

"İBRAHİM OZAN MUTLU"

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2021



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

(DOKTORA TEZİ)

**PERİ İMPLANT DEFEKTLERDE D VİTAMİNİNİN
OSSEOİNTTEGRASYONA ETKİSİNİN HİSTOLOJİK VE
HİSTOMORFOMETRİK OLARAK İNCELENMESİ**

"İBRAHİM OZAN MUTLU"

**DANIŞMAN
PROF. DR. VOLKAN ARISAN**

**"ORAL İMPLANTOLOJİ ANABİLİM DALI"
"İMPLANTOLOJİ PROGRAMI"**

İSTANBUL-2021

İTHAF

Eşim Gonca Gökçe Mutlu ve oğlum Kerem Mutlu'ya ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı hazırlarken emeğini ve vaktini benden esirgemeyen değerli tez danışmanım Prof. Dr. Volkan Arısan'a,

Doktora eğitimin boyunca engin bilgi, tecrübe ve desteğini benden esirgemeyen kıymetli hocam emekli Prof. Dr. Zihni Cüneyt Karabuda'ya,

Doktora eğitimim süresince verdikleri değerli katkılardan dolayı kürsümüzün değerli hocaları sayın Prof. Dr. Serdar Yalçın, sayın Prof. Dr. Selim Ersanlı, sayın Doç. Dr. Cansu Başeğmez, Doç. Dr. Nilüfer Bölükbaşı Balcıoğlu ve sayın Doç. Dr. Sinem Yeniyol'a,

Tez değerlendirme komitemde yer alan sayın Prof. Dr. Buket Aybar'a,

Tez çalışmamın farmasötik işlemlerinde yardımları, gereken materyalin yapımındaki değerli katlılarından ötürü İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı'nda görev yapmakta olan sayın Prof. Dr. Erdal Cevher, Arş. Gör. Dr. Melike Sessevmez ve Arş. Gör. Emine Saldamlı'ya,

Tez çalışmamın histolojik inceleme safhasında yardımları ve değerli katkılarından ötürü İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda görev yapmakta olan sayın Doç. Dr. Merva Soluk Tekkeşin'e,

Tez çalışmamın hayvan deneyi kısmında yardımlarını esirgemeyen İstanbul Mehmet Akif Ersoy Deneysel Araştırma Geliştirme Merkezi'nde görev yapmakta olan sayın Dr. Öznur İnan ve sayın Dr. Gülistan Bekel'e; ayrıca İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Veterinerlik Cerrahi Ana Bilim Dalı'nda görevli Dr. Yusuf Altındağ'a,

Doktora eğitimi sürecinde beraber çalışmaktan gurur duyduğum ve eşsiz dostlukları ile her zaman bana güç veren değerli arkadaşlarım Dr. Sema Kızılaslan, Dr. Mehmet Övün Güner ve Aslıhan Gül Kalaoğlu'na ve Oral İmplantoloji Anabilim Dalı ailesine

Teşekkür Ederim

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	2
BEYAN.....	3
İTHAF.....	4
TEŞEKKÜR.....	5
İÇİNDEKİLER	6
TABLolar LİSTESİ.....	10
ŞEKİLLER LİSTESİ	12
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	15
ÖZET	18
ABSTRACT.....	19
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	20
2. GENEL BİLGİLER	21
2.1. KEMİK	21
2.1.1. KEMİK MATRİKSİ	22
2.1.1.1. ORGANİK MATRİKS	22
2.1.1.2. İNORGANİK MATRİKS	22
2.1.2. KEMİK HÜCRELERİ	23
2.1.2.1. OSTEOLASTLAR	23
2.1.2.2. OSTEOKLASTLAR	24
2.1.2.3. OSTEOSİTLER	25
2.1.2.4. OSTEOPROGENİTÖR HÜCRELER	27
2.1.2.5. KEMİKTEKİ DİĞER HÜCRE TİPLERİ	27
2.1.3. KEMİK ZARLARI	27
2.1.3.1. PERİOSTEUM.....	27
2.1.3.2. ENDOSTEUM	28
2.2. KEMİKLEŞMENİN OLUŞUMU VE GELİŞİMİ.....	29
2.2.1. İNTRAMEMBRANÖZ KEMİKLEŞME	29
2.2.2. ENDOKONDRAL KEMİKLEŞME.....	31
2.2.3. REMODELİNG	33
2.3. KEMİK GREFTLERİ HAKKINDA GENEL BİLGİLER	35

2.3.1. KEMİK GREFTLERİNİN YERLEŞTİRİLDİKLERİ BÖLGE İLE BİRLEŞMESİ	35
2.3.1.1. OSTEOKONDÜKSİYON	35
2.3.1.2. OSTEODİNDÜKSİYON	36
2.3.1.3. OSTEONEZİS	36
2.3.2. GREFT MATERYALLERİ	37
2.3.2.1. OTOJEN KEMİK GREFTLERİ	37
2.3.2.2. ALLOJEN GREFTLER	44
2.3.2.3. KSENOGREFTLER	45
2.4. OSSEODİTEGRASYON	46
2.4.1. HEMOSTAZ FAZI	47
2.4.2. İNFLAMASYON FAZI	47
2.4.3. PROLİFERATİF FAZ	48
2.4.4. MATÜRASYON FAZI	48
2.5. KEMİK GREFTLERİNİN İYİLEŞME MEKANİZMALARI	49
2.5.1. KANSELLÖZ KEMİK İYİLEŞME MEKANİZMASI	49
2.5.2. KORTİKAL KEMİK İYİLEŞME MEKANİZMASI	49
2.5.3. VASKÜLER KEMİK İYİLEŞME MEKANİZMASI	50
2.6. İMPLANT MATERYALLERİ	50
2.6.1. TİTANYUM VE ALAŞIMLARI	51
2.6.1.1. TİTANYUM VE ALAŞIMLARININ FİZİKSEL VE MEKANİK ÖZELLİKLERİ	51
2.6.1.2. DENTAL İMPLANTLARLA İLİŞKİLİ TİTANYUM DUYARLILIĞI ...	53
2.6.1.3. TİTANYUM BAŞARISIZLIK DURUMLARI	55
2.7. D VİTAMİNİ (1, 25 DİHİDROKSİVİTAMİN- D ₃)	56
2.7.1. D VİTAMİNİ METEBOLİZMASI	56
2.7.2. D VİTAMİNİ KAYNAKLARI	60
2.7.3. D VİTAMİNİ RESEPTÖRÜ (VDR)	61
2.7.4. D VİTAMİNİNİN ETKİLERİ	63
2.7.5. D VİTAMİNİ EKSİKLİĞİ	65
2.7.6. D VİTAMİNİ TOKSİKASYONU	66
2.7.7. D VİTAMİNİ KATABOLİZMASI	66
3. GEREÇ VE YÖNTEM	67

3.1. Çalışma Dizaynı.....	67
3.2. Farmasötik İşlemler	68
3.2.1. D ₃ Vitamininin Miktar Tayini İçin Kromatografik Yöntem.....	68
3.2.2. Nanopartiküllerin Hazırlanması.....	68
3.2.2.1. D ₃ vitamini Yüklü Nanopartiküllerin Hazırlanması	68
3.2.2.2. Boş (D ₃ Vitaminini İçermeyen) Nanopartiküllerin Hazırlanması.....	68
3.2.2.3. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	69
3.2.2.4. D ₃ Vitaminini Yüklü Nanopartiküllerin Enkapsülasyon Etkinliği.....	69
3.2.2.5. D ₃ Vitaminini Yüklü Nanopartiküllerin Verimi.....	69
3.2.2.6. D ₃ Vitaminini Yüklü Nanopartiküllerin <i>İn Vitro</i> Salım Deneyi	69
3.2.2.7. Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spektrofotometre.....	70
3.2.3. Farmasötik Bulgular ve Sonuçlar.....	70
3.2.3.1. D ₃ vitamini Miktar Tayini Yönteminin Validasyonuna Ait Bulgular.....	70
3.2.3.2. Nanopartiküllerin Partikül Boyutları ve Zeta Potansiyel Değerleri	70
3.2.3.3. D ₃ Vitaminini Yüklü Nanopartiküllerin Enkapsülasyon Etkinliği Sonuçları ..	71
3.2.3.4. D ₃ Vitaminini Yüklü Nanopartiküllerin Verimi.....	72
3.2.3.5. D ₃ Vitaminini Yüklü Mikropartiküllerin <i>İn Vitro</i> Salım Deneyi.....	72
3.2.3.6. SEM analizi sonuçları	73
3.3. Cerrahi işlem.....	73
3.3.1. Anestezi.....	73
3.3.2. Cerrahi Prosedür	73
3.3.3. Sakrifikasyon	78
3.4. Histolojik İşlemler Ve İstatistik İşlemleri.....	78
3.4.1. Histolojik ve Histomorfometrik Analiz	80
3.5. İstatistik işlemleri.....	81
4. BULGULAR.....	82
4.1. Taşıyıcı partiküllü D vitamini varlığının kemik implant temas yüzeyi ve yeni oluşan kemik yüzeyi değerlerine etkisi	82
4.2. Taşıyıcı partiküllü D vitamini, sakrifikasyon süresi ve sahanın Kemik İmplant Temas Yüzeyi % değeri üzerine etkisini incelemek amacıyla gerçekleştirilen modellere ilişkin bilgiler	83

4.3. Taşıyıcı partiküllü D vitamini, sakrifikasyon süresi ve sahanın Yeni Oluşan Kemik Yüzdesi% değeri üzerine etkisini incelemek amacıyla gerçekleştirilen modellere ilişkin bilgiler	89
5. TARTIŞMA	92
6. SONUÇLAR	100
KAYNAKLAR	102
ETİK KURUL KARARI	116
PATENT HAKKI İZNİ	117
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	118
ÖZGEÇMİŞ	119



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1 İmplant materyalleri	51
Tablo 2-2 İmplant materyallerinin özellikleri.....	52
Tablo 3-1 D ₃ vitamini içeren PLA nanopartikülerinin partikül boyutları ve zeta potansiyel değerleri (seri a); Boş nanopartiküllerin partikül boyutları ve zeta potansiyel değerleri (seri b).....	71
Tablo 3-2 D ₃ vitamini yüklü nanopartiküllerin yüzde enkapsülasyon etkinliği ve yüzde verim sonuçları (n=3).....	72
Tablo 3-3 D ₃ vitamini içeren PLGA nanopartikül formülasyonlarının 9 haftalık salım sonuçları (n=3).....	72
Tablo 4-1 Taşıyıcı partiküllü D vitamini varlığına göre 3. hafta ve 6. hafta Kemik İmplant Temas Yüzeyi%, Yeni Oluşan Kemik Yüzdesi% değerleri	82
Tablo 4-2 Her grup için Taşıyıcı Partiküllü D vitamini varlığına göre Kemik İmplant Temas Yüzeyi % ve Yeni Oluşan Kemik Yüzdesi % değerleri	83
Tablo 4-3 Farklı hafta ve saha gruplarında d vitaminine göre Kemik İmplant Temas Yüzeyi % değerlerinin kıyaslanması	84
Tablo 4-4 Farklı taşıyıcı partiküllü d vitamini ve saha gruplarında sakrifikasyon haftasına göre Kemik İmplant Yüzeyi % değerleri üzerine değerlendirmeler.....	85
Tablo 4-5 Farklı taşıyıcı partiküllü d vitamini ve saha gruplarında sakrifikasyon haftasına göre Kemik İmplant Yüzeyi % değerlerinin kıyaslanması.....	86
Tablo 4-6 Farklı sahalarda taşıyıcı partiküllü D vitaminin varlığının kemik implant temas yüzey%'ne etkisi	87
Tablo 4-7 Farklı sakrifikasyon sürelerinde taşıyıcı partiküllü D vitaminin varlığının kemik implant temas yüzey%'ne etkisi.....	88

Tablo 4-8 Taşıyıcı partiküllü D vitaminin varlığının farklı sakrifikasyon sürelerinde farklı sahalarda kemik implant temas yüzey%'ne etkisi	88
Tablo 4-9 Farklı sakrifikasyon sürelerinde taşıyıcı partiküllü D vitaminin varlığının farklı sahalarda kemik implant temas yüzey%'ne etkisi	89
Tablo 4-10 Taşıyıcı Partiküllü D vitamini, Sakrifikasyon Süresi ve sahaya göre NBF% değerlerinin kıyaslanması	90
Tablo 4-11 Farklı sakrifikasyon süreleri ve saha gruplarında taşıyıcı partiküllü d vitaminine göre Yeni oluşan Kemik Yüzeyi % değerlerinin kıyaslanması	90
Tablo 4-12 Farklı Sahalarda Yeni Oluşan Kemik Yüzdesi % değerlerinin kıyaslanması	91

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1 Sola doğru büyüyen kortikal kemiğin sıkışmasının şematik çizimi.....	21
Şekil 2-2: Osteoblastların mikroskopik görüntüsü	23
Şekil 2-3 Osteoklastların mikroskopik görünümü	24
Şekil 2-4 Osteoklast hücresi tarafından kemik dokunun yıkılması	25
Şekil 2-5 Osteositlerin mikroskopik görünümü.....	26
Şekil 2-6 Kemik hücrelerinin farklılaşma yollarının şematik olarak gösterimi.....	26
Şekil 2-7: Periosteum ve Endosteum	28
Şekil 2-8: Kemik zarlarının histolojik görünümü	29
Şekil 2-9: İntramembranöz kemikleşmenin başlangıç aşaması	30
Şekil 2-10 İntramembranöz kemikleşmenin şematik olarak gösterilmesi	31
Şekil 2-11: Endokondral kemikleşmenin şematik olarak gösterilmesi.....	33
Şekil 2-12 Simfiz bölgesinden alınan otojen greft örneği	37
Şekil 2-13 Geistlich Bio-Oss® Ksenogreft (Zürich, İsviçre)	45
Şekil 2-14 Kolekalsiferol ve Ergokalsiferol.....	57
Şekil 2-15 Mantar ve Hayvan vücutlarındaki D vitamini sentezi.....	58
Şekil 2-16 Deri tabakaları	58
Şekil 2-17 Kalsidiol	59
Şekil 2-18 inaktif provitamin D ₃ (7-dehidrokolesterol) ve Previtamin D ₃	59
Şekil 2-19 Vitamin D ₃ üretimi, metabolizması ve biyolojik fonksiyonları	60
Şekil 2-20 D vitamini reseptörünün yapısı	61

Şekil 2-21 D vitamininin hedef hücrede VDR aracılığıyla etkileri	62
Şekil 2-22 1,25-dihidroksivitamin D' nin endokrin, otokrin ve parakrin fonksiyonları. 64	
Şekil 3-1 D3 vitamini HPLC görüntüsü	70
Şekil 3-2 D ₃ vitamini yüklü ve boş PLA nanopartikülerinin partikül boyut grafiği (2a: D ₃ vitamini yüklü PLA nanopartiküllerin boyut grafiği, 2b: boş PLA nanopartiküllerin boyut grafiği)	71
Şekil 3-3 D ₃ vitamini yüklü ve boş PLA nanopartikülerinin zeta potansiyal grafiği (3a: D ₃ vitamini yüklü PLA nanopartiküllerin zeta potansiyal grafiği, 3b: boş PLA nanopartiküllerin zeta potansiyal grafiği)	71
Şekil 3-4 SEM (taramalı elektron mikroskobu) cihazının markası ZEISS GEMINISEM 500 D ₃ vitamini yüklü PLA nanopartikülleri.....	73
Şekil 3-5 Ameliyat bölgesinin hazırlanması	74
Şekil 3-6 Deney için gerekli aletler	74
Şekil 3-7 Ameliyat Bölgesinin Örtülmesi.....	75
Şekil 3-8 İlium bölgesinin açığa çıkartılması	75
Şekil 3-9 Kutu şekilli defektlerin hazırlanması	75
Şekil 3-10 Osteotomi Esnasında Elde Edilen Blok Otojen Kemiğin Kemik Değirmeninde Partikül Haline Getirilmesi	76
Şekil 3-11 Uygulanacak dental implantın uygulanma şekli	76
Şekil 3-12 Dental implantın box-type defekte uygulanması	76
Şekil 3-13 Liyofilize edilmiş nano partiküllü taşıyıcı	77
Şekil 3-14 Nano partiküllü taşıyıcının defekt bölgesine uygulanması	77
Şekil 3-15 otojen ve xenojen greftin defekt bölgesine uygulanması	77

Şekil 3-16 İmplantasyon ve biyomateryallerin uygulanması sonrası defektin hali	78
Şekil 3-17 Bölgenin suture edilmesi	78
Şekil 3-18 Exact 300 CL, Exakt Apparatebau, Norderstedt, Almanya	79
Şekil 3-19 Exact 300 CL cihazıyla kesilen iliak kemik	79
Şekil 3-20 Exact 300 CL cihazıyla dikey olarak ikiye bölünen dental implant	80
Şekil 3-21 Olympus BX60 Mikroskop	80
Şekil 3-22 Titanyum kemik-implant temas yüzeyi ölçümü	81
Şekil 3-23 Kemik Yüzey Alanı ölçümü	81

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

Ca: Kalsiyum

PO₄: Fosfat

Ca₃(PO₄)₂: Kalsiyum Fosfat

CaHA: Kalsiyum Hidroksiapatit

CL: Sirkumferensiyal Lameller

SO: Sekonder Osteonlar

C₆H₈O₇: Sitrat

HCO₃: Bikarbonat

Mg: Magnezyum

Na: Sodyum

H: Hidrojen

pH: Hidrojen Gücü

P: Fosfor

ALP: Alkalen Fosfataz

BMP: Kemik Morfojenik Faktörü

AIDS: Kazanılmış Bağışıklık Yetersizliği Sendromu

CJD: Creutzfeldt-Jakob hastalığı

PDGF_{aa}: Platelet Kökenli Büyüme Faktörü A altbirimi

PDGF_{bb}: Platelet Kökenli Büyüme Faktörü B altbirimi

PDGF_{ab}: Platelet Kökenli Büyüme Faktörü AB altbirimi

TGF- β 1: Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta 1

TGF- β 2: Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta 2

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

EGF: Epidermal büyüme faktörü

ASTM: Amerikan Test ve Malzemeler Derneği

CpTi: Ticari olarak saf titanyum

Ti: Titanyum

Ti-6Al-4V: Titanyum 6-Alüminyum 4-Vanadyum

Ti-6Al-4V-ELI: Titanyum 6-Alüminyum 4-Vanadyum Ekstra Düşük Geçişli

HCP: Hegzagonal Sıkı Paketli yapı

BCC: Hacim Merkezli Kübik yapı

Ti-6Al-7Nb: Titanyum 6-Alüminyum 7-Niyobyum

Ti-5Al-2.5Fe: Titanyum 5-Alüminyum 2.5-Demir

GPa: gigaPaskal

SEM : Taramalı Elektron mikroskobu

$C_{27}H_{44}O$: Kolekalsiferol

UV: Ultraviyole

IU: Uluslararası birim

$C_{28}H_{44}O$: Ergokalsiferol

25(OH)D: Kalsifediol ya da Kalsidiol

VDR: Vitamin D Reseptörü

1,25(OH) $_2$ D $_3$: Kalsitriol

24,25 (OH) $_2$ D $_3$: 24,25-dihidroksivitaminD $_3$

VDRE: Vitamin D Cevap Elementi

ESFA: Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi

HPLC: Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi

Rpm: Dakikadaki Devir Sayısı

BIC: Kemik-İmplant Temas Yüzeyi (KİT)

NBF: Yeni Oluşan Kemik Mükdarı Yüzeyi (YKY)



ÖZET

Mutlu, İ.O.M. (2021). Peri İmplant Defektlerde D vitamininin Osseointegrasyona Etkisinin Histolojik ve Histomorfometrik Olarak İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Oral İmplantoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2021

Bu çalışmanın amacı, dental implantların osseointegrasyonuna çeşitli greft materyalleri ile birlikte poli laktik asit (PLA) nanopartikülleri ile sürekli salımlı D vitamininin etkisini araştırmaktır.

Deneyssel olarak 6 koyunun her bir ilium kanadında standart olarak oluşturulan 4 adet kutu şekilli defekt bölgesine dental implantlar yerleştirildikten sonra taşıyıcı partiküllü d vitamini içeren PLA nanopartikülleri ve greft materyalleri (boş kontrol, otojen greftli, ksenojen greftli ve otojen greft+ ksenojen greftli) toplam 48 implant olacak şekilde yerleştirildi. 3 ve 6 hafta (erken ve geç iyileşme dönemleri) olacak şekilde farklı sakrifikasyon sürelerinden sonra yeni kemik oluşumu (%NBF) ve kemik-implant teması (%BIC) değerleri histolojik ve histomorfometrik analizlerle ölçülmüştür ($p < 0.05$).

$80,30 \pm 2,14$ verim ve $72,99 \pm 2,20$ ile yüksek enkapsülasyon etkinliğine sahip nanopartiküller elde edildi. Tüm histolojik kesitlerde implant yüzeyinde osseointegrasyon izlenmiş ve inflamasyon, nekroz veya yabancı cisim reaksiyonu belirtisi görülmemiştir. NBF% ve BIC%, D3 vitamini uygulanan gruplarda anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$). Tüm iyileşme döneminde de en yüksek %NBF ve %BIC yüzdesi otojen greft+ksenojen greft uygulanan gruplarda saptanmıştır (Sırasıyla 3. ve 6. haftalar için; 49.63 ± 1.53 ve 74.25 ± 0.96 NBF ve 54.26 ± 0.66 ve 82.59 ± 2.09 BIC; $p < 0.001$).

D3 vitamini taşıyan sürekli salımlı PLA nanopartikülleri, dental implantlar çevresinde NBF ve BIC %'sini arttırmıştır. Ancak bu konuda daha fazla klinik araştırma yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: D3 vitamini; polilaktik asit; sürekli salınım; implant; osseointegrasyon; otojen greft; ksenogreft

ABSTRACT

Mutlu, I.O.M. (2021). Histological and Histomorphometric Analysis of the Effect of Vitamin D on Osseointegration in Peri Implant Defects. İstanbul University, Institute of Health Science, Department Of Oral Implantology. PhD Thesis. İstanbul.

The aim of this study was to investigate the effect of sustained-release vitamin D loaded in the poly lactic acid (PLA) nanoparticles and applied with grafting materials around titanium (ti) dental implants.

A total of 48 implants were inserted into the standardised bone defects created in the ilium 6 sheep and separated to four different experimental sites (empty control, autografted, xenografted and autograft+ xenografted). Vitamin D3 which is encapsulated by poly-lactic acid (PLA) nanoparticles were prepared and applied in half of the defects which left to heal for 3 and 6 weeks. New bone formation (NBF%) and bone-implant contact (BIC%) values were evaluated by histologic and histomorphometric analyses ($p<0.05$).

Nanoparticles with a yield of $80,30\% \pm 2,14$ and a high encapsulation efficiency of $72,99\% \pm 2,20$ were achieved. In all sections, osseointegration was observed and there were no signs of inflammation, necrosis or foreign body reaction. NBF and BIC% were significantly higher in vitamin D3 applied groups ($p<0.001$). In both healing periods, highest NBF and BIC% was recorded in the autograft+xenografted groups (For the respective 3rd and 6th weeks; 49.63 ± 1.53 and 74.25 ± 0.96 NBF% and 54.26 ± 0.66 and 82.59 ± 2.09 BIC%; $p<0.001$).

Vitamin D3 loaded sustained release PLA nanoparticles improves NBF and BIC% around ti implants and warrants further investigation for its clinical applicability.

Key Words: vitamin D3; poly-lactic acid; sustained release; dental implant; osseointegration; autograft; xenograft

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde dental implantların uygulanması; oral bölgede kaybolan estetik, mekanik ve fonetik fonksiyonları geri kazanmayı sağlayan en güncel ve öngörülebilir tedavi protokolüdür. Dental implantlar; diş kaybı sonrası alveolar kemikte gelişen kemik rezorbsiyonunun önüne geçmek için kullanılan en doğru materyaldir. Dental implant tedavisinde implant yerleştirilmesini takiben primer ve ardından sekonder osseointegrasyonun gerçekleşmesi, başarılı bir tedavi sürecinin anahtarıdır. Uzun dönemde başarıdan bahsetmek için ise fonksiyonel kuvvetleri protezden ileten implant çevresinde yeterli miktarda kemik varlığı ve kalitesine bağlıdır. Bu nedenle varolan kemik kalitesini arttırmak ve kaybolan kemik hacmini geri kazanmak için çeşitli biyomateryaller ve cerrahi teknikler geliştirilmiştir (1).

Kemik iyileşmesi ve rejenerasyonunun başarılı bir şekilde gerçekleşmesi birçok lokal ve sistemik faktöre bağlıdır. D vitamininin eksikliği öncelikle birçok mineral dengesi, daha sonrasında birçok hormonun dengesini bozarak özellikle kemik iyileşmesini olumsuz yönde etkileyen sağlık sorunlarından biridir ve toplumdaki prevalansı hızla artmaktadır. D vitamini özellikle kalsiyum, magnezyum ve fosfat metabolizması ile kalsitonin ve parathormon gibi hormonların sekresyonunda önemli rol oynar (2,3).

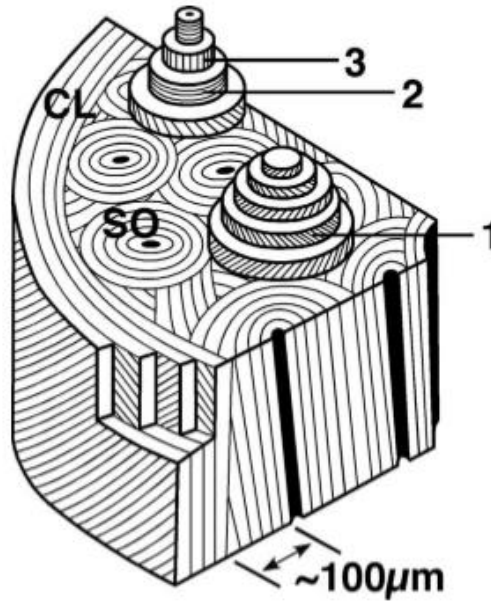
D vitamin eksikliğinde sistemik olarak Raşitizm ve Rikets gibi hastalıklar görülmektedir. Kemik metabolizmasının aksaması ve remodelasyonun gecikmesi gibi durumlar dental implantların osseointegrasyonu ve sağkalımını olumsuz etkiler. Bu yüzden ogmentasyon ve osseointegrasyon sürecinin başarıyla tamamlanması ve rejenerasyon kapasitesini artırılması için biyomateryallerin gelişip yaygınlaşması ile birlikte konak hücrelerin cevap kapasitesinin arttırılması amaçlanmaktadır. D vitaminin özellikle osseointegrasyona etkileri hala in-vivo ve in-vitro deneylerle incelenmektedir (4,5,6).

İnsan kemiğine ait modelleme sistemi olarak canlı hayvan modeli olarak koyun iliak kemiğinde “box-type” defektlerde dental implant uygulamasını takriben D vitaminini greft materyalleri ile beraber kullanarak osseointegrasyon sürecine etkisini incelemeyi hedeflemekteyiz (7,8).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KEMİK

Yüksek seviyede inervasyon ve damarlanmaya sahip, mineralize ve özelleşmiş bir bağ dokusu olan kemik, mineralize organik matriksi ile karakterizedir. Organik matriksini Kollajen, kollajen olmayan proteinler ve proteoglikanların oluşturduğu yapıya kalsiyum ve fosfat iyonları gibi inorganik komponentler uygun formda dizilerek hidroksiapatit'i oluşturur. Bu bileşim kemik dokusunun karşılaşılan yüke mukavemet göstermesini; vücudun içi kısmında bulunan hayati organların dış kuvvetlerden korunmasını ve vücut hemostazında hayati önem teşkil eden minerallerin katılmasını sağlar. Kemik özellikle bu minerallerden Kalsiyum (Ca) ve Fosfat (P) deposu olarak görev yapar. Kemik hücreleri ve kemik matriksi denilen hücrelerarası madde kemik dokusunu oluşturur. Kimyasal yapısında ise %71 oranında inorganik tuzlar [kalsiyumfosfat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) ve kalsiyumhidroksiapatit (CaHA)], %18,5 kollajen, %0,25 mukopolisakkarid, %1,75 protein ve %8,5 de su bulunur (9,10,11).



Şekil 2-1 Sola doğru büyüyen kortikal kemiğin sıkışmasının şematik çizimi

Sirkumferensiyel lamellerin (CL) ve sekonder osteonların (SO) morfolojisini göstermektedir. Matriksin oluştuğu sürede mekanik yüklere bağlı olarak, kemik lamelleri değişen eğimlere (1) veya değişen horizontal (2) ve vertikal (3) yönlere sahip olan kollajen yönlerine sahip olabilirler [12].

2.1.1. KEMİK MATRİKSİ

Kemik matriksi; kemik hücreleri arasında kalan organik ve inorganik komponentlerden oluşan hücrelerarası maddedir. Toplam kemik doku ağırlığının yaklaşık %20'sini su oluştururken, hacim olarak büyük çoğunluğu (%90) ise kollajen oluşturur. Kuru kemik ağırlığının %60-70' ini inorganik $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ tuzları (hidroksiapatitin submikroskopik kristalleri) oluşturur (12). Kristal yapının dışında bazı iyonlar bulunurken, kristal yapının içinde sodyum ve magnezyum gibi katyonlar; sitrat, karbonat, ve florid gibi anyonlar bulunurlar. Ağırlığın %30-35' ini ise organik fibröz protein ve kollajen fibriller oluşturur (13,14).

2.1.1.1. ORGANİK MATRİKS

Organik matriks, %90'ı kollajen, geri kalan kısmı ise nonkollajenöz protein, peptit, karbonhidrat, lipit ve osteoid denilen osteoblast hücreleri tarafından salgılanan mineralize olmamış organik yapıdan oluşur (15). Organik matriksi oluşturmada görev alan nonkollajenöz proteinler ise osteonektin, osteopontin, osteokalsin ve osteoprotegerinlerdir. Bu proteinlerin görevleri tam olarak bilinmemekle beraber kemik mineralizasyonunda, büyüme faktörlerinin salınmasında, organik matriks kalsifikasyonunda ve kemik hücrelerinin organik matrikse tutunmasında fonksiyon gösterdikleri düşünülmektedir (16,17).

2.1.1.2. İNORGANİK MATRİKS

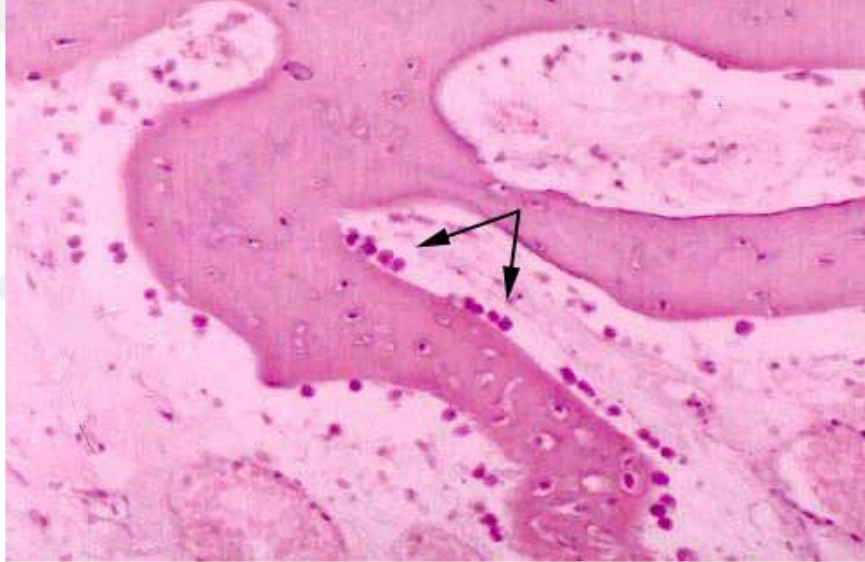
Matriksin ağırlığının %50' sini inorganik maddeler oluşturur. Kemik inorganik komponentlerinin başında Kalsiyum (Ca), Fosfat (PO_4), sitrat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$), bikarbonat (HCO_3), Magnezyum(Mg) ve Sodyum(Na) gibi mineral ve bileşikler gelir. Ayrıca organizmadaki toplam Ca miktarının %99' u, P miktarının %85' i, Mg ve Na miktarının %40-46' sı kemik doku-iskelet sistemindedir. Ca ve PO_4 mineralleri, kemik kollajen fibriller ile birlikte amorf madde ile birlikte organize hidroksiapatit kristalleri şeklinde kemikte bulunurlar (18,19).

2.1.2. KEMİK HÜCRELERİ

2.1.2.1. OSTEOLASTLAR

Kemik yapımından sorumlu hücelere osteoblast adı verilir. Kemik yapımı sırasında bolca gözlenen bu hüceler, şekillenmekte olan kemik trabeküllerinde ya da lamel yüzeylerinde tek sıra halinde dizilmiş olarak bulunurlar. Periostta da yoğun olarak bulunmaktadırlar (20).

Tek katlı epitel hüccesine benzetilseler de aktivasyonlarına göre kübik, prizmatik veya basık şekilli olabilirler (21). Ökromatik olan bu hücrelerin granüllü retikulumdan ve golgi cisminden zengindir. Bu özellikleri osteoblastların yüksek metabolik aktiviteye sahip olduklarını gösterir (22).



Şekil 2-2: Osteoblastların mikroskopik görüntüsü

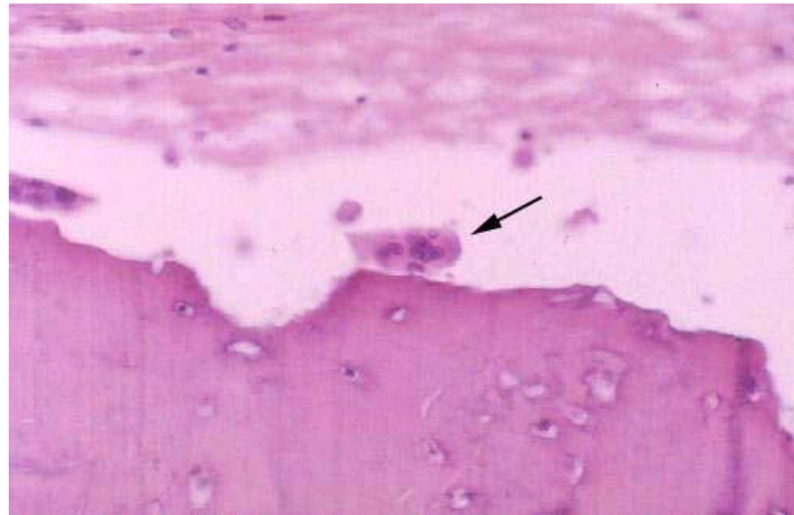
Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2003). Basic Histology, 10th Edn, Lange Edition. McGraw Hill, 16, 340.

Osteoblastlar matriksin proteoglikanlar, kollajen fibriller, glikozaminoglikanlar ve glikoproteinler gibi organik kısmını salgılamakla görevlidir. Organik bakımdan zengin haldeki bu maddeye osteoid adı verilir. Bu osteoid doku, osteoblastların etrafına çevreler. Osteoprogenitör hücrelerden farklılaşan osteoblastlar, metabolik olarak aktif salgı hücreleridir (22,23).

Osteoblastlar, matriks komponentlerinin düzenlenmesi ve aktif matriks depozisyonu görevleri sırasında osteositler'e farklılaşırlar. Osteositler sellüler yapısıyla ortamda bulunan diğer kemik hücrelerine bağlanan ve yıldız şeklinde mineralize kemik matriksi içinde bulunan hücrelerdir. Osteositler, hücreler ve kemik dokunun organik olmayan kısmıyla geniş temas alanı oluşturarak organize olur (24). Bu organizasyon sayesinde kan-kalsiyum hemostazının düzenlenmesi ve benzeri birçok metabolik işlevleri yerine getirir (25). Osteoblastlar; 1,25-dihidroksivitamin D₃, paratiroid hormon ve sistemik gelişim düzenleyiciler için özel reseptörlere sahiptir (26). Osteoblastlar apozisyonun yanı sıra remodeling sürecinde kemik rezorbsiyonunu tetikleyebilir. Osteoblastlar bununla beraber osteoklastları aktive eden faktörleri de salabilir (27,28).

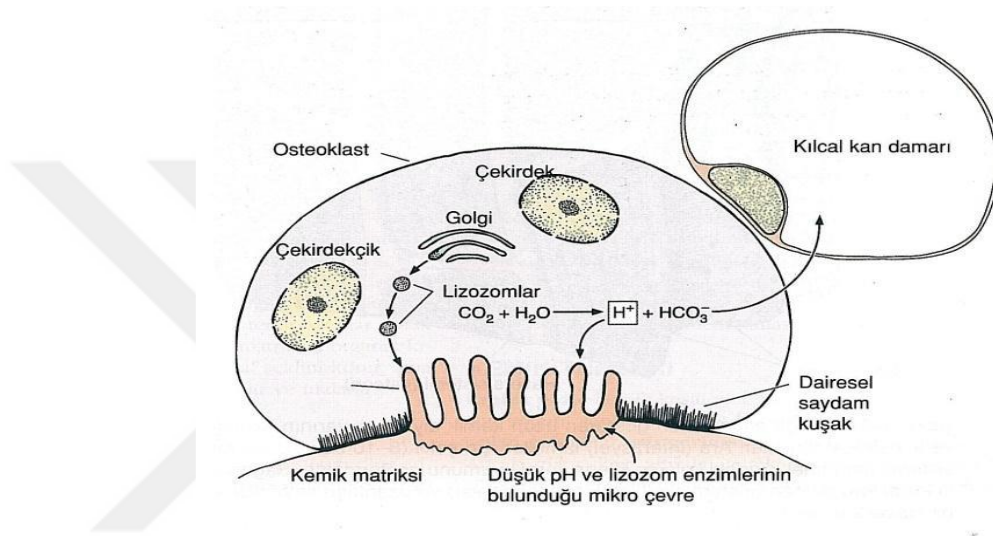
2.1.2.2. OSTEOKLASTLAR

Kemiği rezorbe eden ve kemik doku yıkımından sorumlu hücrelerdir. Tek çekirdekli öncü hücrelerin füzyonu ile şekillenen bu hücreler, geniş ve çok çekirdekli. Osteoklastların hematopoetik kök hücrelerden köken aldığı tahmin edilmektedir (29). Osteoklastların hücre şekli, monosit-makrofaj serisinden kaynak alsa da makrofajlarda bulunan yüzey belirteçleri bu hücrelerin yüzeylerinde bulunmaz. Monosit öncü hücreleri ve osteoklastların şekilleri differansiyasyonun erken dönemlerinde birbirinden farklılaşır (30).



Şekil 2-3 Osteoklastların mikroskopik görünümü

Osteoklast hücreleri bol miktarda mitokondri, lizozom ve osteoblastlara nazaran daha az granüllü endoplazmik retikulum içerir. Hücre, dışa dönmüş dev bir fagolizozom görünümünü taklit eder. Osteoklast hücreleri, asit fosfataz enziminden zengin olmasının yanı sıra bolca lizozomal enzim de içermektedir. H⁺ iyonları, mineral mobilizasyonunun yanı sıra kemik matriks komponentlerini (düşük bir pH da kollajeni de içerir) azaltabilen lizozomal enzimlerin aktivasyonunda da önemlidir. Osteoklastik kemik rezorpsiyonu hyaluronik asit sentezindeki bir artışla da birleşir (31).



Şekil 2-4 Osteoklast hücresi tarafından kemik dokunun yıkılması

Sağlam, M., & Histoloji, G. (1987). Genişletilmiş üçüncü Baskı, Emel Matbaacılık Sanayi.

2.1.2.3. OSTEOSİTLER

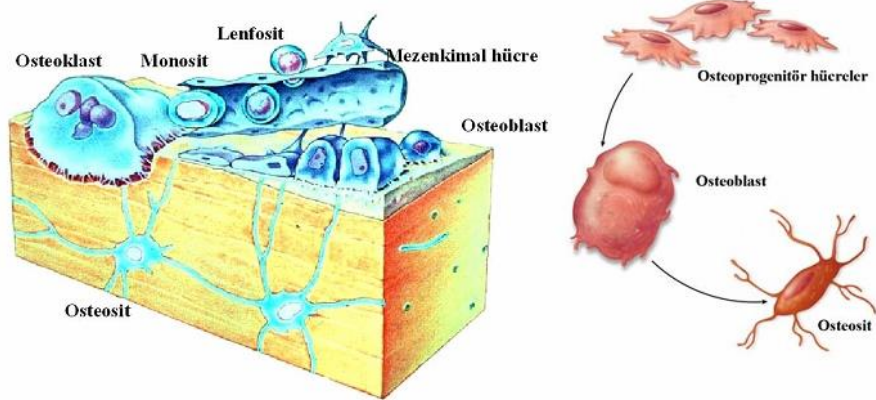
Osteoblastların fonksiyonlarının ve morfolojik özelliklerinin değişmesiyle meydana gelen kemiğin esas hücrelerine osteosit adı verilir. Osteoblastların, osteositlere dönüşüm sürecinde hücrede çok sayıda protoplazmik uzantı meydana gelir ve hücrenin protein sentezleme kapasitesi belirgin oranda düşer. Hücrede meydana gelen protoplazmik uzantılar sayesinde, hücreler kemik dokuda osteonlardaki diğer osteositlerin uzantıları ve yüzey osteoblastlarının uzantıları ile bağlantı oluşturur (32).



Şekil 2-5 Osteositlerin mikroskopik görünümü

Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2003). Basic Histology, 10th Edn, Lange Edition. McGraw Hill, 16, 340.

Remodeling için en önemli uyarıcı kemikte meydana gelen harabiyettir. Fiziksel bir strese maruz kalan kemik dokusunda Bu tip bir harabiyet ortaya çıkar. Meydana gelen harabiyetin tamiri için osteoklastların ilgili bölgeye göç etmesi ve aktif bir rezorbsiyon sahası oluşturmaları gerekmektedir. Osteositler tarafından aktive edilen osteoklastlar, Osteosit hücreleri ile sürekli temas halinde bulunurlar. Osteositler, ilk etkilenen hücreler oldukları için osteoklastları uyarak rezorbsiyonu tetikleyen hücrelerdir (33).



Şekil 2-6 Kemik hücrelerinin farklılaşma yollarının şematik olarak gösterimi

Sağlam, M., & Histoloji, G. (1987). Genişletilmiş üçüncü Baskı, Emel Matbaacılık Sanayi.

Osteoklastlar, makrofaj öncülerinden köken alan monositlerin füzyonuyla oluşur. Osteoprogenitör hücreler ise kemikteki aktiviteye ve oluşan ihtiyaca göre osteoblastlara, osteoblastlar da osteositlere farklılaşabilmektedir (34).

2.1.2.4. OSTEOPROGENİTÖR HÜCRELER

Kemik dokunun esas hücreleri olup mezanşimden kaynak alan hücelere osteoprogenitör hücre adı verilir. Genel olarak bu hücreler asidofilik sitoplazmalıdır. Periosteumun iç katmanında, Havers kanallarında ve endosteumda yer almaktadırlar. Bu hücreler mitoz bölünmeyle olgun kemik hücrelerinde farklılaşma göstermektedirler. Kemiklerin büyümesinde, herhangi bir kırık ya da zedelenme durumlarında aktif duruma gelirler ve bölünerek osteoblast hücrelerine dönüşürler (35).

2.1.2.5. KEMİKTEKİ DİĞER HÜCRE TİPLERİ

Kemik doku içerisinde ana hücreler olan osteoblast, osteoklast, osteosit ve osteoprogenitör hücreler dışında başka hücreler de bulunabilmektedir. Örneğin kemiğin osteoklastlar tarafından rezorbe edilmesinden sonra rezorbsiyon alanında makrofajlar gözlenebilir. Makrofajların fonksiyonu belirsizdir, tam olarak sindirilememiş rezidüel matriksi kaldırabilirler. Bu yüzden lizozomal enzimler yanında kollajenaz da salgırlar.

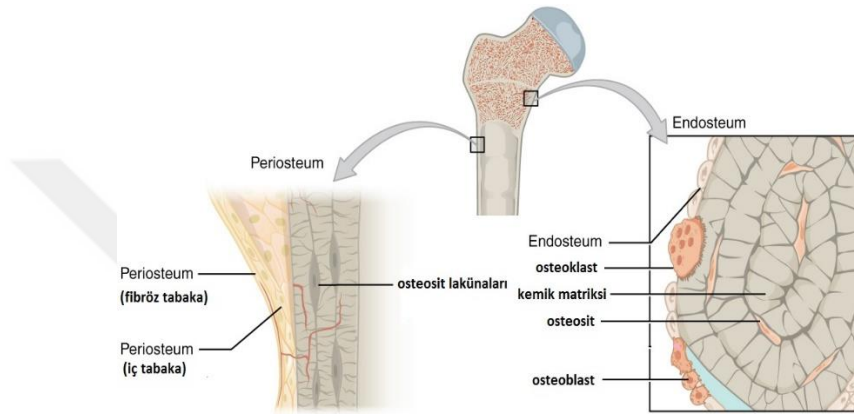
Son olarak, endotelyal hücreler de kemik metabolizmasında rol oynayabilir. Bu hücreler gelişim faktörü üretir ve kemik rezorbsiyonunu stimüle eden ve kemik kan akımını da etkileyebilen prostasiklinin en önemli kaynağıdır (36).

2.1.3. KEMİK ZARLARI

2.1.3.1. PERİOSTEUM

Periosteum, kemik dokusunu saran kaba, vasküler ve sıkı bir bağ doku tabakasıdır. Ancak kas ve tendonların yapışma yerlerinde ile eklem kıkırdağı ile örtülü yüzeyde bulunmaz. Dış tabaka fibröz bağ dokusu görünümündedir. Ayrıca bu tabaka sıkı bir damar ağı içerir ve içeriği hücreden zengindir. İç tabakada ise bulunan lifler periostal lamellere giren demetler oluşturur (Sharpey lifleri). Periosteum kemiğin beslenmesinde, gelişmesinde, tamirinde ve kemik dokuya destek sağlanmasında önemli rol oynar. Periosteumun tabakalarından olan dış tabakası fibröz tabaka olarak isimlendirilir. Bu tabaka kollajen lifler yardımıyla fibroblast denilen organizmalardan oluşmaktadır (37).

Sharpey lifleri matriks içine girer ve periostun kemiğe bağlanmasını sağlar. Periosteum hücreden daha zengin bir yapıya sahiptir. Bu nedenle osteojenik tabaka olarak isimlendirilir. Kemik dokuda büyüme ve onarım işlemlerinde başlıca rolü bu hücreler oynamaktadır. Sharpey liflerinin etrafında az kalsifiye ya da hiç kalsifiye olmamış matriks bulunmaktadır. Bu liflerin sayısı bulundukları anatomik bölgeye göre farklılık göstermektedir. Kafatası kemiklerinde, tendon ve kasların yapışma yerlerinde fazladır (38).

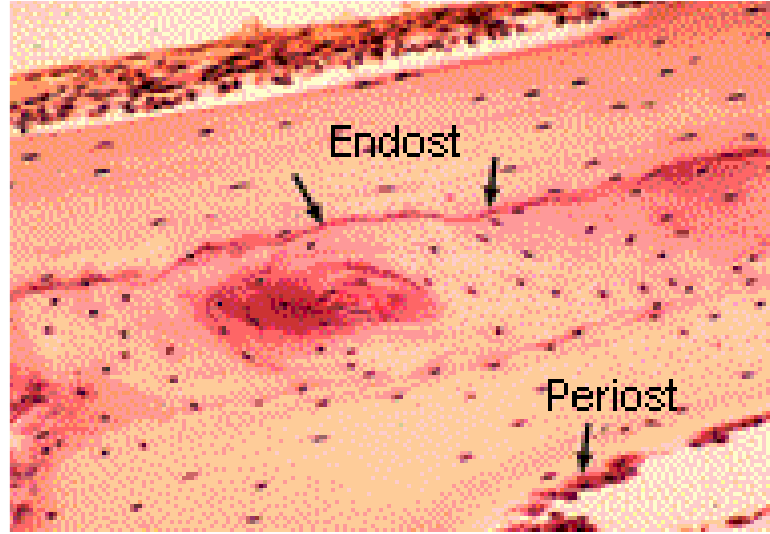


Şekil 2-7: Periosteum ve Endosteum

Sağlam, M., & Histoloji, G. (1987). Genişletilmiş üçüncü Baskı, Emel Matbaacılık Sanayi.

2.1.3.2. ENDOSTEUM

Endosteum, kemik içinde bulunan boşlukların örtülmesini sağlayan tabakadır. Yassı osteoprogenitör hücrelerle az miktarda bağ dokudan oluşan bir yapıya sahiptir. Periosteum ile karşılaştırılırsa çok ince bir yapısı vardır. İnce retiküler bağ dokusundan oluşan bu doku ve hem osteojenik, hem hematopoetik özellik gösterir. Bu doku gelişim sona erdikten sonra bile osteojenik etkinliğini sürdürmektedir (38,39).



Şekil 2-8: Kemik zarlarının histolojik görünümü

Sağlam, M., & Histoloji, G. (1987). Genişletilmiş üçüncü Baskı, Emel Matbaacılık Sanayi.

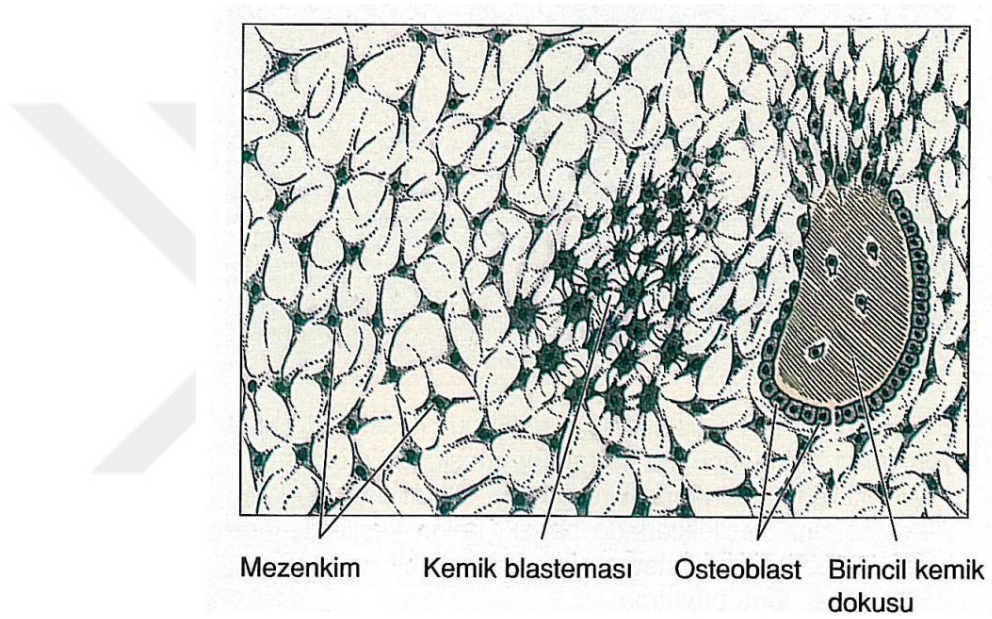
2.2. KEMİKLEŞMENİN OLUŞUMU VE GELİŞİMİ

Kemikleşme vücutta intramembranöz ve endokondral kemikleşme olarak ikiye ayrılır. İntramembranöz kemikleşme mezenkimal bağ dokusunun, endokondral kemikleşme ise kıkırdak dokunun katılımıyla oluşmaktadır. Her iki kemikleşme çeşidinde de öncelikle kemik primer kemik oluşur daha sonra ise yerini sekonder kemiğe bırakır. Kemik dokudaki büyüme esnasında primer kemik alanları ve rezorbsiyon alanları ile sekonder kemik alanları yan yana görülür. Böylelikle kemik oluşumu ve yeniden şekillenme meydana gelir (40).

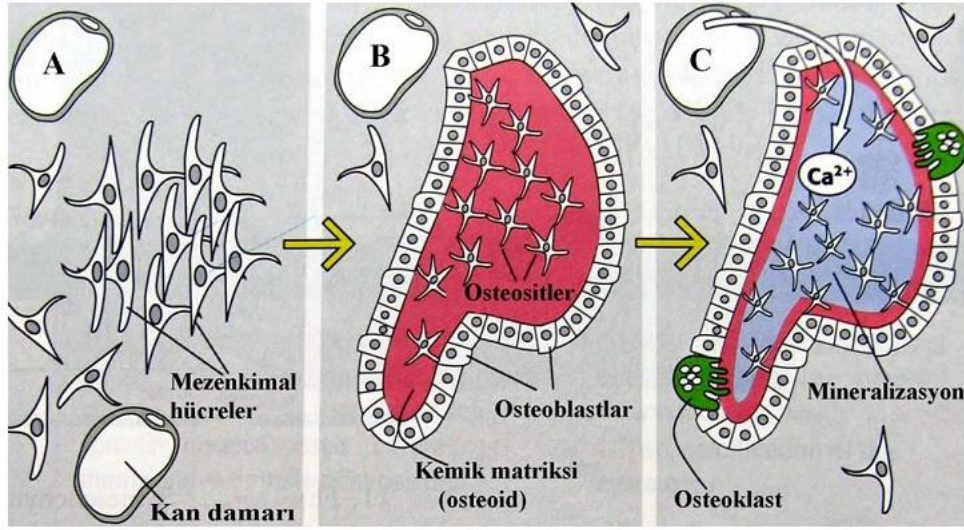
2.2.1. İNTRAMEMBRANÖZ KEMİKLEŞME

İntramembranöz kemikleşme, kemiğin mezenkimal bağ dokusundan direkt olarak şekillenmesidir. Mezenkim hücrelerinde öncelikle hızlı bir bölünme görülür ve osteoprogenitör hücreye farklılaşırlar, bu farklılaşmadan sonra da osteoblastlara dönüşürler. Bu şekilde kemik matriksini şekillenmiş olur. Bu dokuda oldukça fazla kapiller damar gözlenir. Bu damarlar osteoid dokuya Ca^{++} ve P^+ iyonlarını taşır. Bu iyonlar, osteoblastlar tarafından salgılanan ALP (Alkalen fosfataz) aracılığıyla $Ca_3(PO_4)_2$ 'a dönüşerek kalsifikasyon sağlanmış olur. Oluşan bu doku, kemik trabekülleri adını alır. Trabeküller içinde kalan osteoblastlar ise aktivitesi azalmış osteositlere dönüşür. Trabeküllerin şekillenen dış yüzeyine ise osteoprogenitör hücrelerden farklılaşan

osteoblastlar tek sıra halinde dizilirler ve kemik lamellerini oluştururlar. Bu olayın art arda tekrarlanması sonucu birincil kemik trabeküllerinin yüzeyinde ve kenarında lamelli ikincil kemik yapısında katmanlar meydana gelir ve trabeküller kalınlaşıp uzar. Bu sırada lamelleri iç yüzeylerinden osteoklastlar tarafından rezorbe edilirken diğer taraftan yeni kemik lamelleri osteoblastlar tarafından oluşturulur. Trabekül denilen birincil kemik dokusu içeren yapılar bu şekilde ortadan kalkar. Yalnızca ikincil kemik dokuda yer alan trabeküller kalır. Trabeküller arasında kalan mezenkim dokusundan kemik iliği de şekillenmiş olur (41).



Şekil 2-9: İntramembranöz kemikleşmenin başlangıç aşaması



Şekil 2-10 İntramembranöz kemikleşmenin şematik olarak gösterilmesi

(A)(A) Mezenkimal bağ dokusundan direkt olarak kemik şekillenmesidir.

(B)(B) Mezenşim hücreleri hızlı bölünme gösterir ve osteoprogenitör hücreye farklılaşır, sonra da osteoblastlara dönüşerek kemik matriksini şekillendirirler.

(C)(C) Kılcal damarlardan osteoid dokuya kalsiyum ve fosfor iyonları taşınır, osteoblastların salgıladığı alkalin fosfataz aracılığıyla kalsiyum fosfat moleküllerine dönüşerek kalsifikasyonu

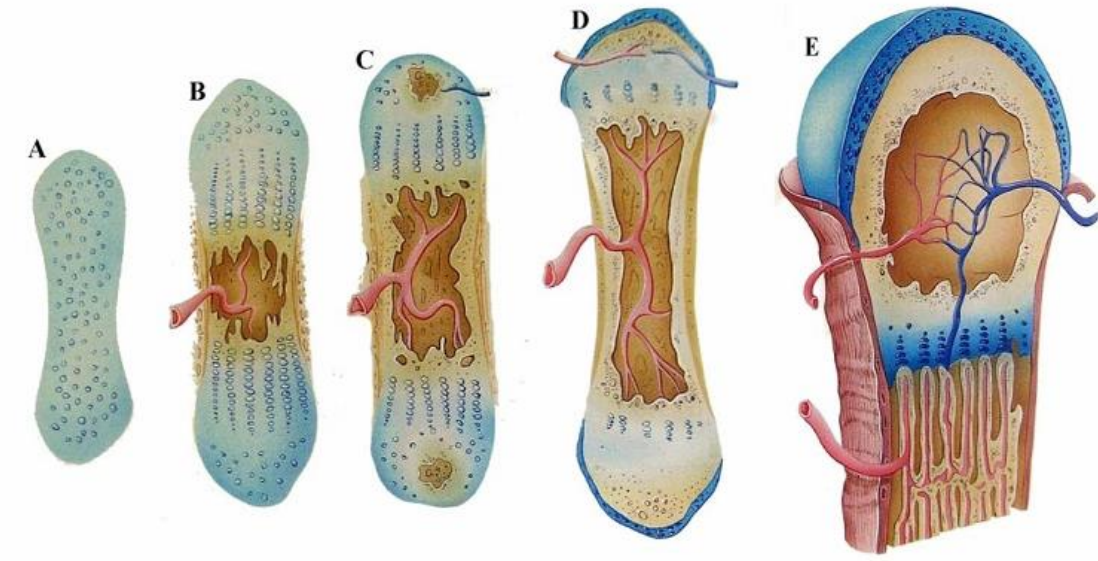
2.2.2. ENDOKONDRAL KEMİKLEŞME

Endokondral kemikleşmenin iki aşaması bulunmaktadır. Birinci aşamada kondrositlerin hipertrofisi ve harabiyeti olurken ikinci aşamada ise farklılaşmamış mezenkim hücrelerinin kıkırdaki rezorbe etmeleri ile osteoblastların oluşmasıdır.

Kemikleşme hyalin kıkırdaktan ufak bir modelle başlayıp, kemik dokusu oluşumuyla sonlanır. Modelin kıkırdığında bulunan mezenkim hücreleri öncelikle osteoprogenitör hücrelere farklılaşırlar, daha sonra da osteoblastlara differansiye olurlar. Bu sayede yeni oluşan kemiğin dış kısmındaki periosteumu ile iç kısmındaki kıkırdak dokusu arasında silindirik biçimde bir kemik ortaya çıkar. Bu arada kemik, kondrositlerin beslenmesini engeller. Oluşan iskemi, kondrositlerin önce hipertrofisine, ardından diyafizin orta kısmından başlayarak kemiğin tahrip edilmesine neden olur. Bu şekilde Kıkırdak modelin ortasında birbiri ile devamlı yapıda kemik iliği kavitesi olarak adlandırılacak kaviteler oluşur.

Osteoklastlar, periosteumdaki kemiği yer yer delerek foramen nutrisyumları oluştururlar. Periosteumdaki kan damarları bu foramenlerden girerek osteoprogenitör ve hematopoetik hücreleri taşırlar. Damarlarla gelen Ca ve P iyonları, ALP aracılığıyla kıkırdak matrikse çökerler, böylelikle diyafizde bir kemikleşme merkezi ortaya çıkmış olur. Diyafizde şekillenen boşluklara kan damarları ile gelen mezenkim hücrelerinden farklılaşan osteoblastlar, ortamdaki kalsifiye kıkırdak matriksi üzerine dizilerek kemik dokusu yapmaya başlarlar. Böylelikle orta kısımları kalsifiye kıkırdak, dış yüzeyleri ise kemik dokusundan meydana gelen kemik trabekülleri oluşur. Kemik trabeküllerinde ise kan damarlarının aralarındaki boşluklardan kemik iliği şekillenir. Bu arada kıkırdak modelin epifiz ve diyafizi arasında kondrositler mitoz ile çoğalır. Bu şekilde alt alta dizilen gruplar oluşur. Böylece oluşan modelin boyu da devamlı olarak uzamış olur. Kemik ise kalınlaşıp, epifizlere doğru uzanır ve kondrositlerin bulunduğu bölge dış taraftan sarılmış olur.

Kemikleşme merkezinde ise önce kıkırdak matriks, daha sonra da ilk şekillenenlerin devamı halinde kemik trabekülleri oluşur. Endokondral kemikleşme epifizlere yaklaştığı zaman epifizlerin ortasında ikincil kemikleşme merkezleri oluşur. Eski ve yeni kemikleşme bölgeleri arasında sadece kıkırdak bir disk kalır. Bu da epifiz plağı olarak isimlendirilir. Kemikleşme sona erinceye dek epifiz plaklarındaki kıkırdak hücreleri diyafiz yönüne doğru bölünüp sayıları artarak devamlı kıkırdak dokusu oluşur, bu kıkırdak da devamlı olarak yerini kemik dokusuna bırakır. Bu şekilde kemik dokusu belli bir yaşa kadar uzar. Epifiz plakları da kemikleştiği an ise kemik büyümesi sonlanmış olur (43, 43, 45).



Şekil 2-11: Endokondral kemikleşmenin şematik olarak gösterilmesi

(A)(A) Hyalin kıkırdak model

(B)(B) Diyafiz kıkırdağını örten perikondriumun iç katındaki mezenkim hücreleri osteoprogenitör hücrelere, onlar da osteoblastlara farklılaşırlar. Osteoblastlar üst üste yerleşen kemik lamellerini yapar.

(C)(C) Kemik manşet, kondrositlerin beslenmesini bozarak, kondrositlerde hipertrofiye, ardından ölümlerine neden olur.

(D)(D) Kıkırdak modelin epifizleri ile diyafizi arasında kondrositler çoğalarak alt alta dizilen gruplar yaparlar.

(E)(E) Eski ve yeni kemikleşme bölgeleri arasında sadece epifiz plağı kalır (42).

2.2.3. REMODELING

Kemik doku durağan bir doku olmayıp sürekli yıkım ve ardından yeni kemik yapımı bu dokuda meydana gelir. Canlı kemik dokuları mineral ve matriks depolarını sürekli olarak yenileyerek adapte olur. Oluşan bu olaylar normal şartlarda dengeli bir biçimde süregelir ve ortaya çıkan kemik doku, rezorbe olanla eşit özellikler gösterir. Osteoklastlar kemiklerin mineral ve protein matrikslerini rezorbe ederek kemikte bir boşluk meydana getirirler. Akabinde ortaya çıkan bu boşluk, osteoblastlar yardımıyla doldurulur. Kemik rezorpsiyonu ve biçimlenme sürekli birbirini takip ederler. Hiçbir zaman sadece biçimlenme ya da rezorpsiyon oluşmaz. Osteoklastik kemik

rezorbsiyonunun süresi daha kısa iken biçimlenme için bu süre daha fazla olup zaman olarak üç aydan daha fazladır (46). Kompakt kemikte yeniden yapılanma, daha önceden oluşturulmuş kemiğe doğru daha progresif ilerleyip korteks yapıda bulunan osteoklastlar tarafından kanal şeklinde bir yapının oluşturulması ile başlatılır. Bu alana “cutting cone” (kesik koni) denir. Bu açılan yapının hemen öncesinden başlayarak vasküler stroma hücreleri ve az differansiye hücreler kaviteye doğru hareketlenir. Ortama sonradan dâhil olan aktif osteoblastlar ise bu bölgede yeni bir haversian sistemini oluştururlar (47). Trabeküler kemikte ise osteoklastik aktivasyon “Howship lakuna” denilen kemik iliği, duvar yüzeyindeki boşluklarda oluşmaktadır. Buraları daha sonra aktif osteoblastlar tarafından doldurulur (48). Kemiğin yeniden yapılanmasında tetik veya osteoklastları aktive ederek rezorbsiyonu başlatan mekanizma iyi bilinmemekle birlikte osteoklastların aktive olması için ortamda aktif osteoblast varlığı gereklidir. Rezorbsiyonu başlatan uyarıcının osteoblast kökenli bir ürün olduğu düşünülmektedir (49). Osteoklast hücreleri kemik yüzeyi boyunca hareket edebilirler. Ayrıca bu hücreler kemik yüzeyine yapışma yeteneği olan hücrelerdir. Osteoklast hücrelerinin aktivasyonundan hemen sonra osteoklast hücrelerinin bu yapışma yüzeyi pürüzlü bir görünüm alır. Bu yüzden osteoklast hücrelerinden proteolitik enzimler salgınır. Osteoklast hücreleri ortamın pH'ını devamlı H^+ salgılayarak ortamı asidik yaparlar. Kemiğin organik kısmının ve ortamda bulunan minerallerin sindirimi için kemiğin rezorbsiyon ortamındaki proteolitik enzimler ve düşük pH ortamda bulunmalıdır. Rezorbsiyon aktivitesi belli bir derinliğe ulaştıktan sonra osteoklast hücreleri buradan ayrılırlar. Osteoklast hücreleri daha sonra başka bir rezorbsiyon kavitesi yapmak için kemik boyunca yer değiştirir. Osteoklast hücrelerinin ortamdaki matriks sindirimi için sentezlediği enzimler fosfatazlar, sülfatazlar, beta-glukuronidaz ve metalloproteinazlardır (50). Kemiğin yeniden yapılandırılmasına katılan hücrelerin tamamı “Basic Multicellular Unit (Temel Hücresel Birim)” ya da “Bone Remodeling Unit (Kemik Yeniden Yapılanma Birimi)” adını alır. Bu birimin yerel olarak devamlılığı kemik kitlesinin korunması için hayati derecede önemlidir. Kemiğin yeniden yapılanması yeni bir kemik birimi olan “Bone Structural Unit (Kemik Yapısal Birimi)” olarak adlandırılır (49). Birim zamanda bir birim kemik hacimindeki rezorbe olan ve daha sonra yapılan kemik miktarı, kemik dönüşüm hızı olarak isimlendirilir. Kemik dönüşüm hızı kompakt kemikte trabeküler kemiğe çok daha yavaştır (46, 47, 48).

2.3. KEMİK GREFTLERİ HAKKINDA GENEL BİLGİLER

Dişsizlik durumunda alveolar kemiklerde çoğunlukla kemik rezorpsiyonu görülür. Bu bölgelere yerleştirilen greft materyallerinin amacı alıcı sahadaki dokuları hacimsel olarak arttırmaktır. Bunun yanında alıcı sahadaki defektin onarılarak bölgenin rehabilitasyonu amaçlanır. Vücutta en sık transplante edilen doku kemik dokusudur. Greft materyalleri bu amaçlar doğrultusunda atrofi, yaralanma, konjenital malformasyonlar ya da çeşitli cerrahi müdahaleler sonrası oluşan defektlerin tedavisinde kullanılırlar (51).

Greft Materyallerinin Sınıflandırılması

- Otojen Greftler: Verici ve alıcının aynı birey olduğu greft tipidir. Bir canlıdan alınan materyal, yine aynı canlıdaki başka bir bölgeye yerleştirilir.
- Allojen Greftler: Aynı türe ait canlılar arasında nakledilirler. Bu greftler iki alt gruba ayrılmaktadır.
 - a) İzogen greftler; bu greft materyalleri genetik olarak birbiriyle ilişkisi olan canlı türlerinden nakledilen greft materyalleridir.
 - b) Allogreftler; bu greft materyalleri aynı türden fakat farklı genotipteki farklı bireylerden elde edilen greft materyalleridir.
- Ksenogreftler: Heterojen greft (değişik türlerden alınan dokular) olarak adlandırılırlar. Ksenogreftler, alıcı canlı ile verici canlının farklı bir türde olduğu greft materyalleridir.
- Alloplastik Materyaller: Tamamen sentetiktirler. Vücut dokularıyla uyumlu kemik rejenerasyon materyalleridirler.
- Kompozit Greftler: Birbirinden farklı greft birleşimlerini içeren greft materyalleridir (52, 53, 54).

2.3.1. KEMİK GREFTLERİNİN YERLEŞTİRİLDİKLERİ BÖLGE İLE BİRLEŞMESİ

2.3.1.1. OSTEOKONDÜKSİYON

Osteokondüksiyon, alıcı kemik yatağından eklenen grefte vasküler ve perivasküler yapıların ilerlemesi için greftin pasif bir iskelet görevi görerek greft yüzeyinde yeni kemik oluşumunun desteklenmesidir (55). Osteokondüksiyon; kortikal

kemik defektleri ve kemik tamirinde kullanılan allojenik kemik segmentlerinde meydana gelir (56).

Osteokondüksiyon, grefti çevreleyen kemiğin apozisyonu ile karakterize olup, bu işleyiş kemik veya diferansiyel mezenkimal hücrelerin varlığında meydana geldiği için osteokondüktif materyaller ektopik bölgelerde bulunurlarsa, kemik büyümesini başlatmazlar, çoğunlukla da değişmeden kalır veya rezorbe olurlar (57,58).

Kullanılan osteokondüktif materyallerin en yaygınları alloplastlar ve ksenogreftlerdir. Allojen ve otojen greftlerin de osteokondüksiyon özellikleri bulunmaktadır (59).

2.3.1.2. OSTEOİNDÜKSİYON

Osteoindüksiyon, osteoprogenitör hücreler tarafından oluşan yeni kemik biçimlenmesidir (60). Kemik hacminin yetersiz olduğu bölgeye subkutan olarak yerleştirildiğinde yerleştirilen bölgeye uzak bölgede kemik biçimlenmesi oluşturduğu yapılan araştırmalarda saptanmıştır (61).

Osteoindüktif materyallerin remodelasyon süreci boyunca kemik biçimlenmesi payı daha fazladır (62). Uygulanan kemik grefti yerleştirildiği kemikteki osteoblastları etkiler. Bu sayede ise osteoblastlar greftin içine hareket ederler. Bu şekilde de yeni kemik oluşumu sağlanmış olur (63).

En çok kullanılan osteoindüktif materyaller allogreft ve otojen greftlerdir.

2.3.1.3. OSTEOGENEZİS

Osteogenezis, yeni kemik oluşumunun osteoblastlar ve preosteoblastlar gibi hücrelerin kemik dokusunun bulunmadığı bölgede bile sağlanmasıdır. Osteogenezis; kemikle transfer olabilen ve canlılığı sürdürebilinen hücrelerle kemik gelişimini ifade eder(64).

Otojen greftler osteogenezis kapasitesine sahip olan tek greft materyalidir.

2.3.2. GREFT MATERYALLERİ

2.3.2.1. OTOJEN KEMİK GREFTLERİ

Alıcı ve vericinin aynı olduğu greft otojen greft olarak adlandırılır. Greftin yapısındaki canlı hücreler sayesinde osteogenezis kapasitesine sahip tek greft materyali olmasının yanı sıra, zaman içerisinde osteoindüktif ve osteokondüktif etki de gösterirler (65). Bütün bunlarla beraber altın standart olarak kabul edilirler (65).

Otojen greftler genellikle ilk tercih sebebidir, çünkü bireye immünolojik olarak uyumlu osteoblast hücreleri, aynı zamanda kemik morfojenik proteinlerinin varlığında osteoblast hücrelerine dönüşebilen mezenşimal hücreleri tarafından sağlamaktadır (61). Alıcı kemik yüzeyindeki hücreler difüzyon veya vasküler anastomasyon yoluyla canlılıklarını korurlar ve osteogenezise katılırlar. Greftin alıcı yatağa yerleşimini takiben birkaç gün içerisinde gözlenen bu özellikli olmayan inflamasyon yerini 1 hafta kadar sonra fibrovasküler reaksiyona bırakır. Vaskülarize dokular ve osteojenik hücreler grefte ulaşmaktadır (66).



Şekil 2-12 Simfiz bölgesinden alınan otojen greft örneği

Lane JM. Bone graft substitutes. West J Med 1995;163:565–566.

Verici sahanın maxillofasiyal bölgeden seçilmesinin yapılacak işlem için biyolojik yararları sahip olacağı düşünülür çünkü donör bölgenin embriyolojik orjinine

benzerliği greftin alıcı saha ile birleşmesini etkiler. Alveoler kemik dışında maxilla (üst çene kemiği) ve mandibula (alt çene kemiği) gövdesi intramembranöz olarak gelişir. Ancak kondiller endokondral kemik biçimlenme ile gelişmektedir. Kansellöz greftler kortikal greftlerden daha hızlı revaskülarize olmaktadırlar. Kortikal membranöz greftler ise daha ince kansellöz içerikli endokondral kemik greftlerine göre daha hızlı revaskülarize olmaktadır. Membranöz kemik greftlerinin erken damarlanması, gelişmiş greft hacminin korunması olarak değerlendirilir (67).

Başka bir hipotez, mandibula (alt çene kemiği) gibi ektomezenkimal orjinli kemiğin verici ve alıcı kemiğin protokollagenine maksillofasiyal bölgede olması sebebiyle daha iyi birleşmeye sahip olmasıdır. Kortikal kemiklerin indüktif kapasitesi, öncelikle daha yüksek yoğunlukta BMP (kemik morfojenik protein) içermesi ve daha sonrasında maksillofasiyal iskelete ait kemiğin tamiri ve greftin retansiyonu için daha yüksek kapasite sağlayan yüksek yoğunlukta büyüme faktörü içerdiği için daha fazladır. Bir diğerk hipotez ise kraniofasiyal kemik greftlerinde gelişen devamlılık oranının 3 boyutlu yapısından kaynaklanmasıdır. Bu greftler daha yavaş rezorbe olurlar. Bunun sebebi ise daha ince kortikal tabakaya sahip olmalarıdır (67,68).

Endokondrial verici bölgelerden alınan kortikokansellöz blok greftlerde rezorpsiyon, bu greftlerin yumuşak doku destekli protezler için kret ogmentasyonu ve mandibular devamlılık gösteren defektlerin tedavisinde önceliklerini kaybetmelerine sebebiyet vermektedir. Bu aşamada öncelik verilmesi gereken işlem kansellöz greftlerin canlılığını sürdüren osteoprogenitor hücrelerinin tralantasyonudur. Kortikokansellöz blok greftlerin endosteal implantlar için alveoler rekonstruksiyonda faydalı olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (69).

2.3.2.1.1. İNTRAORAL DONOR BÖLGELER

2.3.2.1.1.a. Mandibuler simfiz bölgesi

Simfiz bölgesi; Vertikal ve horizontal kayıp gözlenen; bir veya iki diş içeren bölgeler veya 4 diştten fazla mezio-distal mesafe içeren defektler için yeterlidir. Büyük intraoral greft gerektiren defektler foramen mentale'ler arası uzaklık düşünöldüğünde rahatlıkla simfiz bölgesinden alınan greftle ile rehabilite edilebilir. Simfiz, morfolojisi sebebiyle özellikle anterior bölgenin formunu rahatlıkla sağlayabilir (69).

2.3.2.1.1.b. Mandibuler ramus bölgesi

Ramus bölgesi; posterior mandibulanın genişliği, koronoid oluşum, alt molar dişlerin apikal yüzeyleri, inferior alveoler kanal ve lingual sinir ile sınırlanır. Kortikal kemikten 4mm kalınlığında dikdörtgen parçası şeklinde greft elde edilebilir. Bu bölgeden greft elde etmek için bölgedenin anatomisi parestezi ve anestezi riskini engellemek için çok iyi bilinmelidir (70).

2.3.2.1.1.c. Mandibular dişsiz bölgeler

Yapılan cerrahi esnasında greftlenmesi gereken bölgenin apikalinde eğer uygunsa kemik bloğu alınabilir. Bazı durumlarda ise mandibuler kanal lateralizasyonu ile greft sahası ya da greft elde edilmeksizin gereken cerrahi gerçekleştirilebilir (71).

2.3.2.1.1.d. Lingual ekzostozlar

Mandibulada lingual bölgede bulunan ekzostoz ve toruslar patolojik olmayan anatomik varyasyonlardır. Greftleme işlemlerinde ihtiyaç halinde kullanılabilirler. Ancak mandibuler torusun kortikal kemik oranı oldukça yüksektir. Bu yüzden bu sahanın blok greft materyali olarak kullanılması uygun değildir (72). Kortikal greftin damarlanması ve şekillenmesi havers kanal sistemi ile meydana geldiği için greftin greft uygulanan bölgede sekestrasyon görülebilir. İmplant osteotomisi, torus ve alıcı kemik arasındaki kortikal ve kansellöz kemik yoğunluğu farkı nedeniyle zordur. Bu problemin üstesinden gelmek için torusun kemik değirmeni gibi bir materyal ile partiküllerine ayrılması önerilmektedir (73).

2.3.2.1.1.e. Maxiller tüberosite bölgesi

Tüberosite bölgesinde kansellöz kemik kortikal kemiğe göre fazladır. Kansellöz greft uygulanan sahada bariyer olarak bir membran kullanımı gereklidir. Bunun sebebi ise rezorpsiyonun azaltılması ve grefti stabilize edilmesidir (74).

Bölge panoramik ve periapikal radyografilerle değerlendirilmelidir. Bu bölge, maxiller sinüs, pterygoid çıkıntılar, üst molar dişler ve palatinal kanal gibi anatomik sınırlamaları içerir (75).

2.3.2.1.2. EKSTRAORAL DONOR BÖLGELER

Ekstraoral kemik greftleri geniş atrofik bölgeler için gereklidir. Tercih edilen verici kemikler: iliak, tibia, kalvarium, kosta ve fibuladır. Atrofik sahanın hacmine göre intraoral kemik greftleri ile ogmente edilemeyen sahalarda bu greft materyalleri kullanılır(71).

2.3.2.1.2.a. İliak Greftler

İliak sahanın verici bölge olarak kullanımını kısıtlayan iki dezavantajı vardır. İlki, iliak krestin, iliumun büyüme merkezlerinden birisi olmasıdır. İkincisi ise yapılan cerrahi müdahalenin hastada rahatsızlık oluşabilmesi ihtimalidir. Verici bölgeye anatomik olarak yakın halde konumlanan gluteus maksimus ve gluteus medius kaslarında görülebilecek yaralanma, cerrahi sonrası hasta yürümesini zorlaştırabilir. İliak greftlerin kullanım alanları anterior ve posterior iliak kret tepeleridir. İki bölge arasında elde edilen kansellöz kemik miktarı, sahanın seçimini belirler (70).

Posterior ilium, anterior ilium'a göre daha fazla kansellöz kemik içermesi sebebiyle olulabilecek komplikasyonlar açısından uygundur. Ancak anterior ilium anatomik olarak bulunduğu yer itibarıyla birçok ortognatik cerrahi en çok kullanılan kemik kaynağıdır (70).

Anterior İliak Krest Grefti ile ilişkili komplikasyonlar

- Hematom
- Seroma
- Parestezi
- Kozmetik deformite
- Pelvik dengesizlik
- Karın hernisi
- Ileus

- Enfeksiyon
- Sürekli ağrı
- Kırık (65)

Posterior İliak Krest Grefti ile ilişkili komplikasyonlar

- Kanama
- Üreter hasarı
- Karın hernisi
- Parestezi
- Seroma
- Hematom
- Yürüme rahatsızlığı
- Enfeksiyon
- Yara izi (66)

2.3.2.1.2.b. Tibia Greftleri

İliak kret tepesinden sonra en fazla kortikal ve kansellöz kemik elde edilebilen donör bölge tibia bölgesidir.

Yetişkin olmayan bireylerde proximal tibia olması gerekenden daha küçüktür ve epifiziyal kartilaj gelişimi devam etmektedir. Bu büyüme merkezinin etkilenmemesi için insizyonun olabilecek en küçük seviyede olmalıdır. Ayrıca bu yapılan insizyon olması gereken daha aşağıda yapılmalıdır(65).

Tibia Grefti ile ilişkili komplikasyonlar

- Uzun süreli ağrı
- Yürüme rahatsızlığı
- Yara açması
- Enfeksiyon
- Yara izi
- Hematom

- Seroma
- Parestezi
- Kırık
- Kas-eklem birleşiminin ihlal edilmesi (66)

2.3.2.1.2.c. Kalvarial Greft

Kalvarial kemik greftleri; kafatasının en kalın olduğu koronal suturun posteriorundan veya parietal bölgeden alınabilir. Ancak yapılan insizyon ve yapılan cerrahi girişim sebebiyle sagittal sinüse hasar verme riski bulunduğu için greft orta hat üzerinden alınmamalıdır (65).

Kalvaryal Greft ile ilişkili komplikasyonlar

- Hematom
- Saç dökülmesi
- Superior sagittal sinüs laserasyonu
- Epidural hematoma
- Enfeksiyon
- Yara izi (66)

2.3.2.1.2.d. Kosta Greftleri

kosta greftleri, maksillofasiyal cerrahide iki primer alanda kullanılır. İlk olarak Kortikokansellöz greft ogmentasyonlardakosta greftleri, osteotomi işlemlerinde kullanılır. İkincil olarak ise, mandibuler gelişim istenen durumlarda kondil replasmanı için kostokondral greft şeklinde kullanılır. Her iki tip greftin de elde edilmesi için aynı yaklaşım uygulanır. Bu cerrahi işlemde 5., 6. veya 7. kosta (kör kosta olarak da adlandırılırlar) verici olarak seçilir. Bir adet kostanın yeterli gelmediği ve birden fazla kosta gerektiği durumlarda ise karşılıklı kostalar alınır (65).

2.3.2.1.2.e. Vaskülerize Fibula Flebi

Serbest vaskülerize fibula flepleri; mandibular rezeksiyon uygulanan hastalarda mandibulanın rekonstrüksiyon için uygun bir seçenektir.

Fibulanın etrafındaki kalın kortikal kemik, karşıt çeneden gelen oklüzal kuvvetlere karşı oluşturulan kemiğin dayanıklı olmasını sağlar ve oluşturulan sahaya implant yerleştirmek için ortamı uygun hale getirir (67).

Otojen Greftlerin Avantajları:

- Erken revaskülarizasyon
- Osteoindüktif, osteokondüktif ve osteogenezis özellikleri
- Greftteki canlı hücrelerin etkisiyle oluşan hızlı osteojenik potansiyel
- Neredeyse olmayan maliyet
- Alıcı sahada antijenik etki oluşturmaması.

Otojen Greftlerin Dezavantajları:

- Hastanın sistemik durumunun uygun olmaması veya hastanın ikincil bir operasyon istemesi
- Verici sahanın anatomik bölgeler nedeniyle kısıtlanması
- Verici sahada gelişebilen komplikasyonlar
- İkincil bir operasyonun oluşturduğu ilave travma
- Operasyon süresinin artması nedeniyle ilave enfeksiyon gibi postoperatif komplikasyonlar
- Verici sahanın bölgesine göre genel anestezi zorunluluğu
- Oluşabilecek kan kaybı
- hastanede gözetim altında kalınması nedeniyle maliyetin artabilmesi
- Alınabilecek kemik greftinin anatomik sebepler nedeniyle greft miktarının sınırlı olması
- Erken kemik rezorpsiyonu (66)

2.3.2.2. ALLOJEN GREFTLER

2.3.2.2.1 İzogreft

Alıcı ile aynı yapıya sahip ancak farklı canlılardan alınan dokular izogreft olarak adlandırılır.

2.3.2.2.2 Allogreft:

Allogreftler, bir canlıdan diğer bir canlıya transplantasyon için toplanan kemik greftleridir. Allogreftler değişik genetik tipte farklı insanlardan ve elde edilir ve çeşitli işlemlere tabi tutularak muhafaza edilirler. Konjenital, travmatik, dejeneratif ve neoplastik orjinli kemik defektlerinin tedavisinde allogreftler önemli bir yere sahiptir. Bu greftlerde Osteojenik özellik bulunmamaktadır, bu da kemik formasyonun süresini arttırır (76).

Allogreftlerin avantajları;

- Daha önceden hazır olarak bulunması, hastada ayrıca bir verici alana ihtiyaç duyulmaması, anestezinin azalması
- Operasyon süresinin kısalması ve postoperatif komplikasyonların azlığı
- Komplikasyon görülmemesi ya da az görülmesi

Allogreftlerin dezavantajları;

- Aynı canlı yerine başka canlıdan alınan dokuların kullanılması. Bu nedenle verici kişilerde olası enfeksiyon, malign neoplazma, dejeneratif kemik hastalıkları, tüberküloz gibi bulaşıcı bakteriyel enfeksiyon, hepatit B ve C, AIDS, Creutzfeldt-Jakob Hastalığı (CJD) gibi bulaşıcı viral hastalıkların varlığı tıbbi anamnez ile çok iyi bir şekilde araştırılmalıdır.
- Greftin oluşturulma işleminin materyalin yoğunluğunu ve osteojenik aktivitesini bitirmesi ve oluşan immünolojik reaksiyon ile alıcı sahadaki kemikle birleşmesini azalması.

Allogreftlerin primer formları:

1. Taze Dondurulmuş
2. Dondurulmuş-Kurutulmuş

3. Demineralize Dondurulmuş-Kurutulmuş
4. Işınlanmış kemik (77)

2.3.2.3. KSENOGREFTLER

Alıcı türden farklı bir türde vericiden oluşturulan greftlere denir. Ksenogreftler, başka türlerden doğal olarak elde edilen, genellikle deproteinize edilmiş kemiklerden yapılırlar. Bu kemik greftleri çenelerdeki küçük defektlerin rekonstrüksiyonu için uygundur. Ksenogreftler; herhangi bir osteojenik potansiyel sağlamayan, sadece kemik oluşumu için matriks oluşumuna katılan greftlerdir. Bu greftler çeşitli organik çözücülerle hazırlanırlar. Bu sırada immunojenitesinin çoğunu kaybederler (78). Verici türdeki organik içerikte bulunan hastalıkların transmisyon riski de bu yüzden önemsizdir. Ksenogreft kullanımı, allogreft kullanımına göre benzer avantaj ve dezavantajlara sahiptir (79).



Şekil 2-13 Geistlich Bio-Oss® Ksenogreft (Zürich, İsviçre)

2.3.2.3.1. Demineralize edilmiş kemik:

Kemik içeriğindeki minerallerin demineralize edilmesi ile oluşturulurlar. Demineralizasyon işlemi ile kemik matriksindeki nonkollagen proteinler ortaya çıkar. Kemik demineralizasyonu işleminde düşük derecedeki sınırlı nonkollagen proteinlerin geniş bölüntüleri, osteoindüksiyon potansiyellidir. Uygulanan sahanın üzerine kuvvetin gelmediği küçük alanlarında kullanımı yaygındır. Bununla beraber üç duvarlı defektlerde kullanımı farklı materyaller ile birlikte kullanımı yaygın olarak görülmektedir. Yönlendirilmiş doku rejenrasyonu işleminde çeşitli membranlar ile uygulanabilmektedirler(80).

2.3.2.3.2. Deproteinize edilmiş kemik:

Kemiğin organik kısmının ekstrüze edilip sadece kalsiyum fosfat kristalinin kaldığı greft çeşididir. Bu greft materyali doymamış kalsiyum apatitlerden oluşur.

Bu materyal osteoklast hücrelerine maruz kalarak onarım sağlamaktadır. Klinik araştırmalarda kemik ve otojen kemikle birleşiminde başarılı sonuçlar alınmıştır. Bir duvarlı, iki duvarlı ve üç duvarlı defekt bölgelerinde ayrıca implant yerleştirmek oluşturulan sahalarda kullanılmıştır. Sinüs lifting gibi cerrahi işlemlerde demineralize kemik diğer biyomateryallere göre daha çok kullanılır (81).

2.4. OSSEOİTEGRASYON

1978 yılında Branemark ve arkadaşlarının yaptığı osseointegrasyon tanımı günümüzde de geçerliliğini korumaktadır. Bu tanıma göre “canlı kemik dokusu ve implant yüzeyi arasında fibröz bağ dokusu olmaksızın oluşan ve ışık mikroskobu düzeyinde görülen direkt bağlantı” tanımı osseointegrasyonu tanımlamaktadır. Bu osseointegrasyon tanımının yanında ayrıca da implant stabilitesinden de bahsedilmektedir. Birincil (primer) (mekanik tip) ve ikincil (sekonder) (biyolojik tip) stabilite türleri işte bu bahsedilen implant stabilitesinin kademeleridir. Birincil implant stabilitesi; kabaca implant yüzeyinin canlı kemik dokusu ile makro düzeyde mekanik bir bütünleşmesi olarak tanımlanabilir. İkincil implant stabilitesi ise birincil implant stabilitesindeki gibi makro düzeyde bir bütünleşmeden ziyade implant yüzeyine protein absorpsiyonunu takiben bir hücre-hücre iletişimini ile oluşan bir bütünleşme olarak tanımlanabilir. Osseointegrasyon süreci; yara iyileşme safhalarına benzer safhalar içermesinin yanı sıra makro ve mikro düzeyde stabil bir canlı kemik-implant yüzeyi teması; implantın fonksiyonel yüklenmesi için bir ön koşuldur.

Osseointegrasyon safhaları boyunca implant yüzeyinde implant yüzeyi-canlı kemik temasını etkileyen birçok etken bulunur (82). İmplant materyali, implant yüzeyinin makro, mikro ve ultra tasarımı; canlı kemik morfolojisi ve kemik kantitesi, klinisyenin uyguladığı cerrahi teknik ve cerrahi müdahale süresi, İmplantın yükleme koşulları, ayrıca bütün bunların yanında hastaya bağlı olan genel sağlık durumu, malnütrisyon, oral hijyen eksikliği ve sigara gibi kötü alışkanlıkların varlığı osseointegrasyonu direkt etkileyen

faktörlerdir. Başarılı bit osseointegrasyon süreci geçirebilmek için bu yukarda sayılan faktörlerin hepsinin göz önünde bulundurulması gerekmektedir (83).

2.4.1. HEMOSTAZ FAZI

İmplant yerleşiminden birkaç dakika sonra vücut tarafından yaralanmaya karşı oluşan ilk yanıt sıvı kaybını engelleyip kontrol altına almaya çalışmak ve bunu yanında vücudun doku bütünlüğünü korumaya çalışmaktır. Öncelikle komşu damar çeperlerinin geçirgenliği artar, bunun sonucunda damar içerisinde bulunan inflamasyon hücreleri damar dışına çıkar. Hasar gören damardan perfüzyon yaparak dışarı çıkan kan, implant yüzeyine yapışacak olan iyonları ve Albumin, Fibrinojen ve Fibronektin gibi proteinleri taşır. Bunun ardından çevredeki düz kasların kasılması ile bölgedeki hasara uğrayan makro ve mikro damarlar büzülür. Bölgede bulunan vazokonstriktörler, endotel ve yakındaki trombositler; koagülasyon kaskadının instrinsik bölümünü etkinleştirmiş olurlar. Bulunan trombositler, kollajenler, trombin ve fibronektinler pıhtılaşmayı başlatmak için tıkaç oluştururlar. Bu süreçte oluşan kan pıhtısı; daha sonra gerçekleşecek olan kemik iyileşme süreci için geçici bir matris vazifesi görür. Ortamda bulunan trombositler, inflamasyon system yanıtını başlatan PDGF, tromboksan, TGF α ve TGF β gibi sitokinleri ve bulunan büyüme faktörlerini serbestlerler (84,85,86).

2.4.2. INFLAMASYON FAZI

4-6. günde oluşan inflamasyon fazının amacı bölgenin enfekte olmasını engellemek ve iyileşme süreci boyunca oluşacak artıkların uzaklaştırılmasıdır. Bu fazı hücrel sinyaller yönetir. Oluşabilecek enfeksiyonu enellemek için bölgeye ilk gelen hücreler nötrofillerdir, interlökin (IL-1), tümör nekrozu faktör (TNF), transforme edici büyüme faktörü (TGF), PF4 ve bakteriyel ürünler gibi inflamasyon sistemine ait mediatörler artarken ortamda bulunan kan damarları, artmış nötrofil hücrelerinin geçişine izin vermek için vazodilatasyona uğrarlar. Bu esnada prostoglandinler de salgılanmaya hazırlanmış olurlar.

Makrofajlar ortamda bulunan tüm doku artıkları ve fagosit mikroorganizmaları PML (polimorfonükleer asitler) vasıtasıyla temizlerler. Mevzubahis makrofajlar implantasyon cerrahisinden birkaç ay sonrasına dek ortamda varlıklarını sürdürürler. Makrofajların implant fonksiyon esnasındayken implant yüzeyinden kopan oksit partiküllerin fagositoz ile uzaklaştırılması ve implant yüzeyindeki titanyumun dinamik

oksit yüzeyinin çevre biyolojik dokularla etkileşmesinden sorumlu olduğu düşünülmektedir (85,86).

2.4.3. PROLİFERATİF FAZ

İnfamasyon fazını takiben başlayan proliferasyon fazı 2. Günden itibaren başlar ve yaklaşık 10 gün sürer. Daha önceki fazlarda oluşan reaksiyonlara yanıt olarak ortamda bulunan fibroblastlar; ortama tip III kollajen, glikozaminoglikan (GAG) ve fibronectin ihtiva eden geçici bir matris sentezlerler. Bu fazdaki en önemli oluşum yukarda bahsedilen geçici fibrin esaslı hücre arası maddenin (ekstrasellüler matriks) yerini granülasyon dokusuna bırakmasıdır.

Ortamda mevcut bulunan fibroblastkar yeni ekstrasellüler matriks salgısı için öncülük eder. GAG ve proteoglikanların yanı sıra kollajen sentezi de bu fazda gerçekleşmektedir. Yaralanmamış, sağlıklı ve iyileşmiş dokularda tip I kollajen yaygınken bu aşamadki yaygın kolajen tipi kollajen tip III'tür. Mezenkimal hücreler; ortamdaki oksijen konantrasyonuna göre kondroblast, osteoblast ya da fibroblastlara dönüşür. Mevcut haldeki osteoklastlar, aktive olarak kemik iyileşmesi için bir alan oluştururlar. Ekstrasellüler matriste bulunan integrinler ise mevcut hücrelerin implant yüzeyi üzerine sabitlenmesi görevini üstlenirler. Bu fazing sonunda ekstrasellüler matris proteinleri implant yüzeyine absorbe olurlar (84,85,86).

2.4.4. MATURASYON FAZI

Olgunlaşma fazı proliferative fazın devamındaki süreçtir. Ekstrasellüler maddenin matriks metaloproteinaz ve kollajenaz gibi yıkıcı enzimlerin vasıtası ile re-organizasyonu için olanak sağlar. Bu vesile ile oluşan organik matriks, ortamda bulunan kalsiyum ve kalsiyum fosfat iyonları ile mineralleşir. Daha organize olmamış bir kemik dokusu olan "kallus", implant yüzeyindeki girinti-çıkıntılara doğru rastgele büyümüştür. Bu oluşum osseointegrasyonun temeleini oluşturmaktadır. Osteoblast ve Osteoklastlar arasında yaşam boyu devam eden, dinamik ve mekanik uyarılardan etkilenen bir aşama olan yeniden şekillendirme sürecinden sonra, bu "kallus" halindeki kemik yapısı, düzenli lamellar bir şekle sahip olur (84,85,86).

2.5. KEMİK GREFTLERİNİN İYİLEŞME MEKANİZMALARI

2.5.1. KANSELLÖZ KEMİK İYİLEŞME MEKANİZMASI

Cerrahi işlemin peşinden hemen uygulanan greft içerisinde ve çevresinde öncelikle hemoraji oluşur. Çevre dokulardan çeşitli mediatörler salınır.

- PDGFaa
- PDGFbb
- PDGFab
- TGF-b1
- TGF-b2
- VEGF
- EGF

Bu mediatörler inflamasyon sistemi hücrelerinin ve fagositlerin ile mezenşimal pluripotent hücrelerin kemotaksis yoluyla migrasyonunu stimule ederler. Bununla beraber bu mediatörler aynı zamanda endotelial hücrelere, fibroblastlara ve osteoblastlara farklılaşarak ve proliferasyon olarak revaskülarizasyonu ve konnektif dokuların oluşmasını sağlarlar. Greftteki ve alıcı yataktaki damarların anastomozu sonucunda greft uygulanmasını takiben birkaç saat içindere vaskülarizasyon oluşabilir. Kancellöz kemik greftinin revaskülarizasyonunun tamamlanması birkaç hafta içinde gerçekleşir (49).

2.5.2. KORTİKAL KEMİK İYİLEŞME MEKANİZMASI

Kortikal kemik kancellöz kemiğe göre avaskülerdir ve üzerinde çok daha az sayıda canlı hücre barındırır. Greftin ilk iyileşme fazı, kancellöz kemik grefti ile aynıdır. En önemli fark revaskülarizasyon süresinde olup, bu süre kancellöz kemik greftine göre iki kat daha uzun sürer. Revaskülarizasyon ise yaklaşık 2 ayda tamamlanır. Bu fark greftler arasındaki yapısal farktan oluşur. Kortikal kemikte ilk olarak vasküler penetrasyon; osteoklastik aktivitenin peşinden önceden var olan Haversian ve Volkmann kanallarına doğrudur. Haversian kanalları rezorpsiyonla ile genişlerken kemik

apozisyonu başlar. Kortikal kemik grefti zamanla rezorbe olur. Graft; yerine yeni oluşan kemiğe bırakır (50).

2.5.3. VASKÜLER KEMİK İYİLEŞME MEKANİZMASI

Graft, internal vasküler desteğe sahip ise, alıcı sahadan gelen olası beslenememe sonucu nekrotik kemik oluşmaz ve greftin alıcı sahayla birleşmesi kortikal ve kansellöz kemik greftlerine göre çok daha kısa sürede gerçekleşir. Graftin iyileşmesi fraktür iyileşmesine benzer şekilde gerçekleşir (53).

2.6. İMPLANT MATERYALLERİ

1960'lı yıllardan sonra Brånemark tarafından kullanıldıktan sonra dental implantlar, oral sahadaki tekli ya da çoklu diş eksikliklerinin tedavisinde uygulanabilir ve güvenilen bir tedavi seçeneği haline gelmiştir (87).

İmplant materyallerinin başta fiziksel ve kimyasal olmak üzere çeşitli özellikleri; dental implant tedavisinin prognozunu, implant sağ-kalım ve başarısını etkileyen faktörlerdir. Bu özellikler, implantın makro, mikro ve ultra yapısını, yüzey kompozisyonunu ve implantın tasarım faktörlerini içerir (87).

İdeal ve uygulanabilir bir implant materyali, sertlik, mukavemet, korozyon değerleri; aşınma ve kırılma dirençleri olarak da biyolojik olarak uyumlu olmalıdır (55, 56). Uygulanan implanttaki malzemenin fiziksel özellikleri de hazırlanan implantın tasarım ilkelerine uygun olmalıdır. İmplantların üretiminde kullanılan materyaller, kimyasal bileşimleri yahut implantasyon esnasında oluşturdukları biyolojik tepkilere göre sınıflandırılabilir. (89).

Dental implantlar kimyasal olarak metal, seramik veya polimer olarak sınıflandırılabilir.

Implant Material	Common Name or Abbreviation
I. Metals	
Titanium	CpTi
Titanium Alloys	Ti-6Al-4V extra low interstitial (ELI)
	Ti-6Al-4V
	Ti-6Al-7Nb
	Ti-5Al-2.5Fe
	Ti-15 Zr-4Nb-2Ta-0.2Pd
	Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr
	Roxolid (83%-87%Ti-13%-17%Zr)
Stainless Steel	SS, 316 LSS
Cobalt Chromium Alloy	Vitalium, Co-Cr-Mo
Gold Alloys	Au Alloys
Tantalum	Ta
II. Ceramics	
Alumina	Al ₂ O ₃ , polycrystalline alumina or single-crystal sapphire
Hydroxyapatite	HA, Ca ₁₀ (PO ₄) ₁₀ (OH) ₂
Beta-Tricalcium phosphate	β-TCP, Ca ₃ (PO ₄) ₂
Carbon	C
	vitreous,
	low-temperature isotropic (LTI),
	ultra-low-temperature isotropic (ULTI)
Carbon-Silicon	C-Si
Bioglass	SiO ₂ /CaO/Na ₂ O/P ₂ O ₅
Zirconia	ZrO ₂
Zirconia-toughened alumina	ZTA
III. Polymers	
Polymethylmethacrylate	PMMA
Polytetrafluoroethylene	PTFE
Polyethylene	PE
Polysulfone	PSF
Polyurethane	PU
Polyether ether ketone	PEEK

Tablo 2-1 İmplant materyalleri

Dental implant uygulamalarında titanyum ve titanyum alaşımlarının uzun vadeli başarı ve sağkalım oranları, ayrıca bildirilen az sayıda alerjik reaksiyonlar, implantasyon esnasında ve sonrasında klinik olarak kabul edilebilir görünüm; bu materyallerin “altın standart” olarak değer görmesini sağlamıştır (90, 91). Altın, paslanmaz çelik ve krom-kobalt içeren çeşitli metal ve metal alaşımları dental implant uygulamalarında kimi zaman denenmiş olsa da uzun süreli klinik uygulamadaki başarısızlık, başarı oranlarından titanyum ve alaşımları arasında anlamlı olarak görülen farklılık ve kimi materyallerde görülen olumsuz doku reaksiyonları bu materyallerin kullanımını geri plana itmiştir. (89,92).

2.6.1. TİTANYUM VE ALAŞIMLARI

2.6.1.1. TİTANYUM VE ALAŞIMLARININ FİZİKSEL VE MEKANİK ÖZELLİKLERİ

Amerikan Test ve Malzeme Derneği (ASTM) ‘nin sınıflandırmasına göre titanyumun altı farklı sınıfı implant biyomateryali olarak kullanılabilir. Bu altı materyalin arasında, dört farklı dereceli saf titanyum (CpTi) ve iki titanyum (Ti) alaşımı bulunmaktadır. Dört farklı dereceli saf titanyumun mekanik ve fiziksel

özellikleri, metaldeki oksijen kalıntıları sebebiyle farklıdır. İki titanyum (Ti) alaşımı ise Ti-6Al-4V ve Ti-6Al-4V-ELI'dir (ekstra düşük interstisyel alaşımlar). Saf titanyum malzemelerine ticari olarak; saf Sınıf I, Sınıf II, Sınıf III ve Sınıf IV titanyum denir. Bu bahsedilen saf titanyum ayrıca ticari olarak da alaşımsız titanyum olarak adlandırılır ve genellikle eser miktarda oksijen, azot, karbon ve demir gibi bazı elementleri içerir. Bu eser miktarda bulunan elementler, saf titanyumun mekanik özelliklerinde gözle görülür bir fark oluşturur ve farklı miktarlarda bulunarak sınıflandırma olarak Grade I'den Grade IV'e kadar fark oluşturlar (93).

Material	Modulus (GPa)	Ultimate Tensile Strength (MPa)	Yield Strength (MPa)	Elongation (%)	Density (g/cc)	Type of Alloy
Cp Ti grade I	102	240	170	24	4.5	α
Cp Ti grade II	102	345	275	20	4.5	α
Cp Ti grade III	102	450	380	18	4.5	α
Cp Ti grade IV	104	550	483	15	4.5	α
Ti-6Al-4V- ELI	113	860	795	10	4.4	$\alpha + \beta$
Ti-6Al-4V	113	930	860	10	4.4	$\alpha + \beta$
Ti-6Al-7Nb	114	900-1050	880-950	8-15	4.4	$\alpha + \beta$
Ti-5Al-2.5Fe	112	1020	895	15	4.4	$\alpha + \beta$
Ti-15Zr-4Nb-2Ta-0.2Pd	94-99	715-919	693-806	18-28	4.4	$\alpha + \beta$
Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr	80	911	864	13.2	4.4	β

Tablo 2-2 İmplant materyallerinin özellikleri

Dental implant materyali olarak kullanılan titanyum alaşımları üç farklı yapısal biçimde bulunur: alfa (α), beta (β) ve alfa beta ($\alpha + \beta$). Alfa (α) alaşımları, hegzagonal sıkı paket (HSP) (İngilizce: hexagonal close-packed – HCP) yapıya sahipken, beta alaşımları (β) Hacim Merkezli Kübik yapı (HMK) (body centered cubic – BCC) yapısına sahiptir. Bu farklı yapılar; saf titanyumun alüminyum ve vanadyum gibi çeşitli elementler ile belirli konsantrasyonlarda karıştırıldığında ortaya çıkar. Alüminyum bir alfa faz stabilizatörüdür, vanadium ise bir beta-faz stabilizatörüdür. Bununla beraber, alüminyum alaşımın gücünü artırırken, yoğunluğunu azaltır. Vanadyum ise alaşımda geçiş elementi özelliği sebebiyle tane oluşumunu azaltır. Saf titanyumun (Ti) β fazına allotropik dönüşümü 882 ° C'de gerçekleşir (62). Titanyuma alüminyum yahut vanadyum ilavesiyle, α fazına dönüşüm belli bir sıcaklık aralığında değişir. Hem α hem de β formları materyalin kompozisyonu ve yapılan ısıtılma işlemine bağlı olarak bir arada bulunabilir (88, 93).

$\alpha + \beta$ kombinasyonlu alaşımlar, dental implantların imalatı için en yaygın alaşımlardır. Bu alaşımlar içinde de en yaygın olarak kullanılan alaşım şekli % 6 alüminyum ve % 4 vanadyumdan (Ti-6Al-4V) 'dır. Oluşturulan bu alaşımlara yapılan ısıtıl işlem, alaşımın mukavemetlerini arttırır. Bu işlem sayesinde alaşımlar; uygun mekanik ve fiziksel özelliklere sahip olmaktadır. Bu şekilde oluşturulan alaşımlar diğer alaşımlara nispeten düşük bir yoğunluğa sahiptir. Ancak bu alaşımlar güçlüdür, yorulmaya ve korozyona karşı oldukça dirençlidir. Bu alaşımlar kemikten daha serttir ancak, saf titanyum haricinde alaşımların elastik modülleri; kemiğe diğer dental implant materyallerinden daha yakındır. Kemik-implant temas yüzeyinde düşük elastik modülü aranan bir özelliktir çünkü daha uygun bir stres dağılımı elde edilmiş olur (91, 95).

Vanadyum elementi ile ilgili toksisite ve zehirlenme bulguları sebebiyle Ti-6Al-7Nb ve Ti-5Al-2.5Fe gibi vanadyum içermeyen $\alpha + \beta$ alaşımları dental implant materyali olarak geliştirilmiştir. Bununla beraber Al ve V içermeyen ve Nb, Ta, Zr ve Pd gibi toksik olmayan ve düşük elastik modülü olan elementlerden oluşan titanyum alaşımları da geliştirilmektedir. Bu alaşımların elastik modülleri, $\alpha + \beta$ alaşımlarına göre daha elverişlidir. Mevzubahis alaşımlarının elastik modülü (E), 55 ila 85 GPa arasındadır. Bu değerler, $\alpha + \beta$ alaşımlarından (113 GPa) çok daha düşüktür. Bununla beraber 17-28 GPa arasında değişen elastik modülü değerlere sahip kortikal kemik ve 0,5-3 GPa arasında değişen elastik modülüne sahip süngerimsi kemik değerlerine daha yakındır. (91, 96).

2.6.1.2. DENTAL İMPLANTLARLA İLİŞKİLİ TITANYUM DUYARLILIĞI

Titanyum materyalinin istenmeyen bir konak-hücre reaksiyonu başlatabileceği konusunda bazı iddialar oluşmuşsa da, literatürde bu iddiaları destekleyecek çok az sayıda kanıt niteliğinde çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar ise az sayıda vaka çalışmasına ve yine az sayıda izole klinik raporlara dayanmaktadır (97, 98). Aşırı duyarlılık reaksiyonları ile titanyumun yüzey korozyonu ile arasındaki olası bir ilişki literatürde tartışılmıştır (99, 100). Çeşitli metal iyonlarının dental implantlardan mukozal temasların ardından serbestlenip daha sonra protein kompleksleri oluşturup bu yapılar ile birlikte aşırı duyarlılık reaksiyonlarına sebep olan alerjenler oluşturabileceğini ileri süren çalışmalar bulunmakla beraber, (101) Başarısız olan, içeriğinde implant bulunan hayvan çalışma modellerinde peri-implant dokularda, pulmoner dokularda ve ilgili bölgesel lenf

düğümlelerinde artmış bir titanyum konsantrasyonu tespit edilmiştir (102). Benzer şekilde titanyumdan yapılan ama başarısız olan kalça protezi tedavisi uygulanmış hastaların kan konsantrasyonlarında daha yüksek derecede titanyuma rastlanmıştır. Bu bulguların dental implant uygulamaları ile korelasyonunun incelendiği yeterli sayıda klinik çalışma ne yazık ki bulunmamaktadır (103, 104).

Titanyum inert bir materyal olsa da titanyum alerjisi, tanımlanmış bir terimdir. Ürtiker, atopik dermatit, deri veya mukozanın pruritusu, kırıkların iyileşmemesi, ağrı ve nekroz şeklinde tanımlanmıştır (105, 106, 107).

Non-spesifik immün baskılanma veya aşırı baskılanan immün yanıtların, kimi hastalarda titanyuma farklı reaksiyonlar ortaya çıkardığı da bildirilmiştir. Bununla birlikte, bu bulgularının ağız boşluğuna ve dental implantlara etkisi tartışmalıdır (108). Dental implantların; ortopedik implantlara kıyasla çok daha küçük bir kemik-implant temas yüzeyine sahip olması bir neden olabileceği gibi, kemiğin çok düşük reaktivite potansiyeline sahip oluşu da düşük bir immün cevaba neden olarak gösterilebilir (108).

İmplant yüzeylerinde ağız boşluğunda implantasyon esnasında oluşabilen tükürük glikoprotein tabakası, bu aşırı duyarlılık reaksiyonuna karşı koruyucu bir görev görebilir (109, 110).

Literatürde dental implant titanyumunun aşırı duyarlılığının sonuçları; dermatit, döküntüler, yüzeysel egzama, non-keratinize ödematöz hiperplastik diş eti ve enfeksiyon olarak tanımlanmıştır. Dental titanyum implantlara karşı oluşan alerjik reaksiyon insidansının, implant osseointegrasyonunu etkileyen bir etiyolojik faktör olarak nitelendirilebileceğini ileri süren çalışmalar ve derlemeler mevcuttur (108, 111, 112, 113).

Özetle, dental titanyum implantları mevcut hastalarda alerjik reaksiyonların klinik önemi tartışmalıdır. Konuyla ilgili yapılan iki farklı derlemede farklı sonuçlar bildirmiştir. İlkinde, titanyum dental implant uygulamış hastalarda titanyumun alerjik reaksiyonların görülmesine etkisinin kesin olarak kanıtlanmadığı sonucuna varılırken; diğer derlemede titanyumun aşırı duyarlı hastalarda aşırı duyarlılığı indükleyebileceğini ve bununla beraber implant kaybına dahi neden olabileceği ileri sürülmüştür (99, 113).

2.6.1.3. TİTANYUM BAŞARISIZLIK DURUMLARI

Titanyum implant kırıkları, % 0 - % 6 arasında insidans gösteren bir durumdur. İmplant kırılmasının olası nedenleri üç ana kategoride değerlendirilebilir:

- Tasarımdaki Hatalar
- Üretimdeki Hatalar
- İmplant-dayanak-protetik parka arasında pasif olmayan bir uyum veya aşırı yüklemeler (114, 115).

İmplantlarda oluşan kırıkları inceleyen retrospektif bir çalışmada, vida gevşemesi gerçekleşen, parsiyel dişsizlik restorasyonlarında kullanılan ve ticari olarak Grade I titanyumdan yapılan implantlarda kırık olgusunun daha yaygın oldu gösterilmiştir. (116). Protetik tasarımdaki hatalar, aşırı oklüzal yükler ya da hastada bulunan parafonksiyonlar vida gevşemesine sebep olan ilk etkenlerdir. (117).

Dengeli olmayan yüksek oklüzal yüklerden kaynaklanan temaslardan ötürü Literatürde, titanyum implant başarısızlığının mekanizması; sürekli yüksek oklüzal yüklerden kaynaklanan metal yorgunluğu olduğu ileri sürülmektedir (118, 119).

Artmış peri-implant marjinal kemik kaybının, burkulma momentlerinin ve dental implant üzerine gelen tork kuvvetinin yol açtığı öngörülmektedir. Bu da, implant hareketliliğinin artmasına ve nihayetinde implantın mekanik başarısızlığına katkıda bulunur. Kırık titanyum implantlarda yapılan SEM analizleri, büyük artımlar veya porozite mevcut olmadan mikroyapının tutarlı bir şekilde dağıldığını ortaya koymaktadır ve üretim hataları nedeniyle implantın başarısız olma ihtimalini ortadan kaldırmaktadır (114,115).

İmplant yüzeylerindeki kırıklara sebebiyet veren implant yivlerinde başlayan stres birikimi; tipik olarak dayanak vidası tarafından desteklemeyen implant yüzey bölümlerinde başlayan yorgunluk belirtileriyle uyumludur. Bu yorgunluğu takip eden çatlak, direct olarak yivi takip eder ve implant yüzeyini çevrelediğinde, komşu yivler üzerinde yırtılma benzeri kırık oluşur. Mevzubahis kırılma yüzeyi, plastik olarak

deforme olduğunda ise bu durum klasik fraktografik yüzey analizi özelliklerini ayırt etmeyi zorlaştırır (115, 116).

Bununla beraber günümüzde; implant yüzeyindeki kırığın implant çevresindeki marjinal kemik kaybının bir sebebi mi yoksa bir sonucu mu olduğu ya da bu iki durumun negatif ya da aşırı yüklenme kuvvetinin bir sonucu olup olmadığı belirli değildir (120). Titanyum alaşımlı implantların çevredeki biyolojik ortamdan H iyonu absorbe edebileceği. Bu durumun da implatın kırılmasına yatkınlığı arttırdığına dair görüşler mevcuttur (121).

Titanyum implant altyapılı değerli metal alaşım restorasyonların titanyum implantlar ile arasında oluşan galvanik korozyon; bölgede sitotoksik bir tepkime oluşturur. Bunun yanında bu korozyon yukarda bahsedilen yorgunluk kaynaklı çatlaklara sebebiyet vermektedir. Bu tür bir tepkimenin peri-implant kemik rezorpsiyonunu hızlandırması ve peşinden fonksiyon altındaki implantın üzerinde burkulma kuvvetinde artışın implant sağkalımı ve başarısında azalma ile sonuçlanacağı yapılan çalışmalarda ileri sürülmüştür (117). Bütün bunlara rağmen bu galvanik korozyona bağlı olan kimyasal teoremleri başarısızlıkta etkin bir faktör olarak destekleyen az sayıda kanıt bulunmaktadır.

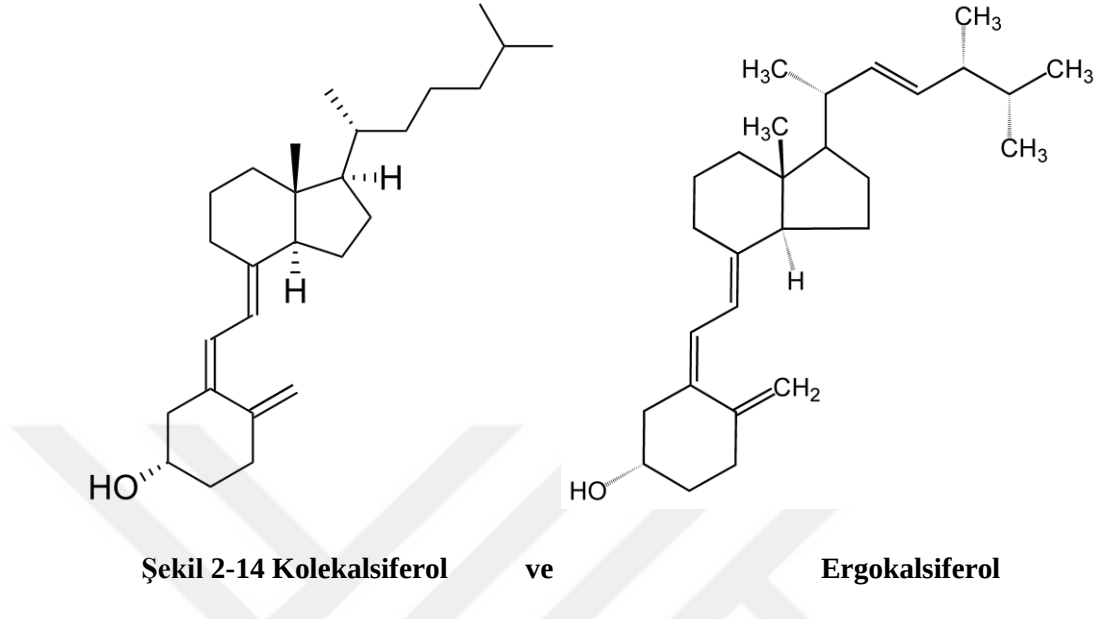
2.7. D VİTAMİNİ (1, 25 DİHİDROKSİVİTAMİN- D₃)

2.7.1. D VİTAMİNİ METEBOLİZMASI

1918 yılında Sir Edward Mellanby ve arkadaşlarının; bebeklerde raşitizimi morino balığının karaciğer yağı ile engellemesini ardından, (122) Mc Collum ve arkadaşları daha önce isimlendirilmemiş bu faktörü yağda eriyen esansiyel vitaminlerden biri olan vitamin D olarak adlandırmıştır (6). Bu faktör yetersiz kalsiyum alımından kaynaklanan ve gelişim hastalığı olan raşitizm'in tedavisinde kullanılmıştır. (6, 2).

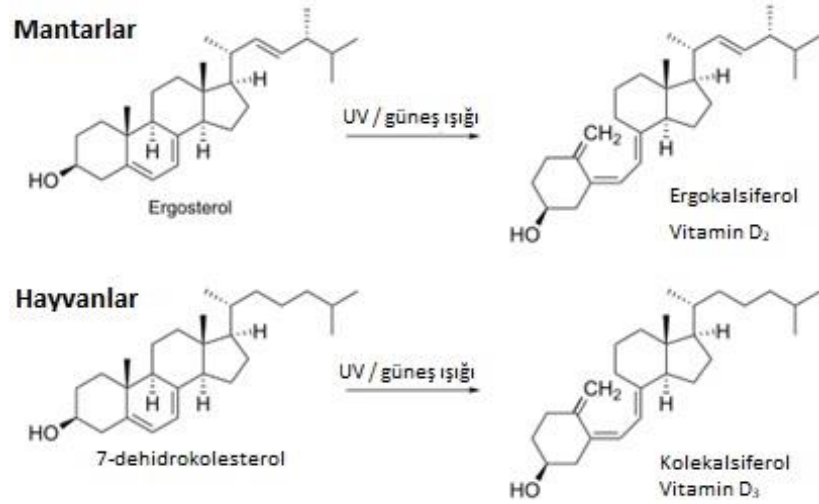
D vitamini 2 farklı prekürsörü ihtiva eder; ilki deride sentezlenen D₃ formu kolekalsiferol (C₂₇H₄₄O) ki D₃ formunun asıl kaynağı UV ışınlarıdır; diğeri ise besinlerle alınan D₂ formu ergokalsiferol (C₂₈H₄₄O). D₂ formu, D₃ formundan 24- metil grubunun olması ve 22.ve 23. karbonlarda çift bağ olması ile farklılık gösterir. D₃ formu; D₂ formuna göre daha aktiftir, plazma yarı ömrü daha uzundur ve proteinlere bağlanma

özelliği daha fazladır. Bütün bunlarla birlikte D₃ formu sentetik olarak da elde edilebilir (5,6).



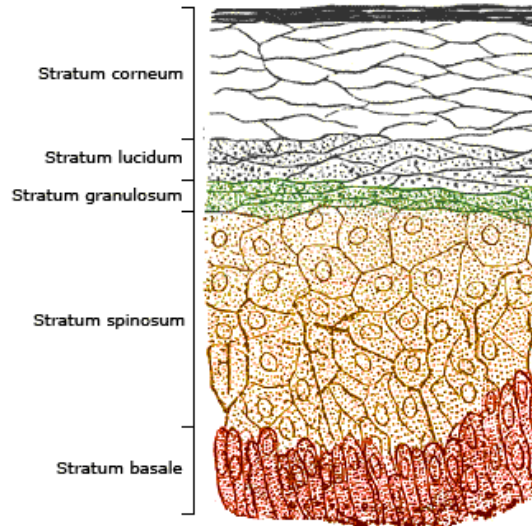
Holick, M. F. (1994). McCollum Award Lecture, 1994: vitamin D—new horizons for the 21st century.

Epidermise penetre olan UV ışınları (özellikle 290-315 nm dalgaboyu aralığındaki ışınlar bu reaksiyonu başlatırlar), derideki stratum basale ve stratum spinosumda bulunan inaktif provitamin D₃ (7-dehidrokolesterol)'ü fotoliz ile previtamin D₃'e dönüştürür. Bu aşamadan sonra vitaminin metabolik aktivasyonunun ilk adımı karbon 25 hidroksilasyonudur. Öncelikli olarak karaciğerde gerçekleşen bu işlemin vücutta deri, bağırsak, böbrekler de de gerçekleştiği çalışmalarda gösterilmiştir. 7-dehidrokolesterol karaciğerde 25. karbon atomunun hidroksilasyonu ile 25-hidroksivitamin D₃'e (25(OH)D) (Kalsifediol) (Kalsidiol) dönüşmektedir. 25-hidroksivitamin D'nin dolaşımdaki seviyesine karaciğer dışı kaynakların katkısı belirsizdir (5,6).



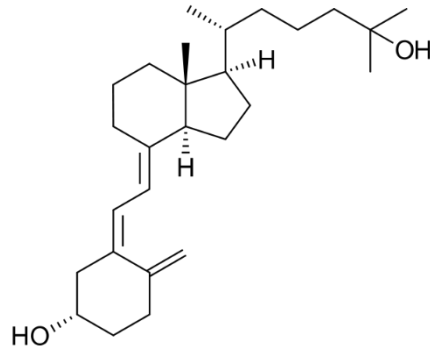
Şekil 2-15 Mantar ve Hayvan vücutlarındaki D vitamini sentezi

Holick, M. F., Binkley, N. C., Bischoff-Ferrari, H. A., Gordon, C. M., Hanley, D. A., Heaney, R. P., ... & Weaver, C. M. (2011). Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 96(7), 1911-1930.



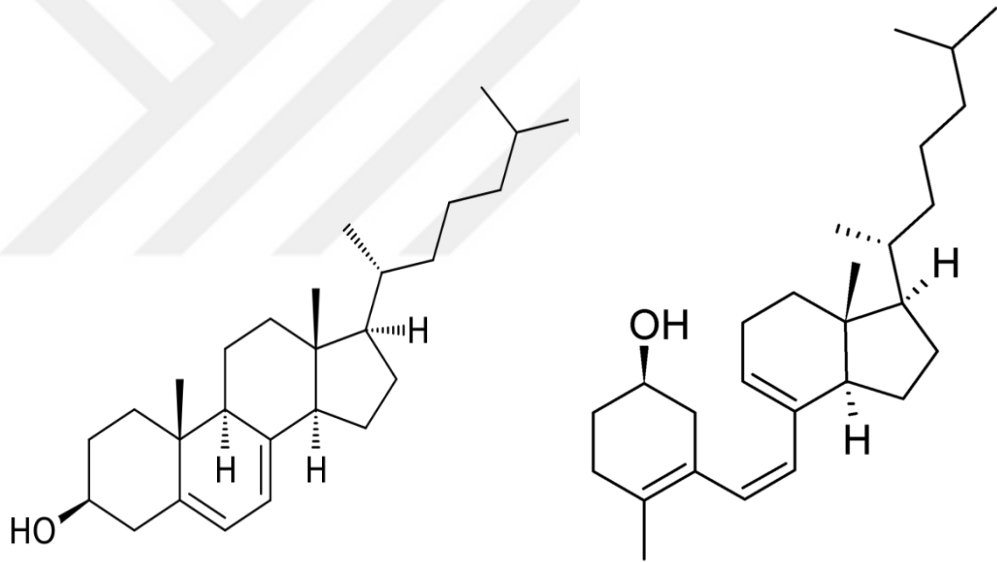
Şekil 2-16 Deri tabakaları

Holick, M. F., Binkley, N. C., Bischoff-Ferrari, H. A., Gordon, C. M., Hanley, D. A., Heaney, R. P., ... & Weaver, C. M. (2011). Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 96(7), 1911-1930.



Şekil 2-17 Kalsidiol

Holick, M. F. (1994). McCollum Award Lecture, 1994: vitamin D—new horizons for the 21st century.

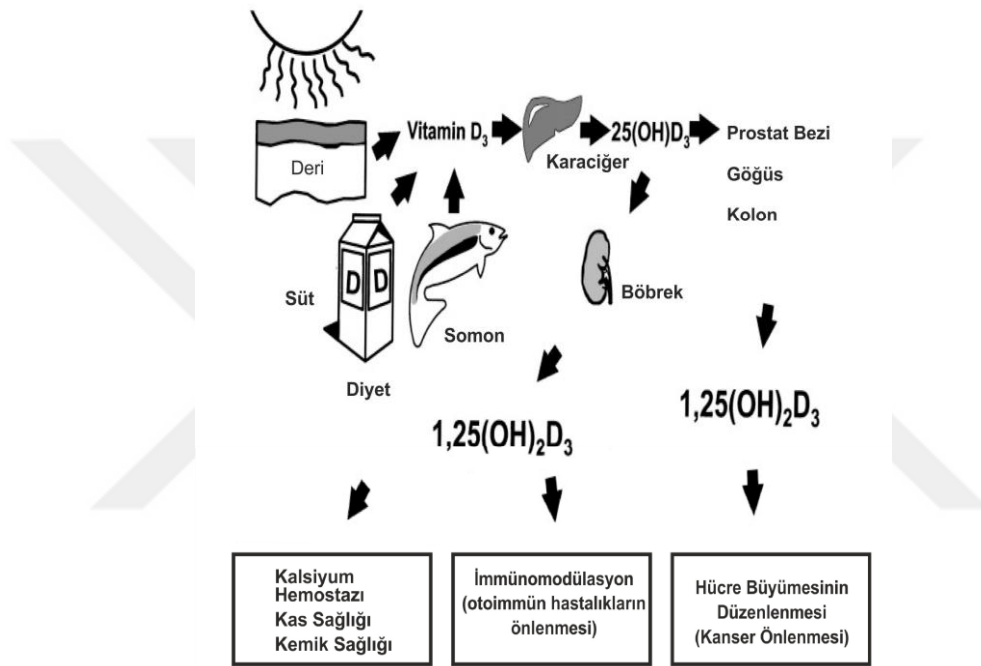


Şekil 2-18 inaktif provitamin D₃ (7-dehidrokolesterol) ve Previtamin D₃

Holick, M. F. (1994). McCollum Award Lecture, 1994: vitamin D—new horizons for the 21st century.

Vitamin D bir kez diyetle alındığında veya UV ışının varlığında 7-dehidrokolesterolün termal ve fotokimyasal dönüşüm yoluyla deride sentezlendiğinde (6), karaciğerde 1,25(OH)₂D₃'e dönüşür ve böbrekte vitamin D bağlayıcı reseptöre (VDR) bağlanarak hücre içine alınır. Kalsifeidol1- α hidroksilaz (1- α basamağı) ile biyolojik aktif form olan 1,25 dihidroksivitamin D₃[1,25(OH)₂D₃]’e dönüştürülür. Bu aktif form, hedef organlarda (bağırsak, böbrek, kemik ve paratiroid gibi) etkisini vitamin

D reseptörlerine (VDR) bağlanarak göstermektedir (4). 1 alfa hidroksilaz enzimi D vitamini sentezinde anahtar enzimdir. Kalsifeidolböbreklerde vitamin D'nin en aktif şekli olan $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 'e (kalsitriol) hidroksillenir. Bu metabolit $25(\text{OH})\text{D}$ 'den 100-500 kez daha aktiftir ve bağırsaktan kalsiyum emilimini artırır. Kalsitriol yeterli düzeye ulaştığında 24 hidroksilaz enziminin salınımını arttırmakta, bunun üzerine eklenen kısmı böbreklerde 24,25-dihidroksivitaminD₃ ($24,25 (\text{OH})_2\text{D}_3$) şekline dönüştürülmekte ve sonra katabolize edilmektedir.



Şekil 2-19 Vitamin D₃ üretimi, metabolizması ve biyolojik fonksiyonları

Atas A., Çakmak A., Soran M. (2008) D Vitamin Metabolizması ve Rikets Hastalığı. Bakırköy Tıp Dergisi. 4: 1–7

2.7.2. D VİTAMİNİ KAYNAKLARI

➤ *Güneş ışınları:* Sadece insan değil, çoğu yaşayan canlı metabolizması için en önemli D vitamin kaynağı, güneş ışınlarıdır. Güneşten gelen Ultraviol ışınlarına 20 dakikada maruz kalınması durumunda deride günlük 200 IU D vitamini sentezlenebilmektedir.

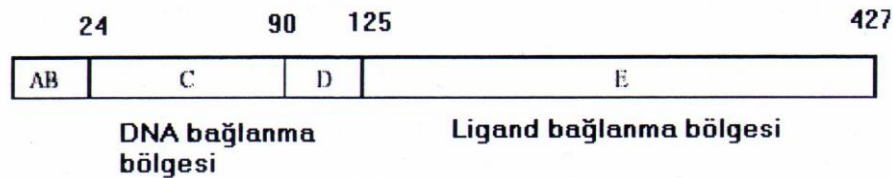
İnsan vücudunda bulunan D vitaminin büyük çoğunluğu (%90 ile %95'i arasında) güneş ışığı vasıtasıyla sentezlenebilmektedir. Özellikle beslenme diyetine ilave edilmedikçe alınan D vitamini, vücut için çok büyük bir fark arz etmez. Metabolizmanın

cilt bölgesi güneş ışığından yeterince faydalandığı takdirde ilave olarak D vitamin alımı ihtiyacı yoktur (123, 124).

- *Besinsel kaynaklar:* Süt, Balık yağı, yumurta sarısı ve tereyağı gibi hayvansal kaynaklı besinler; özellikle koyu yapraklı yeşil sebzeler ve mantarların birçoğu D vitamini ihtiva etmektedir. İnsan sütünde ise 25-hidroksikolekalsiferol bulunmaktadır. Yeni doğanlarda karaciğerin kolekalsiferolün ilk hidroksilasyonunun yapamayacak kadar gelişmemiş olması bu durumu açıklayan bir görüştür (122).

2.7.3. D VİTAMİNİ RESEPTÖRÜ (VDR)

D vitamininin vücuttaki kalsiyum dengesinin sağlanması, hıcre çoğalması ve hücre farklılaşması gibi birden fazla hedef dokuda pekçok biyolojik rolü bulunmaktadır. Bu rollerinin pek çoğunu ise Vitamin D Reseptörü üzerinden uyguladığı bilinmektedir. (123). D vitamininin aktif bir formu olan 1,25 dihidroksivitamin D₃'ün nükleer reseptör süperfamilyasından biyolojik mediatörü olan VDR; (124) bunun yanında bağlayıcı indüklenabilen transkripsiyon faktörü vazifesi de yerine getirir. 123).

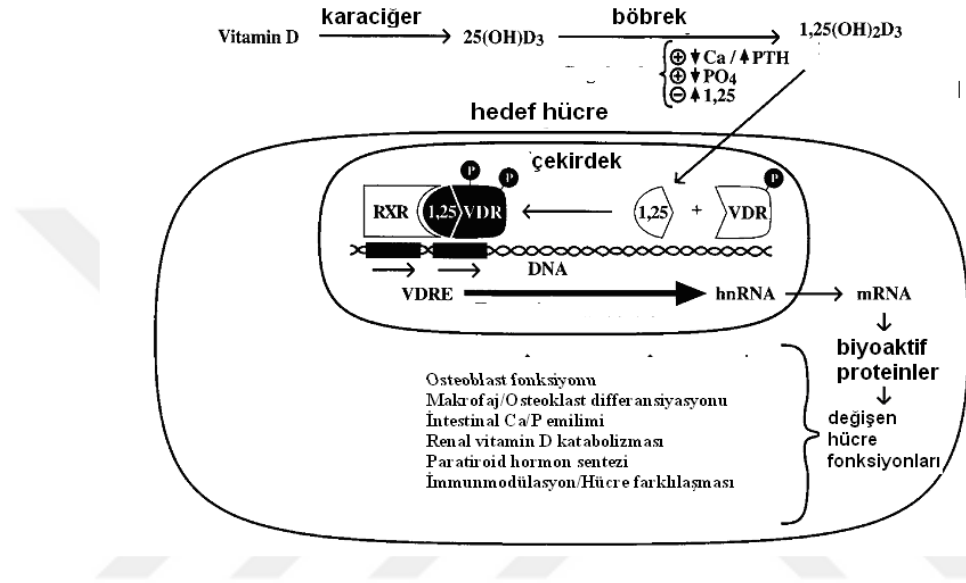


Şekil 2-20 D vitamini reseptörünün yapısı

Atas A., Çakmak A., Soran M. (2008) D Vitamin Metabolizması ve Rikets Hastalığı. Bakırköy Tıp Dergisi. 4: 1–7

Yapılan araştırmalara göre insanlarda 48 adet nükleer reseptör, ligand bağlama özelliklerine göre üç gruba ayrılmıştır. İlk grup *homodimerler* olarak adlandırılmış olup bu reseptörler endokrin sinyallere aracılık eden steroid hormon reseptörleridir. Bu reseptörler minerokortikoid, glukokortikoid, östrojen ve progesteron reseptörleri içerirler. İkinci grupta metabolik sensörler yer alır ve bu reseptörler başlangıçta yetim reseptörler olarak tanımlanmışlardır (125). Yağ ve safra asitleri ayrıca oksisteroller bu reseptör

grubundandır. Bu metabolitlerin reseptörleri, retinoid X reseptörleri (RXR) ile *heterodimerleri* oluşturmaktadır. Yetim reseptörlerin üçüncü grup ile bilinen fizyolojik bir ligandı yoktur ve fosforilasyonu içeren ligand bağımlı mekanizmalar tarafından düzenlenebilirler. VDR'nin hem litholik asit gibi metabolitlere hem de 1,25 dihidroksivitamin D₃'e karşı cevabı, VDR'nin endokrin reseptör ve metabolik sensör işlevselliğine sahip olduğunu gösterir (124).



Şekil 2-21 D vitamininin hedef hücrede VDR aracılığıyla etkileri

Atas A., Çakmak A., Soran M. (2008) D Vitamin Metabolizması ve Rikets Hastalığı. Bakırköy Tıp Dergisi. 4: 1-7

1,25 dihidroksivitamin D₃-VDR kompleksi nükleusta retinoik asit X reseptörü ile birleşerek DNA üzerindeki vitamin D cevap elementi (VDRE) bölgesine bağlanarak kalsiyum bağlayıcı proteinlerin sentezini tetikler. Bu reaksiyon zinciri tetiklemesi sonucu bağırsaklardan kalsiyum emilimi gerçekleşmektedir (4). Genellikle her gen için farklı VDRE rol almaktadır. VDRE, vitamin D'nin hormon formu olan Kalsitriol'ün DNA'ya bağlanacak kısmı ile bağlanır ve onun hetero ya da homodimerizasyonunun oluşmasına aracılı olur. VDR homodimeri (VDRXVDR), VDR heterodimere (VDRXRXR) nazaran osteokalsin gen ekspresyonunu düzenlenmesinde daha etkindir (126).

Kalsiyumun diyetteki alımı; VDR gen ekspresyonu üzerinde iki farklı etkiye olabilir, çünkü diyetle düşük kalsiyum alımı üzerinde Paratiroid Hormon (PTH) seviyesinin eş zamanlı artışı ile transkripsiyonel bir baskı sonucu, Kalsitriol tarafından VDR gen ekspresyonunun homolog stimülasyonu açıkça meydana gelmez (127; 126).

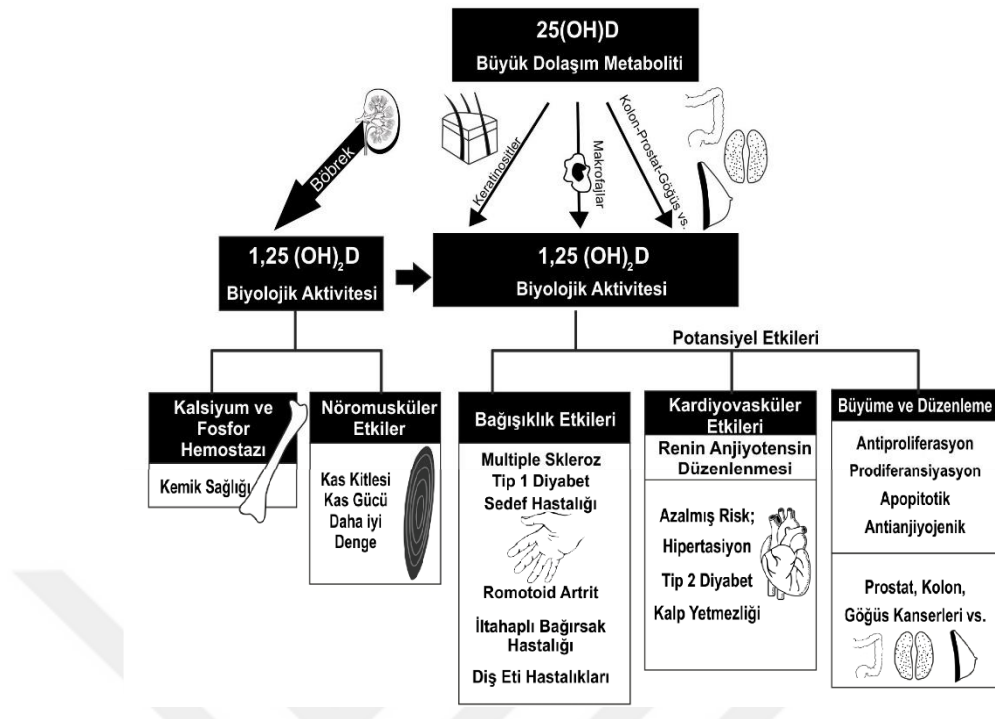
D vitamini eksikliği; diyetle alınan fosfor ve kalsiyumun yetersiz emilimine sebep olur. Bu durum ise osteomalazi ve raşitizm kadar giden durumun önüne geçmek için PTH sekresyonunu arttırıp kemik-kalsiyum depolarını harekete geçirir (128).

VDR genindeki mutasyon sonucu D vitamini dirençli kalıtsal raşitizm'e sahip (HVDRR) VDR-0 fareler; raşitizm ve hipokalsemi ile karakterize HVDRR fenotipi sergilemişlerdir (Makishima ve Yamada, 2005). Bu bulgular D vitamini eksikliği ve HVDRR ile ilintili kemik mineralizasyonunda anormalliğin bağırsakta bozulmuş kalsiyum emilimine bağlı olduğunu göstermektedir (129).

VDR ilk olarak klasik D vitamini hedef organları olan ve vücuttaki mineral dengesi ile ilgili olan kemik ve böbrek gibi organlarda ayrıca paratiroid bezlerde de bulunmuştur. Daha yakın zamanda yapılan araştırmalar ile diğer birçok doku ve hücre tiplerinde de tespit edilmiştir. Bu klasik olmayan D vitamini hedef organları; hücre farklılaşması indüksiyonu, hücre büyümesi inhibisyonu, diğer hormonal sistemlerin kontrolü olan immün yanıtın düzenlenmesini kapsayan çeşitli biyolojik faaliyetlerde Kalsitriol'e yanıt vermektedir. Bu faaliyetler; immün fonksiyon bozukluğu (otoimmün hastalıklar), endokrin sistem bozuklukları (hiperparatiroidizm) ve hiperproliferatif bozukluklarda (lösemi, kanser, sedef hastalığı) gibi birçok çeşitli bozukluklarda Kalsitriol'ün yeni terapötik uygulamalarını öne sürmüştür (130).

2.7.4. D VİTAMİNİNİN ETKİLERİ

D vitamini, bağırsakta fosfor ve kalsiyum emilimini sağlayarak Paratiroid Hormon ile birlikte bu iki mineralin vücuttaki düzeyini fizyolojik bir aralıkta tutmaktadır. Bu etkileriyle birlikte D vitamini, kemik mineralizasyonunu optimal düzeyde tutarak vücutta metabolik ve nöromusküler bir stabilite sağlamaktadır (3).



Şekil 2-22 1,25-dihidroksivitamin D' nin endokrin, otokrin ve parakrin fonksiyonları

Atas A., Çakmak A., Soran M. (2008) D Vitamin Metabolizması ve Rikets Hastalığı. Bakırköy Tıp Dergisi. 4: 1–7

Böbrekler Kalsifeidol'ü Kalsitriol'e dönüştürmek için endokrin system üyesi olarak çalışır. Kalsitriol, bağırsaklarda kalsiyum ve fosfor emilimini uyararak kemik doku sağlığı için kalsiyum düzenleyici işlevini yürütür. Kalsitriol'ün dolaşımdaki seviyesi, VDR'ye sahip ancak kalsiyum homeostasında ve kemik doku sağlığı düzenlenmesinde bir işlevi olmayan diğer hücrelerin ve dokuların aktivitelerini ise etkileyebilir. Bunlarla beraber; canlı doku hücreleri ile yapılan in-vivo çalışmalarda ise pek çok doku ve hücre VDR'yi salgılamaz fakat böbrek ile aynı 1α hidroksilaz enzimini salgılar. Bu sebepten ötürü akciğer ve prostat gibi vücuttaki pek çok organın lokal olarak büyüme ve farklılaşma gibi fonksiyonları düzenlemeye yardımcı olmak için Kalsitriol ürettiği ileri sürülmektedir. Güneşten gelen gerekli UV ışınlarına düşük rakımda maruz kalmak ve Kalsifeidol'ün yüksek serum düzeyleri ile kronik hastalık insidansında azalma ile ilişkisi, Sebep sonuç ilişkisini açıklamaya yardımcı olabilir.

İntestinal kalsiyum emilimi azaldığında Kalsitriol; osteoklastların aktivitesini artırarak kemik-kalsiyum mobilizasyonunu hızlandırır (131). İntestinal fosfor emilimi ise D vitaminine daha az bağımlıdır. Buna rağmen D vitamini eksikliğinde PTH düzeyi artarak fosforun renal emiliminin azalmasına neden olur. D vitamini eksikliğinde gelişen

hipofosfateminin nedeni artmış PTH düzeyidir. D vitamini kemikte osteoblast, osteoklast ve osteoprogenitör hücrelerin oluşumu üzerinde etkin bir rol oynamaktadır. Osteoblastlar, osteokalsin üretimini arttırarak kemik mineralizasyonunda önemli bir etken olurken; mineralizasyonda bir diğer önemli rolde olan alkalen fosfataz (ALP) üretimini de arttırmaktadır. D vitamini, bunlarla beraber serum kalsiyum ve serum fosfor seviyelerini de arttırır. İntestinal kalsiyum emiliminin azaldığı durumlarda Kalsitriol, osteoklastların aktivitesini arttırarak kemikten kalsiyum mobilizasyonunu arttırır. Hipokalsemi, ardından sekonder paratiroid hormon (SPTH) artışı ile kalsitriol sentezini uyarır. Kalsitriol; ilgili hücrelerde proliferasyonun inhibisyonu ve diferansiyasyonuna neden olmaktadır (131, 132).

2.7.5. D VİTAMİNİ EKSİKLİĞİ

İnsan ve hayvan vücutlarında bulunan D vitamininin çoğunluğu güneş ışınlarındaki 290-315 nm dalga boyuna sahip mor ötesi ışınları vasıtası ile deride sentezlenir. Vücutta yeterince provitamin D₃ (7-dehidrokolesterol) varlığında; güneş ışığının deri ile münasebeti engellenmedikçe ihtiyaç duyulan tüm D vitamini deride sentez edilerek karşılanabilir. Vitamin D'nin dolaşımdaki en önemli formu olan Kalsifeidol; vitamin D'nin güneş ışığının deri ile münasebeti ile üretilen veya diyet vasıtası ile alımın her ikisinin toplamıdır (2,4,5,6,).

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (ESFA) tarafından belirtilen referans aralığına göre; diyetle alınması gereken günlük vitamin D miktarı 0-12 ay arasındaki bebeklerde 10 µg, 1-10 yaş arasındaki çocuklarda 15 µg, 11-17 yaş arasındaki çocuklarda 15 µg, yetişkinlerde 15 µg, hamile ve emzirenlerde ise 15 µg'dir. Tolere edilebilen üst sınır ise 0-12 ay arasındaki bebeklerde 25 µg, 1-10 yaş arasındaki çocuklarda 50 µg, 11-17 yaş arasındaki çocuklarda 100 µg, yetişkinlerde 100 µg, hamile ve emzirenlerde ise 100 µg'dir (133).

Benzer şekilde serum 25-hidroksikolekalsiferol referans değeri için ng/mL cinsinden <15 değeri ciddi eksiklik, 15-80 değeri optimal, >80 değeri ise muhtemel bir toksisiteyi işaret eder.

D vitamini yeterliliği, Ca ve PTH arasındaki hassas denge nedeniyle PTH yükselmesine sebep olmayacak 25-OH D vitamin düzeyi saptanarak

değerlendirilmektedir. Erişkinlerde yapılan çalışmalarda 25-OH D vitamin seviyesi 15 ng/ml dan az olduğunda PTH seviyesinin arttığı gözlenmiştir, bu nedenle 15 ng/ml değeri ‘eşik değer’ olarak kabul görmektedir. 25-OH D vitamini düzeyi 11 ng/dl’nin altına düştüğünde 1,25 (OH)₂ D vitamini düzeyi artmakta ve bu artışın etkisiyle kemiklerden Ca mobilizasyonu sağlanarak kompanzasyon sağlanmakta, ancak serum Ca düzeyi normale dönerken kemik mineralizasyonu bozulmaktadır (134). 25-OH D vitamini eksikliği çocuklarda raşitizm, yetişkinde osteomalaziye yol açan kemik demineralizasyonuna sebep olur. Dünya da 1 milyar kişide D vitamini eksikliği ya da yetersizliği olduğu düşünülmektedir (135, 136).

Organizmadaki D vitamininin büyük bir kısmı güneş ışığı tarafından fotolizle oluştuğundan kuzey bölgelerinde yaşayanlar, koyu tenli kişiler, geleneksel kapalı giyinen toplumlar, kapalı alanlarda bulunanlarda D vitamini eksikliği daha sık görülür. Ayrıca 70 yaş üstü erişkinler, D vitamini metabolizmasını etkileyen ilaç kullananlar ve obezlerde risk daha fazladır. Obezlerde D vitamini adipoz dokuda depolanmakta ve bu nedenle sistemik olarak kullanılmamaktadır (136).

2.7.6. D VİTAMİNİ TOKSİKASYONU

İnsan vücudunda serum 25-OH D düzeyi 150 ng/ml’nin üstünde olması vücutta D vitamini intoksikasyonunu görülmektedir. Ancak bu çok nadir olarak gözlenen bir durumdur. D vitamini; birkaç ay boyunca infantlarda günde 40.000 IU, erişkinlerde ise günde 100.000 IU kullanılırsa intoksikasyon görülebilmektedir. Bu hastalarda intoksikasyona bağlı olarak; baş ağrısı, iştahsızlık, kusma, aritmi, hiperkalsemi, hiperfosfatemi, poliüri, hiperkalsiüri, hipertansiyon, damar kalsifikasyonu, nefrokalsinoz veya böbrek yetmezliği gelişebilmektedir (137).

2.7.7. D VİTAMİNİ KATABOLİZMASI

D vitamini; insan vücudunda 24-hidroksilasyon yolu ile böbrek ve karaciğerde katabolize olmaktadır. 24,25 – dihidroksivitamin D polaritesi fazla bir madde olduğu için böbrekten hızlı bir şekilde atılır. 1,25 – dihidroksivitamin D ise insan vücudunda kalsitroik aside dönüştürülerek safra ile vücuttan dışarı atılmaktadır (138).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Dizaynı

Bu çalışma İstanbul Sağlık Bilimleri Üniversitesi Mehmet Akif Ersoy Deneysel Araştırma Geliştirme ve Eğitim Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 17.09.2018 tarih ve 2018/14 no'lu Etik Kurul Onayı ile onaylanmıştır. Çalışmada 2-3 yaş, 40-50 kg civarı kıvrıcık ırkı erkek koyunlar kullanılmıştır.

Çalışmamızda D vitaminini belli bir düzeyde salınım yapan taşıyıcı nanopartiküllerle birlikte otojen ve ksenojen greftlerin oluşturulan defektlere birlikte dental implantların çevresinde kemik yenilenmesi ve kemik-implant bağlantısına etkisi incelenmiştir. Taşıyıcı nanopartikül uygulanan deneklerin sağ ilium kanatlarına D₃ vitamini içeren PLA nanopartikülleri uygulanmış, sol ilium kanadına ise D₃ vitamini içermeyen PLA nanopartikülleri uygulanmıştır. Hazırlanmış defektlere uygulanan partiküllerin etkinliğinin değerlendirilmesi için ayrıca 3. ve 6. haftalık iki farklı sakrifikasyon zamanı oluşturularak deney yapılan bölgenin histolojik ve histomorfometrik incele yapılmıştır. Tüm bu çalışma dizaynında 3. ve 6. haftalık farklı sakrifikasyon zamanları tamamen rastgele seçilmiştir.

Özetle; yapılan bu deney çalışmasında her bir hayvanın ilium kanatlarının sağ ve sol dorsal yüzlerine 5x10x5 mm boyutlarında, 5 mm intakt kemik dokusu bırakılarak bir fizyo-dispenser vasıtası ile kemik testeresi ((Frios MicroSaw, DENTSPLY) yardımıyla 4'er adet standartize kutu tipi defekt oluşturulmuştur. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı'nda tasarlanan nanopartiküller tüm defektlere uygulanacak şekilde oluşturulan 4 defekte; asetabulumdan itibaren sıralanacak şekilde, sadece dental implant, dental implant+ otojen greft, dental implant+ ksenojen greft ve son olarak dental implant+ otojen ve ksenojen greft uygulanmıştır. 6 adet hayvana toplam 48 adet 3,5x8 mm (Zinedent, STRAUMANN GROUP) titanyum implant yerleştirilmiştir. Her bir hayvanın sağ ilium kanadına PLA vasıtasıyla taşınan D vitamini, sol kanadına ise bol PLA nanopartikülleri uygulanmıştır.

3.2. Farmasötik İşlemler

3.2.1. D₃ Vitamininin Miktar Tayini İçin Kromatografik Yöntem

Hazırlanan nanopartikül formülasyonlarındaki D₃ vitamini miktar tayini ile enkapsülasyon etkinliğinin belirlenmesi ve in vitro salım çalışmaları için literatürde kayıtlı (139) yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi uygulandı. Mobil faz olarak asetonitril: metanol (55:45 v/v) kullanıldı. Akış hızı 1 mL.dk⁻¹ olarak ayarlandı. Enjeksiyon hacmi 20 µL, kolon sıcaklığı ise 40°C olarak ayarlandı. 10 mg D₃ vitamini hassas olarak tartıldı ve 10 ml'ye metanol ile tamamlanarak stok çözelti hazırlandı. Hazırlanan stok çözeltiden farklı konsantrasyonlara (50, 100, 200, 300, 400 mcg/ml) seyreltilerek HPLC'de 265 nm dalga boyunda okutuldu ve elde edilen pik alanları hesaplanarak standart eğrisi çizildi.

3.2.2. Nanopartiküllerin Hazırlanması

3.2.2.1. D₃ vitamini Yüklü Nanopartiküllerin Hazırlanması

100 mg PLA (RESOMER® RG 203 H, Poly (D, L-lactide), Sigma-Aldrich, ABD), 15 ml asetonla (EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur, Merck, Almanya) manyetik karıştırıcıda (C-MAG HS 7, IKA, Almanya) 30 dakika boyunca karıştırılıp polimer dispersiyonu elde edildi. Ardından 10 mg D₃ vitamini ilave edilip manyetik karıştırıcıda 250 rpm'de D₃ vitamini tamamen çözünene kadar karıştırılmaya devam edildi. Buz banyosu ortamında içinde 15 ml distile su bulunan behere, 300 rpm'e ayarlanmış manyetik karıştırıcıda bir pastör pipeti yardımıyla damla damla ilave edildi. Tamamı distile suya ilave edildikten sonra, manyetik karıştırıcıda 10 dakika daha karıştırılmaya devam edilerek işlem tamamlandı. Daha sonra karışım 500 ml'lik balona alınarak bir evaporasyon cihazı yardımıyla (Rotary evaporator, Heidolph) 30 °C sıcaklıkta ve düşük basınç altında 10 dakika süre tutularak aseton uzaklaştırıldı. Partikül dispersiyonu, 9500 rpm'de 1 saat boyunca 4 °C sıcaklıkta santrifüj edildikten sonra liyofilizatörde (VirTis AdVantage Plus, Benchtop Freeze Dryer, SP Scientific, Warminster, ABD) -39°C'de 72 saat boyunca liyofilize edilerek D₃ vitamini yüklü nanopartiküller elde edildi.

3.2.2.2. Boş (D₃ Vitaminini İçermeyen) Nanopartiküllerin Hazırlanması

Bölüm 3.2.2.1 'de anlatılan aynı yöntem kullanılarak D₃ vitamini ilave edilmeden PLA nanopartiküller hazırlandı.

3.2.2.3. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

Hazırlanan boş ve dolu nanopartiküllerin, partikül büyüklüğü ve büyüklük dağılımı ölçümü (polidispersite indeksi), foton korelasyon spektroskopisi yöntemi kullanılarak ölçülmüştür (Nano-ZS Malvern Instruments Ltd., İngiltere). Ayrıca, hazırlanan nanopartiküllerinin yüzey yükünün belirlenebilmesi için zeta potansiyellerinin ölçümü elektroforetik ışık saçılım tekniği kullanılarak ölçülmüştür (Nano-ZS Malvern Instruments Ltd. İngiltere).

Hazırlanan partiküllerin (D₃ vitamini yüklü PLA nanopartikülleri ve boş PLA nanopartikülleri) morfolojik incelemesi, Quanta 450 FEG Taramalı Elektron Nanoskobu ile yapılmıştır. Nanoskop incelemesinden önce, önce partikül dispersiyonundan bir damla bakır yüzeye damlatıldı ve sonrasında bir gece boyunca kuruması beklendi. Bakır yüzey kuruduktan sonra altınla kaplanarak nanoskopta örneklerin incelemesi yapıldı.

3.2.2.4. D₃ Vitamini Yüklü Nanopartiküllerin Enkapsülasyon Etkinliği

5 mg liyofilize D₃ vitamini yüklü PLA nanopartikül bir ependorf tüpe alındı. Üzerine 0,2 ml asetonitril; 0,8 ml metanol içeren organik çözücü karışımı ilave edildikten sonra 10 dakika boyunca vortekslendi. Hemen ardından 15.500 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi ve sıvı kısım HPLC cihazında ölçüldü. (140)

$$\text{Enkapsülasyon Etkinliği (\%)} = \frac{\text{Nanopartikül içindeki ilaç miktarı}}{\text{Teorik ilaç miktarı}} \times 100$$

3.2.2.5. D₃ Vitamini Yüklü Nanopartiküllerin Verimi

Nanopartikül dispersiyonu 4°C’de 9500 rpm devirle 1 saat santrifüj edildikten sonra çöken nanopartiküller sıvı kısım uzaklaştırıldıktan sonra liyofilize edildi ve ağırlıkları ölçüldü. D₃ vitamini yüklü PLA nanopartiküllerin verimi aşağıda verilen formülde gösterildiği gibi gravimetrik olarak ölçüldü.

$$\text{Verim (\%)} = \frac{\text{Pratik kütle (mikropartikül)}}{\text{Teorik kütle (polimer + ilaç)}} \times 100$$

3.2.2.6. D₃ Vitamini Yüklü Nanopartiküllerin *In Vitro* Salım Deneyi

D₃ vitamini yüklü PLA nanopartikülleri liyofilize edildi ve 15 mg’ı in vitro salım testinde kullanılmak üzere tartıldı. 2 mL’lik ependorf tüplerine konuldu; üzerine %1 v/v

tween 80 olacak şekilde 1 ml miktarda pH 7.4 fosfat tamponu eklendi. Daha sonra tüpler 37°C'de 150 rpm'ye ayarlanmış orbital çalkalayıcıya (Forma Orbital Shaker, Thermo, ABD) bırakıldı. Belirli zaman aralıklarında (2, 4, 6, 24. Saat, 2, 4, 7. gün ve 2, 3, 4, 5, 6. hafta) 1 mL örnek alındı ve alınan miktarda taze ortamdan yerine eklenmesiyle toplam hacim korunarak rutin ölçümlere devam edildi. Her alınan örneğin, HPLC cihazı ile ölçülerek D₃ vitamini miktarı hesaplandı (140).

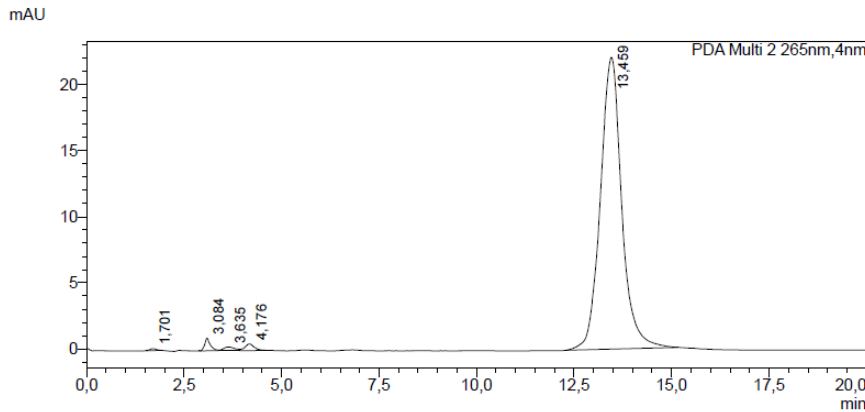
3.2.2.7. Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spektrofotometre

ATR üniteli Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR spektrofotometresi (Perkin Elmer, ABD) kullanılarak, sentezlenen D₃ vitamini, PLA ve D₃ vitamini yüklü PLA nanopartikülleri 4000-650 cm⁻¹ aralığındaki spektrumları alındı.

3.2.3. Farmasötik Bulgular ve Sonuçlar

3.2.3.1. D₃ vitamini Miktar Tayini Yönteminin Validasyonuna Ait Bulgular

D₃ vitamini in vitro salım ve enkapsülasyon etkinliği sonuçlarında kullanılmak üzere bölüm 3.2.1' de anlatıldığı gibi hazırlanan standart çalışmasında $y=1682.2x-18857$ denklemi elde edildi. Şekil 3-1' de 500 µg.mL⁻¹ D₃ vitaminine ait HPLC görüntüsü gösterilmektedir.



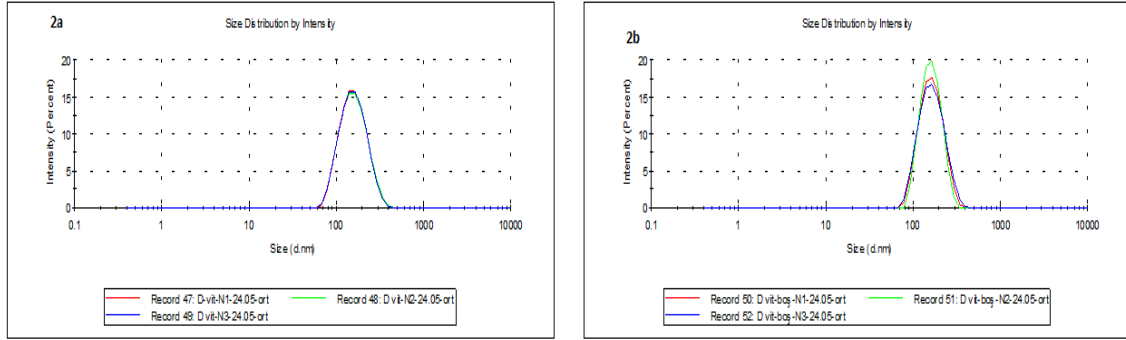
Şekil 3-1 D₃ vitamini HPLC görüntüsü

3.2.3.2. Nanopartiküllerin Partikül Boyutları ve Zeta Potansiyel Değerleri

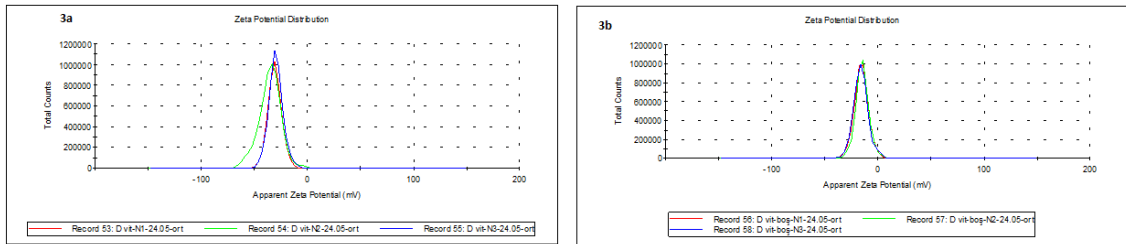
Bölüm 3.2.2.1 'de anlatıldığı üzere hazırlanan D₃ vitamini içeren PLA nanopartikül formülasyonları ve boş PLA nanopartikül formülasyonlarının partikül boyutu ve boyut dağılımı (PDI) analizi sonuçları aşağıdaki tablolarda belirtilmiştir.

Seri	Partikül Boyutu (nm $\pm$ SD)	Polidispersite İndeksi (PDI $\pm$ SD)	Zeta potansiyel (mV $\pm$ SD)
a	146,82 $\pm$ 1,36	0,103	-31,8 $\pm$ 2,5
b	153,34 $\pm$ 0,95	0,081	-15,4 $\pm$ 1,2

Tablo 3-1 D₃ vitamini içeren PLA nanopartikülerinin partikül boyutları ve zeta potansiyel değerleri (seri a); Boş nanopartiküllerin partikül boyutları ve zeta potansiyel değerleri (seri b)



Şekil 3-2 D₃ vitamini yüklü ve boş PLA nanopartikülerinin partikül boyut grafiği (2a: D₃ vitamini yüklü PLA nanopartiküllerin boyut grafiği, 2b: boş PLA nanopartiküllerin boyut grafiği)



Şekil 3-3 D₃ vitamini yüklü ve boş PLA nanopartikülerinin zeta potansiyel grafiği (3a: D₃ vitamini yüklü PLA nanopartiküllerin zeta potansiyel grafiği, 3b: boş PLA nanopartiküllerin zeta potansiyel grafiği)

3.2.3.3. D₃ Vitamini Yüklü Nanopartiküllerin Enkapsülasyon Etkinliği Sonuçları

Bölüm 3.2.2.3 'de anlatılan aynı yöntem kullanılarak analiz edilen D₃ vitamini içeren PLA nanopartikül formülasyonlarının enkapsülasyon etkinliği tayini sonuçları tablo 3-1'de gösterilmiştir.

3.2.3.4. D₃ Vitamini Yüklü Nanopartiküllerin Verimi

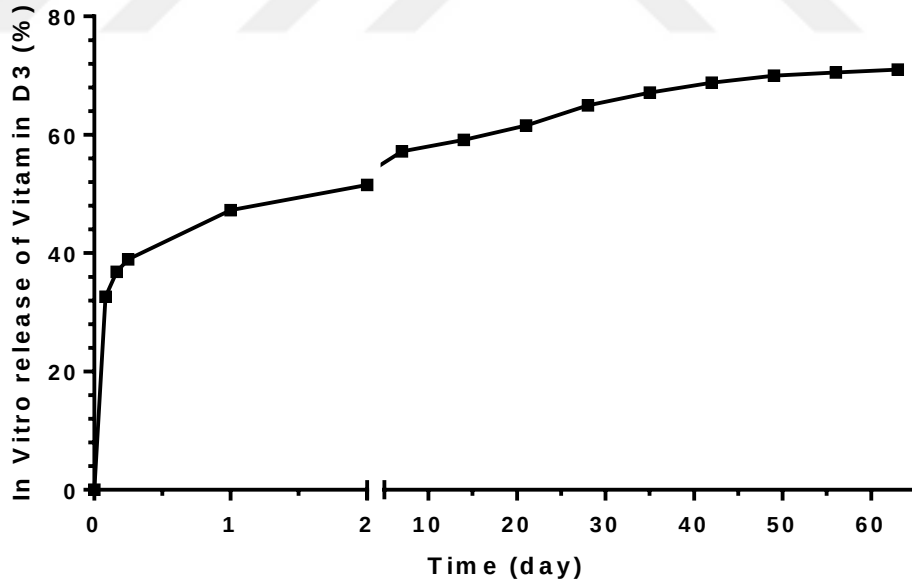
Verim (%) = $\frac{\text{Pratik K\u00fctle}}{\text{Teorik K\u00fctle (PLGA+ilac)}} \times 100$ form\u00fcl\u00fcne g\u00f6re gravimetrik olarak hesaplanan D₃ vitamini y\u00fckl\u00fc nanopartik\u00fcllerin verim sonu\u00e7ları tablo 3.1' de g\u00f6sterilmektedir.

Partik\u00fcl verimi (% $\pm$ SD)	Enkaps\u00fclasyon etkinli\u011fi (% $\pm$ SD)
80,30 $\pm$ 2,14	72,99 $\pm$ 2,20

Tablo 3-2 D₃ vitamini y\u00fckl\u00fc nanopartik\u00fcllerin y\u00fczde enkaps\u00fclasyon etkinli\u011fi ve y\u00fczde verim sonu\u00e7ları (n=3)

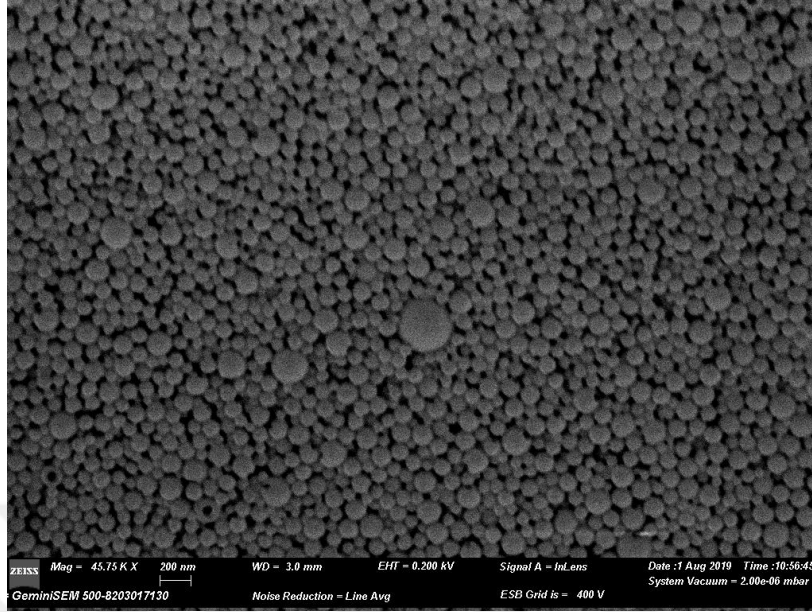
3.2.3.5. D₃ Vitamini Y\u00fckl\u00fc Mikropartik\u00fcllerin \u0130n Vitro Sal\u0131m Deneyi

B\u00f6l\u00fcm 3.2.2.5 'de anlat\u0131lan sal\u0131m y\u00f6ntemi kullan\u0131larak D₃ vitamini i\u00e7eren PLA nanopartik\u00fcl form\u00fclasyonlarının 9 haftal\u0131k sal\u0131m sonu\u00e7ları a\u\u015fa\u011f\u0131daki grafik 1'de g\u00f6sterilmi\u015ftir.



Tablo 3-3 D₃ vitamini i\u00e7eren PLGA nanopartik\u00fcl form\u00fclasyonlarının 9 haftal\u0131k sal\u0131m sonu\u00e7ları (n=3)

3.2.3.6. SEM analizi sonuçları



Şekil 3-4 SEM (taramalı elektron mikroskobu) cihazının markası ZEISS GEMINISEM 500 D₃ vitamini yüklü PLA nanopartikülleri

3.3. Cerrahi işlem

3.3.1. Anestezi

Cerrahi işlem öncesi deneklerin kilo ölçümü yapıp istenen değer aralığında olduğu tespit edilmiştir. İndüksiyon için V. Cephonaantebrachium angiococcus'a 3 mg/kg doz ketamin HCL (Ketalar, i.v) verilmesinden sonra; koyunlar Xylazine (0.1 mg / kg, i.m, Rompun, Bayer, İsviçre) ile sedasyona tâbi tutulmuştur. Hayvanların anestezisi, % 2-3 sevofluran ve % 100 oksijen ile sağlanmıştır. Enfeksiyon riskini azaltmak için ameliyat öncesi ve ameliyat sonrası antibiyotikler Clamoxyl L.A. 15 mg/kg/gün (Zoetis, İstanbul, Türkiye) ve Vetamoks L. A. 15 mg/kg, i.m. olarak (Deva Holding, İstanbul, Türkiye) operasyon sonrası 5 gün süreyle kullanılmıştır.

3.3.2. Cerrahi Prosedür

Koyunlar lateral pozisyona getirilip ilium ve asetabulum karşılık gelen bölge tıraşlanmış, yıkanmış ve iyot ile dezenfekte edilmiştir. İlium'a ulaşmak gayesi ile Alaosisillium'tan trokanter major'a kadar orta pelviste 20-30 cm uzunluğunda boyuna deri insizyonu yapılmış, deri ve subkutan dokular ayrıldıktan sonra ise Facies Lata kesilmiş ve gluteal kasların künt diseksiyonu gerçekleştirilmiştir. Yapılan bütün bu işlemlerden sonra ise ilium açığa çıkarılmış ve periost kaldırılmıştır.

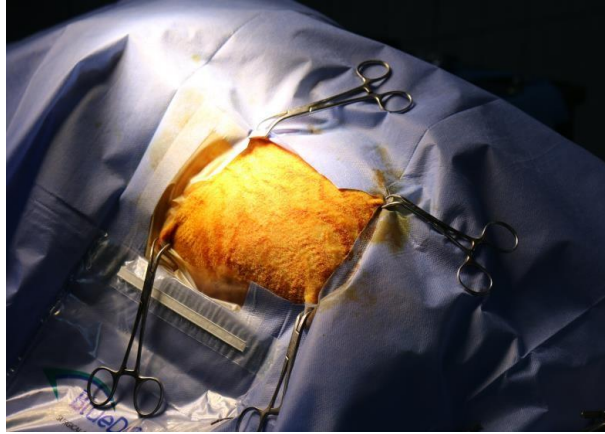
Deneğin ilium kemik yapısının kranial kısmında kanselöz, kaudal kısımda ise kortikal yapı olmak üzere kanselöz ve kortikal kemikten baskın yönde oluştuğu görülmüştür. Defekt hazırlama işlemi gerçekleştirilmiş; hazırlanan defektlere implantların apikal bölgesi intakt kemikte kalacak şekilde osteotomiler uygulanmıştır. Tüm osteotomiler tek bir implantolog (İOM) tarafından hazırlanmış, implant frezleme işlemleri artan çaplarda yapılmıştır. İmplantasyon ve ogmentasyon işlemi sonrası kaslar eski konumlarına getirilmiş ve fasyalar monofilament rezorbe olabilen sütür materyali (Monocryl, Ethicon, No: 1) ile, deri dokusu ise emilmeyen monofilament polipropilen sütür kullanılarak dikilmiştir (Medilen, Medeks, No: 1, Türkiye). Ameliyattan sonra 5 gün süreyle antibiyotik ve analjezikler I.M. olarak uygulamıştır.



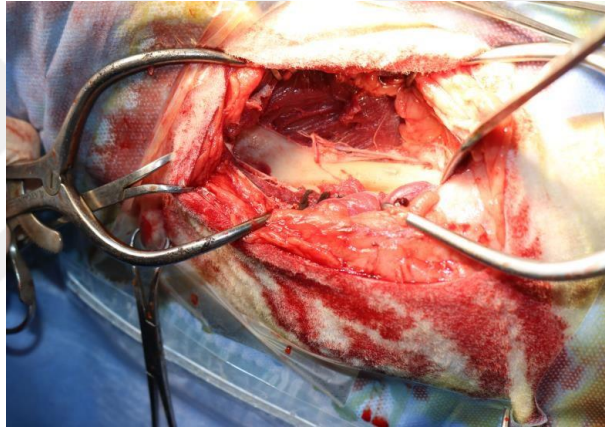
Şekil 3-5 Ameliyat bölgesinin hazırlanması



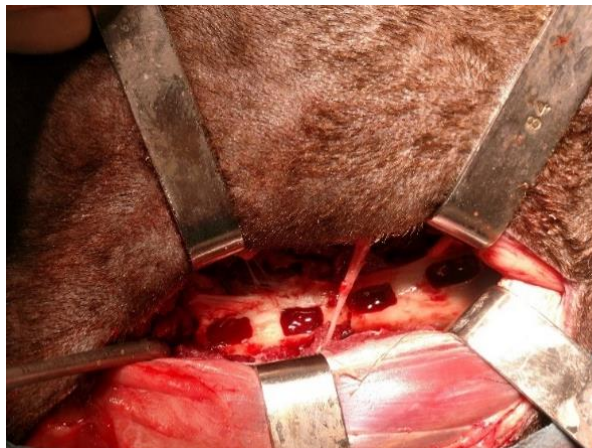
Şekil 3-6 Deney için gerekli aletler



Şekil 3-7 Ameliyat Bölgesinin Örtülmesi



Şekil 3-8 İlium bölgesinin açığa çıkartılması



Şekil 3-9 Kutu şekilli defektlerin hazırlanması



Şekil 3-10 Osteotomi Esnasında Elde Edilen Blok Otojen Kemığın Kemik Değirmeninde Partikül Haline Getirilmesi



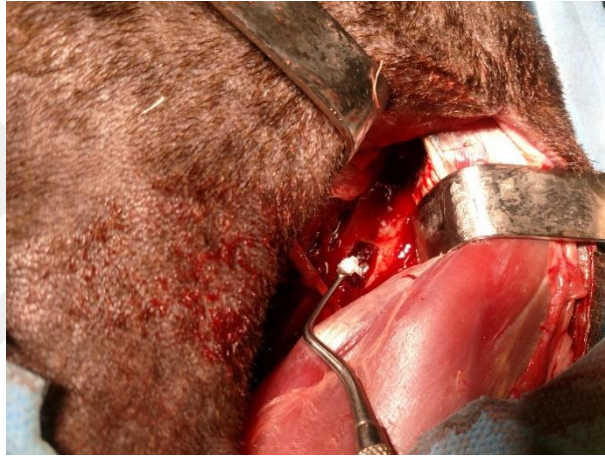
Şekil 3-11 Uygulanacak dental implantın uygulanma şekli



Şekil 3-12 Dental implantın kutu şekilli defekte uygulanması



Şekil 3-13 Liyofilize edilmiş nano partiküllü taşıyıcı



Şekil 3-14 Nano partiküllü taşıyıcının defekt bölgesine uygulanması



Şekil 3-15 otojen ve xenojen greftin defekt bölgesine uygulanması



Şekil 3-16 İmplantasyon ve biyomateryallerin uygulanması sonrası defektin hali



Şekil 3-17 Bölgenin suture edilmesi

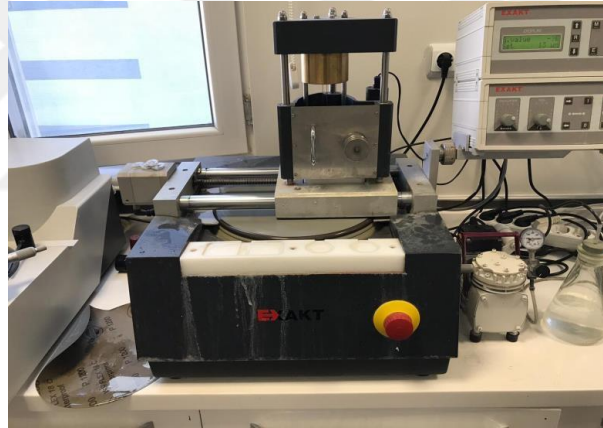
3.3.3. Sakrifikasyon

Deney hayvanları rastgele olarak 3. ve 6. hafta bitimi olacak şekilde İstanbul Sağlık Bilimleri Üniversitesi Mehmet Akif Ersoy Deneysel Araştırma Geliştirme ve Eğitim Merkezi'nde Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu protokolüne göre sakrifiye edilmiştir. Sakrifikasyon işleminden önce bütün hayvanların kiloları ölçülmüş, istenen değerler aralığında olduğu tespit edildikten sonra ilgili alanlar sakrifikasyon işleminden hemen sonra çıkarılmıştır.

3.4. Histolojik İşlemler Ve İstatistik İşlemleri

Histolojik kesit eldesinde dekalsifikasyon tekniği ve dekalsifiye edilmemiş kemik kesiti hazırlanma tekniği olmak üzere iki farklı temel teknik bulunur. Dekalsifikasyon tekniği; kemik implant temasının inceleneceği histolojik analiz için önerilmeyen bir yöntemdir. bu teknikte demineralizasyon işlemi implant-kemik temasını olumsuz yönde etkileyerek incelemenin tatminkar sonuçlar vermesini imkasızlaştırır (141).

Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Merkez Laboratuvarı'nda implantların yerleştirildiği ilium kemiği blok halinde çıkartılmış ve histolojik inceleme için %10'luk tamponlanmış formaldehit solüsyonunda fikse edilmiştir. 2 gün sonra, her bir implantın (48 implant) vertikal kesiti, Exact 300 CL cihazı (Exact 300 CL, Exakt Apparatebau, Norderstedt, Almanya) kullanılarak alınmış ve her bir örnekteki implant-kemik bağlantısının mikroskopik düzeyde görünümünün sağlanması için gerekli işlemlere tabi tutulmuştur. Her bir implantın vertikal kesitini içeren bloklar, steril gazlı bezlerle sarılmış ve defekte uygulanan biyomateriyal ve sakrifikasyon süresine göre 16 gruba ayrılmıştır. Her bir örnek, artan düzeyde alkol değerlerinden (%60, 80, 96 ve 100) 24 saat süre ile geçirilerek etanolde dehidrate edilmiştir. Daha sonra örnekler; artan yüzdelere sahip (%30, 50, 70, 100) metil-metakrilat reçineleri (Technovit 7200 VLC, Heraeus Kulzer GmbH & Co. KG, Wehrheim, Almanya) ve alkol kullanılarak vakum altında infiltre edilmiştir. Hazırlanan 300 µm'lik zemin kesiti (ground section), 40 µm'ye inceltilerek toluidin mavisi ile boyanmıştır.



Şekil 3-18 Exact 300 CL, Exakt Apparatebau, Norderstedt, Almanya



Şekil 3-19 Exact 300 CL cihazıyla kesilen iliak kemik



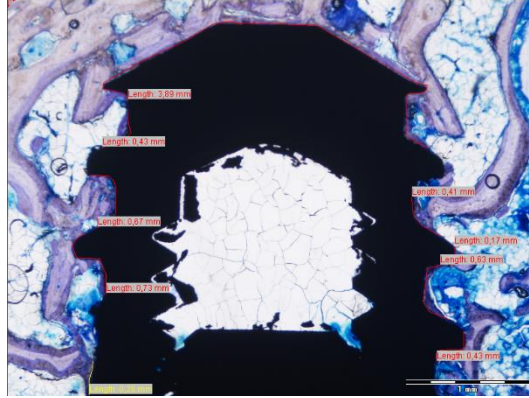
Şekil 3-20 Exact 300 CL cihazıyla dikey olarak ikiye bölünen dental implant

3.4.1. Histolojik ve Histomorfometrik Analiz

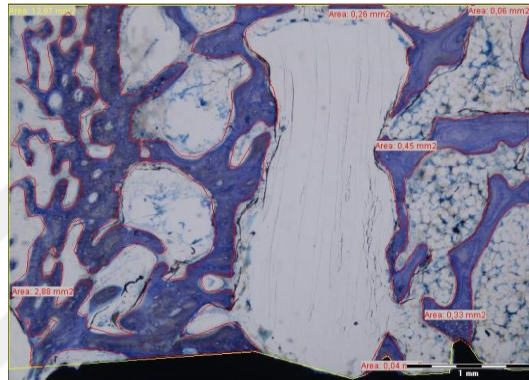
Toludin mavisi ile boyanan kesitler, renkli bir video kamera ile bilgisayara bağlı olan Olympus BX60 (Olympus® CX41, Tokyo, Japonya) adlı mikroskop ile incelenmiştir. Histomorfometrik analiz, tıbbi ölçüm yapmaya uygun bir yazılım (Olympus Image Analysis System 5, Tokyo, Japonya) kullanılarak yapılmıştır. Görüntüler kamera kullanılarak x40 büyütme ile çekilmiş ve bilgisayar ekranına aktarılmıştır. Bütün implant yüzeyleri 3 veya 4 bitişik ve ardışık mikroskopik alanda gösterilmiştir. Kemik-implant temas yüzdesi; kemik ile implant yüzeyinin temasta bulunduğu uzunluğun tüm yüzey çevresine bölünmesiyle hesaplanmıştır. Bu ölçümün yanı sıra; yeni kemik oluşum yüzdesi ve defektli sahadaki kemik yüzdesi de Olympus Görüntü Analiz Sistemi kullanılarak hesaplanmıştır. Tüm veriler ayrı ayrı 2 bağımsız araştırmacı (İOM, grupları bilmeyen: AK) tarafından histomorfometrik analiz sistemi ile ölçülmüş ve ölçülen değerlerin ortalaması son değer olarak kaydedilmiştir.



Şekil 3-21 Olympus BX60 Mikroskop



Şekil 3-22 Titanyum kemik-implant temas yüzeyi ölçümü



Şekil 3-23 Kemik Yüzey Alanı ölçümü

3.5. İstatistik işlemleri

İstatistiksel analizler SPSS sürüm 17.0 programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu histogram grafikleri ve Kolmogorov-Smirnov testi ile incelenmiştir. Tanımlayıcı analizler sunulurken ortalama, standart sapma ve minimum-maksimum değerler kullanılmıştır. Ölçülen değerler iki grup arasında değerlendirilirken Mann Whitney U Testi, ikiden fazla grup arasında değerlendirilirken Kruskal Wallis Testi kullanılmıştır. Ölçülen değerlerdeki değişim grup içinde Wilcoxon Testi ile gruplar arasında ise Tekrarlayan ölçümler Analizi ile incelenmiştir. P-değerinin 0.05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Taşıyıcı partiküllü D vitamini varlığının kemik implant temas yüzeyi ve yeni oluşan kemik yüzeyi değerlerine etkisi

D vit	Hafta	Saha	BIC %		NBF %	
			Ort±ss	Min-Mak	Ort±ss	Min-Mak
D vit (-)	3.hafta	Boş	40.81±0.96	39.87-41.78	38.17±2.4	35.8-40.6
		Otojen	46.64±1.62	44.95-48.19	41.45±3.02	38.25-44.26
		Ksenojen	45.03±1.64	43.67-46.85	39.86±2.8	36.78-42.26
		Otojen+Ksenojen	49.55±0.68	48.76-50.01	43.31±0.66	42.68-44
	6.hafta	Boş	62.76±1.42	61.67-64.36	59.93±1.52	58.26-61.24
		Otojen	68.27±1.04	67.23-69.31	63.71±1.31	62.36-64.98
		Ksenojen	67.25±0.99	66.26-68.24	61.87±1.41	60.36-63.14
		Otojen+Ksenojen	70.45±0.8	69.87-71.36	67.96±1.13	66.87-69.12
	3.hafta	Boş	48.6±1.1	47.89-49.87	44.31±2.45	42.16-46.98
		Otojen	50.72±0.86	50.18-51.71	47.6±1.86	46.12-49.69
		Ksenojen	49.51±0.45	49.12-50.01	46.45±2.07	44.93-48.81
		Otojen+Ksenojen	54.26±0.66	53.79-55.01	49.63±1.53	48.25-51.27
	6.hafta	Boş	71.46±1.05	70.28-72.26	66.75±0.56	66.14-67.25
		Otojen	74.65±2.15	72.25-76.39	69.55±0.53	69.14-70.14
		Ksenojen	73.19±2.7	71.18-76.25	68.39±1.33	67.14-69.78
		Otojen+Ksenojen	82.59±2.09	80.25-84.28	74.25±0.96	73.14-74.87

Tablo 4-1 Taşıyıcı partiküllü D vitamini varlığına göre 3. hafta ve 6. hafta Kemik İmplant Temas Yüzeyi%, Yeni Oluşan Kemik Yüzdesi% değerleri

Taşıyıcı partiküllü D vitamini varlığına göre 3. hafta BIC%, 6. hafta BIC%, 3. hafta NBF% ve 6. hafta NBF% değerleri karşılaştırıldığında D vitamini olan grubun 3. hafta BIC%, 6. hafta BIC%, 3. hafta NBF% ve 6. hafta NBF% değerleri D vitamini olmayan gruba göre daha yüksektir.

4.2. Taşıyıcı partiküllü D vitamini, sakrifikasyon süresi ve sahanın Kemik İmplant Temas Yüzeyi % değeri üzerine etkisini incelemek amacıyla gerçekleştirilen modellere ilişkin bilgiler

Boş, Otojen, Ksenojen ve Otojen+Ksenojen gruplarında taşıyıcı partiküllü D vitamini varlığına göre 3. ve 6. hafta BIC% ve NBF% değerleri karşılaştırılmıştır. Buna göre tüm gruplarda 3. ve 6. hafta BIC% ve NBF% değerleri taşıyıcı partiküllü D vitamini olan grupta taşıyıcı partiküllü D vitamini olmayan gruba göre daha yüksek bulunmuştur.

	BIC%		NBF%	
	F	p	F	p
Model	255.728	<0.001*	148.714	<0.001*
D vit	281.304	<0.001*	154.366	<0.001*
Hafta	3292.072	<0.001*	1984.276	<0.001*
Saha	72.999	<0.001*	28.984	<0.001*
D vit * Hafta	14.006	0.001*	0.005	0.945
D vit * Saha	4.959	0.006*	0.060	0.980
Hafta * Saha	1.467	0.242	1.599	0.209
D vit * Hafta * Saha	3.421	0.029*	0.044	0.988

GLMM (Generalized linear mixed models)

Tablo 4-2 Her grup için Taşıyıcı Partiküllü D vitamini varlığına göre Kemik İmplant Temas Yüzeyi % ve Yeni Oluşan Kemik Yüzdesi % değerleri

Zaman	Saha		Fark	p
3.hafta	Boş	D vit (+) - D vit (-)	7.787	<0.001*
	Otojen	D vit (+) - D vit (-)	4.077	0.001*
	Ksenojen	D vit (+) - D vit (-)	4.487	<0.001*
	Otojen+Ksenojen	D vit (+) - D vit (-)	4.713	<0.001*
6.hafta	Boş	D vit (+) - D vit (-)	8.703	<0.001*
	Otojen	D vit (+) - D vit (-)	6.387	<0.001*
	Ksenojen	D vit (+) - D vit (-)	5.933	<0.001*
	Otojen+Ksenojen	D vit (+) - D vit (-)	12.140	<0.001*

Tablo 4-3 Farklı hafta ve saha gruplarında d vitaminine göre Kemik İmplant Temas Yüzeyi % değerlerinin kıyaslanması

3.hafta sakrifiye edilenlerde; boş saha, otojen, ksenojen ve otojen+ksenojen gruplarında; D vit (+) grubunun BIC% değerlerinin D vit (-) grubundan daha büyük olduğu saptanmıştır (sırasıyla, $p<0.001$, $p=0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$).

6.hafta sakrifiye edilenlerde; boş saha, otojen, ksenojen ve otojen+ksenojen gruplarında; D vit (+) grubunun BIC% değerlerinin D vit (-) grubundan daha büyük olduğu saptanmıştır (sırasıyla, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$).

D vit	Saha		Fark	p
D vit (-)	Boş	6.hafta - 3.hafta	21.947	<0.001*
	Otojen	6.hafta - 3.hafta	21.627	<0.001*
	Ksenojen	6.hafta - 3.hafta	22.227	<0.001*
	Otojen+Ksenojen	6.hafta - 3.hafta	20.903	<0.001*
D vit (+)	Boş	6.hafta - 3.hafta	22.863	<0.001*
	Otojen	6.hafta - 3.hafta	23.937	<0.001*
	Ksenojen	6.hafta - 3.hafta	23.673	<0.001*
	Otojen+Ksenojen	6.hafta - 3.hafta	28.330	<0.001*

*p<0.05

Tablo 4-4 Farklı taşıyıcı partiküllü d vitamini ve saha gruplarında sakrifikasyon haftasına göre Kemik İmplant Yüzeyi % değerleri üzerine değerlendirmeler

D vitamini * hafta * saha üçlü etkileşiminin etkisini incelemek amacıyla; farklı d vit ve saha gruplarında sakrifikasyon haftasına göre BIC% değerleri kıyaslanmıştır.

D vit (-) grubunda; boş saha, otojen, ksenojen ve otojen+ksenojen gruplarında; 6.haftada sakrifiye edilenlerin BIC% değerlerinin 3.haftada sakrifiye edilenlerden daha büyük olduğu saptanmıştır (sırasıyla, p<0.001, p=0.001, p<0.001, p<0.001).

D vit (+) grubunda; boş saha, otojen, ksenojen ve otojen+ksenojen gruplarında; 6.haftada sakrifiye edilenlerin BIC% değerlerinin 3.haftada sakrifiye edilenlerden daha büyük olduğu saptanmıştır (sırasıyla, p<0.001, p=0.001, p<0.001, p<0.001).

D vit	Zaman		Fark	p
D vit (-)	3.hafta	Otojen - Boş	5.827	<0.001*
		Ksenojen - Boş	4.213	0.001*
		Otojen+Ksenojen - Boş	8.733	<0.001*
		Ksenojen - Otojen	-1.613	0.168
		Otojen+Ksenojen - Otojen	2.907	0.016*
		Otojen+Ksenojen - Ksenojen	4.520	<0.001*
	6.hafta	Otojen - Boş	5.507	<0.001*
		Ksenojen - Boş	4.493	<0.001*
		Otojen+Ksenojen - Boş	7.690	<0.001*
		Ksenojen - Otojen	-1.013	0.382
		Otojen+Ksenojen - Otojen	2.183	0.065
		Otojen+Ksenojen - Ksenojen	3.197	0.009*
D vit (+)	3.hafta	Otojen - Boş	2.117	0.073
		Ksenojen - Boş	0.913	0.430
		Otojen+Ksenojen - Boş	5.660	<0.001*
		Ksenojen - Otojen	-1.203	0.300
		Otojen+Ksenojen - Otojen	3.543	0.004*
		Otojen+Ksenojen - Ksenojen	4.747	<0.001*
	6.hafta	Otojen - Boş	3.190	0.009*
		Ksenojen - Boş	1.723	0.141
		Otojen+Ksenojen - Boş	11.127	<0.001*
		Ksenojen - Otojen	-1.467	0.209
		Otojen+Ksenojen - Otojen	7.937	<0.001*
		Otojen+Ksenojen - Ksenojen	9.403	<0.001*

Bonferroni düzeltilmeli post-hoc değerlendirmeler

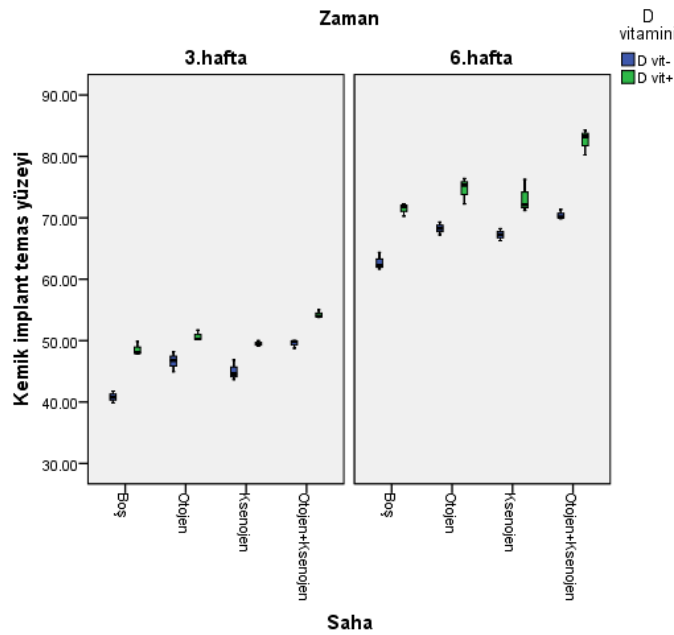
*p<0.05

Tablo 4-5 Farklı taşıyıcı partiküllü d vitamini ve saha gruplarında sakrifikasyon haftasına göre Kemik İmplant Yüzeyi % değerlerinin kıyaslanması

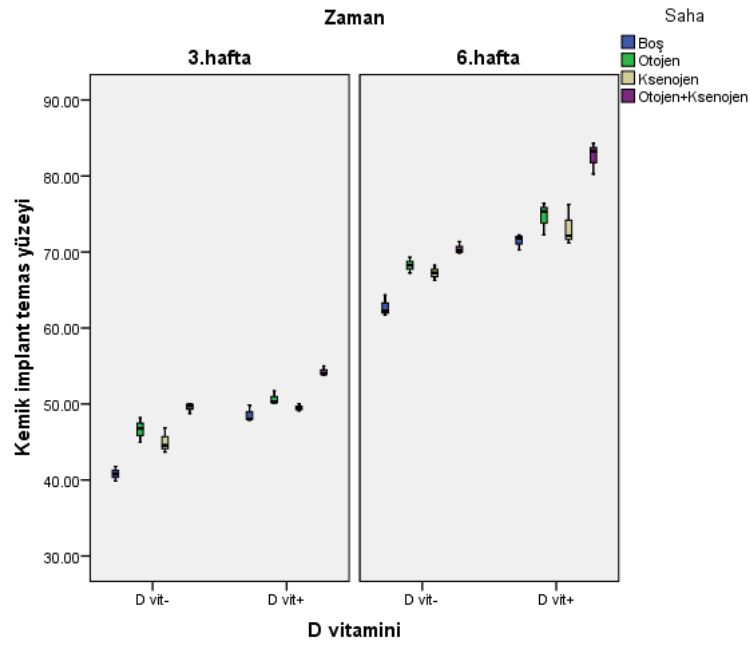
D vit (-) grubunda; 3.haftada sakrifiye edilenlerde; boş saha BIC% değerlerinin otojen, ksenojen ve otojen+ksenojen gruplarından daha düşük olduğu saptanmıştır (sırasıyla, p<0.001, p=0.001, p<0.001). Otojen+ksenojen grubunun BIC% değerlerinin otojen ve ksenojen gruplarından daha yüksek olduğu saptanmıştır (sırasıyla, p=0.016, p<0.001). Diğer sahalar arasında farklılık saptanmamıştır (p>0.05). **6.haftada**

sakrifiye edilenlerde; boş saha BIC% değerlerinin otojen, ksenojen ve otojen+ksenojen gruplarından daha düşük olduğu saptanmıştır (sırasıyla, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$). Otojen+ksenojen grubunun BIC% değerlerinin otojen grubundan daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p=0.009$). Diğer sahalarda farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$).

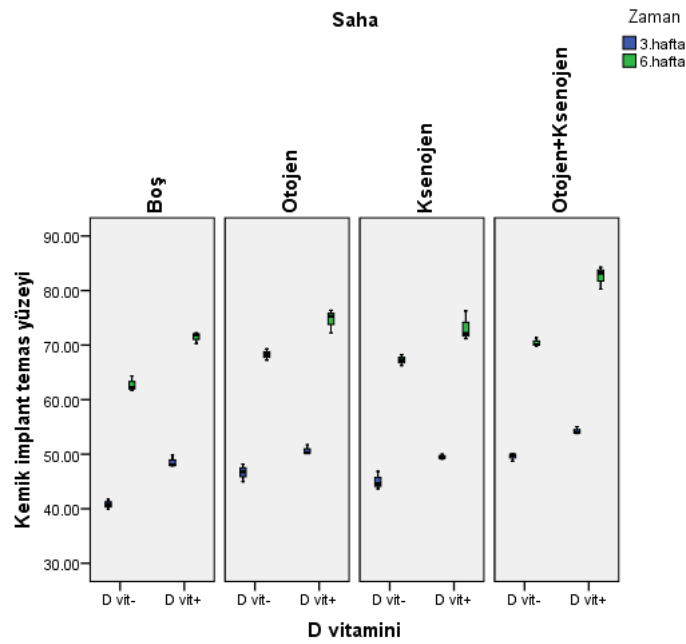
D vit (+) grubunda; 3.haftada sakrifiye edilenlerde; Otojen+ksenojen grubunun BIC% değerlerinin boş saha, otojen ve ksenojen gruplarından daha yüksek olduğu saptanmıştır (sırasıyla, $p<0.001$, $p=0.004$, $p<0.001$). Diğer sahalarda farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$). **6.haftada sakrifiye edilenlerde;** boş saha BIC% değerlerinin otojen ve otojen+ksenojen gruplarından daha düşük olduğu saptanmıştır (sırasıyla, $p=0.009$, $p<0.001$). Otojen+ksenojen grubunun BIC% değerlerinin otojen ve ksenojen gruplarından daha yüksek olduğu saptanmıştır (sırasıyla, $p<0.001$, $p<0.001$).



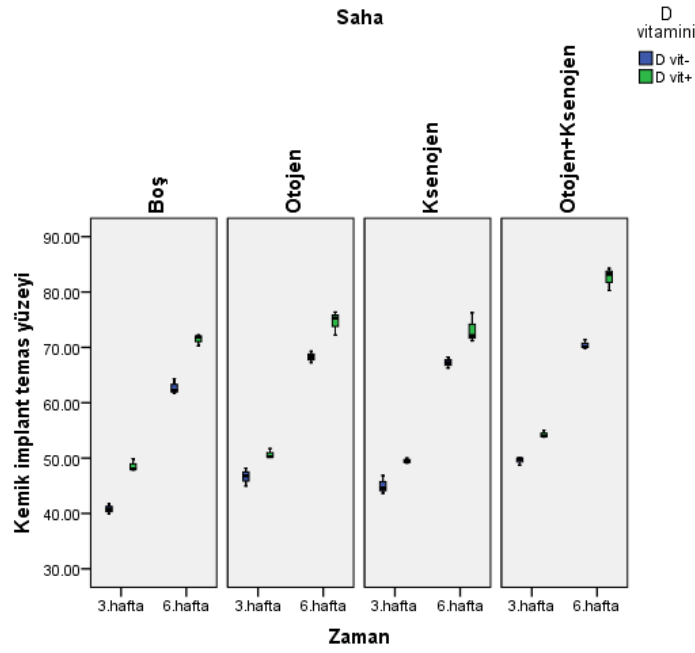
Tablo 4-6 Farklı sahalarda taşıyıcı partiküllü D vitaminin varlığının kemik implant temas yüzey%'ne etkisi



Tablo 4-7 Farklı sakrifikasyon sürelerinde taşıyıcı partiküllü D vitaminin varlığının kemik implant temas yüzey% 'ne etkisi



Tablo 4-8 Taşıyıcı partiküllü D vitaminin varlığının farklı sakrifikasyon sürelerinde farklı sahalarda kemik implant temas yüzey% 'ne etkisi



Tablo 4-9 Farklı sakrifikasyon sürelerinde taşıyıcı partiküllü D vitaminin varlığının farklı sahalarda kemik implant temas yüzey%'ne etkisi

4.3. Taşıyıcı partiküllü D vitamini, sakrifikasyon süresi ve sahanın Yeni Oluşan Kemik Yüzdesi% değeri üzerine etkisini incelemek amacıyla gerçekleştirilen modellere ilişkin bilgiler

D vitamini, hafta ve sahanın NBF% değeri üzerine etkisini incelemek amacıyla GLMM uygulandı. Elde edilen modelin istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($F=148.714$, $p<0.001$). Modelde d vitamini, hafta ve saha değişkenlerinin ana etkilerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde yer aldığı saptanmıştır (sırasıyla, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$). İkili ya da üçlü etkileşimlerin anlamlı bulunmaması nedeniyle, sadece ana etkilere ilişkin değerlendirmeler yapılmıştır.

		Fark	p
D vit	D vit (+) - D vit (-)	6.333	<0.001*
Hafta	6.hafta - 3.hafta	22.705	<0.001*
Saha	Otojen - Boş	3.286	<0.001*
	Ksenojen - Boş	1.856	0.015*
	Otojen+Ksenojen - Boş	6.497	<0.001*
	Ksenojen - Otojen	-1.430	0.056
	Otojen+Ksenojen - Otojen	3.212	<0.001*
	Otojen+Ksenojen - Ksenojen	4.642	<0.001*

*p<0.05

Tablo 4-10 Taşıyıcı Partiküllü D vitamini, Sakrifikasyon Süresi ve sahaya göre NBF% değerlerinin kıyaslanması

D vit (+) grubunun NBF% değerlerinin D vit (-) grubundan daha büyük olduğu saptanmıştır (p<0.001).

6.haftada sakrifiye edilenlerin NBF% değerlerinin 3.haftada sakrifiye edilenlerden daha büyük olduğu saptanmıştır (p<0.001).

Boş saha NBF% değerlerinin otojen, ksenojen ve otojen+ksenojen gruplarından daha düşük olduğu saptanmıştır (sırasıyla, p<0.001, p<0.001, p<0.001). Otojen+ksenojen grubunun NBF% değerlerinin otojen ve ksenojen gruplarından daha yüksek olduğu saptanmıştır (sırasıyla, p<0.001, p<0.001). Diğer sahalar arasında farklılık saptanmamıştır (p>0.05).

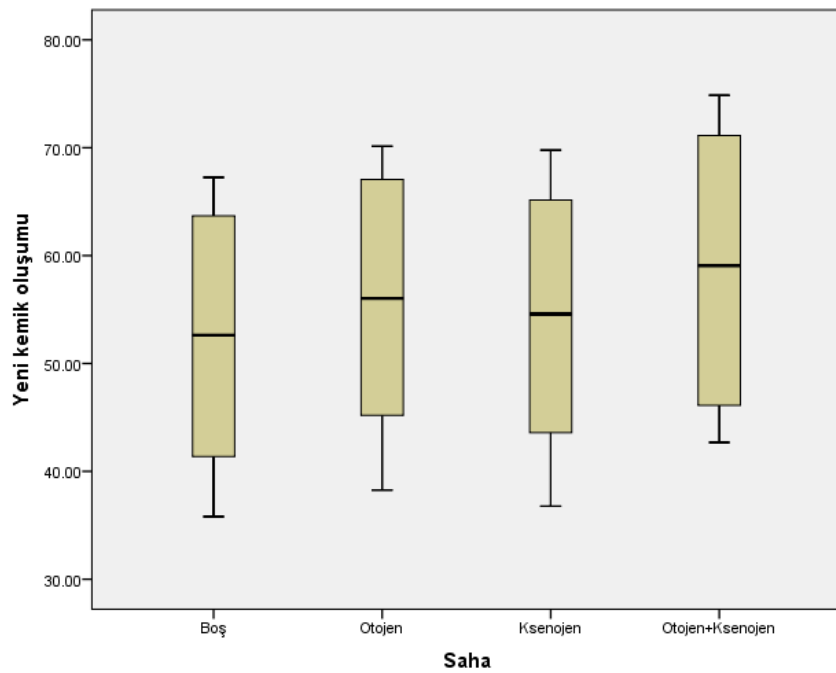
Zaman	Saha		Fark	p
3.hafta	Boş	D vit (+) - D vit (-)	6.140	0.002*
	Otojen	D vit (+) - D vit (-)	6.147	0.002*
	Ksenojen	D vit (+) - D vit (-)	6.587	0.001*
	Otojen+Ksenojen	D vit (+) - D vit (-)	6.317	0.001*
6.hafta	Boş	D vit (+) - D vit (-)	6.823	<0.001*
	Otojen	D vit (+) - D vit (-)	5.840	<0.001*
	Ksenojen	D vit (+) - D vit (-)	6.520	<0.001*
	Otojen+Ksenojen	D vit (+) - D vit (-)	6.290	<0.001*

Tablo 4-11 Farklı sakrifikasyon süreleri ve saha gruplarında taşıyıcı partiküllü d vitaminine göre Yeni oluşan Kemik Yüzeyi % değerlerinin kıyaslanması

Farklı hafta ve saha gruplarında d vitaminine göre NBF% değerleri kıyaslanmıştır.

3.hafta sakrifiye edilenlerde; boş saha, otojen, ksenojen ve otojen+ksenojen gruplarında; D vit (+) grubunun NBF% değerlerinin D vit (-) grubundan daha büyük olduğu saptanmıştır (sırasıyla, $p=0.002$, $p=0.002$, $p=0.001$, $p=0.001$).

6.hafta sakrifiye edilenlerde; boş saha, otojen, ksenojen ve otojen+ksenojen gruplarında; D vit (+) grubunun NBF% değerlerinin D vit (-) grubundan daha büyük olduğu saptanmıştır (sırasıyla, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$).



Tablo 4-12 Farklı Sahalarda Yeni Oluşan Kemik Yüzdesi % değerlerinin kıyaslanması

5. TARTIŞMA

Günümüzde teknolojik gelişmeler ile birlikte dental implantların osseointegrasyonu ile ilgili yeni çalışmalar yapılmaktadır. Hastaların estetik, fonetik ve fonksiyonel ihtiyaçlarını karşılamak için uygulanan dental implantlar, gelişen teknolojik gelişmeler ile özellikle yüzey özellikleri açısından oldukça tatminkâr sonuçlar oluştursa da uygulanan dental implantların osseointegre olabileceği uygun bir saha olmaksızın yapılacak tüm girişimler başarısızlığa mahkûmdur (54). Bu sebeple uygulanacak cerrahi girişim sahasındaki biyolojik yanıtın kapasitesinin bilinmesi ve bu kapasiteyi etkileyen faktörlerin bilinmesi implantoloji için olmazsa olmaz bir konudur (15).

Sağlıklı bir osseointegrasyon; dental implant ile yerleştirildiği sahadaki kemik dokunun organik ve inorganik bileşenlerinin harmonik bir uyumu ile sağlanır (55). Bu kemik dokusunun metabolizmasının nasıl çalıştığı ve hangi komponentlerden oluştuğu yapılan cerrahi işlemin başarısı için bilinmelidir (56). Vitaminler, metabolizmanın özellikle inorganik komponent dengesini sağlayan, vücutta hormon gibi çalışan organik moleküllerdir (3). Bununla birlikte vitaminlerin çalışma prensibi, etki mekanizmaları ve eksikliği/fazlalığının özellikle kemik metabolizmasına etkilerinin bilinmesi, osseointegrasyon süresince oluşabilecek problemleri en aza indirir (4).

Osseointegrasyon sürecinde dental implantın primer stabilitesi, yerleştirme torku, yerleştirilen implantın makro, mikro ve ultra yüzey özellikleri gibi kıstaslar implant ile ilgilidir (40). Bununla birlikte dental implantın yerleştirildiği saha da osseointegrasyonun başarısını aynı derecede etkiler. Bölgenin damarlanması ve beslenmesi, inflamasyon sisteminin etkinliği, hastanın sistemik durumu gibi faktörler de göz önüne alınmalıdır (52). D vitamininin özellikle Ca ve P emilimine etki gösterip kemik metabolizmasına etki gösterdiği bilinmektedir. Ca ve P mineralleri kemik dokusunun inorganik komponentleri içinde önemli bir oran teşkil ettikleri için D vitamini etkinliği osseointegrasyonu doğrudan etkilemektedir (54).

Çalışmamızda denek koyunların iliak kemiklerinde cerrahi olarak oluşturulmuş kutu şeklinde kemik defektlerinde nanopartikül taşıyıcılı D₃ vitamininin, dental implantların osseointegrasyona etkisi değerlendirilmiştir.

Farklı greft materyallerinin aynı hayvan modelinde yeni kemik oluşturma potansiyellerinin eşit koşullarda karşılaştırılması yapılmıştır.

Taşıyıcı partiküllü D vitamininin osseointegrasyon etkisini belirlemek için sakrifikasyon süreleri erken (3.hafta) ve geç (6.hafta) olarak belirlenmiştir.

Cerrahi olarak açılan bu defektlerde oluşan yeni kemik yüzdesi ve defekt bölgesinde kemik implant temas alanı yüzdesi histolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir.

Kohler ve ark. D vitamininin kemik metabolizmasına etkisini koyun denekler üzerinde incelediği araştırmasında; deneklerin Ultraviyole B (UVB) radyasyon alımını değiştirerek deneklerdeki 1,25-dihidroksivitamin D serum konsantrasyonu değişimi ve deneklerin kemik sertlik derecesini incelemiş, kemik sertlik derecelerinde anlamlı bir fark bulmuşlardır (142). Kemik sertik derecesindeki farklılık sebebiyle kemiğin inorganik komponentlerinin oranındaki değişkenlik ve buna bağlı olarak yara iyileşmesinin ve osseointegrasyon kapasitesinin arttığından bahsedilebilir.

Zhou ve ark. 2012 yılında yaptıkları bir çalışmada denek sıçanlar; önce bilateral overektomi uygulanarak osteoporotik hale getirilmiş, daha sonra ise deneklere 1.8x3.5 mm çapında titanyum diskler uygulanmış, deney grubuna ağız yoluyla 0.1 µg/kg/g 1,25(OH)₂D₃ uygulanmıştır. Denekler 8 hafta sonra sakrifiye edilmiştir. Yapılan histolojik ve histomorfometrik değerlendirmede 1,25(OH)₂D₃ uygulanan grupta kemik implant temas alanı değerlendirmesinde anlamlı derecede fark bulunmuştur (143).

Wu ve ark. 2013 yılında yaptıkları bir çalışmada denek sıçanlar; öncelikle streptozotosin yoluyla diyabetik hale getirilmiş, daha sonra ise 10x1 mm boyunda dental olmayan implantlar yerleştirilmiş, deney ve kontrol grupları arasında 12 µg/kg kolekalsiferol ve insülin'in etkinliği incelenmiştir. 12 hafta sonra sakrifiye edilen deneklerde insülin ve kolekalsiferol'ün birlikte uygulandığı grup daha yüksek değerlerde başarı göstermiştir (144). Toplumda D vitamini eksikliği ve diyabet; prevalansı hızla artan hastalıklardandır. Bu iki hastalığın tedavisi hakkında daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Naito ve ark. 2014 yılında yaptıkları bir araştırmada değişik konsantrasyonlarda $1,25-(OH)_2D_3$ ile yüzey muamelesi gören implantlar herhangi bir yüzey modifikasyonu görmeyen implantların osseointegrasyon süreci tavşan tibiasında incelenmiş, 6 haftalık sakrifikasyon sürecinden sonra yüzey muamelesi gören implantlar kontrol grubuna göre kemik implant temas yüzeyi ve yeni oluşan kemik yüzeyi değerlerinde anlamlı bir artış görülmüştür. Konsantrasyon farkının ise bu değerler üzerinde anlamlı bir etkisi görülmemiştir (145). Çalışmamızda da D vitamini konsantrasyonu ile ilgili bir değişkenden ziyade deney ve kontrol grubu arasında D vitamini olup olmaması arasında bir seçim yapılmıştır.

Dvorak ve ark. 2011 yılında yaptıkları bir araştırmada diyet yoluyla alınan D vitamininin osteointegrasyona etkisini incelemek amacıyla D vitamini içeren ve içermeyen diyet gruplarını overektomi edilmiş sıçanların tibiasına mini titanyum diskler yerleştirmiştir. Diyet yoluyla hiç D vitamini almayan grupta anlamlı bir şekilde daha az kemik implant teması görülmüştür (146). Diyet yoluyla D vitamini mahrumiyeti etik sebepler sebebiyle çalışmamızda gözardı edilmiştir.

Xiong ve ark. 2017 yılında yaptıkları bir çalışmada denek sıçanlar öncelikle streptozotolin yoluyla diyabetik hale getirilmiş; bunun ardından $1,25(OH)_2D_3$ 'ün sistemik olarak osteoblastlardaki Forkhead Transkripsiyon Faktör 1 (FoxO1) inaktivasyonunu sağlayarak implanttaki osseointegrasyonu etkisini deney ve kontrol gruplarıyla incelemişlerdir. Sistemik olarak $1,25(OH)_2D_3$ ün ve lokal FoxO1 inhibitörü uygulanmasının osseointegrasyonu pozitif yönde etkileyebileceği sonucuna ulaşmışlardır (147).

Nemeth ve ark. 2017 yılında D vitamininin kemik metabolizması ve Kalsiyum homeostazı üzerinde etkilerini araştırdıkları bir çalışmada diyetle alınan D vitamini ve ultra-viyole ışınlar vasıtasıyla sentezlenen D vitamin seviyesinin değişimini kalsiyum homeostazı ve bununla beraber kemik metabolizması üzerinde etkilerini araştırmışlardır. 13 hafta sonra sakrifiye edilen deneklerde vücutunda diyet ve ultra-viyole ışın vasıtasıyla D vitamini üretilmeyen deneklerde kalsiyum homeostazı ve kemik metabolizmasında eksiklikler oluştuğunu bildirmişlerdir (148).

Salomó-Coll ve ark. 2018 yılında 6 adet denek köpeğin mandibular premolar dişlerin distal köklerini çekip yüzeyi %5 melatonin, %10 D vitamini ile muamele edilmiş ve kontrol grubu olarak herhangi bir modifikasyon uygulanmamış dental implantlar immediat olarak yerleştirilmiş; 12 hafta sonrasında sakrifiye edilmiştir. Yapılan histolojik ve histomorfometrik analizler sonucunda melatonin ve D vitamini gruplarının kontrol grubu ile kemik-implant temas yüzeyi, krestal kemik kaybı ve yeni kemik oluşumu yüzdesi gibi parametrelerde anlamlı farklılıklar gösterdiğini bildirmişlerdir (149).

Kawakami ve ark. 2004 yılında yaptıkları bir çalışmada denek sıçanlarda deneysel diş hareketini takiben oluşan kemik formasyonunu değerlendirmek için lokal olarak 1,25(OH)₂D₃'ün 10⁻¹⁰M konsantrasyonunda enjekte edildiği grubun kontrol grubunda boş bırakılan gruba karşı etkinliğini incelemişlerdir. Deney grubunda kontrol grubuna göre mineral apozisyon oranı (MAR) değerinde istatistiksel olarak anlamlı derece farklılık gözlenmiştir (150). D vitaminini lokal olarak uygulandığı bu çalışmada da görüldüğü gibi D vitamininin ortodontik hareketleri de hızlandırabileceği sonucuna ulaşılabilir.

Reins ve ark. 2016 yılında yaptıkları bir araştırmada denek sıçanlarda deneysel olarak kornea epitel hücrelerinde defekt oluşturup iyileşme safhasında topikal olarak %0.02 etanolde çözünmüş D vitamini (10⁻⁷–10⁻⁹M) 5µl olarak uygulanmış, uygulanan sahanın uygulanmayan sahaya göre Katelin-İlişkili Antimikrobiyal Peptid (CRAMP) üretiminde artış gözlenmiştir (151). Taşıyıcı olarak etanol kullanılan bu çalışmada görüldüğü gibi vitamin D'e taşıyıcı bir partikül ile kontrollü bir salınım uygulanabilmektedir.

Raghukumar ve ark. 2017 yılında yaptıkları bir çalışmada Verruca Vulgaris (viral siğil) tedavisinde kullanılmak üzere 64 gönüllü insan üzerinde D vitamininin etkisini araştırmışlar; 0.2- 0.5-mL arasında vitamin D₃ solüsyonunu (600,000 IU, 15 mg/mL) siğil merkezine enjekte etmişlerdir. 60 kişiyle biten çalışmada siğil iyileşmesi değerlendirmesinde 54 kişide tamamen olumlu, 4 kişide kısmen olumlu cevap gözlenmiş, 2 kişide de hiç bir cevap gözlenmemiştir (152).

Collins ve ark. 1988 yılında yaptıkları bir çalışmada denek olarak kullanılan kedilerde ortodontik tedavide kanin retraksiyonu işleminde deney grubundaki dişe intraligamental olarak 1,25-dihidrokokaleksiferol haftalık olarak enjekte etmiş; 21 gün

sonunda deney grubu ve kontrol grubu arasında %60 oranında hareket mesafesi farkı tespit edilmiştir (153).

Ciur ve ark. 2016 yılında yaptıkları bir çalışmada benzer bir çalışmayı gönüllü insanlar üzerinde uygulamışlar, 3 ay sonrasında deney ve kontrol grubu arasında %70 oranında fazla diş hareketi gözlenmiştir (154). Bu iki çalışmada da enjeksiyon yoluyla uygulanan bir yöntem yerine taşıyıcı kullanılan bir sistem ile gelecekte klinik çalışmalarda kullanılabilecek bir yöntem uygulanmıştır.

Mangano ve ark. 2018 yılında yaptıkları bir derlemede Ocak 2003'ten Kasım 2017'ye dek 885 hastada yapılan toplam 1740 implantı retrospektif olarak değerlendirmişler, erken implant kaybı yaşayan hastalardaki serum D vitamini değerlerini incelemişlerdir. Çalışmanın limitasyonu sebebiyle düşük serum vitamin D değeri ile erken dönem implant kaybı (EDIF) arasında bir ilişki bulunmuştur ancak bu değer istatistiksel olarak anlamlı değildir (155). Anlamlı olmasa da bu ilişki gözardı edilmemelidir.

Akçay ve ark. 2016 yılında yaptıkları bir araştırmada D vitamini inkübasyonu yapılan farklı partikül boyutlarındaki biyoseramik greftlerin osteoblast hücreleri üzerindeki etkisi hücre kültürü yöntemiyle incelenmiş, inkübasyon yapılan greftlerin olduğu osteoblastlarda farklılaşmanın ve osteoblastik aktivitenin arttığını gözlemlemiştir (156). Bu hücre kültürü çalışması ile çalışmamızın sonuçları paralellik göstermektedir.

Liu ve ark. 2013 yılında yaptıkları bir araştırmada kronik böbrek yetmezliği görülen çoğu kişide D vitamini eksikliği de gözlemlendiğinden, deney grubunda nefrektomi yapılan fareler oluşturulup titanyum diskler farelerin femur kemiğine yerleştirildikten sonra intraperitoneal olarak $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ enjekte edilmiştir. Sakrifikasyondan sonra yapılan incelemede D vitamini enjekte edilen grupta kemik implant temas yüzeyi ve implant etrafındaki kemik hacmi değerlerinde anlamlı bir artış gözlenmiştir (157).

Cho ve arkadaşları 2011 yılında yaptıkları bir çalışmada 12 adet denek tavşanın tibiasına rastgele olarak eşit sayıda olacak şekilde herhangi bir modifikasyon olmayan ve PLGA ile birlikte $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ elektrosprey ile püskürtülen dental implantlar yerleştirilmiştir. 4. ve 12. haftalık sakrifikasyon sürelerinden sonra kemik implant temas yüzeyi değerleri anlamlı olarak deney grubuna göre yüksek olduğu gözlenmiştir (158).

Her ne kadar anlamlı bir fark oluşsa da yüzey modifikasyonları implantasyon esnasında materyalden uzaklaşmakta, bu da başarısızlıklara sebebiyet verilmektedir. Bu yüzden çalışmamızda uygulandığı gibi materyali dental implant yüzeyi yerine defekt oluşturulan sahaya uygulamak daha öngörülebilir bir sonuç verecektir.

Nafei ve ark. denek koyunlarda trabeküler kemiğinin biyolojik, mekanik ve kimyasal özelliklerini inceledikleri bir çalışmada bir kemik yaşı olarak 15 aylık bir koyunun tibiasında geçen bir aylık sürenin bir insanda yaklaşık bir yıla tekabül ettiğini bildirmişlerdir (159). Osseointegrasyonun safhalarını taklit etmek için koyun iliak kemiğinde de bu yüzden 3. ve 6. Haftalık sakrifikasyon süreleri seçilmiştir.

Sartoretto ve ark., 2017 yılında koyun denekler üzerinde yapılan dental implantta yüzey modifikasyonlarının osseointegrasyonun erken safhasına etkilerini araştırdığı çalışmada gruplar arasında sakrifikasyon süresi olarak 7., 14., 21., ve 28. günleri belirlemişlerdir.(160). Bu çalışmada da sakrifikasyon süreleri insandaki osseointegrasyon süresinin erken dönemini taklit etmek için bu şekilde seçilmiştir.

Vayron ve ark. 2018 yılında yaptıkları bir çalışmada dental implant osseointegrasyonunu değerlendirdikleri bir çalışmada 11 adet koyun denegin ilium kemiğine 81 adet dental implant yerleştirip 0, 5, 7 ve 15. haftalarda Rezonans Frekans Analizi (RFA) ve Kantitatif Ultrason (QUS) değerlerini incelemişler; QUS yönteminin RFA yöntemine göre daha güvenilir olduğu sonucuna ulaşmışlardır (161). Denek model olarak koyunun yeterli kemik hacmine ve insana benzer osseointegrasyon sürecine sahip olduğu görülmüştür.

Scarano ve ark. 2016 yılında yaptıkları bir çalışmada araştırdıkları çalışmada, 6 adet denek koyuna 4'er adet defekt açıp dental implant ile yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu (GBR) tekniğinde kullanılan ksenojen greftlerin etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında 4 ay sonunda denekler sakrifiye edilmiştir (162). Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu işleminin de hayvan modeli olarak koyunda uygulanabileceği bu çalışmayla ortaya konulmuştur.

Güner ve ark. 2019 yılında denekler üzerinde yaptıkları çalışmada dental titanyum implantlarla; dental zirkonyum implantları yoğunlaştırılmış büyüme faktörü (YBF) ve otojen greft içeren kemik-implant temas alanı yüzdesi açısından karşılaştırmışlardır. 8.

haftada sakrifikasyon işleminden sonra iki implant materyali arasında peri-implant defekt oluşturulan sahalarda oluşan yeni kemik oluşumu (NBF) arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Sadece peri implant defekt oluşturulan sahalarda YBF uygulanan defektlerde titanyum implant uygulanan sahada zirkonyum implant uygulanan sahaya göre NBF değerinde anlamlı bir fark gözlenmiştir. Peri implant defekt oluşturulmayan grupta ise kemik-implant temas yüzdesi (BIC) değeri açısından zirkonyum ve titanyum implantlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir. Böylelikle defektsiz sahalarda dental zirkonyum implantların titanyuma yakın osseointegrasyon kapasitesi olduğu görülmüştür (163). Denek hayvanlarda kullanılan dental implantların 8 haftalık sakrifikasyon süreci sonrasında başarılı bir osseointegrasyona ulaştığından söz edilebilir.

Çakır ve ark. 2018 yılında yaptıkları bir araştırmada mineralize plazmatik matriks (MPM)'in otojen greftlere göre etkisini araştırmak için 6 adet koyunun tibia'sına kritik boyutlu defektler açıp ilgili biyomateryalleri uygulamışlardır. 3. hafta ve 6. haftalık iki farklı sakrifikasyon süreci sonunda, oluşan yeni kemik miktarı değerlendirmesinde otojen greft grubu daha yüksek değeri elde etmiş, hemen ardından mineralize plazmatik matriks grubu gelmiştir (164). Çalışmamızda da 3. hafta ve 6. haftalık sakrifikasyon süreleri bu çalışma ile benzer sebeplerden seçilmiştir.

Qamheya ve ark. 2018 yılında yaptıkları bir çalışmada termal oksidasyon ve kimyasal modifikasyonun osseointegrasyona etkisini incelemek için 6 adet koyuna toplam 90 adet implant yerleştirmişlerdir. 3. ve 8. haftalık iki farklı sakrifikasyon süreci sonunda standart kumlanmış ve asitlenmiş yüzeylere karşı kemik-implant temas yüzeyi açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır (165). Çalışmamıza benzer bu sakrifikasyon süreleri bu tarz çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır.

2018 yılında Göker ve ark. Paratiroid hormonu ve Stronsiyum Ranelat'ın kemik iyileşmesi üzerine yaptığı çalışmada overektomi edilmiş sıçanlar üzerine kitosan mikropartiküller ile paratiroid hormon ve stronsiyum ranelat'ın oluşturulan kalvaryal defektlere lokal olarak uygulanmış; paratiroid hormon ve stronsiyum ranelatın kemik iyileşmesi üzerinde anlamlı bir etkisi olduğu saptanmıştır. Bununla beraber mikropartiküllü kitosan taşıyıcıların etkinliği de başarılı olarak tespit edilmiştir (166).

2017 yılında Akay ve ark. Oksitosin ilave edilmiş kalsiyum fosfat esaslı greft materyalinin kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerini incelemiş, kalvarial defekt oluşturulan sıçanlarda defekt bölgesine oksitosin yüklü mikropartiküllü bir taşıyıcı sistemin etkinliği incelemiş, bahsedilen greft materyalinin kemik iyileşmesine belirgin ve olumlu etkilerini tespit etmiştir. Aynı zamanda kullanılan mikropartiküllü taşıyıcı sistemin başarıyla çalıştığını da tespit etmiştir (167). Taşıyıcı partiküllerin bu iki çalışma gibi çalışmalarda başarıyla kullanılabilmesi bizi de bu gibi partikülleri kullanmaya teşvik etmiştir.



6. SONUÇLAR

Taşıyıcı partiküllü D vitamininin deneysel olarak oluşturulmuş kritik boyutlu kutu şeklinde defektlerde kullanılan dental implant ile birlikte kullanılan greft materyallerinin osseointegrasyonun erken (3. hafta) ve geç (6. hafta) etkilerinin araştırıldığı çalışmamızda;

- Hem 3. hem de 6. hafta sonunda taşıyıcı partiküllü D vitamini kullanılan grup hem kemik implant temas alanı hem de yeni oluşan kemik yüzdesi değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede fazladır.
- Taşıyıcı partiküllü D vitamini kullanılan grupta Otojen+Ksenojen greft grubu, Ksenojen, Otojen ve Boş gruplarda 3. ve 6. haftalarda hem kemik implant temas alanı hem de yeni oluşan kemik yüzdesi değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede fazladır.
- Taşıyıcı partiküllü D vitamini kullanılmayan grupta Otojen+Ksenojen greft grubu, Ksenojen, Otojen ve Boş gruplarda 3. ve 6. haftalarda hem kemik implant temas alanı hem de yeni oluşan kemik yüzdesi değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede fazladır.
- Taşıyıcı partiküllü D vitamini kullanılan grupta 3. ve 6. hafta arasında kemik implant temas alanı değerindeki artış taşıyıcı partiküllü D vitamini kullanılmayan gruba göre daha fazladır. Ancak bu istatistiksel olarak anlamlı değildir.
- Taşıyıcı partiküllü D vitamini kullanılmayan grupta 3. ve 6. hafta arasında hem kemik implant temas alanı hem de yeni oluşan kemik yüzdesi değerlerinde anlamlı bir değişim gözlenmemiştir.
- Taşıyıcı partiküllü D vitamini kullanılan grupta kemik implant temas yüzdesi ve yeni oluşan kemik alanı değerleri 3. hafta ve 6. hafta arasında anlamlı olarak değişmemiştir.

- Taşıyıcı partiküllü D vitamini kullanılmayan grupta kemik implant temas yüzdesi ve yeni oluşan kemik alanı değerleri 3. hafta ve 6. hafta arasında anlamlı olarak değişmemiştir.

Sonuç olarak taşıyıcı partiküllü D vitaminin hem erken hem de geç dönemde osseointegrasyon kapasitesini arttırdığı, biyouyumluluğunun yüksek olduğu ve bunlarla birlikte kemik rejenerasyonu işlemlerinde güvenle kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır. Mevcut literatürde ve halihazırda devam eden klinik araştırmalarda bu tarz bir taşıyıcı partikülün kullanımı hakkında çok az yayın ve çalışma bulunmaktadır. Bu eksikliğin giderilmesi için bu konuda özellikle daha çok klinik çalışma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.



KAYNAKLAR

1. Adell R, Lekholm U, Rockler B, Brånemark PI. (1981). A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *International journal of oral surgery* 1981; 10(6): 387-416.
2. Holick, M. F. (1994). McCollum Award Lecture, 1994: vitamin D—new horizons for the 21st century.
3. Holick, M. F. (2007). Vitamin D deficiency. *New England Journal of Medicine*, 357(3), 266-281.
4. Holick, M. F., Binkley, N. C., Bischoff-Ferrari, H. A., Gordon, C. M., Hanley, D. A., Heaney, R. P., ... & Weaver, C. M. (2011). Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 96(7), 1911-1930.
5. Dawson-Hughes, B., Heaney, R. P., Holick, M. F., Lips, P., Meunier, P. J., & Vieth, R. (2005). Estimates of optimal vitamin D status.
6. Holick, M. F. (2006, March). High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. In *Mayo Clinic Proceedings* (Vol. 81, No. 3, pp. 353-373). Elsevier.
7. Sartoretto, S. C., Uzeda, M. J., Miguel, F. B., Nascimento, J. R., Ascoli, F., & Calasans-Maia, M. D. (2016). Sheep as an experimental model for biomaterial implant evaluation. *Acta ortopedica brasileira*, 24(5), 262-266.
8. Pearce, A. I., Richards, R. G., Milz, S., Schneider, E., & Pearce, S. G. (2007). Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *Eur Cell Mater*, 13(1), 1-10.
9. Ammann P, Rizzoli R. Bone strength and its determinants. *Osteoporosis International* 2003; 14(3):13-18.
10. Bonewald LF. Osteocytes as dynamic multifunctional cells. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2007;1116(1):281-290.
11. Marotti G, Palumbo C. The mechanism of transduction of mechanical strains into biological signals at the bone cellular level. *European Journal of Histochemistry* 2007;51: 15.

12. Hernandez-Gil, I. F. T., Gracia, M. A., del Canto Pingarrón, M., & Jerez, L. B. (2006). Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. *Med Oral*, 11, E47-51.
13. Datta, H. K., Ng, W. F., Walker, J. A., Tuck, S. P., & Varanasi, S. S. (2008). The cell biology of bone metabolism. *Journal of clinical pathology*, 61(5), 577-587.
14. Hadjidakis, D. J., & Androulakis, I. I. (2006). Bone remodeling. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1092(1), 385-396.
15. Lindhe J, Lang NP. *Clinical Periodontology And Implant Dentistry*. 6nd ed. West Sussex, UK: Wiley Blackwell;2015.
16. Boskey AL. Organic and inorganic matrices. In *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering*. 2016: 1-15.
17. Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2003). *Basic Histology*, 10th Edn, Lange Edition. McGraw Hill, 16, 340.
18. Dash, R. C. (2003). *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology*.
19. Bancroft, J. D., & Gamble, M. (Eds.). (2008). *Theory and practice of histological techniques*. Elsevier health sciences.
20. Komori T, Yagi H, Nomura S, Yamaguchi A, Sasaki K, Deguchi K ve ark. Targeted disruption of Cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts *cell* 1997;89(5):755-764.
21. Fakhry M, Hamade E, Badran B, Buchet R, Magne D. Molecular mechanisms of mesenchymal stem cell differentiation towards osteoblasts. *World journal of stem cells* 2013; 5(4): 136.
22. Boyce BF, Hughes DE, Wright KR, Xing L, Dai A. Recent advances in bone biology provide insight into the pathogenesis of bone diseases. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 1999; 79(2): 83-94.
23. Sodek J , Mckee MD. Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontology* 2000; 24(1): 99-126.

24. Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Archives of biochemistry and biophysics* 2008; 473(2): 139-146.
25. Burger EH, Klein-Nulend J, Van Der Plas A, Nijweide PJ. Function of osteocytes in bone—their role in mechanotransduction. *The Journal of nutrition* 1995; 125:2020-2023 1995
26. Marotti G. The osteocyte as a wiring transmission system. *J Musculoskel Neuron Interact* 2000; 1(2): 133-136.
27. Aszódi A, Bateman JF, Gustafsson E, Boot-Handford R, Fässler R. Mammalian skeletogenesis and extracellular matrix: what can we learn from knockout mice? *Cell structure and function* 2000; 25(2): 73-84.
28. Datta HK, Ng WF, Walker JA, Tuck SP, Varanasi SS. The cell biology of bone metabolism. *Journal of clinical pathology* 2008; 61(5): 577-587.
29. Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2003). Basic Histology, 10th Edn, Lange Edition. McGraw Hill, 16, 340.
30. Sağlam, M., & Histoloji, G. (1987). Genişletilmiş üçüncü Baskı, Emel Matbaacılık Sanayi.
31. Patton, K. T., & Thibodeau, G. A. (2014). Anthony's Textbook of Anatomy & Physiology-E-Book. Elsevier Health Sciences.
32. Branemark, P. I. (1983). Osseointegration and its experimental background. *J prosthet Dent*, 50, 399-410.
33. Becker, K. L. (Ed.). (2001). Principles and practice of endocrinology and metabolism. Lippincott Williams & Wilkins.
34. Rose, F. R., & Oreffo, R. O. (2002). Bone tissue engineering: hope vs hype. *Biochemical and biophysical research communications*, 292(1), 1-7.
35. Becker, K. L. (Ed.). (2001). Principles and practice of endocrinology and metabolism. Lippincott Williams & Wilkins.
36. Rothman, R. H., & Simeone, F. A. (1975). The spine. In *The spine*.
37. Caplan AI. The cellular and molecular embryology of bone formation. *Bone Miner. Res.* 1987; 5: 117-183.

38. Soydan, N. (1993). Diş Hekimleri için Gelişim ve Büyüme. Doyuran Matbaası, İstanbul
39. Junqueira LC, Carneiro J. (2003): Basic Histology, 10th ed., McGraw-Hill, New York, Chapter 8, p.144-146
40. Lindhe J, Lang NP. Clinical Periodontoloji And İmplant Dentistry. 6nd ed. West Sussex, UK: Wiley Blackwell;2015.
41. Boskey AL. Organic and inorganic matrices. In Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering. 2016: 1-15.
42. Gartner L.P., James L.H. Color Atlas of Histology, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Chapter 4, page 73, 2000
43. Doyle, A., & Griffiths, J. B. (1998). Cell and tissue culture: laboratory procedures in biotechnology. Wiley.
44. Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2003). Basic Histology, 10th Edn, Lange Edition. McGraw Hill, 16, 340.
45. Dash, R. C. (2003). Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology.
46. Alpar, K. (1980). Ortopedi İlkeleri ve Uygulamaları. Yargıçoğlu Matbaası, Ankara
47. Alpar, K. (1980a). Ortopedi İlkeleri ve Uygulamaları: Kemiğin Fizyolojisi ve Mineralizasyonu. Yargıçoğlu Matbaası, Ankara, 100-53.
48. Alpar, K. (1980b). Ortopedi İlkeleri ve Uygulamaları: Kemiğin Histolojisi ve Histopatolojisi, Yargıçoğlu Matbaası, Ankara, 33-61
49. Goldstein, SA. ve Bonadio, J. (1998). Potential role of direct gene transfer in the Enhancement of fracture healing. Clin Orthop.; 154-62
50. Einhorn, T. (1995). Current Concepts Review: Enhancement of Fracture Healing. J Bone Joint Surg Am.; 77:940-56
51. Van der Weijden F, Dell'Acqua F, Slot, D.E. Alveolar bone dimensional changes of post-extraction sockets in humans: A systematic review. *J. Clin. Periodontol.* 2009; 36: 1048–1058
52. Misch CE. Contemporary implant dentistry. 3rd ed. Missouri USA, Mosby Inc 2008.

53. Cypher TJ, Grossman JP. Biological principles of bone graft healing. *The Journal of foot and ankle surgery* 1996; 35(5): 413-417.
54. Albrektsson T, Johansson C: Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J* 2001; 10: 96–101.
55. Habibovic P, De Groot K. Osteoinductive biomaterials-properties and relevance in bone repair. *J Tissue Eng Regen Med* 2007; 1(1): 25-32.
56. Guyton AC, Hall JE. Bone and its relations to extracellular calcium and phosphates. In: Guyton AC, Hall JE (eds). *Textbook of Medical Physiology*, ed 9. Philadelphia: Saunders, 1996;989–992.
57. Kassolis JD, Rosen PS, Reynolds MA. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: Case series. *J Periodontol* 2000;71:1654–1661.
58. Shigino T, Ochi M, Hirose Y, Hirayama H, Sakaguchi K. Enhancing osseointegration by capacitively coupled electrical field: A pilot study on early occlusal loading in the dog mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2001; 16:841–850.
59. Shigino T, Ochi M, Kagami H, Sakaguchi K, Nakade O. Application of capacitively coupled electrical field enhances periimplant osteogenesis in the dog mandible. *Int J Prosthodont* 2000;13:365–372.
60. Hoexter DL. Bone regeneration graft materials. *J Oral Implantol* 2002;28:290– 294
61. Lane JM. Bone graft substitutes. *West J Med* 1995;163:565–566.
62. Frame JW. Hydroxyapatite as a biomaterial for alveolar ridge augmentation. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1987;16:642–655.
63. Pinholt EM, Bang G, Haanaes HR. Alveolar ridge augmentation in rats by combined hydroxylapatite and osteoinductive material. *Scand J Dent Res* 1991;99:64–74.
64. Garg, A. K. (2004). Bone biology, harvesting, and grafting for dental implants: rationale and clinical applications.

65. Misch CE, Dietsh F. Bone-grafting materials in implant dentistry. *Implant Dent* 1993;2: 158–167.
66. Hoexter DL. Bone regeneration graft materials. *J Oral Implantol* 2002;28:290– 294
67. Lane JM. Bone graft substitutes. *West J Med* 1995;163:565–566.
68. Frame JW. Hydroxyapatite as a biomaterial for alveolar ridge augmentation. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1987;16:642–655.
69. Pinholt EM, Bang G, Haanaes HR. Alveolar ridge augmentation in rats by combined hydroxylapatite and osteoinductive material. *Scand J Dent Res* 1991;99:64–74.
70. Koole R, Bosker H, van der Dussen FN. Late secondary autogenous bone grafting in cleft patients comparing mandibular (ectomesenchymal) and iliac crest (mesenchymal) grafts. *J Craniomaxillofac Surg* 1989;17(suppl 1):28–30.
71. Calori M, Rodolfo Capanna R, Colombo M, De Biase P. Cost effectiveness of tibial nonunion treatment: A comparison between rhBMP-7 and autologous bone graft in two Italian centres. *Injury, Int. J. Care Injured*. 2013;44:1871–1879.
72. Misch CM. Comparison of intraoral donor sites for onlay grafting prior to implant placement. *Int. J. Oral Maxillofac. Implant*. 1997;12: 767–776.
73. Miloro M, Ghali GE, Larsen P, Peterson LJ, Waite P, Wilk, R.M. Bony reconstruction of the jaws. In *Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2nd ed. Hamilton, Canada: BC Decker Inc;2004.
74. Proussaefs P, Lozada J, Kleinman A, Rohrer MD. The use of ramus autogenous block grafts for vertical alveolar ridge augmentation and implant placement: A pilot study. *Int. J. Oral Maxillofac. Implant* 2002; 17:238–248.
75. Cypher TJ, Grossman JP. Biological principles of bone graft healing. *The Journal of foot and ankle surgery* 1996; 35(5): 413-417.
76. Boyce T, Edwards J, Scarborough N. Allograft bone. The influence of processing on safety and performance. *Orthop. Clin. North Am.* 1999; 30: 571–581.
77. Araujo PP, Oliveira KP, Montenegro SC, Carreiro AF, Silva JS, Germano AR. Block allograft for reconstruction of alveolar bone ridge in implantology: A systematic review. *Implant Dent*. 2013; 22:304–308.

78. Bingham AS, Dehghani SN, Shafiei Z, Torabi Nezhad S. Xenogenic demineralized bone matrix and fresh autogenous cortical bone effects on experimental bone healing: radiological, histopathological and biomechanical evaluation. *Journal of Orthopaedics Traumatology*. 2008 ;(9): 73-80.
79. Buck BE, Malinin TI, Brown MD. Bone transplantation and human immunodeficiency virus. An estimate of risk of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Clin Orthop* 1989;240:129–136.
80. Acil Y, Springer IN, Broek V, Terheyden H, Jepsen S. Effects of bone morphogenetic protein-7 stimulation on osteoblasts cultured on different biomaterials. *J Cell Biochem* 2002; 86:90–98.
81. Wikesjö UM, Sorensen RG, Kinoshita A, Wozney JM. RhBMP-2/alphaBSM induces significant vertical alveolar ridge augmentation and dental implant osseointegration. *Clin Implant Dent Relat Res* 2002;4:174–182.
82. Parithimarkalaignan, S. and T. V. Padmanabhan (2013). "Osseointegration: an update." *J Indian Prosthodont Soc* 13(1): 2-6.
83. T. Albrektsson, P.-I. B., H.-A. Hansson & J. Lindström (1981). "Osseointegrated Titanium Implants: Requirements for Ensuring a Long-Lasting, Direct Bone-to- Implant Anchorage in Man." *Acta Orthopaedica Scandinavica* 52(2): 155-170.
84. Broughton G, J. J. E., Attinger Ch. (2006). "The Basic Science of Wound Healing." *Plastic and Reconstructive Surgery* 117(12s).
85. Friedman, A. (2011). "Wound healing: from basic science to clinical practice and beyond." *J Drugs Dermatol* 10(4): 427-433.
86. Janis, J. E. and B. Harrison (2016). "Wound Healing: Part I. Basic Science." *Plast Reconstr Surg* 138(3 Suppl): 9S-17S.
87. Smith, D.C. Dental implants: Materials and design considerations. *Int. J. Prosthodont*. 1993, 6, 106–117.
88. Parr, G.R.; Gardner, L.K.; Toth, R.W. Titanium: The mystery metal of implant dentistry. Dental materials aspect. *J. Prosthet. Dent*. 1985, 54, 410–414. 57.

89. Sykaras, N.; Lacopino, A.M.; Marker, V.A.; Triplett, R.G.; Woody, R.D. Implant materials, designs, and surface topographies: Their effect on osseointegration. A literature review. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 2000, 15, 675–690.
90. Adell, R.; Eriksson, B.; Lekholm, U.; Brånemark, P.I.; Jemt, T. A long-term follow-up study of osseointegrated implants in the treatment of totally edentulous jaws. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 1990, 5, 347–359.
91. Niinomi, M. Mechanical properties of biomedical titanium alloy. *Mat. Sci. Eng. A* 1998, 243, 231–236.
92. Wataha, J.C. Materials for endosseous dental implants. *J. Oral Rehabil.* 1996, 23, 79–90.
93. McCracken, M. Dental implant materials: Commercially pure titanium and titanium alloys. *J. Prosthodont.* 1999, 8, 40–43.
94. González, J.E.G.; Mirza-Rosca, J.C. Study of the corrosion behavior of titanium and some of its alloys for biomedical and dental implant applications. *J. Electroanal Chem.* 1999, 471, 109–115.
95. Bidez, M.W.; Misch, C.F. Force transfer in implant dentistry: Basic concepts and principles. *J. Oral Implantol.* 1992, 18, 264–274.
96. Odin, G.; Savoldelli, C.; Bouchard, P.O.; Tillier, Y. Determination of Young's modulus of mandibular bone using inverse analysis. *Med. Eng. Phys.* 2010, 32, 630–637.
97. Olmedo, D.G.; Paparella, M.L.; Brandizzi, D.; Cabrini, R.L. Reactive lesions of peri-implantmucosa associated with titanium dental implants: A report of 2 cases. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2010, 39, 503–507.
98. Egusa, H.; Ko, N.; Shimazu, T.; Yatani, H. Suspected association of an allergic reaction with titanium dental implants: A clinical report. *J. Prosthet. Dent.* 2008, 100, 344–347.
99. Javed, F.; Al-Hezaimi, K.; Almas, K.; Romanos, G.E. Is titanium sensitivity associated with allergic reactions in patients with dental implants? A systematic review. *Clin. Implant Dent. Relat. Res.* 2013, 15, 47–52.
100. Flatebø, R.S.; Johannessen, A.C.; Grønningsæter, A.G.; Bøe, O.E.; Gjerdet, N.R.; Grung, B.; Leknes, K.N. Host response to titanium dental implant placement evaluated in a human oral model. *J. Periodontol.* 2006, 77, 1201–1210.
101. Hallab, N.; Merritt, K.; Jacobs, J.J. Metal sensitivity in patients with orthopaedic implants. *J. Bone Joint Surg. Am.* 2001, 83, 428–436.

102. Frisken, K.W.; Dandie, G.W.; Lugowski, S.; Jordan, G. A study of titanium release into body organs following the insertion of single threaded screw implants into the mandibles of sheep. *Aust. Dent. J.* 2002, 47, 214–217.
103. Jacobs, J.J.; Skipor, A.K.; Black, J.; Urban, R.; Galante, J.O. Release and excretion of metal in patients who have a total hip replacement component made of titanium- base alloy. *J. Bone Joint Surg. Am.* 1991, 73, 1475–1486
104. Witt, J.D.; Swann, M. Metal wear and tissue response in failed titanium alloy total hip replacements. *J. Bone Joint Surg. Br.* 1991, 73, 559–563.
105. Tamai, K.; Mitsumori, M.; Fujishiro, S.; Kokubo, M.; Ooya, N.; Nagata, Y.; Sasai, K.; Hiraoka, M.; Inamoto, T. A case of allergic reaction to surgical metal clips inserted for postoperative boost irradiation in a patient undergoing breast conserving therapy. *Breast Cancer* 2001, 8, 90–92.
106. Thomas, P.; Bandl, W.D.; Maier, S.; Summer, B.; Przybilla, B. Hypersensitivity to titanium osteosynthesis with impaired fracture healing, eczema, and T-cell hyper responsiveness in vitro: Case report and review of the literature. *Contact Dermat.* 2006, 55, 199–202.
107. Haug, R.H. Retention of asymptomatic bone plates used for orthognathic surgery and facial fractures. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 1996, 54, 611–617.
108. Sicilia, A.; Cuesta, S.; Coma, G.; Arregui, I.; Guisasola, C.; Ruiz, E.; Maestro, A. Titanium allergy in dental implant patients: A clinical study on 1500 consecutive patients. *Clin. Oral Implants Res.* 2008, 19, 823–835.
109. Schramm, M.; Pitto, R.P. Clinical relevance of allergological tests in total hip joint replacement. In *Bioceramics in Hip Joint Replacement*; Willmann, G., Zweymüller, K., Eds.; Thieme:New York, NY, USA, 2000; pp. 101–106.
110. Bass, J.K.; Fine, H.; Cisneros, G.J. Nickel hypersensitivity in the orthodontic patient. *Am. J.Orthod. Dentofac. Orthop.* 1993, 103, 280–285.
111. Mitchell, D.L.; Synnott, S.A.; van Dercreek, J.A. Tissue reaction involving an intraoral skin graft and CP titanium abutments: A clinical report. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 1990, 5, 79–84.
112. Chaturvedi, T.P. Allergy related to dental implant and its clinical significance. *Clin. Cosmet. Investig. Dent.* 2013, 5, 57–61
113. Siddiqi, A.; Payne, A.G.T.; de Silva, R.K.; Duncan, W.J. Titanium allergy: Could it affect dental implant integration? *Clin. Oral Implants Res.* 2011, 22, 673–680.

114. Balshi, T.H. An analysis and management of fractured implants: A clinical report. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 1996, 11, 660–666.
115. Piattelli, A.; Scarano, A.; Piattelli, M.; Vaia, E.; Matarasso, S. Hollow implants retrieved for fracture: A light and scanning electron microscope analysis of 4 cases. *J. Periodontol.* 1998, 69, 185–189.
116. Eckert, S.E.; Meraw, S.J.; Cal, E.; Ow, R.K. Analysis of incidence and associated factors with fractured implants: A retrospective study. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 2000, 15, 662–667.
117. Green, N.T.; Machtei, E.E.; Horwitz, J.; Peled, M. Fracture of dental implants: Literature review and report of a case. *Implant Dent.* 2002, 11, 137–143.
118. Patterson, E.A.; Johns, R.B. Theoretical analysis of the fatigue life of fixture screws in osseointegrated dental implants. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 1992, 7, 26–34.
119. Morgan, M.J.; James, D.F.; Pilliar, R.M. Fractures of fixture component of an osseointegrated implant. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 1993, 8, 409–414.
120. Virdee, P.; Bishop, K. A review of the aetiology and management of fractured dental implants and a case report. *Br. Dent. J.* 2007, 203, 461–466.
121. Yokoyama, K.; Ichikawa, T.; Murakami, H.; Miyamoto, Y.; Asaoka, K. Fracture mechanisms of retrieved titanium screw thread in dental implant. *Biomaterials* 2002, 23, 2459–2465.
122. O'riordan, J. L., & Bijvoet, O. L. (2014). Rickets before the discovery of vitamin D. *BoneKEy reports*, 3.
123. Kato S. The Function of Vitamin D Receptor in Vitamin D Action. *J Biochem.* 2000;127(5):717-722.
124. Makishima M, Yamada S. Targeting the vitamin D receptor: advances in drug discovery. *Expert Opin. Ther. Patents.* 2005;15:1133-1145.
125. Shulman AI, Mangelsdorf DJ. Retinoid X receptor heterodimers in the metabolic syndrome. *N Engl J Med.* 2005;353(6):604-615.
126. Ferrari S, Bonjour JP, Rizzoli R. The Vitamin D Receptor Gene and Calcium Metabolism. *TEM.* 1998;9(7):259-265.
127. Christakos S, Raval-Pandya M, Wernyj RP, Yang W. Genomic mechanisms involved in the pleiotropic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Biochem J.* 1996; 316(2):361-371.

128. Malloy PJ, Pike JW, Feldman D. The vitamin D receptor and the syndrome of hereditary 1,25-dihydroxyvitamin D-resistant rickets. *Endocr Rev.* 1999;20(2):156-188.
129. Nijenhuis T, Hoenderop JG, Bindels RJ. TRPV5 and TRPV6 in Ca^{2+} (re)absorption: regulating Ca^{2+} entry at the gate. *Pflügers Arch.* 2005;451(1):181-192.
130. Brown AJ, Dusso A, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol.* 1999;277(2):157-175.
131. Fraser DR. Vitamin D. *Lancet.* 1995;345(8942):104-107.
132. Aslan A. Paratiroid Hormon Yüksekliğinde D vitamin eksikliğinin Yeri. T.C. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi _ç Hastalıkları Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi. 2012.
133. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). (2016). Dietary reference values for vitamin D. *EFSA Journal*, 14(10), e04547.
134. Hatun S., Bereket A., Çalikoğlu A.H. (2003) Günümüzde D Vitamini Yetersizliği ve Nütrisyonel Rikets. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi.* 46: 224–241
135. Malabanan A, Veronikis IE, Holick MF. (1998) Redefining vitamin D insufficiency. *Lancet* 351: 805-6.
136. McKenna MJ. (1992) Differences in vitamin D status between countries in young adults and the elderly. *Am J Med* 93: 69-77.
137. Burtis C.A., Ashwood E.R. (2005) Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler. Aslan D. 5. Baskı. Ankara. Palme Yayıncılık..
138. Atas A., Çakmak A., Soran M. (2008) D Vitamin Metabolizması ve Rikets Hastalığı. *Bakırköy Tıp Dergisi.* 4: 1–7
139. Rabelo, R. S., Oliveira, I. F., da Silva, V. M., Prata, A. S., & Hubinger, M. D. (2018). Chitosan coated nanostructured lipid carriers (NLCs) for loading Vitamin D: A physical stability study. *International journal of biological macromolecules*, 119, 902-912.
140. Vora, L. K., Donnelly, R. F., Larrañeta, E., González-Vázquez, P., Thakur, R. R. S., & Vavia, P. R. (2017). Novel bilayer dissolving microneedle arrays with concentrated PLGA nano-microparticles for targeted intradermal delivery: Proof of concept. *Journal of Controlled Release*, 265, 93-101.
141. Williams, D. F. (1986). *Techniques of biocompatibility testing*, CRC Press.

142. Kohler, M., Leiber, F., Willems, H., Merbold, L., & Liesegang, A. (2013). Influence of altitude on vitamin D and bone metabolism of lactating sheep and goats. *Journal of animal science*, 91(11), 5259-5268.
143. Zhou, C., Li, Y., Wang, X., Shui, X., & Hu, J. (2012). 1, 25Dihydroxy vitamin D₃ improves titanium implant osseointegration in osteoporotic rats. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*, 114(5), S174-S178.
144. Wu, Y. Y., Yu, T., Yang, X. Y., Li, F., Ma, L., Yang, Y., ... & Gong, P. (2013). Vitamin D₃ and insulin combined treatment promotes titanium implant osseointegration in diabetes mellitus rats. *Bone*, 52(1), 1-8.
145. Naito, Y., Jimbo, R., Bryington, M. S., Vandeweghe, S., Chrcanovic, B. R., Tovar, N., ... & Wennerberg, A. (2014). The influence of 1 α . 25-dihydroxyvitamin D₃ coating on implant osseointegration in the rabbit tibia. *Journal of oral & maxillofacial research*, 5(3).
146. Dvorak, G., Fügl, A., Watzek, G., Tangl, S., Pokorny, P., & Gruber, R. (2012). Impact of dietary vitamin D on osseointegration in the ovariectomized rat. *Clinical oral implants research*, 23(11), 1308-1313.
147. Xiong, Y., Zhang, Y., Guo, Y., Yuan, Y., Guo, Q., Gong, P., & Wu, Y. (2017). 1 α , 25-Dihydroxyvitamin D₃ increases implant osseointegration in diabetic mice partly through FoxO1 inactivation in osteoblasts. *Biochemical and biophysical research communications*, 494(3-4), 626-633.
148. Nemeth, M. V., Wilkens, M. R., & Liesegang, A. (2017). Vitamin D status in growing dairy goats and sheep: Influence of ultraviolet B radiation on bone metabolism and calcium homeostasis. *Journal of dairy science*, 100(10), 8072-8086.
149. Salomó-Coll, O., de Maté-Sánchez, J. V., Ramírez-Fernandez, M. P., Hernández-Alfaro, F., Gargallo-Albiol, J., & Calvo-Guirado, J. L. (2018). Osseoinductive elements around immediate implants for better osteointegration: a pilot study in foxhound dogs. *Clinical oral implants research*, 29(11), 1061-1069.
150. Kawakami, M., & Takano-Yamamoto, T. (2004). Local injection of 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ enhanced bone formation for tooth stabilization after experimental tooth movement in rats. *Journal of bone and mineral metabolism*, 22(6), 541-546.
151. Reins, R. Y., Hanlon, S. D., Magadi, S., & McDermott, A. M. (2016). Effects of topically applied vitamin D during corneal wound healing. *PloS one*, 11(4), e0152889.

152. Raghukumar, S., Ravikumar, B. C., Vinay, K. N., Suresh, M. R., Aggarwal, A., & Yashovardhana, D. P. (2017). Intralesional vitamin D₃ injection in the treatment of recalcitrant warts: a novel proposition. *Journal of cutaneous medicine and surgery*, 21(4), 320-324.
153. Collins, M. K., & Sinclair, P. M. (1988). The local use of vitamin D to increase the rate of orthodontic tooth movement. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 94(4), 278-284.
154. Iosub Ciur, MD., Zetu, IN., Haba, D., Viennot, S., Bourgeois, D., Andrian, S. (2016). Evaluation of the Influence of Local Administration of Vitamin D on the Rate of Orthodontic Tooth Movement. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*. 120(3):694-99.
155. Mangano, F. G., Oskouei, S. G., Paz, A., Mangano, N., & Mangano, C. (2018). Low serum vitamin D and early dental implant failure: Is there a connection? A retrospective clinical study on 1740 implants placed in 885 patients. *Journal of dental research, dental clinics, dental prospects*, 12(3), 174.
156. Çağrı Akçay, Doktora tezi, D vitamini inkübasyonu yapılan farklı partikül boyutlarındaki biyoseramik greftlerin insan osteoblast hücre kültürlerine etkisinin incelenmesi, 2016
157. Liu, W., Zhang, S., Zhao, D., Zou, H., Sun, N., Liang, X., ... & Yuan, Q. (2014). Vitamin D supplementation enhances the fixation of titanium implants in chronic kidney disease mice. *PloS one*, 9(4), e95689.
158. Cho, Y. J., Heo, S. J., Koak, J. Y., Kim, S. K., Lee, S. J., & Lee, J. H. (2011). Promotion of osseointegration of anodized titanium implants with a 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ submicron particle coating. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 26(6).
159. Nafei, A., Danielsen, C. C., Linde, F., & Hvid, I. (2000). Properties of growing trabecular ovine bone: Part I: mechanical and physical properties. *The Journal of bone and joint surgery. British volume*, 82(6), 910-920.
160. Sartoretto, S. C., Calasans-Maia, J. D. A., Costa, Y. O. D., Louro, R. S., Granjeiro, J. M., & Calasans-Maia, M. D. (2017). Accelerated Healing Period with Hydrophilic Implant Placed in Sheep Tibia. *Brazilian dental journal*, 28(5), 559-565.

161. Vayron, R., Nguyen, V. H., Lecuelle, B., Albini Lomami, H., Meningaud, J. P., Bosc, R., & Haiat, G. (2018). Comparison of resonance frequency analysis and of quantitative ultrasound to assess dental implant osseointegration. *Sensors*, 18(5), 1397.
162. Scarano, A., Lorusso, F., Ravera, L., Mortellaro, C., & Piattelli, A. (2016). Bone regeneration in iliac crestal defects: an experimental study on sheep. *BioMed research international*, 2016.
163. Mehmet Övün Güner, Doktora Tezi , Peri İmplant Defektlerde Yoğunlaştırılmış Büyüme Faktörünün Rejenratif Etkisinin Histolojik ve Histomorfometrik Olarak İncelenmesi, 2019
164. Cakir, S., Gultekin, B. A., Karabagli, M., Yilmaz, T. E., Cakir, E., Guzel, E. E., ... & Mijiritsky, E. (2019). Histological Evaluation of the Effects of Growth Factors in a Fibrin Network on Bone Regeneration. *Journal of Craniofacial Surgery*, 30(4), 1078-1084.
165. Qamheya, A. H. A., Arisan, V., Mutlu, Z., Karabagli, M., Soluk Tekkeşin, M., Kara, K., ... & Ersanlı, S. (2018). Thermal oxidation and hydrofluoric acid treatment on the sandblasted implant surface: A histologic histomorphometric and biomechanical study. *Clinical oral implants research*, 29(7), 741-755.
166. Göker, F., Ersanlı, S., Arisan, V., Cevher, E., Güzel, E. E., İşsever, H., ... & Dervişoğlu, E. (2018). Combined effect of parathyroid hormone and strontium ranelate on bone healing in ovariectomized rats. *Oral diseases*, 24(7), 1255-1269.
167. Ayşe Sümeyye Akay, Doktora Tezi, Oksitosin ilave edilmiş enjekte edilebilir kalsiyum fosfat esaslı bir greft materyalinin kemik rejenerasyonundaki etkinliğinin değerlendirilmesi, 2017

PATENT HAKKI İZNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

PERİ İMPLANT DEFEKTLERDE D VİTAMİNİNİN OSSEOİNTTEGRASYONA ETKİSİNİN HİSTOLOJİK VE HİSTOMORFOMETRİK OLARAK İNCELENMESİ-2

ORJİNALLİK RAPORU

% 9	% 8	% 2	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	www.dent.ege.edu.tr İnternet Kaynağı	% 2
2	dent.ege.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
3	9lib.net İnternet Kaynağı	% 1
4	mro.massey.ac.nz İnternet Kaynağı	% 1
5	dersinozu.com İnternet Kaynağı	<% 1
6	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	<% 1
7	vs1.doczz.fr İnternet Kaynağı	<% 1
8	dfd.atauni.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1

acikerisim.dicle.edu.tr:8080