine 1986; 7: 279-408.
- 99- Comproesi EM. Hyperbaric oxygen Therapy: A committee Report, Undersea and Hyperbaric Medical Society, 1999.
- 100- Ballı B. Kemik İyileşmesi ve İyileşmeyi Etkileyen Faktörler. İ. Ü. Diş Hekimliği Fakültesi, Bitirme tezi, İstanbul 2004.
- 101- Martin RB, Burr DB. Mechanical adaptation, in Structure, Function and Adaptation Of Compact Bone. Raven Press, New York, 1989; chaps.2,4,7,8.
- 102- Bassett CAL. Biophysical principles of affecting bone structures in G. H. Bourne (Ed.), The Biochemistry and Physiology of Bone. Acad. Press, Inc. NewYork 1971; 1-76.
- 103- Cruess RL. Healing of bone, tendon and ligament. Fractures 2nd ed, Philadelphia, Lippincott Co; 1984; 1: 147-167.
- 104- Özyuvacı H, Fırat D, Soydan N, Aktaş Ş, Oğuz N, Doğan Ö, Yaltırık M, Ilıcalı A. Deneysel kemik defektlerine yerleştirilen iki farklı kemik greft materyalinin radyoterapi ve radyoterapi+hiperbarik oksijen uygulaması sonrası dokuda meydana getirdiği reaksiyonların histopatolojik yönden incelenmesi. Oral İmp Der 1997; 2: 60-64.
- 105- Beumer J, Curtis TA, Firteli DA. Maxillofacial Rehabilitation. The CV Mosby Company, 1979.
- 106- Kökden A, Türker M. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Kemik Greftleri ve Biyomateryaller. Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi 1999; 2(2): 134-140.
- 107- Peterson LJ, Tucker MR. Contemporary of Maxillofacial Surgery. The CV Mosby Company, 1988.

- 108- Lee CY. A new method to harvest ramus bone using the erbium, chromium: yttrium-scandium-gallium-garnet laser. *J Oral Maxillofac Surg*. 2005;63(6):879-882.
- 109- Freilich MM, Sandor GK. Ambulatory in-office anterior iliac crest bone harvesting. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101(3):291-298.
- 110- Garg AK. Grafting Materials in Repair and Restoration. In : Lynch SE, Genco RJ, Marx RE (Eds). *Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics*. Quintessence Publishing, Illinois 1999; 83–102.
- 111- Fonseca RJ, Walker RV. *Oral and Maxillofacial Trauma Vol II* . W B Saunders Company, 1991.
- 112- Marx RE, Carlson ER. Tissue Banking Safety: Caveats and Precautions for the Oral and Maxillofacial Surg. *J Oral Maxillofac Surg* 1993; 51: 1372-1379.
- 113- Sándor GKB, Lindholm TC, Clokie CML. Bone regeneration of the craniomaxillofacial and dento-alveolar skeletons in the framework of tissue engineering. In: Ashammakhi N, Ferretti P (Eds). *Topics in Tissue Engineering* 2003: 1-46.
- 114- Urist MR. Bone: Formation by autoinduction. *Science* 1965; 150: 893-897.
- 115- Zhang M, Powers RM Jr, Wolfenbarger L Jr. Effect(s) of the demineralization process on the osteoinductivity of demineralized bone matrix. *J Periodontol* 1997; 68: 1085-1092.
- 116- Kübler N, Reuther J, Kirchner T, Priessnitz B, Sebald W. Osteoinductive, Morphologic, and Biomechanical Properties of Autolyzed, Antigen-Extracted, Allogenic Human Bone. *J Oral Maxillofac Surg*. 1993; 51: 1346-1357.
- 117- Buck BE, Malinin TL. Human Bone and Tissue Allografts *Clin.Orthop.Related Research*.1994;303:8–17.
- 118- Çetiner S. Apikal Rezeksiyon Olgularının Tedavisinde Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu Tekniği ve Allojenik Kemik Grefti Kullanımının Bilgisayarlı Tomografi ile Karşılaştırmalı Olarak Değerlendirilmesi, Gazi Üniv Sağlık Bilimleri Ens, Doktora Tezi, Ankara, 1997.
- 119- Hardin CK. Banked Bone. *Otolaryngol Clin. North Am*, 1994; 27: 911 -25.
- 120- Kruger GO. *Text Book of Oral and Maksillofacial Surgery*. The CV Mosby Company, 1984.
- 121- Hislop WS, Finlay PM, Moos KF. A Preliminary study into the uses of Anorganic Bone in Oral and Maxillofacial Surgery. *British J.Oral Maxillofac. Surg*. 1993; 31: 149-153.
- 122- Daculsi G. Biphasic calcium phosphate concept applied to artificial bone, implant coating and injectable bone substitute. *Biomaterials* 1998; 19: 1473-1478.
- 123- Karaca İ, Türker M, Akbay C. Experimental Investigation of Bone Regeneration Using Pyrost in Animals. *J.Nihon Univ Sch.Dent* 1994; 36 : 95-101.
- 124- Karaca İ, Yaman S, Uğar DA, Aral L, Arıcıoğlu A, İşman F. An Investigation of Serum Alkaline Phosphatase, Calcium and Phosphate Levels after Intraosseous Implantation of, Pyrost in Humans. *Biochemical Archives*. 1997; 13: 69-74.
- 125- Gürmeriç A. Hidroksiapatit, Allojenik Kemik Tozu, Doğal Mercan ve Kalsiyum karbonatın Kemikleşme üzerine Etkilerinin Deneysel Olarak İncelenmesi. *Cerrahi Diş Doktora Tezi*. H Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ankara, 1995.
- 126- Schopf CH. *Primmer Vigo Product Information*. Germany, 1991.

- 127- Sanan A, Haines SJ. Repeating holes in the head: A history of cranioplasty. *Neurosurgery* 1997;40: 588-603.
- 128- Moore WR, Grave SE, Bain GI. Synthetic bone graft substitutes. *Australian and New Zealand Journal of Surgery* 2001;71: 354-61.
- 129- Türker M, Yücetaş Ş. Ağız Dış Çene Hastalıkları ve Cerrahisi. Ankara. Atlas Kitapçılık; 1997;429-30.
- 130- Szpalski M, Gunzburg RG. Applications of calcium phosphate-based cancellous bone void fillers in trauma surgery. *Orthopedics* 2003;25: 601-9.
- 131- Ellis, III E. Surgical reconstruction of defects of jaws. In Peterson LJ, eds. *Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery*. St. Louis. Cv Mosby;1998: 680-4.
- 132- Bloomquist DS, Turvey TA. Modern practice in orthognatic and reconstructive surgery. In Fonseca Volume 2, Philadelphia, London. WB Saunders Company; 2000:513-21.
- 133- Khan, SN, Tomin, E, Lanr, J.M., Clinical applications of bone graft substitutes. *Orthop Clin North Am* 2000;31: 389-96.
- 134- Azarpazhooh A, Limeback H. The application of ozone in dentistry: a systematic review of literature. *J Dent* 2008; 36: 104-116.
- 135- Nogales CG, Ferari PH, Kantorovich EO, Lage-Marques JL. Ozone Therapy in Medicine and Dentistry. *J Contemp Dent Pract* 2008;9: 75-84.
- 136- Schonbein C. Notice of C Sch. The discoverer of ozone. *Annual Report of the Board of Regents of the Smithsonian Inst. Washington, DC, US Government Printing Office* 1869; 185-192.
- 137- Özler M, Korkmaz A. Ozon gazının tıbbi amaçlı kullanılması. *TAF Prev Med Bull* 2009;8: 59-64.
- 138- Üstün A. Kimyasal sistit oluşturulan deneysel hayvan modelinde; intravezikal ozon uygulamasının mesaneye topikal etkisi. *Gaziantep Üniversitesi Uzmanlık Tezi, Gaziantep, 2007.*
- 139- Ohmuller A. Action of ozone on bacteria. *Arbeitskreis Gesundheit* 1892; 8: 228-235.
- 140- Mordecai B. The history of ozone. *The Schönbein Period, 1839-1868 Bull Hist Chem*, 26: 40-56, 2001.
- 141- Razumovskii SD, Zaikov GE. *Ozone and its reactions with organic compounds*. Elsevier, New York, 1984.
- 142- Bocci V. Ozone as Janus: This controversial gas can be either toxic or medically useful. *Mediators Inflamm*, 2004;13: 3-11.
- 143- Grootveld M, Baysan A, Sidiiquei N, Sim J, Silwood C, Lynch E. History of the clinical applications of ozone. In: Lynch E, editor. *Ozone: The Revolution In Dentistry*. London: Quintessence Publishing Co. p. 23–30, 2004.
- 144- Mehlman MA, Borek C. Toxicity and biochemical mechanism of ozone *Environ Res*, 1987;42: 36-53.
- 145- Iglesias SC. Degradation and biodegradability enhancement of nitrobenzene and 2,4-dichlorophenol by means of advanced oxidation processes based on ozone, *Universitat De Barcelona, PhD Thesis, Barcelona, 2002;37-39.*

- 146- Akovalı G. Cilt kanseri ve stratosferdeki ozon tabakası bağlantısı. Bilim ve Teknik Şubat 1987; 38-39.
- 147- Türkiye Çevre Vakfı, Ansiklopedik Çevre Sözlüğü, Ankara, 2001.
- 148- Brian J Millar, Nicholas Hodson. Assessment of the safety of two ozone delivery devices. J Dent, 2007;35: 195–200.
- 149- Korur E, Ozon tabakasını kurtarabilecek miyiz?, Bilim ve Teknik Mart 1988; 26-8.
- 150- Aygün E. Ozon tabakasındaki deliklerin sebepleri ve sonuçları, Bilim ve Teknik, Şubat 1989; 46-9.
- 151- Kadioğlu M. Bildiğiniz havaların sonu, küresel iklim değişimi ve Türkiye, Güncel Yayıncılık, İstanbul, 2001; 171.
- 152- Valacchi G, Pagnin E, Corbacho AM, Olano E, Davis PA, Packer L, Cross C E. In vivo ozone exposure induces antioxidant/stress-related responses in murine lung and skin. Free Radic. Biol. Med 2004; 36: 673–681.
- 153- Çepel N, Ozon tabakasının incelenmesi ve ekolojik sonuçları. Ekolojik Sorunlar ve Çözümleri S.; TÜBİTAK, Ankara, 2003; 149-157.
- 154- Bocci V. How ozone acts and how it exerts therapeutic effects. In: Lynch E, editor. Ozone: the revolution in dentistry. London: Quintessence Publishing Co, 2004; 15–22.
- 155- Cotton FA, Wilkinson G. Advanced Inorganic Chemistry. A comprehensive text. John Wiley and Sons. 4th ed, 1980; 15:488-489.
- 156- Solomon S. Stratospheric ozone depletion: a review of concepts and history. Reviews of Geophysics, 1999;37: 275–316.
- 157- Broadwater WT, Hoehn RC and King PH. Sensitivity of three selected bacterial species to ozone. Applied Microbiol, 1973;26: 391-393.
- 158- USEPA, “Ultrox International ultraviolet radiation/oxidation technology applications analysis report”, 540/A5-89/012, 1990.
- 159- Berg G. In proc. National speciality conference on disinfection. American Society Of Civil Engineers Publication, 1970;339-364.
- 160- Stockburger D. Ozon-therapie-grundlagen und technik der ozonbehandlung . München, Foitzcik, 2002.
- 161- [http:// www.the-o-zone.cc](http://www.the-o-zone.cc). Ozone in Medicine: Overview and Future Directions Author; Gérard V. Sunnen, MD, 2004.
- 162- Dereli PS. Ozon, Uv, Ultrason teknolojileri ve kombinasyonlarının ön terbiye işlemlerinde uygulanabilirliğinin araştırılması. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 2006.
- 163- Güler Ö. Alt ekstremitenin kronik iskemik hastalıklarında ozon tedavisi, lumbal sempatik sinir bloğu ve lumbal sempatik sinir bloğu ile birlikte ozon tedavisinin karşılaştırılması. Cumhuriyet üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Sivas, 2008.

- 164- Van der Zee J, Tijsen-Christianse K, Dubbelman T. The influence of ozone on human red blood cells; comparison with other mechanisms of oxidative stress. *Acta Biochemistry Biophysics* 1987, 924: 111-118.
- 165- Stübinger S, Sader R, Filippi A. The use of ozone in dentistry and maxillofacial surgery: a review. *Quintessence Int*, 2006;37: 353-9.
- 166- Bocci V. Ozone. A new medical drug. Dordrecht, the Netherlands: Springer, 2005;1–295.
- 167- Viebahn-Haensler R. Ozonun uygulama biçimleri ve kullanım alanları; Ozonun Tıpta Kullanımı. *Medikal Ozon Oksijen Derneği*, 2005;53-66.
- 168- Bocci V. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. *Arch Med Res* 2006; 37: 425–435.
- 169- Bocci V. Ozonization of blood for the therapy of viral diseases and immunodeficiencies. A hypothesis. *Med Hypotheses*. 1992;39: 30-4.
- 170- Bocci V, Luzzi E, Corradeschi F, Paulesu L, Rossi R, Cardaioli E, Di Simplicio P. Studies on the biological effects of ozone: 4. Cytokine production and glutathione levels in human erythrocytes. *J Biol Regul Homeost Agents*. 1993;7: 133-8.
- 171- Bocci V. Does ozone therapy normalize the cellular redox balance? Implications for therapy of human immunodeficiency virus infection and several other diseases. *Med Hypotheses*. 1996;46: 150-4.
- 172- Bocci V. Ozone as a bioregulator. Pharmacology and toxicology of ozonotherapy today. *J Biol Regul Homeost Agents*. 1996;10: 31-53.
- 173- Bocci V. Autohaemotherapy after treatment of blood with ozone. A reappraisal. *J Int Med Res*. 1994;22: 131-44.
- 174- Baysan A, Lynch E, Grootveld M. The use of ozone for the management of primary root carious lesions. Tissue preservation and caries treatment. *Quintessence Book*. 2001;3: 49-67.
- 175- Lynch E. The revolution in dentistry. 1.ed. London Quintessence Publishing Co.Ltd; 2004.
- 176- Valacchi G, Bocci V. Studies on the biological effects of ozone: Release of factors from human endothelial cells. *Mediators Inflamm*. 2000;9: 271-6.
- 177- Gupta M, Abhishek. Ozone: An emerging prospect in dentistry. *Indian Journal of dental sciences*. 2012;4: 47-50.
- 178- Gerspach IH, Savtchenko VP, Dähnhardt JE, Meyer J, Lussi A. Comparison of the immediate effects of gaseous ozone and chlorhexidine gel on bacteria in cavitated carious lesions in children in vivo. *Clin Oral Invest*, 00784-008: 0234-4, 2008.
- 179- Brazzelli M, McKenzie L, Fielding S, Fraser C, Clarkson J, Kilonzo M, Waugh N. Systematic review of the effectiveness and cost-effectiveness of HealOzone for the treatment of occlusal pit/fissure caries and root caries. *Health Technology Assessment* 10: iii-iv, ix-80. 2006.
- 180- Baysan A, Beighton D. Assessment of the ozone-mediated killing of bacteria in infected dentine associated with non-cavitated occlusal carious lesions. *Caries Res* 2007; 41: 337-341.
- 181- Baysan A, Lynch E. The use of ozone in dentistry and medicine. Part 2. Primary Dental Care 2006, 13: 37-41.

- 182- Rickard GD, Richardson R, Johnson T, McColl D, Hooper L. Ozone therapy for the treatment of dental caries. Cochrane Database of Systematic Reviews, CD004153, 2004.
- 183- Dähnhardt JE, Jaeggi T, Lussi A. Treating open carious lesions in anxious children with ozone. A prospective controlled clinical study. *Am J Dent*, 2006;19: 267–270.
- 184- Ship JA, Fox PC, Baum BJ. How much saliva flow is enough? “Normal” function defined. *J Am Dent Assoc*, 1991;122: 63-69.
- 185- Paes Leme AF, Koo H, Bellato CM, Bedi G, Cury JA. The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation-new insight. *J Dent Res*, 2006;85: 878–887.
- 186- Yip HK, Guo JH, Wong WH. Incipient caries lesions on cementum by mono- and co-culture oral bacteria. *J Dent*, 2007;35: 377–382.
- 187- Knight GM, McIntyre JM, Craig GG, Mulyani, Zilm PS, Gully NJ. Differences between normal and demineralized dentine pretreated with silver fluoride and potassium iodide after an in vitro challenge by *Streptococcus mutans*. *Aust Dent J*, 2007;52: 16–21.
- 188- McComb D. No reliable evidence that ozone gas stops or reverses tooth decay. *Evid Based Dent*, 2005;6: 34.
- 189- Nagayoshi M, Fukuizumi T, Kitamura C, Yano J, Terashita M, Nishihara T. Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. *Oral Microbiol Immunol*, 2004;19: 240–246.
- 190- Baysan A, Lynch E. Effect of ozone on the microbiota and clinical severity of primary root caries. *Am J Dent* 2004;17: 56–60.
- 191- Huth KC, Quirling M, Maier S, Kamereck K, AlKhayer M, Paschos E, Welsch U, Miethke T, Brand K & Hickel R. Effectiveness of ozone against endodontopathogenic microorganisms in a root canal biofilm model. *Int J Endod*, 2009;42: 3–13.
- 192- Molander A, Reit C, Dahle’n G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*, 1998;31: 1–7.
- 193- Brauner A. Klinische Untersuchung über den therapeutischen Erfolg von ozoniertem Wasser bei Gingivitis und Parodontitis. *Zahnartz Praxis*, 1991;42: 48-50.
- 194- Huth KC, Jakob FM, Saugel B, Cappello C, Paschos E, Hollweck R, et al. Effect of ozone on oral cells compared with established antimicrobials. *Eur J Oral Sci*, 2006;114: 435-440.
- 195- Murakami H, Sakuma S, Nakamura K, et al. Disinfection of removable dentures using ozone. *Dent Mater J*, 1996;15: 220-225.
- 196- Oizumi M, Suzuki T, Uchida M, Furuya J, Okamoto Y. In vitro testing of denture cleaning method using ozone. *J Med Dent Sci*, 1998;45: 135-139.
- 197- Murakami H, Mizuguchi M, Hattori M, Ito Y, Kawai T, Hasegawa J. Effect of denture cleaner using ozone against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *E.coli*T1 phage. *Dent Mater J*, 2002;21: 53-60.
- 198- Dyas A, Boughton BJ, Das BC. Ozone killing action against bacterial and fungal species: microbiological testing of a domestic ozone generator. *J Clin Pathol*, 1983;36: 1102-1104.

- 199- Margalit M, Attias E, Attias D, Elstein D, Zimran A, Matzner Y. Effect of ozone on neutrophil function in vitro. *Clin Lab Haematol* 2001 23: 243-247.
- 200- Di Paolo N, Bocci V, Cappelletti F, Petrini G, Gaggiotti E. Necrotizing fasciitis successfully treated with extracorporeal blood oxygenation and ozonization (EBOO). *Int J Artif Organs* 2002;25: 1194-1198.
- 201- Csonka C, Pataki T, Kovacs P, et al. Effects of oxidative stress on the expression of antioxidative defense enzymes in spontaneously hypertensive rat hearts. *Free Radic Biol Med* 2000;29: 612-619.
- 202- Babior BM, Takeuchi C, Ruedi J, et al. Investigating antibodycatalyzed ozone generation by human neutrophils. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 3031-3034.
- 203- Clavo B, Catala` L, Pe`rez JL, et al. Ozone therapy on cerebral blood flow: a preliminary report. *Evid Based Complement Alternat Med* 2004;1: 315-319.
- 204- McDonnell WF, Horstman DH, Hazucha MJ, Seal Jr E, Haak ED, Salaam SA, et al. Pulmonary effects of ozone exposure during exercise: dose-response characteristics. *J Appl Physiol Respir Environ Exercise Physiol* 1983;54: 1345-52.
- 205- Karapetian VE, Neugebauer J, Clausnitzer CE, Zöller JE. Comparison of Different Periimplantitis Treatment Methods. http://www.helbo.at/datasheets/poster_karapetian_0304.pdf, September 2007.
- 206- Viebahn-Haensler R. Ozonun uygulama biçimleri ve kullanım alanları. *Ozonun Tıpta Kullanımı. Medikal Ozon Oksijen Derneği* 2005;53-66.
- 207- Sulaiman F, Huryn JM, Zlotolow IM. Dental extractions in the irradiated head and neck patient: A retrospective analysis of Memorial Sloan-Kettering Cancer Center Protocols, criteria and end results. *J Oral Maxillofac Surg* 2003;61: 1123-1131.
- 208- Harrison JS, Stratemann S, Redding SW. Dental implants for patients who have had radiation treatment for head and neck cancer. *Spec Care Dentist* 2003; 23: 223-229.
- 209- Toker H, Ozdemir H, Ozer H, Eren K. Alendronate enhances osseous healing in a rat calvarial defect model. *Arch Oral Biol* 2012;57: 1545-1550.
- 210- Stevenson S, Emery SE, Goldberg VM. Factors affecting bone graft incorporation. *Clin Orthop Relat Res* 1996; 324: 66-74.
- 211- Glowacki J, Kaban LB, Murray KE, Folkman J, Mulliken JB. Application of the biological principle of induced osteogenesis for craniofacial defects. 1981; 1(8227): 959-962.
- 212- Hosny M, Sharawy M. Osteoinduction in young and old rats using demineralized bone powder allografts. *J Oral Maxillofac Surg* 1985; 43: 925-931.
- 213- Irving JT, Le Bolt SA, Scheiner EL. Rctopic bone formation and aging. *Clin Orthop Rel Res* 1985;154: 249-253.
- 214- Frame JW. A convenient animal model for testing bone substitute materials. *J Oral Surg* 1980;38: 176 .
- 215- Rowe NL. Nonunion of the mandible and maxilla. *J Oral Surg* 1969;27: 520.

- 216- Takagi K, Urist MR. The reaction of the dura the bonemorphogenetic protein (BMP) in repair of skull defects. *Ann Surg* 1982;196: 100.
- 217- Urist MR. New advances in bone resarch. *West J Med*1984;141: 71.
- 218- Schmitz JP, Schwartz Z, Hollinger JO, Boyan BD. Characterization of rat calvarial nonunion defects. *Acta Anat Basel* 1990;138(3):185-92.
- 219- Frame JW. A convenient animal model for testing bone substitute materials. *J Oral Surg*1980;38(3): 176–80.
- 220- Bays RA. Current concepts in bone grafting. In: Irby WB, Shelton DW, eds. *Curent Advances in Oral and Maxillofa-cial Surgery* St. Louis: The CV Mosby Company 1983;4:109.
- 221- Higuchi T, Kinoshita A, Takahashi K, Oda S, Ishikawa I. Bone regeneration by recombinant human bone morphogenetic protein-2 in rat mandibular defects. An experimental model of defect filling. *J Periodontol* 1999;70(9): 1026–1031.
- 222- Dupoirieux L, Pourquier D, Picot MC, Neves M. Comparative study of three different membranes for guided bone regeneration of rat cranial defects. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2001;30: 58–62.
- 223- Ivanovski S, Hamlet S, Retzepi M, Wall I, Donos N. Transcriptional profiling of “guided bone regeneration” in a critical-size calvarial defect. *Clin Oral Implants Res* 2011;22: 382–389.
- 224- Mardas M, Stavropoulos A, Karring T. Calvarial bone regeneration by a combi-nation of natural anorganic bovine-derived hydroxyapatite matrix coupled with a synthetic cell-binding peptide (Pep-Gen): an experimental study in rats. *Clin Oral Impl Res* 2008; 19: 1010–1015.
- 225- Kochi G, Sato S, Fukuyama T. et al. Analysis on the guided bone augmenta-tion in the rat calvarium using a micro-focus computerized tomography analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;107(6):e42–48.
- 226- Notodihardjo FZ, Kakudo N, Kushida S, Suzuki K, Kusumoto K. Bone regen-eration with BMP-2 and hydroxyapatite in critical-size calvarial defects in rats. *J Craniomaxillofac Surg* 2012;40: 287–291.
- 227- Mutlu İ. Distraksiyon Osteogenezisi UygulananTavsanlarda Hiperbarik Oksijen Tedavi Etkinliginin Degerlendirilmesi. Dishekimligi Bilimleri Agız Dis Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Programı Doktora Tezi GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ankara 2005.
- 228- Beirne OR. Comparision of complications after bone removal from lateral and medilal plates of anterior ileum for mandibular augmentation. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1986; 15:269-272.
- 229- Byrd HS, Hobar PC, Shewmake K. Augmentation of the craniofacial skeleton with porous hydroxylapatite granulas. *Plast Reconst Surg* 1993; 91(1): 15-22.
- 230- Froum SJ, Kushner L, Scopp IW, Stahi SS. Human clinical and histologic responcees to durapatite implants in intraosseous lesions. *J Periodontol* 1982; 53(12): 719-725.
- 231- Georgiade NG, Hanke J, Ruff G, Levin S. The use of particule hydoxyapatite and plaster of Paris in aesthetic and reconstructive surgery. *Aesthetic Plast Surgr* 1993; 17: 85-92.
- 232- Holmes RE, Hagler HK. Porous hydroxyapatite as a bone graft substitue in mandibular contour augmentation. *J Oral Maxillfac Surg* 1987; 45: 421-429.

- 233- Kent JN. Reconstruction of the alveolar ridge with hydroxyapatite. *Dent Clin North Am* 1986;30(2): 231-257.
- 234- Kent JN, Zide MF, Kay JF, Jarcho M. Hydroxyapatite blocks and particulates as bone graft substitutes in orthognathic and reconstructive surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 1986;44: 597-605
- 235- Lukash FH, Stephan AS, Functional mandibular reconstruction: Prevention of the Oral invalid. *Plast Reconstr Surg* 1989;84 (2): 234-244.
- 236- Ray RD, Holloway JA, Bone implants. *J Bone and Joint Surgery*. 39(5): 1119-1128.
- 237- Seibert J, Nyvan S. Localize ridge augmentation in dogs: a pilot study using membranes and hydroxyapatite. *J Periodontol* 1990; 61(3): 157-165.
- 238- Clark DM. Treatment of open communited intraarticular fractures of the proximal ulna in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 1987; 23: 331-336.
- 239- Gershuni DH, Pinkser R. Bone grafting for nonuion of fractures of the tibia: acritical review. *J Trauma* 1982;22(1): 43-49.
- 240- Hulse DA. Patophysiology of autogenous cancellous bone grafts. *Comp Contin Esuc Pract Vet* 1980;11(2): 136-142.
- 241- Johnson KA. Carpal arthrodesis in dogs. *Aust Vet J* 1980; 56: 565-573.
- 242- Johnson KA. A radiographic Study of the effects of autologous cancellous bone grafts on bone healing after carpal arthrodesis in dog. *Vet Radiol* 1981; 22(4): 177-183.
- 243- Lesser AS. Cancellous Bone Grafting at plate removal to counteract stres protection. *J Am Vet Med Assoc* 1986; 189(6): 686-699.
- 244- Parker RB. Treatment of post-traumatic osteomyelitis. *Vet Clin North Am* 1987;17(4): 841- 856.
- 245- Butts TE, Peterson LJ, Allen CM. Early tissue ingrowth into porous block hydroxyapatite. *J Oral Maxillofac Surg* 1989;47: 475-479.
- 246- Corsair A. A clinical evaluation of resorbable hydroxyapatite fort the repair of human intra-osseous defects. *J Oral Implantol* 1990; 16(2): 125-128.
- 247- Ferraro JW. Experimental evaluation of ceramic calcium phosphate as a substitute for bone grafts. *Plast Reconst Surg* 1979; 63(5) : 634-640.
- 248- Horswell BB, El Deeb M. Nonporous hydroxyapatite in the repair of alveolar clefts in a primate model. *J Maxillofac Surg* 1989;47: 946-952.
- 249- Curtis TA, Ware WH. Autogenous bone graft procedures for atrophic edentulous mandibles. *J Prosthet Dent* 1977; 38(4): 366-379.
- 250- Körlof B, Nylen B, Rietz KA. Bone grafting of skull defects. *Plast Reconstr Surg* 1973; 52(4): 378-383.
- 251- Terry BC, Albright JE, Boker RD. Alveolar ridge augmentation in the edentulous maxilla with use of autogenous ribs. *J Oral Surg* 1974; 32: 429-433.
- 252- Sandber E, Dahlin C, Linde A. Bone regeneration by the osteopromotion technique using bioabsorbable membranes: An experimental study in rats. *J Oral Maxillofac Surg* 1993;51: 1106-14.

- 253- Mundell RD, Money MP, Siegel MI, Losken A. Osseous guided tissue regeneration using a collagen barrier membrane. *J Oral Maxillofac Surg* 1993;51: 1004-12.
- 254- Pietrzak WS, Perns SV, Keyes J, Woodell-May J, McDonald NM. Demineralized bone matrix graft: a scientific and clinical case study assessment. *J Foot Ankle Surg* 2005; 44: 345-353.
- 255- Clokie CM, Moghadam H, Jackson MT, Sandor GK. Closure of critical sized defects with allogenic and alloplastic bone substitutes. *J Craniofac Surg* 2002;13: 111-121.
- 256- Colnot C, Romero DM, Huang S, Helms JA. Mechanisms of action of demineralized bone matrix in the repair of cortical bone defects. *Clin Orthop Relat Res* 2005; 435: 69-78.
- 257- Oztürk A, Yetkin H, Memis L, Cila E, Bolukbasi S, Gemalmaz C. Demineralized bone matrix and hydroxyapatite/tri-calcium phosphate mixture for bone healing in rats. *Int Orthop* 2006; 30: 147-152.
- 258- Tanrıku R, Erol B, Büyükbayram H. Kemik defektlerinin rejenerasyonunda yalnızca allojenik kemik greftinin ve kollajen membran ile birlikte kullanımının deneysel olarak araştırılması. *Türkiye Klinikleri Dış Hekimliği Bilimleri Dergisi* 2001;7: 65-70.
- 259- Dalkiz M, Özcan A, Yapar M, Gökay N, Yüncü M. Evaluation of the effects of different biomaterials on bone defects. *Implant Dent* 2000;9: 226-35.
- 260- Hu RW, Bohlman HH. Fracture at the iliac bone graft harvest site after fusion of the spine. *Clin Orthop* 1994;309: 208-13.
- 261- Brom MJ, Banta JV, Renshaw TS. Spinal fusion augmented by Luque-rod segmental instrumentation for neuromuscular scoliosis. *J Bone Joint Surg Am* 1989;71: 32-44.
- 262- Henman P, Finlayson D. Ordering allograft by weight: Suggestions for the efficient use of frozen bone-graft for impaction grafting. *J Arthroplasty* 2000;15: 368-71.
- 263- Lewandrowski KU, Gresser JD, Wise DL, Trantol DJ. Bioresorbable bone graft substitutes of different osteoconductivities: a histologic evaluation of osteointegration of poly-based cement implants in rats. *Biomaterials* 2000; 21: 757-64.
- 264- Cornell CN. Osteoconductive materials and their role as substitutes for autogenous bone grafts. *Orthop Clin North Am*.1999; 30: 591-8.
- 265- Akbay C, Yavuzylmaz H, Suca S, Nalbant D, Nalbant L. Hidroksiapatit implantlarda kemik dokusundaki değişikliklerin histolojik araştırılması. *G Ü Dışhek Fak Derg* 1990; 7(1): 47-61.
- 266- Bal E, Şengün O, Günhan Ö. Hidroksiapatitin çene kemiği defekt iyileşmesindeki etkinliğinin araştırılması. *G Ü Dışhek Fak Derg* 1991; 8(2): 51-70.
- 267- Guillemin G, Patat JL. The use of coral bone graft substitute. *J Biomed Mat* 1987; 21: 557-567.
- 268- Kawamura M, Iwata H, Stato K, Miura T. Chondroosteogenetic responses to crude bone matrix proteins bound to hydroxyapatite. *Clin Orthop* 1987; 217: 281-292.
- 269- Kent JN, Homsy CA, Gross BD, Hinds EC. Pilot studies of a porous implant in dentistry and oral surgery. *J Oral Surg* 1972; 30: 608-615.
- 270- Nade S, Armstrong L, McCartney E, Baggaley B. Osteogenesis after bone and bone marrow transplantation. *Clin Orthop* 1983;181: 255-263.

- 271- Nalbant D, Suca S. Hidroksiapatit implantlarda yumuşak doku cevabının histolojik incelenmesi. GÜ Dişhek Fak Derg 1990; 7(1) : 63-74.
- 272- Ragni P, Lindholm TS. Interaction of allogenic demineralized bone matrix and porous hydroxyapatite bioceramics in lumbar interbody fusion in rabbits. Clin Orthop 1991; 272: 292-299.
- 273- Denny HR. A guide to canine orthopaedic surgery. First Ed Blackwell Scientific Publications Oxford 1980;(2):184.
- 274- Friedlander GE. Current concepts review bone grafts, the basic science rationale for clinical applications. J Bone Joint Surg 1987; 69 A(5): 786-790.
- 275- Penwick RC. Arthrodesis Vet Clin North Am 1987; 17(4): 821-840.
- 276- Stevenson S. Bone grafting Ed. Bojrab MJ. In: "Current techniques in small animal surgery". Third Ed Lea and Febiger Philadelphia 1990; 836-844.
- 277- Stevenson S. Bone grafting. Ed. Slatter D. In: "Textbook of small animal surgery" Second Ed. WB Saunders Company Philadelphia 1990; 1964-1703.
- 278- Guillemain G, Meunier A, Dallant P, Christel P, Pouliquen JC, Sedel L. Comparison of coral resorption and bone apposition with two natural corals of different porosities. J Biomed Mater Res 1989; 23: 765-779.
- 279- Holmes RE, Bucholz RW, Money V. Porous hydroxyapatite as a bone-graft substitute in metaphyseal defects. A histometric study J Bone-Joint Surg 1986; 68 A(6): 904-911.
- 280- Roux FX, Brasnu D, Loty B, George B, Guillemain G. Madreporic coral: A new bone graft substitute for cranial surgery. J Neurosurg 1988; 69(4): 510-513.
- 281- Roux FX, Brasnu D, Menard M, et al. Madreporic coral for cranial base reconstruction. 8 years experience. Acta Neurochir Wien 1995; 133(3-4): 201-205.
- 282- Byrd HS, Hobar PC, Shewmake K. Augmentation of the craniofacial skeleton with porous hydroxylapatite granules. Plast Reconstr Surg 1993; 91(1): 15,22.
- 283- Jardins RP. Hydroxylapatite for alveolar ridge augmentation: Indications and problems. J Prosthet Dent 1985; 54(3): 374-383.
- 284- Kenney EB, Lekovic V, Han T, Carranza FA, Dimitrijevic B. The use of a porous HA implant in periodontal defects. J Periodontol 1985; 56(2): 82-88.
- 285- Krejci CB, Bissada NF, Farah C, Greenwell H. Clinical evaluation of porous and nonporous HA in the treatment of human periodontal bony defects. J Periodontol 1987; 58(8): 521-528.
- 286- Mercier P. Ridge reconstruction with HA. Oral Surg. Oral Med Oral Pathol 1988; 64: 505-510.
- 287- Page DG, Laksin DM. Tissue Response at the bone-implant interface in a HA augmentation mandibular ridge. J Oral Maxillofac Surg 1987; 45: 356-358.
- 288- Holmes RE. Bone regeneration within a coralline HA implant. Plast Reconstr Surg 1979; 63(5): 626-633.
- 289- Issahakian S, Ouhayoun JP, Shabana H, Sawaf H. Evaluation of a new biomaterial in periodontal defects. Natural coral J Dental Research 1989; 68(4): 274.

- 290- Ouhayoun JP, Issahakian S, Patat JL, et al. Histological evaluation of alloplastic grafting materials in an animal closed model. *J Dent Res* 1989; 68(4): 275.
- 291- Nogales CG. [Ozonotherapy: Medical and Dentistry application] [Dissertation]. São Paulo (Brazil): University of São Paulo 2006.
- 292- Martínez Sánchez G, Al Dalain SM, Menéndez S, Re L, et al. Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot. *Eur J Pharmacol* 2005; 151-61.
- 293- Guerra OC, Cepero SM, Jordan MEM, Vazquez TC. Aplicación de la ozonoterapia en el tratamiento de la alveolitis. *Revista Cubana de Estomatología* 1997; 34: 21-4.
- 294- Sader R, Zeilhofer HF, Deppe H. Ozontherapie chronischer Wundheilungsstörungen im bestrahlten Kiefer. *Dtsch Z Mund Kiefer GesichtsChir* 1996; 20: 60.
- 295- Flippi A. Lokalbehandlung von ostitis Circumscripta mit ozoniertem Olivenöl. *Quintessenz* 1993; 44: 1531-1537.
- 296- Flippi A. Klinisch-experimentelle untersuchungen zur wundheilung von oralgeweben unter einfluss von ozonwasser. Geisen, Germany 1999; Habil.
- 297- Flippi A. Der Einfluss von ozoniertem wasser auf die epitheliale wundheilung. *Dtsch Zahnartz* 2001; 56: 104-108.
- 298- Pozzi S, Marcheselli R, Sacchi S, et al. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a review of 35 cases and an evaluation of its frequency in multiple myeloma patients. *Leuk Lymphoma* 2007; 48: 56-64.
- 299- Agrillo A, Sassano P, Rinna C, et al. Ozone therapy in extractive surgery on patients treated with bisphosphonates. *J Craniofac Surg* 2007;18: 1068-70.
- 300- Agrillo A, Ungari C, Filiaci F, et al. Ozone therapy in the treatment of avascular bisphosphonate-related jaw osteonecrosis. *J Craniofac Surg* 2007;18: 1071-5.
- 301- Azarpazhooh A, Limeback H. The application of ozone in dentistry: a systematic review of literature. *Journal of Dent* 2008; 36: 104-16.
- 302- Kazancioglu HO, Ezirganli S, Aydin MS. Effects of Laser and Ozone Therapies on Bone Healing in the Calvarial Defects. *Journal of Craniofacial Surgery* 2013;24(6):2141-2146.
- 303- Ozdemir H, Toker H, Balci H et al. Effect of ozone therapy on autogenous bone graft healing in calvarial defects: a histologic and histometric study in rats. *Journal of periodontal research* 2013; 48(6):722-726.
- 304- Erdemci F, Gunaydin Y, Sencimen M, et al. Histomorphometric evaluation of the effect of systemic and topical ozone on alveolar bone healing following tooth extraction in rats. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2014; 43: 777-783.

8. ÖZGEÇMİŞ

23.01.1986 yılında Malatya ili Akçadağ ilçesinde dünyaya geldim. İlk, orta ve lise eğitimimi Malatya’da tamamladım. 2004 yılında girdiğim Dicle Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’nden 2009 yılında mezun oldum. 2009 yılı Eylül ayında Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalında doktora eğitimime başladım. Doktora eğitimim süresince Dicle Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’nde klinik ve akademik faaliyetlerde bulundum.

Dt. Nihat LAÇİN

