

NAZLI LATİN



Adınızı soyadınızı giriniz

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .

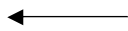


DOKTORA TEZİ



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

İSTANBUL-2014



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

(DOKTORA TEZİ)

**MİNERALİZE DENTİN SEMENT BİLEŞİMİNİN 5
DUVARLI KEMİK DEFEKTLERİNİN İYİLEŞMESİNE
OLAN ETKİSİNİN HİSTOMORFOMETRİK VE
HİSTOLOJİK ANALİZİNİN İN VİVO OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ: DENEYSEL ÇALIŞMA**

NAZLI ALTIN

**DANIŞMAN
PROF. DR. HAKKI TANYERİ**

AĞIZ , DİŞ-ÇENE CERRAHİSİ ANA BİLİM DALI

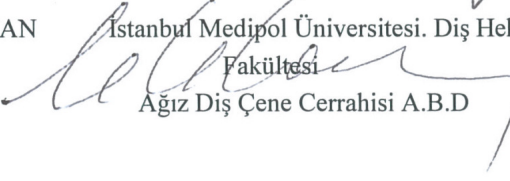
İSTANBUL-2014

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü AĞIZ DIŞ VE ÇENE CERRAHİSİ Anabilim Dalı AĞIZ DIŞ ÇENE CERRAHİSİ VE HASTALIKLARI Programında NAZLI ALTIN tarafından hazırlanan Mineralize dentin ve dentin sement bileşiminin 5 duvarlı kemik defektlerinin iyileşmesine etkisinin histomorfometrik ve histolojik analizinin in vivo değerlendirilmesi başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

07 / 08 / 2014

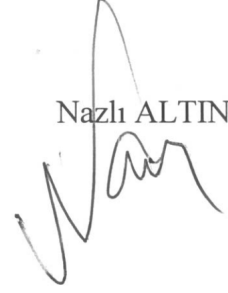
Tez Sınav Jürisi

<u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1.PROF. DR. HAKKI TANYERİ İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Cerrahisi A.B.D.	
2. PROF. DR. MERAL ÜNÜR İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Cerrahisi A.B.D.	
3.PROF. DR. GÜLÜMSER EVLİOĞLU İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi A.B.D.	
4.DOÇ. DR. SERTAN ERGUN İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Cerrahisi A.B.D.	
5.PROF. DR. İBRAHİM SİNA UÇKAN İstanbul Medipol Üniversitesi. Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Cerrahisi A.B.D.	

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Nazlı ALTIN



ITHAF

Annem, Babam ve Kardeşim'e ithaf ediyorum..

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden sürekli yararlandığım ve desteğini hiçbir zaman benden esirgemeyen danışmanım ve sayın hocam Prof. Dr. Hakkı TANYERİ'ye;

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlanmama olanak veren tüm hocalarıma;

Değerli desteği sayesinde tezimin gerçekleşmesini sağlayan ve doktora eğitimim boyunca bana destek olan Doç. Dr. Sertan ERGUN'e;

Tezimin histolojik kısmının yapılmasında büyük emeği geçen Doç.Dr. Vakur OLGAÇ'a;

Doktora eğitimim süresince deneyimlerinden faydalandığım, destek ve yardımlarını gördüğüm Doç. Dr. Meltem KORAY, Dr. Dt. Alp SARUHAN OĞLU, Dr. Dt. Duygu OFLUOĞLU'na;

Tezimin uygulama aşamasında uygun koşullarda çalışabilmem için destek veren İ. Ü. Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Kemal ALTUNATMAZ ve doktora öğrencisi Dr. Esma YILDAR'a;

Doktora eğitimini farklı alanlarda beraber gerçekleştirdiğimiz ve bana her zaman destek olan çok değerli dostlarıma;

Doktora eğitim süresince klinikte bana yardımcı olan, ameliyatlarımı asiste eden ve tezimin yazım aşamasında bana destek olan tüm arkadaşlarıma;

Anabilim dalımızdaki sevgili çalışma arkadaşlarıma, hemşirelerimize ve personelimize;

Yaşamımın her anında yanımda olan, bana güvenen, sonsuz maddi ve manevi destekleriyle beni bugünlere getiren sevgili annem Aynur ALTIN, babam Avni ALTIN ve kardeşim Gökçe ALTIN'a

Teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No:31651.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİ
ÖZET	Xİİİ
ABSTRACT.....	XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Kemik dokusu	4
2.1.1. Kemiğin Yapısı	4
2.1.1.1. Kemiğin makroskopik yapısı	5
2.1.1.2. Kemiğin mikroskopik yapısı	8
2.1.1.3. Kemiğin moleküler yapısı	10
2.1.2. Kemik hücreleri	12
2.1.2.1. Osteoprogenitör hücreler:.....	12
2.1.2.2. Osteoblastlar.....	13
2.1.2.3. Osteositler	14
2.1.2.4. Osteoklastlar.....	14
2.1.3. Kemik Oluşumu (osteogenez).....	15
2.1.3.1. İntramembranöz Kemikleşme	16
2.1.3.2. Endokondral Kemikleşme	18
2.1.4. Kemik iyileşmesi	20
2.1.4.1. Kemik iyileşmesinin oluşumu.....	20
2.1.4.2. Kırık iyileşmesindeki evreler	21
2.1.4.3. Kemik iyileşmesini etkileyen faktörler:.....	26
2.1.4.4. Kemik iyileşmesinin kontrolü	28

2.2. Kemik greftleri.....	30
2.2.1. Kemik Greftinin İyileşme Mekanizması.....	32
2.2.2. Kemik Greft Materyallerinin Etki Şekline Göre Sınıflandırılması.....	33
2.2.2.1. Osteogenezis	33
2.2.2.2. Osteoindüksiyon.....	33
2.2.2.3. Osteokondüksiyon.....	34
2.3. Kemik Greft Materyallerinin Sınıflandırılması	34
2.4. Oral Cerrahide Kullanılan Kemik Greft Materyalleri.....	36
2.4.1. Otojen Greftler	36
2.4.1.1. Ağız İçi (intraoral) Otojen Greft Kaynakları	38
2.4.1.2. Ağız Dışı (Ekstraoral) Otojen Greft Kaynakları	39
2.4.2. Allogreftler.....	39
2.4.2.1. Dondurulmuş Kemik Allogrefti (DKA).....	41
2.4.2.2. Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti (DKKA).....	41
2.4.2.3. Demineralize Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti (DDKKA)	42
2.4.3. Ksenogreftler (heterojen kemik greftleri)	43
2.4.4. Alloplastlar.....	46
2.4.4.1. Seramikler	47
2.4.4.2. Polimerler.....	52
2.5. Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu.....	53
2.5.1. Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu	54
2.5.2. Bariyer Membranlar	54
2.5.2.1. Rezorbe olmayan bariyer membranlar	55
2.5.2.2. Rezorbe olabilen membranlar	57
2.6. Diş Dokusu.....	58
2.6.1. Mine	58
2.6.2. Dentin.....	58
2.6.3. Sement.....	59
2.7. Diş dokusunun yapısı.....	59
2.7.1. İnorganik yapı	59
2.7.2. Organik yapı.....	60
2.8. Diş Dokusunun Biyolojik Uyumu Ve Etkisi	60
2.8.1. Dişin osteoindüksiyon özelliği.....	60

2.8.2. Dişin osteokondüksiyon özelliği.....	63
2.8.3. Diş dokusunun kemik grefti olarak kullanılması	65
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	67
3.1. Gereç.....	67
3.2. Yöntem.....	68
3.2.1. Deney hayvanları ve grupları.....	68
3.2.2. Mineralize kök dentini sement bileşimi elde etme yöntemi	70
3.2.3. Mineralize kök dentini sement bileşiminin X-ray difraksiyon (XRD) analizi..	72
3.2.4. Cerrahi uygulamalar.....	73
3.2.5. Işık mikroskobu takibi ve değerlendirme kriterleri	77
3.2.6. İstatiksel değerlendirmeler.....	79
4. BULGULAR.....	80
4.1. Işık mikroskobu değerlendirmeleri	80
4.1.1. 15. Gün bulguları	80
4.1.2. 45. Gün bulguları	84
4.2. İstatiksel Değerlendirmeler ve Histomorfometrik bulgular	87
4.3. X-ray difraksiyon (XRD) analizinin değerlendirilmesi	94
5. TARTIŞMA.....	95
6. SONUÇ.....	128
KAYNAKLAR	130
ETİK KURUL KARARI	154
ÖZGEÇMİŞ.....	155

TABLolar LISTESi

Tablo 1: Grupların 15. ve 45. Günlerdeki iltihap düzeylerine göre değerlendirilmesi..	88
Tablo 2: Grupların 15. ve 45. Günlerdeki fibrozis düzeylerine göre değerlendirilmesi.	89
Tablo 3: Grupların 15. ve 45. Günlerdeki yeni kemik yapımı düzeylerine göre değerlendirilmesi	90
Tablo 4: Grupların 15. ve 45. Günlerdeki kemik iyileşmesi düzeylerine göre değerlendirilmesi	91
Tablo 5: Grupların 15. ve 45. Günlerdeki kalan greft varlığına göre değerlendirilmesi	92
Tablo 6: Grupların 15. ve 45. Günlerdeki yeni kemik oluşumu yüzdesine göre değerlendirilmesi	93

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3-1: Dişlerin kole bölgesi hizasından kesilerek kuron kısmının ayrılması ve elde edilen diş kökleri.....	71
Şekil 3-2: Dişlerin ayrılan kök önce 350 °C’de ve sonra 800 °C’de 4 saat yakılarak kalsifiye edilmesi	71
Şekil 3-3: Elde edilen kök dentini-sement bileşimi havanda dövüldükten sonra 50 mesh’lik elekten geçirilerek partikül boyutu 0.297 mm olarak belirlenmesi.	72
Şekil 3-4. İnsizyon tamamlandıktan sonra mukoza ve periosteumun ayrı ayrı kaldırılması sonrasında kemiğe ulaşılması.	74
Şekil 3-5: 5 mm’lik trefan frezle alt çenenin sağ ve sol dişsiz alanlarının herbirine üçer adet defekt oluşturulması	75
Şekil 3-6: Alt çenede oluşturulan defektlerin bir tanesi kontrol gurubu olarak boş bırakıldı. İkinci defekte mineralize kök dentini seiment bileşimi, üçüncü defekte ise hayvan kaynaklı mineralize kemik grefti (Bi-Oss®) uygulanması.	75
Şekil 3-7: Kollajen membran (Bio-Guide®) tüm defektlerin üzerini tamamen örtecek ve etrafından bir miktar taşacak şekilde yerleştirilmesi.....	76
Şekil 3-8: Cilt altı dokular 4.0 sentetik rezorbe olabilen dikiş (vicryl) ile, cilt dokuları 3.0 ipek dikişler ile, deri de tel dikişler (stapler) ile dikiş araları eşit olacak biçimde primer olarak kapatılması.	76
Şekil 4-1: 15. Gün Grup 1 (H&E x 200).....	81
Şekil 4-2: 15. Gün Grup 1 (H&E x 200).....	81
Şekil 4-3: 15. Gün Grup 2 (H&E x 200).....	82
Şekil 4-4: 15. Gün Grup 2 (H&E x 200).....	82
Şekil 4-5: 15. Gün Grup 3 (H&E x 200).....	83
Şekil 4-6 : 15. Gün Grup 3 (H&E x 200).....	83
Şekil 4-7: 45. Gün Grup 1 (H&E x 40).....	84
Şekil 4-8: 45. Gün Grup 1 (H&E x 100).....	85
Şekil 4-9: 45. Gün Grup 2 (H&E x 100).....	85
Şekil 4-10: 45. Gün Grup 2 (H&E x 40).....	86
Şekil 4-11: 45. Gün Grup 3 (H&E x 200).....	86
Şekil 4-12: 45. Gün Grup 3 (H&E x 40).....	87
Şekil 4-13. Grupların 15. ve 45. günlerdeki iltihap düzeylerinin değerlendirilmesi	88

Şekil 4-14: Grupların 15. ve 45. günlerdeki fibrozis düzeylerinin değerlendirilmesi	89
Şekil 4-15: Grupların 15. ve 45. günlerdeki yeni kemik yapımı düzeylerinin değerlendirilmesi	90
Şekil 4-16: Grupların 15. ve 45. günlerdeki kemik iyileşmesi düzeylerinin değerlendirilmesi	91
Şekil 4-17: Grupların 15. ve 45. günlerdeki kalan greft varlığının değerlendirilmesi....	92
Şekil 4-18: Grupların 15. ve 45. günlerdeki yeni kemik oluşumu yüzdesinin değerlendirilmesi	93
Şekil 4-19: X-ray difraksiyon (XRD) analizinin değerlendirilmesi	94

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

HA: Hidroksiapatit

TCP: Tricalcium phosphate, Trikalsiyum fosfat

DKM: Demineralize kemik matriksi

BMP: Bone morphogenetic protein, kemik morfogenetik proteini

DDM: Demineralize dentin matriksi

PRP: Platelet rich plasma, trombosit zengin plazma

IGF: Insuline like growth factor, insüline benzer büyüme faktörü

PDGF: Platelet derived growth factor, trombosit kaynaklı büyüme faktörü

TGF: Transforming growth factor, dönüştürücü büyüme faktörü

FGF: Fibroblast growth factor, fibroblast büyüme faktörü

VEGF: Vascular endothelial growth factor, vasküler endotelial hücre büyüme faktörü

DKA: Dondurulmuş kemik allogrefti

DKKA: Dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti

DDKKA: Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti

ODDM: Otojen demineralize dentin matriksi

YDR: Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu

YKR: Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu

KBD: Kritik Boyut Defekti

DHDM: Demineralised human dentin matrix, demineralize insan dentin matriksi

ÖZET

ALTIN N (2014). Mineralize Dentin Sement Bileşiminin 5 Duvarlı Kemik Defektlerinin İyileşmesine Olan Etkisinin Histomorfometrik ve Histolojik Analizinin İn Vivo Olarak Değerlendirilmesi: Deneysel Çalışma. Doktora Tezi. İstanbul.

Oral ve maksillofasiyal cerrahide kemik içi defektlerin tedavisinde, kemik rejenerasyon hızını arttırabilmek için farklı cerrahi teknikler, kemik greft materyalleri, biyoyarıcı sistemler, sistemik olarak uygulanan hormon ve mineral destekleri ve büyüme faktörleri gibi anabolik ajanlara başvurulmaktadır. Dentinin inorganik yapısının ana komponentini hidroksiapatit (HA) ve trikalsiyum fosfat (TCP) oluşturur. Kemik dokusunun temel mineralleri düşük kristal yapıda oldukları için kemik greft materyali olarak kullanılan dentin ve sementin osteokondüktif etki göstererek iyi kemik yapımının oluşumunu sağladıkları bildirilmiştir. Çalışmamızda kemik kavitelerinin iyileşmesinde insan dişinin kökünden elde edilen mineralize dentin sement bileşimi ile hayvan kaynaklı mineralize kemik grefti Bi-Oss® (Geistlich Pharma, Wolhusen, Switzerland)'un etkinliğinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi amaçlandı. Çalışmamızda 8 adet ortalama 30±40 kg ağırlığında 8 adet erkek koyun kullanıldı. Her iki alt çenede 5 mm çapında ve 4 mm derinliğinde oluşturulan defektlerin bir tanesi kontrol gurubu olarak boş bırakıldı. İkinci defekte mineralize kök dentini sement bileşimi, üçüncü defekte ise hayvan kaynaklı mineralize kemik grefti (Bi-Oss®) uygulandı. Deney hayvanları iki alt gruba ayrılarak 15. ve 45. günlerde sakrifiye edildikten sonra histolojik değerlendirme ve histomorfometrik karşılaştırma yapıldı. İnceleme sırasında bütün gruplardan elde edilen kesitler; yeni kemik yapımı, kemik iyileşmesi, iltihap, nekroz, fibrozis, yabancı cisim reaksiyonu ve kalan greft materyali açısından değerlendirildi. Gruplar nekroz oluşumu ve yabancı cisim reaksiyonu açısından değerlendirildiğinde hiçbir grupta nekroz görülmedi ve benzer şekilde yabancı cisim reaksiyonuna rastlanılmadı. Grupların 15. gün ve 45. günlerdeki yeni kemik yapımı düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken gruplar içi yapılan değerlendirmelerde 45. gündeki yeni kemik yapımı düzeyi, 15. gün'den istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: partikül dentin, sement, diş, hidroksiapatit, kemik iyileşmesi

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 31651

ABSTRACT

ALTIN, N. (2014). Histological and histomorphometric evaluation of the bone healing procedure in the defects filled with mineralised dentin-cementum combination: experimental study. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Ph.D Thesis. Istanbul.

In oral and maxillofacial surgery, periodontal surgery, implant surgery, and diverse other fields, grafting biomaterials are used to repair hard and soft tissue defects, in conjunction with guided tissue regeneration and guided bone regeneration. The main component of dentin has been identified to be HA and TCP, which are osteoconductive bone graft materials. If dentin and cementum are used as bone graft materials, good bony remodeling by osteoconduction can be expected because the main minerals of bone tissue are low-crystalline apatite. The aim of this study was to evaluate the human root dentine and cementum as bone substitute material to mandibular bone defects in sheeps, and to compare it with Bio-Oss®. 8 male sheeps, weighing 30 ± 40 kg were used in this study. The sheeps were randomly assigned to 3 groups, and each group was further divided into 2 subgroups which were examined at 15 and 45 days after the defects were filled. Bilateral 5 mm×4 mm bone defects were created in the mandible of each animal. Grafting materials were not transplanted into group 1; mixture of particulate dentin and cementum was grafted into group 2; Bi-Oss® was grafted into group 3. Histological and histomorphometric analysis were performed to quantify the amount of new bone within the defects under light microscope. Bone filling, inflammation, fibrosis, necrosis, foreign body reactions and graft remnants were assessed on scale from 1 to 4. There were no signs of chronic inflammation, giant cells, or foreign body reactions to the greft material. The overall new bone formation was significantly different between the 15 days samples and the 45 days samples ($p:0.001$; $p<0.01$). There was no significant difference in new bone formation between group1, group 2 and group 3.

Key words: particulate dentin, cementum, tooth, hydroxyapatite, bone healing

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 31651.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kemik, insan vücudunda yaralanma sonrası kendi kendine yeniden oluşum yeteneğine sahip mekanizması ile şeklini ve işlevini yeniden kazanabilen bir doku olmasına rağmen; travma, enfeksiyon, patolojik lezyonlar, doğumsal anomaliler ya da cerrahi girişimler sonucunda oluşan geniş kemik defektlerinin iyileşmesinde bu mekanizma yetersiz kalabilir (1,2,3). Canlı organizmalarda bu etkenler sonucu meydana gelen defektlerin iyileşmesine ya da bu defektlerin organizma tarafından daha düzenli ve hızlı bir şekilde tamamlanmasına yardımcı olan tüm maddelere “*biyomateriyal*” denilmektedir. Oral ve maksillofasiyal cerrahide çeşitli nedenlerle meydana gelen defektlerin tedavisinde kemik greft materyalleri ve kemik yerine geçen biyomateriyaller kullanılmaktadır (4).

Kemik içi defektlerin tedavisinde, kemik rejenerasyon hızını arttırabilmek için farklı cerrahi teknikler, kemik greft materyalleri, biyouyarıcı sistemler, sistemik olarak uygulanan vitamin, hormon ve mineral destekleri, elektriksel uyarıcılar ve büyüme faktörleri gibi anabolik ajanlara başvurulmaktadır (3,5,6,7,8). Bunlar arasında otojen kemik greftleri osteoindüktif, osteokondüktif potansiyele ve osteojenik hücrelere sahip olmasıyla altın standart olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte bu greftlerin ikinci bir cerrahi işleme ihtiyaç göstermesi, dörör bölgede morbidite oluşturmaları ve istenilen miktarda elde edilememesi gibi bazı dezavantajlarının olması otojen kemik grefti kadar başarılı iyileşme sağlayabilen yeni ürünlerin geliştirilmesi için yapılan çalışmaların artmasını sağlamıştır (1,9,10). Otojen kemik greftlerine alternatif olarak geliştirilen heterojen ve allojen kaynaklı değişik greft türleri ve alloplastik materyaller birçok deneysel ve klinik ortamlarda denenmiş ve bir bölümü rutin kullanıma sunulmuştur (11). Bu materyallerin sayıları artsa da bugüne kadar ideal bir materyal bulunamamıştır.

Otojen greft materyaline alternatif olarak geliştirilen bir greft materyali, demineralize kemik matriksidir (DKM). 1965’de Urist, kas içine uygulanan ceplere DKM implantasyonunun hemopoetik kemik iliği aralıklarının gelişimiyle tam bir endokondral kemik formasyonunu özetleyen bir süreç başlattığını rapor etmiştir. Bu keşif; DKM’in yeni kemik formasyonu gereken ortopedik, maksillofasiyal ve periodontal cerrahi bölgelerinde bir allogreft doku olarak kullanımına yol açmıştır

(12,13). Allogreftler ikinci bir operasyon bölgesine ihtiyaç duyulmaması, sınırsız miktarda olmaları gibi avantajlara sahip olmakla beraber düşük de olsa antijenik özelliklere sahiptirler (14). Sığır kaynaklı hidroksiapatit (HA), osteokondüktif özelliği olan, güvenli ve biyouyumlu bir çeşit ksenogreft materyalidir. Bu greft materyallerinden biri olan ve sığır kemiğinin tamamen deproteinize edilmesiyle elde edilen Bio-Oss® tüm protein yapıların uzaklaştırılmış olması nedeniyle osteokondüktif bir materyal olarak kemik iyileşmesine etki ettiği bildirilmiştir (15,16,17).

Allojenik veya heterojenik greft materyallerinin her birinin sterilizasyon ve işlenme yöntemlerine bağlı olarak bir takım avantaj ve dezavantajları vardır. Allogreft ve ksenogreftlerin hastalık transfer riski gibi dezavantajlarından kaçınmak için son yirmi yıldır araştırmacılar biyouyumlu sentetik greft materyalleri olan alloplastları üretmişlerdir (9,18,19). Bunlardan kalsiyum fosfat kaynaklı biyoseramikler, kemiğin organik yapısına benzer bileşenler içermesi ile dental, maksillofasiyal ve ortopedik cerrahide kemik greft materyali olarak geliştirilmeye başlanmıştır. Kalsiyum fosfatın diş hekimliğinde ve tıp alanında kullanılan iki kristal fazı HA ve β -TCP'dir. Hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), kemiğin primer inorganik doğal komponentidir. Bu materyaller osteokondüktif özellikte olup, mükemmel biyouyumluluğu çok az inflamatuvar yanıt gösterir (20,21,22,23). Sentetik veya yarısentetik materyallerin sayıları artsa da bugüne kadar ideal bir materyal bulunamamıştır (24,25).

Otojen greftlerin osteojenik etkisi nedeni ile altın standart olması ancak ikinci donör alan oluşturması gibi dezavantajının bulunması araştırmacıları diş dokusundan otojen greft geliştirmek üzerine yoğunlaştırmıştır. **Kim YK ve ark.** 1993 ten beri insan dişi kullanılarak yeni bir biyomateryal geliştirme üzerine çalışmalar yapmaktadır (26,27). Dişlerin, özellikle kemik ve dentinin kimyasal özellikleri birbirine çok yakındır. Mine %96 inorganik bileşenler ve %4 su içerirken, dentin %65 inorganik bileşenler, %35 organik bileşenler ve su içermektedir. Sement %45-50 inorganik bileşenler, %50-55 organik bileşenler ve su içermektedir. Son olarak alveolar kemik %65 inorganik ve %35 organik bileşenler içermektedir (26,28).

Dentinin organik yapısı dentin ağırlığının %20'si oluşturur ve organik yapının %90'ı da tip I kollajenden oluşur. Bununla birlikte dentin nonkollajen proteinler ve

kemik yapımı uyaran kemik morfogenetik proteini (bone morphogenetic protein-BMP) içerir (29,30,31). **Bessho ve ark.** yapmış oldukları çalışmada tavşanlardan dişleri çektikten sonra çekim soketini oluşturan alveol kemik matriksinden, çekilmiş dişlerin dentin matriksinden ve çekim soketindeki yumuşak dokudan BMP elde etmişlerdir (32). Demineralize dentin matriksinin (DDM) kemik oluşumuna etkisinin araştırıldığı çalışmalarda diş kaynaklı insan DDM'nin kemik oluşumunu uyardığı bildirilmiştir (33,34,35). Ancak yapılan çalışmalar farklı canlıdan elde edilen dişlerin kemik grefti olarak kullanımda enfeksiyon riskini önlemek için organik kısmın yok edilmesi gerektiğini belirtmektedir (24,27,36,37). Yapılan çalışmalarda diş dokusunun organik bileşenlerinin elimine edilmesiyle ilgili farklı yöntemler tanımlanmıştır. En çok kullanılan yöntem dişin yüksek sıcaklıkta yakılmasıdır. Dişin yakılmasında 300-1500 °C derece arasında farklı derecelerde sıcaklık uygulaması yapılmıştır (38,39).

Kim ve ark. insan dişini yüksek sıcaklıkta (950 C°) yaktıktan sonra elde ettikleri blokları 0.149 mm partikül boyutunda öğütürerek elektron mikroskopunda ve X-ray difraksiyon yöntemi (XRD) ile inorganik bileşenlerin analizini değerlendirdikleri çalışmalarında yakılan dişin ana bileşeninin biyouyumu yüksek ve osteokondüktif greft materyali olarak kullanılan HA ve β -TCP olduğunu belirtmişlerdir. Elde edilen bu materyale diş külü yada partikül dentin adını vermişlerdir. (40,41,42).

Partikül dentinin greft olarak kullanılması yönündeki araştırmalarda partikül dentinin paris alçısı, trombosit zengin plazma (platelet rich plasma-PRP), fibrin yapıştırıcı ve kitosan ile birlikte kullanımının kemik iyileşmesine olan etkisi incelenmiştir. Çalışmalarda partikül dentinin genellikle 100 mesh'lik elekten geçirilerek 0.149 mm boyutunda kullanıldığı görülmüştür (21,43,44,45,46).

Çalışmamızda sağlıklı insanlardan çekilen gömük 20 yaş diş köklerinin önce 350 C°'de 4 saat, sonra 800 C°'de 4 saat yakılmasıyla elde edilen dentin-sement bileşiminin kemik iyileşmesine olan etkisi koyunların alt çenesinde oluşturulan 5 duvarlı kemik içi defektlerde incelenmiştir. Dentin sement bileşimi 50 mesh'lik elekten geçirilerek 0.297 mm boyutunda partikül elde edilmiştir. Çalışmamızda daha büyük partikül formunda kullanılan dentin sement bileşiminin osteokondüktif etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik dokusu

Kemik dokusu hücreler, lifler ve temel maddeden oluşan; ancak yapısında bulundurduğu farklı hücrelerin ve ara maddenin kalsiyum ve fosfat tuzları ile mineralize olması sonucu sağlamlık ve esneklik gibi fiziksel özellikler kazanan ileri derecede özelleşmiş kalsifiye bağ dokusudur (47,48). Hücreler arası kalsifiye olan maddeye *kemik matriksi* denir (49). Yetişkin iskeletin en önemli yapı taşı olan kemik dokusunun işlevleri gövdeye mekanik destek olma, kas dokusu ile birlikte hareketi sağlama, beyin, kalp, akciğerler gibi yaşamsal organları koruma, kemik iliği içermesi nedeniyle dolaylı olarak kan yapımında görev alma ve kalsiyum ve fosfor gibi bazı mineralleri depolamadır (50,51). Kemik dokusu hücre içi iletişim yollarında gerekli bir element olan kalsiyumu depolaması ve gerekli durumlarda kalsiyum ihtiyacını karşılaması, akciğer ve böbreklerle uyum içinde çalışarak vücudun pH dengesinin sağlanabilmesi için ilave fosfat ve karbonat üretimini sağlaması ile endokrin sisteme yardımcı olur. Aynı zamanda sinir ve kas arasındaki elektriksel değişikliklerin iletimini sağlar (14,52,53,54).

Kemik, insan vücudunun en sert dokularından biri olmasına rağmen esnek ve elastik bir yapıdadır. Kemik deforme edici kuvvetler karşısında elastisite sınırı aşılmadığı sürece kıvrılabilir, bununla birlikte aksiyel kuvvetler karşısında direnci yüksek olmasına rağmen rotasyonel kuvvetlere direnci azdır (49,52). Kemik bu fonksiyonlarının yanında kendisini onarabilen hacim, şekil ve yapısal özelliklerini mekanik ihtiyaçları doğrultusunda uyarlayabilen bir yapıya sahiptir. Kemik dokusunun iç ve dış yüzeyleri hücreler ve bunların uzantılarıyla kaplanmış olup kemik matriksi, organik ve inorganik bileşenler içermektedir. Kemik yapısı ve içeriği; yaşa, bulunduğu lokalizasyona ve mekanik ve hormonal uyarılara bağlı değişiklikler gösterebilir (55,56).

2.1.1. Kemik yapısı

Kemik dokusu, kemiklerin % 80'ini oluşturan ve birçok kemikğin dış tabakasını yapan kortikal (kompakt) kemik ve kalan % 20'lik kısmı oluşturan, kortikal kemikğin içerisindeki süngerimsi (spongiyöz) kemik olmak üzere iki tipten oluşmaktadır. Kemik

dokusu kimyasal olarak organik ve inorganik kısımlardan oluşur. Organik kısımda kollajen, proteoglikan, proteinler (osteopontin, osteokalsin, osteonektin, kemik sialoprotein), büyüme faktörleri ve sitokinler bulunur. İnorganik kısmı ise çoğu hidroksiapatit formunda olmak üzere kristal tuzları (Kalsiyum Hidroksiapatit, Kalsiyum Fosfat) içerir (57,58).

Kemiğin yapısı;

1.Makroskopik Yapı

2.Mikroskopik Yapı

3.Moleküler Yapı olmak üzere 3 farklı düzlemde incelenebilir (14).

2.1.1.1. Kemiğin makroskobik yapısı:

Kemik dokusu morfolojik olarak uzun ve yassı kemikler olmak üzere iki ana yapısal gruba ayrılır. Anatomik olarak uzun kemikler, merkezi (diafiz) ve uç kısım (epifiz) veya sekonder ossifikasyon merkezini içerirler. Diafiz ve epifizin birleşme noktasına epifizyal plak denir ve burası başlıca büyüme alanıdır. Bu bölge normal uzunlamasına büyümenin olduğu yerdir. Yassı kemiklerin epifizyal plakları yoktur (52).

İnsan ve diğer memelilerin kemikleri porozitelerine bağlı olarak iki farklı tür dokudan oluşmaktadır; bunlar yoğun kortikal doku ve süngerimsi kansellöz dokudur. Kortikal ve süngerimsi kemik, matriks içeriği ve yapısı olarak aynıdır. Fakat birim hacme düşen kemik matriks miktarı, kortikal kemikte daha fazladır. Kemik içerisinde mineralize olmamış boşluklarda ilik bulunmaktadır ve bu doku kan damarları, sinirler ve çeşitli tipte hücreler içermektedir. İliğin esas fonksiyonu kandaki temel hücreleri üretmektir (49,53).

Kemik makroskobik olarak incelendiğinde en dış kısımda kortikal kemik veya kompakt kemik denilen kısmı görülür. Bu kısım mekanik destek sağlayan kısımdır ve lameller kemik formunda ince kollajen fibrillerden oluşmuştur. Kemiğin merkezinde metabolik faaliyetlerden sorumlu kansellöz, trabeküler ya da süngerimsi kemik denilen kısım bulunur. Bu kısımda düzgün sıralanmış fibriller bulunmaz, matriksi gevşek yapıdadır. Makroskopik olarak balpeteği veya kafes görüntüsündedir ve üzerinde hematopoetik elemanları bulundurur (57).

2.1.1.1.1 Kortikal kemik

Tüm kemik kütesinin %80'ini oluşturan kortikal kemik uzun kemiklerin aksında bulunur ve diğer süngerimsi kemiklerin etrafında bir kabuk oluşturur (52). Kortikal kemik hayati organları korur, biyofonksiyonel kuvvetlere direnç gösterir, harekete olanak verir ve iç denge için uygun bir kaynak oluşturur (59).

Kortikal kemik dokusu kemik lamellerinden oluşmakta olup bu lamellerin büyük bir kısmı kemiğin temel yapı birimi olan osteon'u (Haversian sistem) oluşturur. Kemik lamelleri yapısal özellikleri ve geometrik dizilimlerine göre dış çevresel (dış sirkumferansiyel) lameller, iç çevresel (iç sirkumferansiyel) lameller, osteonlar (Haversian Kanal Sistemi) ve ara (intertisyel) lameller olarak sınıflandırılırlar. Kompakt kemiklerin dış yüzeyindeki periosteumun altında ve iç yüzeyde endosteuma yakın üst üste daireler şeklinde bulunan lameller dış çevresel lamellerdir. İç çevresel lameller dış çevresel lamellere benzerler. Kansellöz kemik trabekülleri bu tabakaya bağlı olarak kemik iliğine doğru gelişim gösterirler (49,59,60,61,62).

Kortikal kemiğin merkezindeki kan damarları etrafında osteoblastlar tarafından örülmüş elipsoid oryantasyona sahip ekstraselüler kemik matriksi ve iç içe yerleşmiş halkalar şeklinde görülen ve kümelenmiş kemik silindirleri şekline organize olan kemik lamelleri, Haversian kanal sistemi ya da Osteonlar'ı oluşturur. Haversian kanal sistemleri kemiğin uzun eksenine paralel olarak dizilmiştir (63,64,65). Her Osteon'un merkezinden Haversian kanalı geçmekte olup, damar-sinir paketini barındıran bu kanalların iç yüzünü ince bir osteoblastlar ve osteoprogenitör hücreler tabakası döşemektedir (60,62,63). Haversian kanalları osteonların kendi aralarında ve kemik dış yüzeyi ile iletişimi sağlayan ve kemik yüzeyine dik seyreden Volkmann kanalları ile birbirine bağlanır. Volkmann kanalları içinden kan damarları ve sinir paketi geçer. Bu kanallar kompakt kemik içinde zengin bir damar ağı oluştururlar (60). Osteonların aralarında kalan alanları dolduran değişik çaptaki düzensiz üçgen biçimli lameller ara lameller (intertisyel sistem) olarak adlandırılır. Bu lameller mikroskopik olarak seçilebilen, bir osteonun bitip diğerinin başladığı sınır olan sement çizgisi denilen yere kadar devam ederler. Kortikal kemik yoğun miktarda kemik matriksinden oluşmuş olup, matriks üzerinde kemik hücrelerinin (osteositlerin) yer aldığı lakün denilen boşluklar

vardır. Bu küçük lakünalar kanalikülü adı verilen ince kanalcıklar vasıtasıyla birbirlerine veya havers kanalına açılabilir, ancak hiçbir kanalikül sement çizgisini geçmez. Kanaliküliler ara madde içinde komşu lakünlerin kanalikülileriyle anastomoz yaparlar. Böylece birbirinden ayrı olan lakünler bu kanalcıkların oluşturduğu ağ ile sürekli ilişki halinde bulunurlar. Bu dar geçitler kemik hücrelerinin beslenmesinde görev yapmaktadır (64,66,67).

Kortikal kemiğin süngerimsi kemiğe göre diğer özellikleri; daha sert ve rijit oluşu (yüksek Young modülüsü), torsiyon ve bükülmeye karşı daha dayanıklı oluşu, daha az kanlanması ve daha düşük kemik döngüsüne sahip olması olarak sayılabilir (66).

2.1.1.1.2 Süngerimsi (Spongiyöz) kemik

Kansellöz ve trabeküler kemik olarak da bilinen süngerimsi kemik tüm vücuttaki kemiklerin yaklaşık % 15'ini oluşturur. Kübik kemiklerde, düz kemiklerde ve uzun kemiklerin medüller kavitelerinde ve metafizlerinde bulunur (14,53,65). Süngerimsi kemik gözenekli bir yapıya hakim olup, kemik matriksi birbirleriyle anastomoz yapan kemik trabeküllerinden oluşmuştur. Trabeküller aslında lameller tarzda yapılardan oluşmakta olup dizilimleri paralel olmadığından girintili çıkıntılı bir görünüme sahiptirler (67,68). Yüzeyin hacmine oranı yüksek olup, buna ek olarak yoğunluğu düşüktür, elastiktir ve daha düşük bir Young modülüsüne sahiptir. Bu durum daha fazla kanlanmasını, daha hızlı kemik döngüsüne sahip olmasını sağlar ve bunlara bağlı olarak daha fazla yeniden şekillenme kabiliyeti bulunur (66,68,69). Medullar kaviteleri kemik iliği ile doludur (53,61).

2.1.1.1.3 Periosteum ve endosteum

Kemiklerin iç ve dış yüzeyleri özel bağ dokusu tabakalarla örtülü olup, bu bağ dokusu tabakaları osteojenik potansiyele sahiptir. Kemikle doğrudan teması olan ve kemik oluşturan hücrelerden (osteoblast) meydana gelen dış tabakaya periosteum denilmektedir (63,67). Olgunlaşan kemiklerde çok ince olan periosteum, kortikal kemik ile onu çevreleyen yumuşak dokular ya da kaslar arasındaki bağlantıyı sağlamaktadır

(55,61,64). Perisoteum alttaki kemik dokusuna demetler halinde kollajen liflerden oluşan sharpey lifleri ile sıkıca yapışık durumda olup, kemik hasarı ve onarımı durumunda osteojenik potansiyelleri engelleyen inaktif bağ dokusu hücrelerini içermektedir (63,68,70).

Endosteum, kan damarlarından zengin, kemik dokusunun iç tabakasıdır. Havers kanallarıyla birlikte kemiğin bütün boşluklarına uzanan ve kemik iliğini barındıran süngerimsi duvarları örten endosteum tek kat yassı osteoprogenitör hücreler ile çok az miktarda bağ dokusundan oluşur (58,71,72). Endosteumun kemik dokusuna bakan yüzeyinde tek sıra halinde bulunan osteoprogenitör hücreler kemik onarımı sırasında bölünerek osteoblastlara dönüşürler. Endosteum, Volksman kanallarına girer ve Sharpey lifleri yardımıyla kemiğe tutunur (64,69,70).

2.1.1.2. Kemiğin mikroskopik yapısı:

Kemik dokusu mikroskopik olarak incelendiğinde iki farklı kemik türü olduğu görülmektedir. Bunlar primer (immature, nonlamellar veya woven) kemik ve sekonder (mature veya lameller) kemik olarak adlandırılmaktadır. Embriyolojik gelişimde, kırık ve tamir olaylarında görülen ilk kemik dokusu primer kemik olup geçici olan bu kemik dokusu yetişkinlerde yerini sekonder kemiğe bırakmaktadır (73,74). Yalnızca kafatasında düz kemiklerin suturlarında, diş soketlerinde ve bazı tendonların bağlanma bölgelerinde daimi olarak bulunabilmektedir. Yaşam süresince yetişkinlerde primer kemik sekonder kemikle yer değiştirir. Bu işleme “*yeniden şekillenme-remodeling*” denmektedir. Kemik iyileşme sırasında büyük öneme sahip olan primer kemik çok çabuk oluşabilmekte ancak organize olmayan bir yapıya sahip olduğundan biyomekanik olarak yeterli derecede güçlü olamamaktadır. İyileşme sırasında hızlıca mineralize olarak sekonder kemiğe dönüşür. (14,62).

Lameller kemik veya olgunlaşmış kemik olarak adlandırılan sekonder kemik, primer kemiğin remodeling sonrası sekonder kemiğe dönüşmesi sonucu Haversian kanalları çevresinde paralel veya eşmerkezli yerleşim gösteren lamellerden oluşmaktadır. İyi organize olmuş kollajen proteini ve mineralizasyon ile oluşan kemik lamelleri kemiğin işlevsel en küçük birimi olan *osteon*’u oluşturur. Üç boyutlu kolonlar şeklindeki

osteonlar dizini her yönde gelen kuvvetlere en dirençli yapıyı sağlar. Havers ve Volkman kanallarının içinde bulunan damar ağı bu kanalların çevresinde dairesel olarak dizilmiş lakünlerdeki osteositleri besler. Osteositler sitoplazmaları aracılığıyla birbirleri ile ve süngerimsi kemikteki endosteal ve periosteumun kambiyum tabakasındaki yüzeyel osteojenik hücrelerle iletişim içerisindedir. Osteon elektronmikroskopik düzeyde incelendiğinde bir mikrometre çapındaki kollajen liflerin biraraya gelerek kemik lamellerini ve kanal sistemini oluşturdıkları görülür. Kollajen liflerin üzerinde 100 nanometre boyutunda hidroksiapatit (HA) kristalleri dizilerek kemiğin mikroskobik yapısını belirler (75,76).

Mikroskobik seviyede kemik kollajen fibrillerin seyrine göre; örgü kemik, kompozit kemik, lameller kemik ve işsi kemik olmak üzere 4 tipe ayrılır. Örgü kemik çok çabuk oluşması nedeni ile (yaklaşık 30-60 mm/gün) iyileşmede temel bir rol oynar, ancak düzensiz bir yapıdadır ve lameller yapı ile Havers sistemine sahip değildir. Dolayısıyla yumuşaktır, biyomekanik gücü çok azdır ve uzun süre dayanıklı değildir. İyileşme sırasında örgü kemik, faz 1 kemik olarak nitelendirilir. Çok çabuk rezorbe olarak yerini faz 2 kemik olarak nitelendirilen olgun lameller kemiğe bırakır. Kompozit kemik, örgü kemik (faz1) ve lameller kemik (faz2) arasındaki geçiş aşamasıdır. Lameller kemik vücuttaki en bol, olgun, dirençli ve güçlü kemiktir. Bu tipteki kemik yavaş oluşur (0.6-1mm/gün) ve iyi yapılanmış kollajen, protein ve mineralize yapıya sahip olup çok tabakalı bir yapı gösterir. İşsi kemik; ligamentler ve eklemler etrafında bulunur. Ligamentler arasında çizgisel bağlantılar oluşturmaktadır (53,61).

Mikroskobik incelemelerde periosteum birbirlerinden keskin sınırlarla ayrılmayan, iç tabaka (stratum cambium) ve dış tabaka (stratum fibrosum) olmak üzere iki tabakadan oluştuğu görülmektedir. Kollajen lifler ve fibroblastlardan oluşan dış tabaka fibröz bir yapıya sahip olup periosteumun iç kısmından çevresel lamellerin içine ilerleyen sharpey liflerini içerir. Bunlar periosteum ile alttaki kemik dokusu arasındaki ilişkinin sürdürülmesine yardımcı olur. Periosteumun dış tabakasından çıkan kalın kollajen sharpey lifleri içeride kemiğin dış çembersel lamellerine ve ara lamel sistemine kadar girerek periosteumu kemik matriksine bağlarlar. Periosteumun iç katmanı kambiyum ise kemik hücreleri ve bölünüp farklılaşarak osteoblastları oluşturabilme potansiyeline sahip olan yassı osteoprogenitör hücrelerden ve mikrovasküler yapıdan

zengindir (55,68,71). Endosteum tek kat yassı osteoprogenitör hücreler ile çok az miktarda bağ dokusundan oluştuğu için periosteumdan daha incedir. Hem osteojenik, hem de hemopoetik potansiyeli vardır (71,72).

2.1.1.3. Kemiğin moleküler yapısı:

Kemik dokusu '*matriks*' adı verilen hücreler arası madde ile hücreler ve su içeren bir yapıdır. Matriks hücrelere göre daha geniş bir alanı kaplar ve organik ve inorganik yapılar içerir. Kemik matriksinin %10- 29'unu su, %30-40'ını organik matriks ve %60-70'ini da inorganik matriks oluşturur. İnorganik matriks içeriğinde özellikle kalsiyum ve fosfat bol miktarda mevcut olup, ayrıca bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyum da bulunmaktadır (49,70). Kemiğin organik matriksi kollajen, kollajen olmayan proteinler ve proteoglikanlardan oluşur. Bu matriks içinde kalsiyum ve fosfat iyonları uygun formda dizilerek HA kristallerini oluşturur. Bu bileşim kemik dokusunun yüke direnç göstermesini, duyarlı organların dış kuvvetlerden korunmasını ve vücut homeostazının devamlılığını sağlayan minerallerin katılmasını sağlar (77,78). Normal kemik yapısının korunması için yeterli miktarda protein ve mineral gerekmektedir. Kemiğin sertliği inorganik bileşenlerine, dayanıklılığı ve esnekliği ise başta kollajen olmak üzere organik matrikse bağlıdır (47,64,67).

2.1.1.3.1 Organik matriks:

Kemiğin organik matrisine '*osteoid madde*' denir. Organik (mineralize olmayan) matriks kemiğe formunu verir ve inorganik tuzların şekillenmesini sağlar. Organik matriks, matriks dokusunun yaklaşık %20 ile %25'ini oluşturur ve bunun yaklaşık %90'ı tip I kollajen, %5'i ise kollajen dışı proteinler, proteoglikanlar, büyüme faktörleri ve sitokinlerdir (51,52,79,80).

Temel olarak tip I kollajen kemikte bulunan esas kollajen olup bağ dokusunda bulunan kollajene benzemektedir. Kollajen fibrilleri kemikte gerilme kuvveti ve esneklik oluşturarak kemiğin kolay kırılmamasını sağlar. Bu fibriller HA kristallerinin oluşumu için organik bir çerçeve görevi de görür. Kollajenin üçlü heliks yapısında

bulunan mikroporlardan içeri sızan kalsiyum bileşikleri kemiğin minerelizasyonunu sağlar (64,67,81).

Proteoglikanlar çokça glikozillenmiş olan özel bir glikoprotein sınıfını temsil eder ve glikozaminoglikanlardan oluşur. Kemiğin sıkıştırma kuvvetine katkıda bulunur. Organik matriksteki glikozaminoglikanlar; kondroitin sülfat, keratan sülfat ve hiyaluronik asittir. Kollajen dışı matriks proteinlerin başlıcaları osteokalsin, osteonektin ve osteopontindir. Organik maddeler arasında en çok bulunan osteokalsin kemiğin lifsel çatısını oluşturur. (64,67,79,81).

Kemikte az miktarda bulunan büyüme faktörleri ve sitokinler hücre farklılaşması ve aktivasyonundan, büyüme ve kemik döngüsünden sorumludurlar. Kemikte bulunan bu maddelerin başlıcaları; dönüştürücü büyüme faktörü- β (Transforming Growth Factor beta, TGF- β), insülin benzeri büyüme faktörü (Insulin like Growth Factor, IGF), interlökinler (Interleukin, IL), bFGF (basic fibroblast growth factor) ve kemik morfogenetik proteinleri (Bone Morphogenetic Protein, BMP) olarak sıralanabilir (51,61,80,81).

2.1.1.3.2 İnorganik matriks:

İnorganik (mineralize olan) matriks, kuru kemik ağırlığının yaklaşık %60'ını oluşturur ve birincil olarak HA ve trikalsiyum fosfat (TCP) tuzları şeklinde bulunan kalsiyum ve fosfor iyonlarını içerir (49,80,82). İnorganik yapıda % 85 oranında kalsiyum fosfat, %10 oranında kalsiyum karbonat, %10 oranında kalsiyum florid, magnezyum florid, magnezyum hidroksit ve magnezyum sülfat bileşikleriyle sitrat iyonları ve karbonat iyonları vardır. Kalsiyum ve fosfor kemikte ilk olarak şekilsiz biçimde depolanır, daha sonra HA kristalleri ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) halinde yeniden şekillenir (64,67). Kemik kristalleri hidroksiapatit kristallerinden oluşmaktadır. Hidroksiapatit, doğada da bulunan, kristal formundaki fosfat minerallerinin (apatit) OH^- iyonu barındırdığı duruma verilen isimdir. Elektron mikroskobu çalışmaları kollajen fibrilleri arasındaki hidroksiapatit kristallerinin yüzey iyonlarının hidrate olarak su ve iyonlardan oluşabilen bir tabaka bulundurduğunu ortaya çıkarmışlardır. Kristallerin yüzeyini çevreleyen bu su tabakasına hidrasyon kabuğu adı verilir. İyonlar hidrasyon kabuğu ile kristal yüzey arasında serbestçe hareket edebilirler. Böylelikle doğal halinden

çok daha kolay çözünebilen kristallerin, gerektiğinde kalsiyum, fosfat veya magnezyum iyonlarını ekstrasellüler sıvıya aktarması ile vücut iyon dengesi sağlanır. Mineral kristaller 25-75 nm çapında ve yaklaşık 200 nm uzunluğunda oldukça küçük boyutlardadırlar. Bu özellik çok büyük bir yüzey-hacim oranı sağlar (14,52,63,65,83).

2.1.2. Kemik hücreleri

Kemikte osteoprogenitör, osteoblast, osteosit ve osteoklast hücreler olmak üzere dört tip hücre bulunmaktadır. Bunlardan ilk üç hücre osteoklastlardan birçok bakımından farklılık gösterir. Bu hücreler mezenkimden gelişir ve aynı hücre tipinin farklı işlevsel evreleri olarak tanımlanabilir. Osteoklastlar ise kemik iliğinden oluşan ve dolaşım kanında bulunan monositlerden köken alır (64).

2.1.2.1. Osteoprogenitör hücreler:

Osteoprogenitör hücreler mezenkim kökenli olup, henüz spesifik bir doku hücrelerine farklılaşmamış ve yaşamları boyunca çoğalabilme özelliğine sahip hücrelerdir. Olgun (sekeonder) kemik zarlarının iç tabakasında (periosteum ve endosteum), bu kemiklerin içerdikleri havers ve volksman kanallarının örtüsünde ve büyüyen kemiklerin metafizindeki kıkırdak matriksinin trabeküllerinde bulunur. Osteoprogenitör hücreler iğ şeklinde ve oval çekirdekli dirler. Bölünüp çoğalırken osteoblast veya osteoklast gibi diğer tip kemik hücrelerine dönüşebilirler (58,62,70,79). Gelişmemiş endoplazmik retikulum ve az gelişmiş golgi cisimciğine sahip osteoprogenitör hücreler preosteoblastlar olup bu hücrelerden osteoblastlar gelişir. Belirgin mitokondrilere ve serbest ribozomlara sahip hücrelerden ise osteoklastlar oluşur (62,83). Osteoprogenitör hücrelerden osteoblast gelişimi ve farklılaşması BMP; IGF; trombosit kaynaklı büyüme faktörü (platelet derived growth factor, PDGF); fibroblast büyüme faktörü (fibroblast growth factor, FGF) gibi büyüme faktörlerine bağlıdır (77,78). Osteoprogenitör hücreler kemiği kaplayan hücreler olarak doğumdan sonraki yaşam boyunca kalır; kemik büyümesi sırasında, erişkinlerde kemik kırıklarının onarımında ve diğer yaralanmalarda yeniden aktive olurlar (63,72). Özelleşmiş bu kemik hücreleri kemiğin oluşumundan, rezorbsiyonundan ve kemik yapısının devamlılığını sağlamaktan sorumludur (62). Freidenstein osteoprogenitör hücreleri *belirlenmiş* ve *indüklenebilir osteojenik prekürsör hücreler* olarak ikiye ayırmıştır. “Belirlenmiş” osteoprogenitör hücreler

kemik iliğinde, endosteumda ve periosteumda bulunur. Bu hücreler osteoblastlara prolifer olma ve farklılaşma kapasitesine sahiptirler. Diğer taraftan “indüklenabilir osteojenik prekürsör hücreler” spesifik uyarana maruz kaldığında kemik oluşturan hürelere dönüşen mezenkimal hücrelerin temsilcisidir (77,78,84).

2.1.2.2. Osteoblastlar

Osteoblastlar tek tabaka halinde aktif kemik oluşumunun olduğu bütün bölgeleri kaplayan, protein yapımın histolojik belirteci olarak iyi gelişmiş ve pürüzlü endoplazmik retikuluma sahip kübik ya da silindirik şekilli hücrelerdir (57,69,85). Kemik oluşumundan sorumlu hücreler olup organik matriks komponentlerinin sentezlenmesini ve matriks mineralizasyonunun kontrolünü sağlarlar. Osteoblastlar tamamen farklılaşmış hücrelerdir. Migrasyon ve proliferasyon kapasitesinden yoksundur. Herhangi bir bölgede kemik oluşumunun meydana gelmesi için farklılaşmamış osteoprogenitör hücreler ilgili bölgeye göç etmeli ve osteoblasta dönüşmek için prolifer olmalıdır (77,78,84). Osteoblastlar, kemik yapımının kontrolünü sağlamak üzere paratiroid hormon (aktif Vitamin D3), glukokortikoid ve östrojen reseptörleri bulundurlar (51).

Osteoblastlar tip I kollajen, osteokalsin, osteopontin, osteonektin, trombospondin, kemik siyaloproteini (BSP 1-2), kemik morfojenik proteinleri ve alkalen fosfataz üreterek hücreler arası matriksin mineralizasyonunu düzenlerler (76). Kemik morfojenik protein ailesinin birçok üyesini (BMP 2, BMP 7, TGF- β , IGF-1 ve IGF-2, PDGF ve FGF- β) salgılayarak belirgin şekilde kemik oluşumunu ve tamirini hızlandırır. Osteoklastlarla beraber kemik rezorpsiyonunun düzenlenmesinde de rol alırlar. Normal fizyolojik koşullar altında gerçekleşen kemik rezorpsiyonu sırasında İnterlokın 1, tümör nekrozis faktör alfa ve prostoglandin E2 tarafından stimule edilen osteoblastlar interlökın 6 salgılar. İnterlökın 6 osteoklastların rezorpsiyon etkinliğini artırır (60).

Osteoblastlar tarafından yeni sentezlenen henüz kalsifiye olmamış matrikse *osteoid doku* denir. Kemiğin inorganik kısımlarının yapılabilmesi canlı osteoblastların

varlığına bağlıdır (49,79). Osteoblastlar kemik arayüzü boyunca kemiğin mineralize olmamış organik matriksi osteoidi biriktirdikten sonra osteoid mineralleşmesini başlatır ve mineralizasyonunu kontrol ederler (69,72,85). Osteoblastlar zamanla salgıladıkları osteoid içinde gömülü kalır ve yeni sentez edilmiş matriks ile sarılarak “*osteosit*” adını alır (49,64).

2.1.2.3. Osteositler

Osteoblastlardan köken alan osteositler ince selüler yapıyla diğer kemik hücrelerine bağlanan mineralize kemik matriksi içine yerleşmiş yıldız şekilli hücrelerdir (49,78). Osteositler matriks lamelleri arasında bulunan ve lakün adı verilen küçük boşlukları işgal ederler. Her lakünada sadece bir osteosit vardır. Kanalikül denen küçük kanallar lameller boyunca ilerler ve komşu lakünleri birbirine bağlar (49,85). Osteositler boyut olarak kaynak hücreleri osteoblastlara göre küçülürken kanaliküliler içinde sitoplazmik uzantılara sahip olurlar. Osteositlerin ince sitoplazmik uzantıları kanalikülilerden geçerek komşu osteositler ile temas oluşturup, besin maddelerinin bu yapılar aracılığıyla hücreden hücreye geçişini sağlarlar. Bir osteositin ömrü besin difüzyonu sürecine, kemik matriksinin ömrü de osteositlere bağlıdır. Osteositler vaskülarizasyonları devam ettiği sürece canlı kalabilirler (49,63,64,67,85).

Osteositler, osteoblastlara oranla yassı elips şeklindedir. Osteositler etraflarındaki osteositler, osteoblastlar ve kemik yüzeyindeki osteoblastlar ile ilişkilerini korurlar. Hücreler ve kemik dokunun hücresel olmayan bölümüyle geniş temas alanı oluşturacak şekilde organize olarak kan-kalsiyum homeostazının düzenlenmesini, mekanik yükün algılanması ve bu bilginin kemik içindeki diğer hücrelere iletilmesi gibi işlevleri yerine getirir ve kemik matriksinin devamlılığını sağlarlar (49,60,78).

2.1.2.4. Osteoklastlar

Osteoklastlar diğer kemik hücrelerinden farklı olarak hematopoetik dokulardaki granülosit-makrofaj progenitör hücrelerden köken alan çok çekirdekli hücrelerdir. Monositler kemik iliğinin stromal hücreleri ve osteoblastlar tarafından düzenlenen bir işlemle yaklaşık 30 çekirdekten meydana gelen osteoklastları oluşturmak için birleşirler ve kan dolaşımı vasıtasıyla kemiğe ulaşırlar (53,72,85). Osteoklastların sayı ve etkinlikleri hormonal denetim altında olup paratiroid ve tiroksin hormonları etkisinde

artar, kalsitonin ve östrojen hormonları etkisinde azalır (79). Osteoklastlar kemik rezorbsiyonundan sorumlu olan hücrelerdir. Bu hücreler kemik rezorbsiyonunun başladığı bölgelerde, enzimatik olarak açılmış Howship lakünü adı verilen çukurcuklarda bulunurlar (53,70).

Aktif kemik rezorpsiyonu, kemik yüzeyindeki Howship lakünalarında osteoklastların varlığı ile tanımlanır. Hücre zarlarının özel bir bölgesi kemiğin rezorbe olabilmesi için kemik yüzeyine bitişik bulunmaktadır (49,53). Çekirdekler daha çok hücrenin dış yüzeyine yakın düzgün hatlı kısımda yer alırken, kemiğin rezorbsiyonundan sorumlu olan tarafta hücre zarı girintili çıkıntılı bir hal alır (67,86). Bu girinti ve çıkıntılar hücre membranı ile kemik yüzeyi arasında sıkı bir temas sağlamaktadır. Kemik rezorpsiyonu osteoklastlardan kalsifiye ana maddeyi serbestleştiren ve organik kemik matriksini çözen veya sindiren proteolitik enzimlerin salgılanması ile meydana gelir (53,64,73,86). Osteoklastlar hedef kemik matriksine bağlandıktan sonra, kemik emilimi için gerekli olan korunmuş bir asidik çevre meydana getirerek önce adenosin trifosfat (ATP) aracılığı ile düzenlenen asidik bir ortamda inorganik kemik bileşenlerinin ayrılmasını, bunu takiben de katapsin K denen bir lizozomal proteaz ile organik bileşenlerin enzimatik yıkımını sağlarlar (85,87). Bu hücreler sadece rezorbsiyondan sorumlu olmayıp aynı esnada rezorbsiyon sırasında meydana gelen artıkların ortadan kaldırılmasında görev alırlar (49,64,67,86). Osteoklastlar, kemiğin yeniden şekillenmesinde ve yenilenmesinde önemli rol oynarlar. Bu süreç çeşitli bölgelerdeki kemik ağının erimesini takiben osteoblastlar tarafından oluşturulan yeni kemik ile yer değişimini içerir (58,85).

2.1.3. Kemik Oluşumu (osteogenez)

Kemik dokunun oluşması olarak bilinen osteogenez, hem embriyonal dönemde normal iskelet yapısının oluşmasında hem de yetişkin dönemde kemik kırıklarının iyileşmesinde meydana gelmektedir (88). İskeleti oluşturan iki önemli yapı kıkırdak ve kemik dokudur. Bu her iki dokunun ekstraselüler matriksi içerisinde spesifik hücre türleri yer almaktadır. Kemik doku içerisinde osteoblast olarak isimlendirilen kemik yapan hücreler ile osteoklast olarak isimlendirilen kemik yıkıcı hücreler yer alır.

Kıkırdak doku içerisinde ise kondrosit adı verilen özelleşmiş kıkırdak hücreleri bulunur. Kemikleşme hücrelerin göçü, çoğalması, farklılaşması, sentez ve salgılama yapmaları, ekstraselüler mineralizasyon ve rezorbsiyon gibi birbirini izleyen eş zamanlı ve karmaşık bir dizi işlem sonucu gerçekleşir. İskelet gelişimi erken embriyonik ve fetal dönemde başlarken, büyüme doğumdan sonra adölesan döneme kadar devam eder (88,89). Kemik, daha önceden var olan bağ dokusunun üzerine gelişmekte olup kemik gelişimi kemiğe öncülük edecek olan dokunun kıkırdak olup olmamasına göre intramembranöz ve endokondral kemikleşme olarak iki şekilde meydana gelmektedir. Her iki tip kemikleşme işleminde de kemik matriks birikimi ve mineralizasyonu aynı yoldan gerçekleşir. Önce süngerimsi (gözenekli trabeküler) kemik oluşur. Oluşan bu kemiğin çoğunluğu daha sonra yoğun kompakt kemiğe dönüşür. Kemik bir kez oluştuktan sonra yaşam boyu dinamik durumunu korur. Bu sayede büyümeyi sağlar ve homeostaz için gerektiğinde mineral iyonlarını vermeyi sürdürür (58,88,89).

2.1.3.1. İntramembranöz Kemikleşme

İntramembranöz kemikleşme (zarlar arası kemikleşme), mezenkimal dokunun kan akımından zengin bölgelerinde mezenkimal kök hücrelerden farklılaşan osteoblastların salgıladığı matriksin mineralizasyonu ile doğrudan doğruya kemik dokunun oluşması sonucu gerçekleşmektedir (58,88). Kemiğin bu şekildeki oluşumu bağ dokusu tarafından gerçekleştirilir. Bu tür kemikleşmede kemikler embriyodaki mezenkimal bağ dokusu yapısından doğrudan kemik haline dönüşürler. Kıkırdak safhasını geçirmeden mezenkimal membranlar içinde oluşan bu kemiklere membran kemikler de denilmektedir (47,64). Kafatasının yassı kemikleri, mandibula ve klavikula kemikleri ile kısa ve uzun kemiklerin kompakt bölümleri intramembranöz kemikleşme ile meydana gelir (70,88).

İntramembranöz kemikleşmede ilk önce embriyonik mezenkim damarlardan zengin bağ dokusuna dönüşür. Mezenkim hücreleri damarlar etrafında toplanırlar ve çoğalırlar. Mezenkim hücreleri daha sonra hızla bölünerek osteoprogenitör hücreleri yaparlar. Bu hücreler de bölünerek osteoblastlara dönüşürler. Osteoblastlar tipik prizmatik şeklini alarak kollajen lifleri ve kendilerinin de içinde bulunduğu kemik organik matriksini salgılar. Araya henüz kalsiyum bileşikleri çökmemistir ve osteoid

doku oluşur. Bu bölgeye *kemikleşme merkezi* adı verilir. Kapiller damarlardan çıkıp osteoid dokuya giren kalsiyum ve fosfor iyonları buradaki osteoblastların salgıladığı alkali fosfatazın aracılığı ile kalsiyum fosfat moleküllerini oluştururlar. Böylece osteoid doku mineralize olup primer kemik dokusu halini alır. Yeni oluşan değişik şekil ve büyüklükteki bu kemik parçacıklarına kemik trabekülü denir. Yeni oluşan trabeküllerde kollajen lifleri rastgele dağılım gösterdiğinden erken dönemdeki intramembranöz kemik, ağı kemik olarak adlandırılmaktadır.

Kemik matriksi mineralizasyonu, iki yeni gelişime öncülük etmektedir. Birincisinde, trabeküllerin kalınlaşması ile osteoblastlar osteositler şeklinde hapsedilir. İkincisinde ise prevasküler kanalların kısmen kapanması ile mezenkim hücrelerinin kan yapıcı hücrelere dönüşmesi şeklinde hematopoez olayları sağlanmaktadır. Yeni oluşan osteositler kanaliküller içindeki sitoplazmik uzantılarla birbirlerine bağlanırlar ve kan damarlarına komşu osteoprogenitör hücrelerden yeni osteoblastlar meydana gelir. Damar çevresindeki osteoblastların osteositlere dönüşerek boşalttıkları yerlere arkadan yeni hücrelerin gelmesiyle olayda devamlılık sağlanmaktadır. Şekillenen trabeküllerin yüzeylerinde yeniden oluşan osteoblastlar tek sıra dizilerek kemik lamellerini yapmaya başlarlar ve primer kemik trabeküllerinin yüzeyinde sekonder kemik yapısında katmanlar oluşur. Böylece spongiyöz kemik dokusu biçimlenir. Osteoklastlar da bu kemikleri iç yüzeyden rezorbe ederler. Spongiyöz kemikler son şekillerini aldıklarında primer kemik dokusu içeren trabeküller tamamen ortadan kalkar. Geriye sadece sekonder kemik trabekülleri kalır. Daha sonra bu kemiklerin iç ve dış yüzeylerine intramembranöz yolla bir miktar kompakt kemik eklenir ve kemikleşme sona erer. Trabeküllerin arasındaki mezenkim dokusundan da kırmızı kemik iliği şekillenir. İntramembranöz kemik gelişiminin sonunda lamelli kemikte yeni sentezlenen kollajen lifleri düzenli demetler oluşturmak üzere dizilirler. Havers kanalını dolduran merkezi bir kan damarı çevresinde eşmerkezli halkalar şeklinde düzenlenen lameller, osteonları veya havers sistemlerini oluştururlar. Dış ve iç bağ dokusunun yoğunlaşarak osteoprogenitör hücre potansiyeline sahip fusiform hücreler içeren periosteum ve endosteumu oluşturması ile intramembranöz kemikleşme tamamlanmış olur (58,61,70,72).

2.1.3.2. Endokondral Kemikleşme

Endokondral kemikleşme fetal dönem boyunca ve postnatal yaşamda, iskelet kıkırdığı modellerinin yerini kemiğe bırakması ile meydana gelen kemikleşmeye denir (58,62,88,89). Kemikleşme hyalin kıkırdak hücreleriyle oluşmaktadır. Bu nedenle intrakartilagenöz kemikleşme de denmektedir (63). Kıkırdak modelin önemi sadece oluşacak olan kemiğe öncülük etmek değildir. Aynı zamanda ilerleyen dönemlerde uzun kemiklerin büyümesi için gerekli zeminin hazırlanması da kıkırdak dokunun fonksiyonu arasındadır. Uzun kemiklerin büyümesi, kondrositlerden oluşan büyüme plağının devamlılığına bağlıdır (88,89). Ekstremit kemikleri, omurga vertebraları ve pelvis kemikleri hyalin kıkırdak modelden köken almaktadır (58,62). Endokondral kemikleşme perikondral ve enkondral olmak üzere 2 tiptir (64,90).

2.1.3.2.1 Perikondral Kemikleşme

Kıkırdak yüzeyindeki mezenkim kaynaklı hücreler osteoblastlara dönüşerek bu bölgede tabakalaşma yaparlar ve ara maddeyi salgılayarak osteosit haline dönüşürler. Bu olayı kalsifikasyon izler. Sonuçta ise diyafizin ortasında ve daha sonra da uçlara doğru gelişen ve kıkırdaki çevreleyen bir perikondral kemik dokusu ortaya çıkar. Kemikleşme tamamlandıktan sonra perikondrium periosteum adını almaktadır. Bu kemik kompakt yapıdadır ve bu yolla kemiğin enine büyümesi sağlanır (64,90).

2.1.3.2.2 Enkondral Kemikleşme

Bu tür kemikleşmede kıkırdak hücreleri önemli rol almaktadırlar. Önce meydana getirilecek kemiğin şekline benzeyen hyalin kıkırdaktan oluşmuş bir kemik modeli şekillenir. Daha sonra bu kıkırdak model kemik dokuyla yer değiştirir. Mezenkimal kök hücrelerin kemiğin oluşacağı bölgeye gelip burada bir yoğunluk oluşturmaları ile kıkırdak model şekillenmeye başlar. Oluşan bu mezenkimal yoğunlaşma sonrasında, mezenkimal hücreler kıkırdak hücresi olan ve kıkırdak dokunun ekstrasellüler matriksini oluşturan yapıların sentezinden sorumlu kondrosit hücrelerine farklılaşarak gelecekte oluşacak olan olgun kemiğin bir modelini meydana getirirler. Bu aşama kondrogenез olarak adlandırılır. Oluşan kıkırdak model değişime uğrayarak mineralizasyonu, damar invazyonunu ve kemik doku ile yer değişimini kolaylaştırır (64,88,89,90).

İntramembranöz kemikleşmede olduğu gibi endokondral kemikleşme sürecinde de primer kemikleşme merkezi oluşur. İntramembranöz kemikleşmeden farklı olarak bu kemikleşme merkezi, tip-II kollajen içeren, ekstraselüler matriksi depolayan çoğalabilen kondrositlerden köken alır (58,62). Her kırıkta modelin merkez bölgesinde yer alan kondrosit hücreleri bölünmeye ara verip olgunlaşma sürecine girerler ve hipertrofik şekil alarak hipertrofik kondrositlerin belirteci olan tip X kollajen içeren ağı sentezlerler. Kondrositler hipertrofik hale geldikten sonra kalsifiye ekstraselüler matriks tarafından kuşatılırlar. Hipertrofik kondrositler tarafından salgılanan anjiyogenik faktörler, vasküler endotelial hücre büyüme faktörü (VEGF) perikondriumdan kan damarlarının oluşumunu indükler. Kalsifiye ekstraselüler matriks içerisine gelişen vasküler invazyon sayesinde, bir sonraki adımda kemikleşme merkezlerinin oluşmasını sağlayacak olan osteoprogenitör hücreler şekillenir. Osteoprogenitör ve hematopoetik hücreler yeni oluşan kan damarları ile dolaşıma katılırlar ve yayılan kan damarlarının etrafını çeviren perivasküler bağ dokusu aracılığıyla kalsifiye kırıkdağın merkezine ulaşırlar. Daha sonra, osteoprogenitör hücreler osteoblastlara farklılaşır ve kalsifiye kırıktağın yüzeylerinde toplanarak kemik matriksi depolamaya başlarlar. Kırıktağın modelinin orta hattında matriksin kalsifikasyonu gerçekleşirken hipertrofik kondrositler apoptoza giderler. Aynı zamanda içindeki perikondriyal hücreler osteojenik potansiyellerini gösterirler (58,62,88,89).

Bu olaylar sonucunda ilk kırıktağın uç kısımlarının orta kısımdan ayrılmasıyla primer kemikleşme merkezi meydana gelir. Kırıktağın her iki ucunun çapı büyümeye devam eder. Bu sırada orta kısmın uç bölümlerindeki kırıktağın değişime uğramaya ve kemikleşmeye başlar. Bu aşamada gelişmekte olan kemik uzun bir diafiz ve bunun her iki ucunda yarım ay biçiminde halen kırıktağın dokudan meydana gelen epifizlerden oluşur. Endokondral kemikleşme epifizlere yaklaşıncaya epifizlerin içinde ikincil kemikleşme merkezleri belirir. Eski ve yeni kemikleşme bölgelerinde yani diafiz ile epifiz arasında sadece bir disk kalır ki buna epifiz plağı (büyüme plağı) denir. Kemikleşme sona erinceye kadar epifiz içindeki kırıktağın hücreleri diafiz yönünde sürekli çoğalarak kırıktağın doku oluştururlar, bu kırıktağın dokusunda yerini devamlı kemik dokusuna bırakır. Böylelikle kemiklerin boyları belli bir yaşa kadar uzar. Tipik bir büyüme plağı dinlenme halindeki kondrositlere ilaveten proliferatif ve hipertrofik kondrositleri içerir. Kemiğin yeniden şekillenmesi olarak tanımlanan bu işlev ile

kemikler embriyonik dönem boyunca ve yetişkin dönemin çoğu bölümlerinde sürekli olarak yapılır ve yıkılırlar. En sonunda epifiz plakları da kemikleşir ve kemik büyümesi sonlanır (58,62,79,88).

2.1.4. Kemik iyileşmesi

Travma, enfeksiyon, onkolojik ya da metabolik hastalık sonrası kemik dokusunda yaralanma (kırık yada defekt) oluşabilir (80,82,91). Yaralanan bir dokunun orijinal dokuya yapısal ve işlevsel olarak benzemeyen bir doku oluşturarak iyileşmesine tamir denir. Organizmada yaralanan dokular fibröz skar oluşumu ile onarılmaktadır. Yapı ve fonksiyonun tamamen restorasyonu ise doku rejenerasyonudur (77,78,92). Kemik iyileşmesi, rejenerasyon yeteneği bulunan osseöz dokuda yaralanmayı takiben skar bırakmaksızın gelişen dinamik ve önemli bir süreç olup yaralanmanın karakterine göre hem rejenerasyon hem de tamir sürecini kapsar. Uygun şekilde stabilize edilmiş dar kemik fraktürü (yeşil dal kırığı) rejenerasyon şeklinde iyileşirken geniş kemik içi defektler genellikle tamir süreci ile iyileşir (64,67,78).

2.1.4.1. Kemik iyileşmesinin oluşumu

Kemik iyileşmesi orijinal iskeletsel yapı ve fonksiyonu oluşturmak için meydana gelen bir dizi onarım sürecinden oluşur. Kırık onarımı, kemik defektlerinin onarımı için bir model olarak ele alınabilir. Kemik defektlerinin onarımı mekanik faktörlerden ve kanlanma bozukluğundan kırık iyileşmesine göre daha az oranda etkilenmektedir (61,66,93). Kemikte oluşan travmanın sonucunda yaralı bölgede genel doku tepkimeleri görülür. Alveoler kemikteki defekt iyileşmesinin prototipi çekim soketi olabilir. Boş çekim soketi önce kan ile dolar, kanamayı takiben granülasyon dokusunun oluşturduğu pıhtılaşma meydana gelir. İnflamatuar hücreler yara bölgesine göç ederek yarayı temizler. Vasküler doku ve mezenkimal hücreler pıhtı ve granülasyon dokusuna penetre olur. Periosteumdan gelen kan damarları, çevrelerinde bağ dokusu ile birlikte defekt bölgesine sokularak burayı bol damarlı ve bol hücreli bir granülasyon dokusu ile doldurur. Granülasyon dokusu kademeli olarak bağ dokusu ile yer değiştirir ve yeni kemik oluşumu başlar. Daha sonra soket kademeli olarak örgü kemikle dolar.

Şekillenme ve yeniden şekillenme ile lameller kemik ve kemik iliğine dönüşür (64,67,78).

Kemik kırığı söz konusu ise endosteum da bu olayda rol alır. Bu bağ dokusu içinde kemik yapımı ya bağ dokusu fibroblastlarının osteoblastlara farklılaşarak kemik dokusu oluşturmaları şeklinde gerçekleşen intramembranöz ossifikasyonla ya da defekt yerini dolduran bol damarlı bağ dokusu içinde önce kıkırdak dokusunun gelişmesi sonrasında kıkırdığın yavaş yavaş rezorbe olarak yerini kemik dokusuna bırakmasıyla gerçekleşen endokondral ossifikasyonla meydana gelir. Her iki şekilde gerçekleşen kemik iyileşmesinde defekt yerinde ilk oluşan kemik lamelsiz yapıdadır. Daha sonra bu kemik dokusu rezorbe olarak kemiğin genel düzenine ve fonksiyonel ihtiyacına uygun lamelli kemik dokusu oluşur (73,74).

Kırık kemik iyileşmesi iki farklı yöntemle oluşur. Bunlar birincil (primer) kemik iyileşmesi ve ikincil (sekonder) kemik iyileşmesidir (94).

Birincil kemik iyileşmesi, sert iç sabitlenmeden (rijit internal fiksasyondan) sonra görülür ve belirli bir dış (eksternal) kallus oluşmadan sadece iç (internal) kallusla devam eden temas (kontakt) iyileşmesidir (92,95,96). Kemiğin birincil iyileşmesinde kemik segmentleri ya tam olarak birbirinden ayrılmamıştır yada segmentler cerrah tarafından yeniden orijinal konumuna getirilerek stabilize edilmişlerdir. Her iki durumda da ne kortikal kemikte, ne de kansellöz kemikte dış kallus oluşumu gözlenmez. Öncelikle az miktarda fibröz doku oluşur, sonra iç kallus oluşturularak kemikleşme olur. İkincil kemik iyileşmesi ise kapalı yöntemlerle ameliyatsız kırık tedavisi yapıldığında oluşmaktadır. Kırılan kemik dokularının arasındaki mesafe 1mm veya daha fazla ise bu ikincil iyileşmedir. İndirekt kemik iyileşmesi olarak da adlandırılan bu süreçte kırık parçaları arasında kallus oluşarak iyileşme gerçekleşmektedir. Kemik defektlerinde kullanılan tedavi yöntemlerinin çoğunda kemik iyileşmesi sekonder iyileşme şeklindedir (52,92).

2.1.4.2. Kırık iyileşmesindeki evreler

Kırık iyileşmesi farklı araştırmacılar tarafından farklı evrelerle tariflenmeye çalışılmıştır. Bu bağlamda iyileşme morfolojik (inflamasyon, yumuşak kallus, sert

kallus, remodelizasyon), biyokimyasal (mezenkimal, kondroid, kondroosteoid, osteojenik) ve biyomekanik evrelerle tariflenebilir. Geleneksel olarak uzun kemik kırıklarının iyileşmesi iç içe geçmiş dört evrede tariflenmekle birlikte bu tablo çoğunlukla iyi yumuşak doku örtüsü olan düşük enerjili kırıkların klinik ve deneysel histolojik gözlemlerine dayanmaktadır (97). Evreler kendi içlerinde gerçekleşen hücresel aşamalara göre: hematoma (inflamasyon, granülasyon), yumuşak kallus oluşumu (çoğalma), sert kallus oluşumu (olgunlaşma) ve yeniden şekillenme (remodelizasyon) şeklinde basamaklara ayrılabilir (61,63). Histolojik olarak iyileşme sürecindeki evreler birbirinden zaman olarak kesin sınırlarla ayrılamaz ve her evre daima kendinden bir önceki veya bir sonraki evre içinde bulunur (95). Bu evrelerin her biri kendine özgü hücresel ve moleküler olaylar grubudur. Hücresel düzeyde inflamatuvar hücreler, vasküler hücreler, osteokondral prekürsör hücreler ve osteoklastlar iyileşmede kilit rol oynarlar. Moleküler düzeyde ise üç ana faktör tariflenmiştir. Bunlar proinflamatuvar sitokinler ve büyüme faktörleri, proosteojenik faktörler ve anjiyogenetik faktörlerdir. Bu faktörler ilgili hücrelerin büyüme ve farklılaşmasını stimüle etmektedir. Ekstraselüler matriks oluşumunda ise faz 1’de tip III kollajen, faz 2’de tip II kollajen, faz 3 ve 4’de de tip I kollajen hâkimdir (98).

2.1.4.2.1 Hematom (enflamasyon, granülasyon) oluşum evresi:

Kırık oluşumunu takiben o bölgede yumuşak doku bütünlüğü, normal damarsal fonksiyon ve kemik iliği mimarisi bozulmaktadır. Kemik kırığı matrikste hasara, hücrelerde ölüme, periosteum ve endosteumda yırtıklara ve kırık kemik uçlarında yer değişimine neden olur (96,99). Kan damarlarındaki hasar sonucunda kan miktarında azalma ve çevre bölgedeki osteositlerin beslenmesinde bozulma meydana gelir. Buna bağlı olarak gerçekleşen hücresel ölüm sonucunda kemik uçlarında nekroz ve bu aseptik nekroz sonucunda enflamasyon ve ödem oluşur. Damar ve dokulardaki hasar sonucu oluşan kanama ile periosteum altında ve periosteum yırtılmışsa bunun etrafında hematoma oluşur (faz 1) (52). Kemikte meydana gelen bu hasar organizmanın tüm dokulardaki ortak yara iyileşme mekanizmasındaki gibi trombositlerin, makrofajların ve diğer inflamatuvar hücrelerin (granülositler, lenfositler ve monositler) aktivasyonuna sebep olur. Bu hücreler ortama trombosit kaynaklı büyüme faktörü (platelet derived growth factor-PDGF), dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β), fibroblast büyüme

faktörü-2 (FGF-2), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), makrofaj koloni stimüle faktörü (M-CSF), interlökin-1 ve interlökin-6 (IL-1 ve IL-6), kemik morfogenetik proteini (BMP) ve tümör nekrozis faktör (TNF) gibi sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin salınmasını sağlar (99). Bu sitokinler kemik iliği, periosteum ve kırık hematomunda bulunan değişik hücreler üzerine etki ederek onarım sürecinin başlamasında kilit rol oynarlar (80,91). Enflamatuvar yanıt ve hematoma oluşumu hücresel çoğalmanın başlangıcını oluşturur. 8-12 saat içerisinde periosteumun kambiyum tabakasındaki hücrelerde DNA sentezi ve çoğalma başlar (52,61). FGF'nin etkisiyle mezenkimal hücre çoğalması başlar. Fibroblastlar ve mezenkimal hücreler kırık hematomunun yerini alırlar. Kırık iyileşmesinde önemli rol oynayan ve çok yönlü farklılaşma yeteneğine sahip mezenkimal kök hücreler çevre yumuşak dokulardan, hematopoietik sistemden ve periosteumdan kırık bölgesine gelirler. İlkel mezenkimal hücreler ve osteoprogenitor hücreler BMP salgırlar. BMP ailesi hücre büyümesi, farklılaşması ve apoptozisten (programlı hücre ölümü) sorumludur (62,80,82,91). Bu süreçte farklılaşan hücrelerin osteoblastlara, fibroblastlara ve kondrojenik potansiyeli olan hücrelere farklılaşma kabiliyetleri vardır. Kapiller oluşum başlar ve takiben fibroblastlar kollajen salgırlar. Kırık hematoma olgunlaştıkça damarlaşma artar ve kollajen bir matriks oluşur. Kollajen oluşumu ve zengin kapiller ağ granülasyon dokusunu meydana getirir (52,61,82).

2.1.4.2.2 Yumuşak kallus oluşum (çoğalma) evresi:

Kırıkta oluşumu ve mevcut damarlardan yeni kapillerlerin oluşumu (anjiyogenezis) evresidir. Kırık oluşumundan sonraki saatlerde başlarsa da yapısal olarak tipik hale gelmesi 7–12 gün sürer. Bu evrede granülasyon dokusundan, periosteumun osteojenik tabakası ve endosteumdan köken alan pluripotent hücreler, yeni damar, fibroblast, hücreler arası madde, destek hücreleri ve diğer hücreleri oluşturmak üzere farklılaşmaya başlar. Bu aşamada kimyasal, elektriksel ve mekanik uyarılar söz konusudur. Prostaglandinlerin etkisi ile yeni osteoklast oluşumu ve mevcut osteoklast aktivitesinde artış olurken; fibroblastlar kollajen, kondroblastlar kollajen ve glikozaminoglikan, osteoblastlar ise osteosit salgırlar (faz 2). Bu evrede hücresel düzeyde kondrosit ve fibroblast hâkimiyeti olmakla birlikte farklı kırık tiplerinde farklı hücre hâkimiyetleri görülebilir. Bu hücreler kırık hattına mekanik destek sağlayan yarı

sert yumuşak kallusu üretirler. Fibroblastlar, damar oluşumuna yardım etmek üzere stromaya yerleşmeye başlar. Vasküler oluşum arttıkça, kollajen ağ belirginleşir. Mezenkimal kök hücrelerden farklılaşan kondrositler fibröz granülasyon dokunun yerini alacak kıkırdak matriksi sentezler. Üretilmiş kıkırdak bölgeleri ilerleyici şekilde büyüyerek kırık uçları arasında merkezi bir fibrokartilaj tıkaç oluşturmak üzere birleşirler. Son olarak kondrositler apoptozise (programlı hücre ölümü) gitmeden hemen önce hipertrofiye olarak kıkırdak matriksi mineralize ederler (Faz 3). Böylelikle kırık hattı bölgesi ve çevresinde yumuşak kallus oluşur. Oluşan kıkırdak kallus esasen avasküler (damarsız) özellikte olmasına rağmen takip eden üçüncü evrede oluşan örgülü kemik vasküler invazyonlar (damarsal yayılım) içermektedir. Fibroblast çoğalması ile kondrosit çoğalması ve farklılaşması arasındaki denge moleküler düzeyde birçok büyüme faktörü ve sitokinin birbirleriyle koordine uyarımlarına bağlıdır. Aynı şekilde yumuşak kallusa vasküler endotel hücreleri ve yeni oluşan kapillerlerin yayılımı da ilgili moleküler uyarımların koordinasyonu ile sağlanır. Eğer kondrositlerin kıkırdak matriks sentezi yetersiz kalırsa alan fibroblast hücreleri tarafından üretilen yaygın fibröz dokuyla dolar (72,95,99).

2.1.4.2.3 Sert kallus oluşum (olgunlaşma) evresi

Kemik oluşumunun en aktif olduğu evredir. Mevcut kıkırdak taslağın mineralizasyonu sonucu (enkondral kemikleşme) örgülü kemik oluşur (faz 3). İntramembranöz kemikleşme mekanizması ile iyileşen kırıklarda ise sert kallus kıkırdak taslak oluşumu olmaksızın damardan zengin bağ dokusunun direkt mineralizasyonu ile oluşabilir. Bu evre yüksek düzeyde osteoblastik aktivite ve mineralize kemik matriksi oluşumuyla karakterizedir. Kıkırdak kallus içerisinde artan damarlanma sonucu bölgeye daha fazla oksijen ve besin taşınır. Bu da ortamda osteoblastların oluşmasını sağlar. Oluşan osteoblastların osteoid madde salgılaması ile periferden merkeze doğru kalsifikasyon sonucu sert kallus oluşur. Kallusun ossifye olmasıyla organize ama mekanik olarak zayıf olan primer kemik oluşur. Oluşan primer kemik tipik olarak düzensiz ve remodelizasyondan yoksun örgülü kemiktir (100). Oluşan örgülü kemik matriksi, proteinden zengin ve mineralize hücre dışı bir matriks formundadır ve osteojenik faktörlerin etkisinde kalan osteoprogenitör hücrelerin farklılaşmasına ikincil olarak oluşan olgun osteoblastlar tarafından üretilmiştir. Kemik

morfojenik protein ailesi bu süreçte kritik aracı bir rol oynar. Diğer büyüme faktörlerinin de bu süreçte bir artışı olmakla birlikte osteoprojenitor hücre çoğalması ve farklılaşmasına olan etkileri net olarak açıklanamamıştır. Kırık iyileşmesinin ilk dönemlerinde periosteal damarlar, geç dönemde ise besleyici damarlar, kılcak damar tomurcuklanmasına yardımcı olur. Sonuçta kırık yüzleri arasında lameller olmayan kemik köprüsü oluşturur (85,99,100).

2.1.4.2.4. Yeniden şekillenme (remodelizasyon) evresi:

Kemik orijinal güç, şekil ve yapısını kazandığı evredir. Aksiyal yüklenme ile düzensiz lamelli örgülü zayıf kemiğin sert kallusunun, osteoblastik kemik oluşumu ve osteoklastik kemik yıkımı dengesiyle orijinal kortikal ve trabeküler kemik şeklindeki normal veya normale yakın güçteki daha düzenli lamelli kemiğe dönüşümü gerçekleşir. İkincil kemik oluşumu olarak da isimlendirilebilir. Bu evrede salgılanan BMP gibi faktörler olayları yönlendirir. Yeni damar oluşumu süreci (anjyogenezis) bu fazda da devam etmektedir. Bu fazın kilit hücresi mineralize kemiği rezorbe eden osteoklastlardır. Osteoblastlar tarafından salgılanan iki ana sitokin osteoklastları uyarması bu fazda kritik bir öneme sahiptir. Bu sitokinler makrofaj-koloni stimüle faktör (M-CSF) ve NFkB Ligand Reseptör Aktivatörü (RANKL)'dür. M-CSF'ün önemi hematopoetik kök hücrelerin osteoklastlara farklılaşması için birincil uyaran olmasıdır. RANKL ise olgun osteoblastlar tarafından üretilen ve kemik oluşumu-yıkımı arasındaki dengenin koordinasyonundan sorumlu olan faktördür. Diğer büyüme faktörleri ve sitokinlerden TNF- α , BMP ve TGF- β 'nın da osteoklastların oluşumunu tetiklediği bilinmektedir (93,95,99).

1892'de Wolf, iskelet sistemi yapısının, bu sistemin mekanik ihtiyacına uygunluk gösterdiğini, daha sonra kendi adıyla anılan kanun ile tanımlanmıştır. Wolf, işlev yani stres arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur. Bu kanuna göre kemiğin işlevsel durumundaki değişiklik, dokuda yapısal değişikliklere yol açmaktadır. Bu kanun günümüzde de kemiğin yeniden şekillenmesinde temel bir kural olarak kabul edilmektedir. Mekanik strese maruz kalan kemiğin konveks yüzü pozitif, konkav yüzü ise negatif elektrik ile yüklendiğinden, osteoklastik aktivitenin hakim olduğu konveks yüzde geri emilim ve osteoblastik aktivitenin hakim olduğu konkav yüzde ise yeni

kemik yapımı olmaktadır. Yani, “kırığın konkav tarafında kemikleşme, konveks tarafında geri emilim” olur (51,94,95,96).

2.1.4.3. Kemik iyileşmesini etkileyen faktörler:

Kemik iyileşmesini etkileyen faktörler yerel ve genel faktörler olarak incelenir (96).

2.1.4.3.1. Yerel faktörler

Yüksek enerjili travma, kırılan kemiğin türü, kırık bölgesindeki kan dolaşımının durumu, kırık uçlarının birbirine göre konumu, kırık parçalarının ucuca gelmemesi, kırık çizgisinin özelliği, kırığın açık veya kapalı kırık olması, kırığın eklem içi veya eklem dışı olması, yetersiz immobilizasyon, hatalı kırık tedavisi, yerel bir iltihap varlığı, kırığa eşlik eden yumuşak doku yaralanması, kırık alanıyla ilişkili sinir dokusu hasarına ikincil olarak oluşan kırık denervasyonu, enfeksiyon ile kanser gibi yerel patolojiler yerel faktörler olarak sayılabilir (93,95,96,101). Günde 2 saat kadar 2-3 atmosfer basıncında uygulanan oksijen uygulanmasının kırık iyileşmesine yardım ettiği gözlenirken, 6 saat/gün dozda uygulamaların kırık iyileşmesini geciktirdiği izlenmiştir. İyi redükte ve tespit edilmiş kırık kemiklere erkenden fonksiyon ve kontrollü yük verilir veya yürütülürse kemik gelişimi uyarılarak iyi sonuç alınmaktadır. Bunun nedeni prostoglandinlerin miktarının artması ve bu bölge dolaşımına olumlu bir etkisi olmasındandır (96).

2.1.4.3.2. Genel faktörler

Genel faktörler içinde ileri yaş, tıbbi genel durum, sigara, sistemik hastalıklar, enfeksiyon, beslenme bozuklukları, hormonal bozukluklar, vitamin eksiklikleri (A, C, D, B6, K), bireyin kullandığı medikal ajanlar (nonsteroid antiinflatuar ilaçlar, steroidler, sitotoksik ilaçlar), kırık sonrası rehabilitasyon süreci, radyoterapi ve hiperbarik oksijen tedavisi alımı sayılabilir (95,97).

Hastanın yaşı kırık iyileşme hızını doğrudan etkiler. Artan yaşla orantılı olarak mezankimal hücre farklılaşması, yeni kemik dokusu gelişmesi ve kırığın yeniden şekillenmesi yavaşlar. Çocuklarda, kemik onarımı için gerekli yeni damarlanma ve mezenkimal hücre farklılaşması çok hızlıdır. Periosteumda çocukluk çağında fonksiyonel hücre sayısı ve damarlanma daha fazlayken ileri yaşta büyük, fibröz, uyku halinde osteoblastik hücreler içeren tek bir kambiyum tabakası gözlenir (96,102).

Diyabet, anemi, tüberküloz, raşitizm gibi hastalıklar ve beslenme bozuklukları kırık iyileşmesini geciktirir. Diyabette damar ve sinir dokularında meydana gelen hasar, kırık iyileşmesinde gecikmeye neden olmaktadır. Anemili bireyle kemik iyileşmesinde görülen azalma parsiyel oksijen basıncı değişiklikleriyle ilişkili görülmektedir. Yetersiz beslenme sonucu oluşan kalsiyum ve fosfor kayıpları kallus matriksinin mineralizasyonunu ve dolayısıyla kırık kaynamasını azaltır drıcağı. İltihabi olaylar (tüberküloz, kronik hastalıklar), hiperemi nedeniyle kalsiyum tuzlarının çözünmesini etkiler. Artan lökositlerin proteolitik enzimleri, matriksin bozulmasına neden olur ve osteoid oluşumunu engeller. Dolaşım sistemi hastalıklarındaki hiperemi kemikleşmenin azalmasına ve osteoporoza neden olur (87,85,96).

Paratiroid hormonunun (PTH), osteoklast sayısını artırıcı, kemiğin yeniden şekillenmesini uyarıcı ve osteositleri uyarak osteolizi hızlandırıcı etkileri vardır. Paratiroid hormon gerektiğinde kalsiyum akışını artırarak vücuttaki kalsiyum seviyesini belli bir düzeyde tutar. Osteoblastlar paratiroid hormon reseptörüne sahip yegane kemik hücreleridir. Paratiroid hormon inaktif halde bekleyen yüzeydeki osteoblastlara da etki ederek bu hücrelerin retraksiyonuna ve böylelikle osteoklastların kemik yüzeyine ulaşmasına neden olurlar. Tiroid hormonu da paratiroid hormonu gibi kemiğin yeniden şekillenmesine yardım eder. Kalsitonin PTH'nun antagonistidir. Hem kompakt, hem de trabeküler kemik yapımını artırır. Farmakolojik dozlarda verildiğinde in vitro olarak osteoklastik aktiviteyi ve böylelikle normal ve anormal kemik rezorbsiyonunu engellediği belirtilmektedir. Kalsitonin dozu ve yeni kemik oluşumu arasında doğru orantı vardır fakat iyileşmeyi olumlu yönde etkileme mekanizması henüz açıklanamamıştır (96,103).

İnsülin ve büyüme hormonu gibi anabolizan hormonlar kırık iyileşmesini hızlandırmaktadır. Büyüme hormonu ve diğer anabolizan hormonlar, proteine bağlı kalsiyum artışını etkileyerek kırık iyileşmesine yardımcı olur. Büyüme hormonu, kallus hacminde artışa sebep olur (87,96,103).

Kortikosteroidler mezenkimal hücrelerden osteoblast gelişimi ve matriks oluşumu için gerekli yapı taşlarının sentezini yavaşlattıkları için kırık iyileşmesini geciktirir ve kallus oluşumunu azaltır. FDGF, EGF, ve PDGF üzerine antagonist etki yaparak kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkiler (104).

A vitamini normal dozda mezankimal hücre farklılaşmasını uyararak kırık iyileşmesine yardım eder. Eksikliğinde osteoblast düzenlenmesinde ve osteoklast aktivitesinde bozulma olur ve kemik oluşumu engellenir. C vitamini, kollajen yapıya desteğinden ötürü kemik iyileşmesini olumlu etkiler. D Vitamini, normal dozlarda kırık iyileşmesini hızlandırır. D Vitamini eksikliğinde kalsiyum düzeyi düşer ve kemik kalsifikasyonu zayıflar. B6 Vitamini eksikliği ve K Vitamini antagonistleri kırık iyileşmesine olumsuz etki ederler (87,96,101,102).

Kondroitin sülfat, hiyalüronidaz ve dikumaral kırık iyileşmesine yardım eder. Nonsteroid antienflamatuarlar; prostoglandin inhibisyonu sonucunda lokal kan akımını yavaşlatarak veya primitif osteoblastların fonksiyonunu engelleyerek ossifikasyonu geciktirirler (96,102).

2.1.4.4. Kemik iyileşmesinin kontrolü:

Kırık oluşumu sırasında osteoblast ve osteoklastlar iyileşme için yeterli miktarlarda değildir. Bu dönemde kırık iyileşmesi öncü ve destek hücreleri, kılcal damar, lenf ve sinir sistemi ve yerel aracılı mekanizmalarla sağlanır. Kırık sahasında yerel olarak üretilen ya da kan dolaşımıyla gelen, bölgesel seviyelerde kemik dengesini koruyabilen kenetleyici “coupling” faktörlere ihtiyaç vardır. Bu faktörler arasında prostoglandinler ve kemik uyarıcı faktörler sayılabilir (71,87,96).

Prostaglandinler; hücre membranında bulunan araşidonik asitten meydana gelen yağ asitleridir. Hücre duvarının ve kollajenin yaralanmalarında sentezlenir. İltihap hücrelerine kemotaktik etkiye sahiptir ve akut iltihabi reaksiyonun önemli araçlarıdır. Hücre içine ve dışına kalsiyum hareketini kolaylaştırır. PGE2 ve PGI2' nin kemik geri emilim (rezorpsiyon) gücü fazladır. PGE1 ve PGE2 yeni kemik yapımını artırır (96,102).

Kemik Uyarıcı Faktörler; farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin mitozunu destekler ve yeni kemik hücrelerinin oluşumuna yol açarlar (96,102)

BMP, geniş bir büyüme faktörü ailesi olan ve kültür ortamında fibroblastları dönüştürme yeteneklerinden dolayı dönüştürücü büyüme faktörü β (TGF- β) olarak adlandırılan gruba ait alt üyelerdir. BMP ailesi yakın zamanda ayrıştırılan 20'ye yakın proteini içermektedir. Mitojenik ve dönüştürücü bir faktördür. Hücrelerin gelişimini ve embriyodaki doku ve organların organizasyonlarını düzenler. Kemik sayısı ve boyutunu, uzuv gelişimini değiştirerek vücut oluşumunu etkiler. Urist son literatürlerinde BMP lerin rolünü “iskelet sisteminin molekularizasyonu” olarak tanımlamıştır. Mezankimal hücrelerin kırıkta ve kemik hücrelerine farklılaşmasına, ektopik kemik uyarımının artmasına neden olduğu ileri sürülmüştür (105,106).

FGF, fibroblast kaynaklı büyüme faktörüdür. FGF ailesi, benzer polipeptit yapıda en az on üye içerir. İnsanda en fazla asidik formu (FGF-1) ile bazik formu (FGF-2) bulunur. FGF monositler, makrofajlar, osteoblastlar ve kondrositler tarafından sentezlenir. Kırıkta oluşumu aşamasında kallusu genişletir (87).

PDGF, trombosit kaynaklı büyüme faktörüdür. Trombositler, monositler, makrofajlar ve endotelial hücreler tarafından sentezlenir. Kırık sahasında yerel olarak bulunabildiği gibi kan dolaşımında da bulunmaktadır. Bağ dokusunda kollajen sentezini artırır. Fibroblast çoğalmasını, mezenkimal hücre mitozunu, monosit ve makrofajların kırık bölgesine göçünü sağlayarak iyileşme sürecinde önemli bir rol oynar (96,103).

TGF- β , dönüştürücü büyüme faktörüdür. İltihap ve doku tamirinden sorumludur. En önemli kaynağı kemiğin hücre dışı matriksi ve trombositlerdir.

Kondrosit ile osteoblastlarda sentezlenir ve enondral kemikleşme sırasında hücre dışı matrikste birikir. Onarım zincirinde rol almak üzere trombositlerden de salınır. Bağ dokusunda hasara yol açan proteolitik enzimleri baskılar. Sonuç olarak granülasyon dokusu oluşumuna etki eder (71,87,103).

ECGF, epidermal hücre kaynaklı büyüme faktörüdür. Kıkırdak ve kemik için mitojeniktir. **ECDGF**, endotelial hücre kaynaklı büyüme faktörleridir. Yeni damar oluşumu için mitojeniktir. **EGF**, epidermal büyüme faktörüdür. Kemik geri emilimini hızlandırır. kemik yüzeyinden ayrılan hücrelerin remineralizasyonunu hızlandırır (51,103).

İnterlökinler, makrofaj ve monosit kökenlidir. IL-1 fibroblast çoğalması, kollajenaz ve PGE2 üretimiyle ilgilidir. Ayrıca osteoklastlar üzerine etkiyle kemik geri emilimini de etkiler. **CDGF**, kondroblast kökenli büyüme faktörüdür. 2 tipi vardır ve Tip II kollajen ve hiyaluronik asit için düzenleyicidir. **MDGF**, makrofaj kaynaklı büyüme faktörüdür. Sıçanlarda osteoblast benzeri hücreler ve kondrositler için mitojeniktir (96,103).

IGF; insüline benzer büyüme faktörüdür. (IGF)-I samatomedin, IGF-II ise iskelet büyüme faktörü olarak da bilinmektedir. IGF-II, kemik matriksinde en yoğun konsantrasyonda bulunan büyüme faktörüdür. IGF-I, IGF-II'ye oranla dört ile yedi defa daha güçlüdür. Deneysel çalışmalarda IGF-I'in kemik defektlerinin iyileşmesini hızlandırdığı insanda da IGF-I'in sistemik olarak verilmesinin kemik oluşumunu hızlandırdığı gösterilmiştir. IGF-II ise insanlarda kırık iyileşmesinin granülasyon evresinde endotelial ve mezenkimal hücrelerde gösterilmiştir (66,103,105).

2.2. Kemik greftleri

Kemik dokusu geniş bir rejenerasyon potansiyeliyle orjinal yapısını ve fonksiyonunu tamamen eski haline getirebilmesine rağmen, kemiğin içinde veya kenarında bulunan ve yeni kemikle dolması gereken bölgeler olarak tanımlanan kemik defektleri; kemik dokusunun kendini rejenere etme ve yeniden şekillendirme özelliğiyle iyileşmekle birlikte, bu mekanizmanın yetersiz kaldığı durumlarda kemik dokusuyla

dolacak şekilde iyileşmeyebilir. Kraniomaksillofasiyal uygulamalarda konjenital veya travmaya bağlı olarak ortaya çıkan deformitelerin ve kemik patolojilerinin cerrahi eksizyonu sebebiyle meydana gelen geniş kemik defektlerinin tedavisinde, implant tedavisi öncesinde atrofik çenelerin tedavisinde ve periodontal rahatsızlıklar sonrası oluşan küçük defektlerin onarımında yeni kontür sağlanması ve kemik iyileşmesinin desteklenmesi amacıyla kemik greftleri veya kemik yerine geçen materyallerin kullanımı gerekmektedir (107,108).

İmmünolojik özelliklerine göre kemik greftleri 4 grupta sınıflandırılmaktadır;

- 1- Otojen kemik grefti, canlının kendisinden alınıp tekrar kendisine nakledilen greftlerdir.
- 2- Allojen kemik grefti, aynı türden fakat genetik açıdan alıcıyla farklı canlıdan elde edilen greftlerdir.
- 3- İzogen kemik grefti, alıcıyla aynı genetik yapıya sahip canlıdan elde edilen greftlerdir.
- 4- Ksenojen kemik grefti alıcıdan farklı türdeki canlıdan elde edilen greftlerdir (36,100).

İlk kemik grefti uygulaması, 1668 yılında Job van Meek'ren tarafından köpek kafatasından bir parça kemiğin bir insan kafatasındaki defekte nakli ile gerçekleştirilmiştir. 1864 yılında Nussbaum insanda ilk başarılı otogreft uygulamasını, 1881 yılında ise Macewen ilk başarılı allogreft uygulamasını gerçekleştirmişlerdir (110,111). Takiben ilk başarılı seriler 1908'de Lexer tarafından, ilk büyük başarılı seriler ise 1923'de Albee (3000 vakalık bir seri) tarafından sunulmuştur. 1950'li yıllarda Herndon ve ark. allogreft immünolojisi üzerine yaptıkları çalışmalarda dondurma işleminin allogreftlerin antijenik özelliklerinin azalmasını sağladığını göstermesiyle allogreftlerin klinik kullanımı yaygınlaşmıştır. 1965'de Smith'in kondrositlerin korunarak saklanma yöntemlerini geliştirmesi ile osteokondral greftlerin kullanımında önemli aşamalar kaydedilmiştir. Kemik bankası fikri ise ilk kez 1867 yılında Ollier'in kemik saklanma tekniklerini yayınlaması ile ortaya atılmıştır (112,113).

2.2.1. Kemik Greftinin İyileşme Mekanizması

Greftler tek başına biyolojik hareketlilik göstermezler. Sinyallerine cevap verecek hücrelere ve bazen kan desteği için çevre dokulara ihtiyaç duyar. Kemik greftleri mekanik yük altında yeniden şekillendikleri için greftin konduğu yerin mekanik özellikleri de önemlidir. Yetersiz veya aşırı yüklerin etkileri başarısız sonuçlara neden olabilir. Kemik greftlerinin sağlam kemik doku ile birleşmesi karmaşık bir dönem olup bir çok faktör birleşme hızını ve tamamlanma süresini etkiler (3,114,115). Greft materyallerinin kemikleşmesi esnasında yeniden yapılanma (remodeling) ve rezorbsiyon süreçleri birbirleriyle uyumlu biçimde işlemektedir. Bu dönemde greft materyalinin hacminde azalma meydana gelmektedir. Greft materyalinin boyutu, greft materyali olarak kullanılan kemiğin kalitesi, alıcı bölgedeki kemik dokunun kalitesi, biomekanik özellikler ve greft materyalinin alıcı bölgeye fiksasyonu greftin rezorbsiyon miktarını etkileyen faktörlerin başında gelmektedir (116). Greft, birleşme sırasında başarısız olabilir ve kademeli olarak yok olabilir veya alıcı kemiğin mekanik olarak fonksiyon sağlayan bir parçası haline gelebilir. Başarılı bir greft iyileşmesi için iyileşme fazının başarılı olarak tamamlanması gerekir. Büyük boyuttaki greftlerde bu iyileşme süreci küçük boyuttaki greftlere göre daha fazla zaman alır (94,117).

Greft materyalinin kemikleşme süreci histolojik olarak incelendiğinde bölgede öncelikle fibroblastik ve anjiyoplastik aktivitenin artmasıyla granülasyon dokusunun meydana geldiği izlenmektedir. Kemik grefti alıcı bölgeye ilk yerleştirildiğinde greft materyalinin üzerinde çok az canlı hücre bulunmaktadır. Alıcı sahadaki ölü grefti çevreleyen sert ve yumuşak doku canlı ve iyi bir kan desteğine sahip olmalıdır. Greft materyali yerleştirildikten sonra alıcı bölge hipervaskülerize olup greft materyali içerisinde anjiyoblastlar ve küçük damarlar oluşmaktadır. Oluşan bu kan damarları osteojenik kemik biçimlenmesi ve greft materyalinin bölgeye tutunması için gerekli elementleri sağlamaktadır. Greftleme işleminden sonraki birkaç hafta içerisinde alıcı sahada yeni damarlar, interstisyel hücreler ve materyaller ve yeni osteoblastlar oluşarak örgü kemiği meydana getirirler. Böylece, greft-örgü kemik kompleksi oluşur. Mekanik destek için greft, örgü kemik ve alıcı kemik arasında sıkı bir bağlantı olmalıdır. Daha sonra greft materyalinin çevresinde olgunlaşmamış osteoid dokular oluşmaya başlar.

Osteoidlerin olgunlaşmasıyla bölgede lameller kemik dokusu meydana gelmektedir. Temel çok hücreli ünitenin yeniden şekillenmesi greft-örgü kemik kompleksinin, lameller kemik ile yer değiştirme sürecini başlatır. Bu süreçte osteoklastlar da bölgeye gelerek greft materyalinin dışından rezorbe olmasını sağlayarak greft-örgü kemik kompleksini internal ve eksternal olarak yeniden şekillendirir. Greft materyali dışarıdan içeriye doğru yeni oluşan kemik dokusu ile yer değiştirir. Yeni oluşan lameller kemik; greft materyali ve alıcı kemik ile sıkıca bağlanmalıdır. Greft materyalinin yeni kemik dokusu ile yer değiştirmesi 3-6 ay sürmektedir. Bu süreçten sonrada bölgedeki hipervaskülarizasyon azalmaktadır (117,118).

2.2.2. Kemik Greft Materyallerinin Etki Şekline Göre Sınıflandırılması

Kemik greftleri, uygulandıkları bölgede osteogenezis, osteoindüksiyon, osteokondüksiyon mekanizmalarından bir ya da birkaçının birlikte işlemesiyle çevre kemik dokusuyla bütünlük sağlar ve yeni kemik oluşumunu uyarırlar. İdeal greft materyali bu özelliklerin hepsini içermelidir (14,108,119).

2.2.2.1. Osteogenezis

Osteogenezis greft materyali içerisindeki organik materyaller ve canlı osteoblastik hücrelerden direk olarak yeni kemik formasyonun sağlanmasıdır. Greftin osteoblastik farklılaşma kapasitesine sahip mezenkimal kök hücrelerini barındırması osteojenik özellik olarak tanımlanır. Bu hücreler greft yerleştirildikten sonra uyarılarak osteoblastik dönüşüm gösterirler ve yeni kemik oluşturmaya başlarlar. Dokuda farklılaşmamış mezenkim hücrelerinin olmadığı ortamlarda bile bu tür organik maddeler osteogenez kabiliyetine sahiptir Osteojenik özelliğe sahip tek greft materyali otojen kemiktir (118,120).

2.2.2.2. Osteoindüksiyon

Osteoindüksiyon, alıcı dokudaki birçok hücre tipine dönüşebilme yeteneğine sahip olan mezenkimal kök hücrelerin uyarılmaları sonucu osteoblastik fenotipe sahip hücrelere farklılaşmasıdır. Bu durum, kemik matriksinden çıkan bir veya daha fazla indüksiyon ajanlarının etkisi altında oluşur. Canlı kemikte ve greft içinde bulunan

büyüme faktörleri mezenkimal kök hücrelerin osteoblastlara veya kondroblastlara dönüşmesini uyarak osteogenezin gerçekleştirilmesini sağlar. Osteoindüktif materyaller yeniden şekillenme fazında kemik formasyonuna daha fazla katılırlar. Kemiğin olmadığı cilt altı gibi ektopik bir bölgeye yerleştirildiklerinde kemik formasyonunu uyardıkları gösterilmiştir (7,108,109,121,122).

2.2.2.3. Osteokondüksiyon

Osteokondüksiyon, temel olarak pasif bir kemikleşme anlamında olup greft materyalinin; alıcı bölgeden gelen kapiller damarların, perivasküler dokuların ve osteojenik hücrelerin greft materyali içerisine ilerlemesine izin vererek kendi yüzeyi üzerine yeni kemiğin büyümesini desteklemesi olarak tanımlanmaktadır. Bu süreçte greft materyali kademeli olarak rezorbe olmaktadır. Osteokondüktif özelliğe sahip materyaller direk olarak kemik oluşumuna katkı sağlamaz ancak matriks oluşturarak osteogeneze rehberlik ederler. Osteokondüksiyonda kemik oluşumu çevre kemikteki apozisyon ile karakterizedir. Bu nedenle osteokondüksiyon, kemik veya farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin varlığında meydana gelir. Osteokondüktif materyaller biyouyumludur. Osteokondüktif materyaller cilt altı gibi ektopik alanlara yerleştirilir ise kemik oluşumu gözlenmez. Bu durumda materyal ya değişmeden kalır ya da rezorbe olur (107,108,109,119,121).

2.3. Kemik Greft Materyallerinin Sınıflandırılması

Greft materyalleri elde edilmiş kaynaklarına, fiziksel özelliklerine, biyolojik özelliklerine veya işleme metodlarına göre birçok farklı şekilde sınıflandırılabilir. Greft materyallerinin elde edilmiş kaynaklarına göre sınıflandırılması şu şekilde modifiye edilebilir.

A. KEMİK ESASLI GREFT MATERYALERİ

1. Otojen Kemik Grefti (Otogreft)

- a) Ağız içi kaynaklı
- b) Ağız dışı kaynaklı

2. Homojen Kemik Grefti

- a) İzogreft
- b) Allogreft
 - Dondurulmuş kemik allogrefti (DKA)
 - Dondurulmuş - kurutulmuş kemik allogrefti (DKKA)
 - Demineralize dondurulmuş - kurutulmuş kemik allogrefti (DDKKA)

3. Heterojen Kemik Grefti (Heterogreft, Ksenogreft)

- a) Sığır kaynaklı hidroksiapatitler
- b) Mercan kaynaklı hidroksiapatitler
- c) At kaynaklı heterojen kemik grefti
- d) Domuz kaynaklı heterojen kemik grefti

B. KEMİK ESASLI OLMAYAN GREFT MATERYALLERİ (ALLOPLASTLAR)

1. Doku Kaynaklılar

- a) Dentin
- b) Sement
- c) Kıkırdak

2. Metaller

3. Jelatin Film

4. Polimerler

- a) Polimetilmetakrilat
- b) Proplast
- c) Polyallioxanone
- d) Sert doku replazmanı htr
- e) Polietilenler
- f) Polipropilen
- g) Silikonlar
- h) Politetrafluoroetilen(teflon)

5. Seramikler

- a) Kalsiyum sülfat (Paris alçısı)
- b) Kalsiyum aluminat
- c) Bioaktif cam ve cam seramikler

- d) Kalsiyum karbonat
- e) Kalsiyum fosfat (Trikalsiyum fosfat, Hidroksiapatit)
- f) Yağlı kalsiyum hidroksit süspansiyonu

C. DOĞAL MATERYALLER

1. Kollajen
2. Kemik morfojenik proteinler (BMP)
3. Trombositten zengin plazma (PRP-platelet rich plasma) (123,124).

2.4. Oral Cerrahide Kullanılan Kemik Greft Materyalleri

Oral ve maksillofasial cerrahide, otojen kemik greftleri, allogreftler, ksenogreftler ve alloplastik materyaller sıklıkla kullanılan greft tipleridir (8).

2.4.1. Otojen Greftler

Bir bireyin vücudunun bir bölgesinden alınıp diğer bir bölgesine uygulanan greftlere otojen greftler denir. Otojen greft, transplante kansellöz kemik hücrelerinden direkt olarak kemik üretilmesini sağlayan tek greft materyalidir. Otojen kemik greftinde transplantasyon sonrası az miktarda canlı matür osteoblast kalmasına karşın, yeterli sayıdaki kök hücrelerinden (osteoprogenitor) matür osteoblastlar gelişebilmektedir. Ayrıca bu greft materyali, greftin birleşme fazı sırasında çevreye BMP'leri salarak kemik büyümesine katkıda bulunur Dolayısıyla osteojenik etkili tek greft materyali olması nedeniyle altın standart olarak kabul edilmektedirler (8,19,23). Greftlenen otojen kemik osteogenezis, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon süreçlerince iyileşir. Bu üç süreç birbirinden tam anlamıyla ayırt edilememekte devam eden iki iyileşme süreci aynı anda gözlenebilmektedir. Serbest otojen kemik grefti, yerleştirilmesini takiben ilk 2 haftalık sürede osteojenik etki gösterir. Greftlemeden 2-6 hafta sonra osteoindüktif etkisi başlar ve 6 ay kadar sürer. Son olarak osteokondüktif etki ile apozisyonel kemik oluşumu gerçekleşir. Greftin organik komponenti olan kollajen; grefte esneklik, dayanıklılık ve stabilite kazandırırken; inorganik komponent olan HA, greftin rijiditesine katkıda bulunur (8,78,85).

Otojen greftler, makroskopik olarak temelde kortikal veya kansellöz olmak üzere ikiye ayrılırlar ancak elde edilmiş şekillerine göre kansellöz, kortikal ve kortikokansellöz olarak incelenebilirler (125).

Kansellöz kemik greftleri meduller kemik ve kemik iliğini içermektedir. Bu greft tipinin avantajı, belirgin şekilde osteogenezisi artırma yetenekleridir. Bu yetenekleri, osteojeniteyi indüklemeye kapasitelerinin olması kadar, osteoblastlara dönüşebilen canlı hücrelere sahip olmalarına bağlıdır. Partiküler yapısı ve geniş yüzey alanı nedeni ile kansellöz kemik greftleri kortikal kemik greftlerine oranla daha çabuk ve bütünüyle revaskülerize olmakta ve böylelikle birçok sayıda hücre yaşayabilmektedir. Yeniden şekillenme aşamasında önce appozisyona daha sonra rezorpsiyona uğrarlar ve yeni kemik ile tamamen yer değiştirirler. Bu tip greftleme yöntemi, yapısal bütünlüğünün korunması gerekmeyen küçük defektlerde çok iyi klinik sonuçlar vermektedir. Ancak defekt daha büyük olduğunda ve periosteumun bulunmadığı durumlarda, saf kansellöz kemik grefti yeterli formu ve mekanik devamlılığı sağlayamamaktadır (8,125).

Kortikal greftler lamellar kemik parçalarıdır. Bu tip greftte transfer edilen ana hücre tipi osteositlerdir. Osteoblastlar transplantasyonu gerçekleştiremezler, çünkü bu tip greftte revaskülarizasyon için uzun bir zaman dilimine ihtiyaç vardır. Yeniden şekillenme aşamasında ise kansellöz kemik greftlerindeki mekanizmanın tam tersi söz konusudur. Önce osteoklastik rezorpsiyon daha sonra kemik oluşumu meydana gelir. Kemik oluşumu, kemik grefti ile greftin yerleştirildiği kemik dokusunun temasta oldukları alandan başlayarak tabakalar halinde oluşur. Bu durum “*creeping substitution*” olarak adlandırılır. Kortikal kemik greftleri, alıcı bölgede kemiğin yeniden şekillenmesi için çatı oluştururlar, iyi mekanik dirence sahiptirler ve yıllarca hacimlerini koruyabilmektedirler (85,125) .

Kortikokansellöz greftler, kortikal kemik ile altında bulunan kansellöz kısmı birlikte içermektedir. Kortikokansellöz kemik, kansellöz kemik kadar osteogenezisi artırıcı özelliğe sahip değildir çünkü daha nonpöröz bir yapısı olan kortikal kemik tabakasına sahiptir. Bu tip greftin avantajı kansellöz kemik tabakası ile osteogenezin her iki fazını destekleyebilecek yeterli miktarda endosteal osteoblastlarla birlikte

mezenkimal hücreleri içermesi aynı zamanda kortikal kemik tabakası ile mekanik sağlamlık ve yapısal bütünlüğü sağlamasıdır (19,125).

Otogreftler alındıkları bölgeye göre ağız içi (intraoral) veya ağız dışı (ekstraoral) olarak ikiye ayrılırlar.

2.4.1.1. Ağız İçi (intraoral) Otojen Greft Kaynakları

Otojen kemik greftleri ağız içinden; mandibula simfiz bölgesi, ramusun ön yüzü, mandibular korpus (gövde), maksiller tüber çıkıntısı, zigomatik buttress, koronoid çıkıntı ve maksiller sinüs yan duvarından elde edilebilmektedir. Bunların yanında normal bir anatomik bir yapı olmamasına rağmen torus çıkıntıları da uygun alanlar arasında sayılabilir. Ayrıca kemik toplamaya yarayan özel tasarlanmış aletlerle veya aspirasyon sırasında operasyon ortamındaki kemik parçalarını toplamak amacıyla aspiratöre takılan “*bone collector*” adı verilen özel aletlerle de az miktarlarda ağız içi kaynaklı otojen greft toplanabilmesi mümkündür. Ağız içi yöntemlerle elde edilen kemik greftleri ağız dışı yöntemlerle elde edilenlere oranla daha az rezorbsiyon göstermektedirler (57,66,116). İskelet sistemindeki birçok kemik endokondral kaynaklıdır. Alveoler kemik, maksilla ve mandibulada ise intramembranöz kemik oluşumu ile meydana gelir. İntramembranöz tipteki kemik grefti ile defekt direkt olarak kemikle iyileşir. Endokondral tipteki kemik greftinde ise, defekt kartilajformasyon fazı aracılığıyla iyileşir. İntramembranöz kemik endokondral kemikten daha önce revaskülarize olur, rezorbsiyonu ise daha yavaştır (126,127). Ayrıca ağız içi kaynaklı greftler daha yüksek konsantrasyonda büyüme faktörü içerirler, bu nedenle daha fazla kemik yapımı ve greft retansiyonu kapasitesine sahiptirler. Endokondral orijinli kemik greftleri için 6–9 aylık iyileşme periyodu önerilirken, mandibuler kemik greftleri için 4 aylık iyileşme periyodunun yeterli olduğu belirtilmiştir. Daha kısa süreli iyileşme periyodunun önerilmesinin nedeni intramembranöz kemik greftlerinin endokondral greftlere kıyasla daha erken revaskülarize olmasıdır (117). İntraoral bölgelerden otogreft almanın, alıcı bölge ile verici bölgenin aynı yerde bulunması, yalnızca lokal anestezi gerektirmesi, anestezi ve işlem süresinin kısalığı, verici bölge morbiditesinin azlığı, postoperatif komplikasyon riskinin daha az olması, skar bırakmaması ve daha ucuz olması gibi avantajları vardır. Bunu yanında mikrobiyolojik kontaminasyon riski bulundurması, diş

köklerine, sinirsel ve damarsal yapılara çok yakın olması ve bunlara zarar verme olasılığının bulunması ve ağız dışı kaynaklı greftlere kıyasla sınırlı miktarda greft sağlanabilmesi gibi dezavantajları bulunmaktadır (128,129).

2.4.1.2. Ağız Dışı (Ekstraoral) Otojen Greft Kaynakları

Ağız içi alanlardan yeterli miktarda greft sağlamanın mümkün olmadığı geniş atrofik bölgeler için kullanılan otojen kemik greftleri ekstra oral alanlardan elde edilir. İliak kemik, tibial kemik, kalvaria ve kostal kemikler otojen kemiğin ağız dışından sağlanabildiği sahalardır. İliak kemikten elde edilen kansellöz kemik, birçok çalışmada kullanılmış olup başarılı bulunmuştur. Bu tipteki greft materyali yapısal bir bütünlük göstermese de, bölgede bulunan kemik dokusu ile osteointegre olur ve hızlı bir iyileşme gösterir (9,116). Ağız dışı donör alanlar yüksek miktarda greft uygulaması gerektiren birçok augmentasyon işlemi için çoğunlukla tercih edilse de yüksek maliyet, genel anestezi ve hastanede yatış gereksinimi, postoperatif dönemde hasta rahatsızlığına yol açması ve greft rezorbsiyon potansiyelinin endokondral iyileşmeden dolayı yüksek olması gibi dezavantajlara sahiptir (117).

Otojen kemik greftleri yapısında osteojenik hücreler bulundurması ve immünolojik reaksiyona sebep olmaması ile en avantajlı greft materyali olarak gösterilmektedirler. Aynı şekilde enfeksiyona gösterilen direnç ve hastalık transferinin söz konusu olmaması da diğer greftlerle karşılaştırıldığında üstün bir özellik olarak göze çarpmaktadır. Ancak verici bölgede ikinci bir operasyona ihtiyaç olması, uzun süreli postoperatif ağrı, donör alan morbiditesi, operasyon süresinin ve dolayısıyla anestezi süresinin artması, greftin sınırlı miktarda elde edilmesi ve greftin rezorbe olması gibi dezavantajlarından dolayı alternatif greft materyallerine ihtiyaç duyulmuştur (8,9,122).

2.4.2. Allogreftler

Allogreftler, aynı türden fakat farklı genetik yapıya sahip bireylerden elde edilen greft materyalleridir. Yaşayan ilgili kişilerden veya kadavralardan elde edilir, işlenir, çeşitli şekillerde ve boyutlarda hazırlanır ve ileride kullanılmak üzere tamamen steril şartlarda kemik bankalarında saklanır. Allogreftler, osteojenik hücre içermemesi dışında

otogreftler ile aynı özellikleri taşımaktadır. Allogreftlerin avantajları arasında; otojen kemik alımı sırasında meydana gelen donör alan cerrahisi ve morbiditesinin olmayışı, geniş kemik defektlerinin onarımında başarı sağlaması, istenilen miktarda elde edilebilmesi, intraoperatif kan kaybının ve postoperatif ağrının olmaması sayılabilir. Bununla birlikte bakteriyel enfeksiyon, viral hastalıkları taşınması (hepatitler, Human Immunodeficiency Virus-HIV) ve yabancı cisim reaksiyon potansiyeli gibi dezavantajları bulunmaktadır (23,130,131). Allogreftlerin alıcı bölgede meydana getirdiği bu immünolojik komplikasyonları ve hastalık taşıma potansiyellerini ortadan kaldırmak için hazırlanma aşamalarında dondurma, dondurup kurutma (liyofilizasyon) gibi kriyobiolojik teknikler, radyasyona tabi tutma, otoklavize etme, kaynatma yada deproteinize etme işlemleri uygulanmaktadır. Yapılan çalışmalarda radyasyona tabi tutularak hazırlanacak allogreftlerin 30000 Gy ve üzerinde gama irradyasyonu ile hazırlanması önerilmektedir, bu doz ve üzerinde dokularda HIV virüsü saptanmamıştır. Gama irradyasyonu kemik greftinin kırılabilirliğini arttırmaktadır. Yapılan çalışmalarda dondurulup kurutulan ve gama irradyasyonu ile hazırlanan kemik greftlerinin daha kırılabilir oldukları tespit edilmiştir (8,85,133). Kriyobiolojik teknikler osseöz dokunun histolojik doğasını korur; ancak yabancı cisim reaksiyonunu indirmek için bu teknikler ile canlı hücreler uzaklaştırılır. Kriyobiolojik olarak hazırlanan allogreftlerin hücreleri canlı olmadığından osteojenik özellikler de zayıflar (8,131). Allogreft kemikte, osteoindüktif özellik taşıyan az miktarda kemik morfojenik proteini de bulunur. Demineralizasyon, allogreft kemik matriksindeki büyüme faktörlerinin biyoyararlanımını artırır. Ayrıca demineralizasyon ile HIV enfeksiyonu geçmesi de önlenmiş olur. Allojen kemik hazırlanması ve sterilizasyonu sırasında yapılan işlemler, kemigin immunojenik etkilerini azaltırken, osteoindüktivite, osteokondüktivite ve mekanik özellikleri üzerinde de etkilidir. Donörün sağlık durumu ve bulaşıcı hastalık bulunup bulunmadığı tespit edildikten sonra ölümü takiben 24 saat içinde greftler alınır. -20° C derecede 1 yıl veya daha fazla süre saklanarak immunojenik etkiler azaltılır; ancak ortadan kaldırılamaz. Dondurarak kurutma ("freeze drying") işlemi ile immunojenite daha da azaltılır. -20°C derecede saklanan taze donmuş kemiklere göre, dondurarak kurutma sonrası elde edilen allogreftlerde mekanik dayanıklılık % 50 daha azdır (7,132,133). Bu teknikler ile hazırlanmış 3 farklı tipte allogreft vardır:

1. Dondurulmuş kemik allogrefti (DKA)
2. Dondurulmuş - kurutulmuş kemik allogrefti (DKKA)
3. Demineralize dondurulmuş - kurutulmuş kemik allogrefti (DDKKA)

2.4.2.1. Dondurulmuş Kemik Allogrefti (DKA)

Taze dondurulmuş kemik sadece hazırlanışı esnasında dondurma işleminden geçmekte ve osteoindüktif proteinleri yapısında bulundurmaktadır. DKA, osteoindüktif potansiyele sahip olmakla birlikte oral cerrahide nadiren kullanılır, çünkü osteoindüktif proteinleri zarar görmediği için alıcı dokuda immün yanıt ve bulaşıcı hastalık oluşturma riski vardır (1,19,57).

2.4.2.2. Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti (DKKA)

DKKA'da greft, önce dondurma sonra vakum içinde mevcut buzun direkt olarak tüm süreç boyunca sıvı faz olmaksızın buharlaştırılmasıyla ve greftin düşük sıcaklıkta liyofilizasyonla kurutulmasıyla elde edilir (78,127,134). Bu işlem ile, greft içindeki hücrelerin öldürülüp uzaklaştırılmasıyla immün reaksiyon riski azaltılırken, diğer bir yönden osteojenik özellik kaybolmaktadır (122,131). Dondurup kurutma işlemi, kemik greftine karşı inflamatuvar cevabı önemli oranda azaltmasına rağmen, bunun yanında greftin mekanik özelliklerini de azaltmaktadır. Dondurma kurutma yöntemi ile elde edilen greftler dondurma yöntemi ile elde edilen greftlere oranla % 50 daha az dayanıklılığa sahiptir. Dondurulup kurutulmuş kemik greftlerinin iyileşmesi, rezorpsiyon ve osteokondüksiyon ile olurken, bu greftlerde, osteoindüksiyon görülmemektedir (1,7,132). Dondurulmuş kurutulmuş kemiklerde osteojenik indüksiyon kapasitesi az olduğundan rezorpsiyonu sırasında bir miktar fibröz doku ile yer değiştirir ve greft bölgesinde bir küçülme beklenir. Bu durumda, greft tamamen yer değiştirdikten sonra kemik kaybının en az %50 olacağı göz önünde bulundurulmalıdır. DDKA olarak kortikal kemik cipsleri, düşük antijenik aktivitesi ve yüksek kollajen miktarından dolayı tercih edilebilir Dondurularak kurutulmuş allogreftlerin demineralize ve demineralize olmayan iki tipi mevcuttur. Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik, asit

uygulaması ve liyofilizasyondan dolayı BMP içerir ve osteoindüksiyon özelliğini kaybetmez (1,8,130,132,134).

2.4.2.3. Demineralize Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti (DDKKA)

“Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti” terimini daha çok diş hekimleri, oral ve maksillofasial cerrahlar kullanırken ortopedistler ve nörocerrahlar DDKKA’yı daha çok “Demineralize Kemik Matriksi (DKM)” olarak adlandırmaktadırlar (134,135).

Urist ve ark. tarafından tarif edilen ve daha sonra Reddi ve Huggins tarafından geliştirilen standardize edilmiş yöntemle DKM elde edilir. Bu yöntemde allojen kemik 74-420 μm partikül büyüklüğüne erişene kadar ezilir ve ardından üç saat 0,5N HCLmEq/gr'da demineralize edilir. Kalan asit steril su, etanol ve etil eter ile yıkanır ve yağlar eritilir (109,136). Bu işlemler ile proteinlerin % 90'ı yok edilir. Yoğun bir şekilde yıkandıktan sonra dondurulup kurutulur. Bu işlem sonunda kemikte kalan proteinlerden biri BMP'dir. DKM elde etme aşamalarına göre (demineralizasyon zamanı, asit uygulaması, ısı, yağdan arındırıcı ajan uygulamaları ve gama ışınları veya etilen oksit ile sterilizasyon) doku bankaları ve firmalar arasında farklılıklar bulunur. Klinik uygulamalarda değişen düzeylerde başarı elde edilmesi, demineralizasyon ve sterilizasyon işlemlerinde osteoindüktif proteinlerin korunması ile ilişkilidir (7,133,137). DDKKA, konağın farklılaşmamış mezenkimal hücreleri üzerinde etki göstererek osteoindüksiyon ile kemik rejenerasyonu sağlayabilir. Dondurulmuş kurutulmuş allogreftin demineralize edilmesi kemik matriksi içerisindeki BMP'lerin açığa çıkmasını sağlamak ve bu sayede DDKKA'lar osteoindüktif özellik göstermektedirler. BMP'ler kemik matriksinin daha fazla bulunduğu kortikal kemikte daha çok gözlenmekte, bu yüzden DDKKA'lar daha çok kortikal kemikten elde edilmektedir. DDKKA, konak kemik için matriks fonksiyonu görerek osteokondüksiyon ile de kemik rejenerasyonu sağlayabilir (78,134,135).

Literatürde DDKKA'nın HIV içerme riski oranı 1,2 milyonda 1 olarak belirtilmiştir. Ayrıca, literatürde bu geçişi kanıtlayan herhangi bir rapor bulunmamaktadır. Önceleri DDKKA'nın BMP içerdiği ve osteoindüktif olarak

nitelendirilmesi gerektiği savunulsa da son dönemlerde yapılan çalışmalar DDKKA'nın osteoindüktif bir greft materyali olmadığını ileri sürmektedir. Bunu da işleminden geçirilmiş allogreftlerde protein miktarının çok düşük olmasıyla açıklamışlardır (57,123,130).

2.4.3. Ksenogreftler (heterojen kemik greftleri)

Ksenogreftler, alıcı canlıdan farklı bir türde canlıdan elde edilen greft materyalleridir. İnsanlarda heterojen kemik greftleri uygulamaları 17. yy'dan beri var olmasının yanı sıra, maksillofasiyal bölgede kullanımı yenidir. Oral ve maksillofasiyal cerrahide kemik defektlerinde, greft gerektiren çeşitli osteotomilerde ve kimi zaman da kemik greftleriyle karıştırılarak kullanılmaktadır. Ksenojenik kemik greftleri memeli kemiklerinden (domuz, sığır) veya mercan dış iskeletinden elde edilebilmektedir (8,57,66).

Mercanın kalsiyum karbonat iskeletinden sentezlenen doğal hidroksiapatit (HA); ortalama 200 µm'lik por çapı ile doğal kemiğin üç boyutlu mikroyapısına sahiptir. Mercan kaynaklı greftler osteokondüktif, kolay hazırlanabilen, kolay şekillenebilen, biyouyumlu ve maliyeti düşük olan greftlerdir. Mercan greftleri, direk osteoblastik apozisyonlanma için iskelet görevi görerek yeni kemik oluşumunda osteokondüktif etki gösterirler (8,138).

Ksenogreftlerin kullanımı 1960'larda popüler hale gelmiş, ancak sığır kemiğinden elde edilen greftlerin transplantasyonundan sonra otoimmün hastalık gelişen hastaların rapor edilmesi nedeniyle kullanımı azalmıştır. 1990'larda dikkatli bilimsel değerlendirmeler ve deproteinizasyon işleminin daha iyi yapıldığı yöntemlerin geliştirilmesi sonucunda kemik partikülleri deproteinize edilerek antijenik özellikleri azaltılmış ve tekrar kullanılmaya başlanmıştır. Bu süreç içerisinde kemiğin organik komponentinin tamamen uzaklaştırılması ve uygulandığı dokuda daha kabul edilebilir olması amaçlanmıştır. Bunun sonucunda da organik kısmın osteoindüktif kabiliyeti kaybedilmiş olur ve greft osteokondüktif özellik gösterir (57,66,139).

Domuz ve fare kaynaklı ksenogreftler bulunsa da bazı organik çözücüler ile hazırlanan ve bu sırada immünojenitesinin çoğunu kaybeden sığır kemiği en genel heterojen greft kaynağıdır. Greft materyali tüm organik komponentleri uzaklaştırmak için ısı süreci ile kimyasal olarak muamele edilir. Bu süreç materyale göre değişiklik gösterir. Yüksek ısı (1100 °C) ile sinterize olan materyalin kristallerinde füzyon oluşur, bu da porozite ve yüzey alanında azalmaya neden olur. Düşük ısı (300 °C) sürecinden geçirilen materyallerde, gerçek trabeküler yapı ve porozite korunur. Sığır kemiği organik komponentlerinden ayrıldıktan sonra elde edilen kalsiyum matriks sterilize edilerek greft kullanıma hazır hale getirilir. Bu greft, alıcıda herhangi bir immün reaksiyona sebep olmayacak şekilde hazırlanır. Ksenogreftlerle yapılan çalışmalar greftin osteotomi alanlarında başarılı sonuçlar verdiğini, ancak posttravmatik deformite ve hipoplastik alan düzeltmelerinde yetersiz kaldığını göstermiştir (8,78,138,140).

Ksenogreftlerin kullanıldığı deneysel hayvan çalışmaları materyalin ideal bir yapı iskeletine sahip olduğunu göstermektedir. Ksenogreftlerin iyileşme mekanizmaları incelendiğinde alıcı sahadaki kemikte osteojenik hücrelerin rehberliğinde kemik büyümesi başladığı görülmektedir. Bu durumda greft partikülleri arasında örgü kemikten oluşan köprüler meydana gelir. Yeni oluşan kemik köprüsü ve ksenogreftten oluşan bu yapı total mineralize doku olarak adlandırılır. Örgü kemik kombinasyonu ile oluşmuş bu olgunlaşmamış doku yeniden şekillenme ve yer değiştirme periyotları ile lameller kemiğe dönüşür (78,141).

Sığır kaynaklı HA, osteokondüktif özellikleri ile güvenli ve biyouyumlu bir greft materyalidir. Bu greft materyalinin mineral yapısı, doğal kemik ile kimyasal ve fiziksel olarak benzerlik gösterir. Ayrıca, elastisite modülü de doğal kemiğe benzerdir. Doğal yapısı, makropor-mikropor bağlantısı ve küçük kristal oluşumu sayesinde sentetik HA'ya kıyasla daha geniş bir yüzey alanı sunar. Materyal yüksek biyouyumluluğa sahip olup komşu yumuşak ve sert dokulara sıkı bir şekilde bağlanır. İyi organize, geçirgen pöröz yapısı ve iç içe geçmiş üç boyutlu yapısı sayesinde greft ve içine büyüyen kemik normal kemikle aynı kimyasal ve biyomekanik mekanizma ile yeniden şekillenir. İyileşme sonrası çığneme kuvvetlerini karşılayabilecek duruma gelir (78,140,141,142).

Ksenogreftler, farklı boyut ve şekillerde piyasaya sunulmuştur. Blok formları, plastik ve rekonstrüktif cerrahi ile maksillofasiyal cerrahide onlay greft olarak kullanılırken, granül formları periodontal kemik defektlerinde, çekim kavitelerinde ve küçük kist operasyonlarında başarılı bir şekilde hem fonksiyonel hem de estetik kayıplarda rahatlıkla kullanılmaktadır. Daha güçlü materyallerle birleştirilerek kombine olarak da kullanılabilirler (8,124,140).

Pyrost % 93'ü HA, %7'si alpha-TCP olan tamamen deproteinize ksenojenik kemik greft materyalidir. Oral ve maksillofasiyal cerrahide kemik defektlerinde, greft gerektiren çeşitli osteotomilerde ve kimi zaman da kemik greftleriyle karıştırılarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar, pyrostun herhangi bir immün cevaba ve yabancı cisim reaksiyonuna neden olmadan, insan vücudunda kabul gördüğünü göstermektedir (8,142,143).

Bio-Oss®, karbonat apatit içeren anorganik sığır kemiğinden oluşan ve kemiğin tamamen deproteinize edilmesiyle elde edilen ksenojenik doğal bir greft materyalidir. Sığır kemiğinden elde edilen heterojenik greft materyali olan Bio-Oss® 300 C°'de 15 saatten daha fazla bir süre ısıtma işlemi ile deproteinize edilmekte ve böylece tüm organik ve olası antijenik komponentleri elimine edilmektedir. Daha sonra materyal alkalın ile işleme sokulmaktadır. Alkalın işleminden sonra hidroksiapatit ve karbonattan oluşan materyal 160 C°'de steril edilmektedir. Bu işlem materyalin yüksek porözite ile birlikte 10-60 nm büyüklüğündeki kristal yapısının oluşmasını sağlamaktadır (15,16,139).

Yapılan çalışmalarda morfolojik olarak doğal bir yapısı olduğu kemik ile karşılaştırıldığında daha geniş bir iç yüzeye ve poröziteye, kemik ile benzer kristal yapıya elastikiyete, kimyasal bileşime ve kalsiyum/ fosfor oranına sahip olduğu gösterilmiştir. Bu özellikleri nedeniyle Bio-Oss®, son yıllarda kemik greft materyali olarak periodontoloji ve maksillofasiyal cerrahi dallarında geniş kullanım alanları bulmuştur. Maksillofasiyal cerrahide sinüs liftingde, alveoler kret yükseltme işlemlerinde, dişler ve implantların çevresindeki defektlerin tedavisinde, mandibula ve maksilla rekonstrüksiyonunda, çekim soketlerinin doldurulmasında kullanılmaktadır (15,16,139,144).

2.4.4. Alloplastlar

Alloplastik kemik materyalleri canlılardan elde edilmeyen, sentetik olarak üretilen, kemik defektlerinin doldurulmasında ve kemik ogmentasyonlarında kullanılan materyallere verilen isimdir. Otogreftlerin sınırlı miktarda elde edilmesi, allogreft ve ksenogreftlerin hastalık transfer riski gibi dezavantajlarından kaçınmak için son yirmi yıldır araştırmacılar sentetik yolla üretilmiş greft materyallerine yönelmişler ve kemik defektlerinde kullanılmak üzere biyouyumlu sentetik greft materyalleri üretmişlerdir (4,108,122,137). İdeal bir alloplastik kemik greft materyali şu özellikleri taşımalıdır:

- Biyouyumlu olmalı, sitotoksik, karsinojen, iritan olmamalı, alerji yapmamalı, spesifik ve non-spesifik immün sistem mekanizmalarını harekete geçirmemeli
- Minimal fibrotik reaksiyon göstermeli,
- Remodelinge maruz kalmalı ve yeni kemik oluşumunu desteklemeli
- Mekanik açıdan yerine konulduğu kortikal veya kansellöz kemiğe benzer elastisite modülüne sahip olup, kemiğe gelen streslere karşı yeterli dirençleri gösterebilmeli
- Mekanik basınçlarla fiziksel değişikliklere uğramamalı, kırılma ve bükülmeye karşı dirençli olmalı
- Fonksiyon gereken bölgelerde sert doku sağlamlığı ve esnekliğine sahip olmalı
- Operasyon esnasında adaptasyon için rahat şekillendirilebilmelidir.
- Bozulmaz ve reaktif olmayan bir özelliğe sahip olmalıdır.
- Değişik sistemlerle bozulmadan steril edilebilmeli ve depolanması kolay olmalı
- Uygulandıktan sonra özelliklerinde ve yapısında herhangi bir değişiklik olmamalı
- Enfeksiyona dirençli olmalı
- Osteokondüktif ve osteoindüktif özellikte olmalı
- Hidrofilik yapıda olmalı ve implante edildiği dokuya fiziksel olarak benzemelidir (122,145).

Otojen kemik greftleriyle karşılaştırıldığında, donör sahaya ihtiyaç duyulmaması, kolay ve istenilen miktarda elde edilebilmeleri gibi avantajlarının yanında yabancı cisim ve enflamasyon reaksiyonu göstermek gibi dezavantajları da vardır (145).

Alloplastlar, yapı iskeleti görevi görerek osteokondüksiyon ile yeni kemik oluşumuna neden olurlar. HA gibi alloplastik materyaller kemik ile aynı inorganik komponentlere (kalsiyum ve fosfat) sahip olmalarına rağmen, büyüme faktörü gibi otojen kemiğin fizikokimyasal özelliklerine sahip değildirler. Bunlar ayrı ayrı uygulanabildikleri gibi, otojen ya da allojen kemik greftleri ile kombine olarak da kullanılabilir (137,145,146).

Alloplastik greft materyalleri istenilen boyut ve şekilde üretilebilmektedir. Rezorbe olan ya da olmayan, mikropöröz (350 µm'den küçük), makropöröz (350 µm'den büyük) veya pöröz olmayan yapıda olabilir (108,122).

2.4.4.1. Seramikler

Hidroksiapatit ve trikalsiyum fosfat gibi kalsiyum fosfat bileşikleri seramik matriksler olarak adlandırılırlar. Kalsiyum sülfat tuzları da bu gruba dahil edilebilir. Sentetik hidroksiapatit, trikalsiyum fosfat ve bu ikisinin kombinasyonu en sık kullanılan greft materyalleridir (122,145).

2.4.4.1.1 Hidroksiapatit (HA)

Hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), kemiğin primer inorganik doğal komponentidir. Kalsifiye iskeletin % 60-70'ini ve minenin % 98'ini oluşturur. Hidroksiapatit; kemiğin mineral komponenti olarak bulunduktan sonra dental, maksillofasiyal ve ortopedik cerrahide kemik greft materyali olarak geliştirilmeye başlanmıştır. Mükemmel biyouyumluluğu ile kemik dokusuna ve konnektif dokuya kolayca yapışır ve çok az inflamatuvar yanıt gösterir (8,23,122,146).

Elde edilmiş yöntemlerine göre sentetik ve organik olmak üzere ikiye ayrılır. **Sentetik hidroksiapatit**, saf polikristalin yapısında olup, seramik ya da seramik olmayan formlarda bulunabilir. **Organik hidroksiapatit**, replamineform hidroksiapatit (RHAP) olarak adlandırılır. Porites ve Ganiopara adlı mercan türlerinin aragonit kristallerinden oluşan iskeletin ısıtılma işlemiyle elde edilir. 200-500 mikrometre çapında porlar içerir (7,147).

HA, kristal forma girmesi için 700-1300 °C arasında ısıtılmaktadır. Seramik HA preparatları, *invivo* ortamlarda rezorbsiyona oldukça dirençli olup, yılda ortalama kütlelerinin % 1-2'si rezorbe olmaktadır. Buna karşılık seramik olmayan HA *in vivo* olarak daha hızlı reabsorbe olur ve aynı zamanda kendiliğinden sementte edilebilen formları da mevcuttur (25,122). HA fiziksel olarak; poroz (mikro veya makro) ve poroz olmayan form, rezorbe olan ve olmayan form, blok ve partiküler formlarda bulunabilir. Kimyasal özellikleri; kalsiyum fosfat oranına, çevreleyen alanın pH'ına ve iyon değişimine bağlıdır. Poroz formdaki HA hızlı bir şekilde greft içine doğru fibrovasküler doku büyümesine izin verir. Bunun sonucunda da greft stabilize olur ve mikrohareket engellenmiş olur. 250-350 µm'lik delikler (pore) kemik büyümesi için ideal olarak kabul edilmiştir. Fakat ne yazık ki porözite artışı ile dayanıklılık azalmaktadır ve büyük bir dezavantaj oluşturmaktadır. Geniş kristal partiküllerin rezorbe olması çok uzun zaman alır ve rezorbe olmayan olarak adlandırılır. Küçük boyutlu kristal HA ve amorf HA daha hızlı yıkıma uğrar. Bu sebeple materyalin kristal yapısı, rezorpsiyon derecesini belirler. Solid, dens, blok greftler yüksek sıkışma dayanıklılığına sahiptir; diğer yandan kırılabilir yapıdadır ve iyileşme periyodu sırasında stres altında yer değiştirir. Katı blok formdaki sentetik HA'nın şekillendirilmesi zordur, fibro-osseöz büyümeye müsaade etmez ve kemiğe göre daha yüksek elastisite modülüne sahiptir. Gözenekli granüler formu ise tek başına kullanılabildiği gibi, boşlukları doldurmak için diğer kemik greftleri ile birlikte de kullanılabilirler (122,145,147).

HA'nın kemik defekti onarımı, diş çekimi sonrasında alveoler sırt korunması, alveoler sırt augmentasyonu ve sinüs greftleme gibi işlemlerde otojen greftle kombine kullanımı gibi klinik kullanım alanları bulunmaktadır. HA kullanımı donör saha morbiditesini ortadan kaldırırsa da granüler migrasyon ve tamamlanmayan rezorbsiyon gibi uzun dönem problemlere yol açtığı bilinmektedir. HA; alveolar kenar

augmentasyonu için blok ve parçalı formlarda, çekim sonrası alveolar kenar rezorbsiyonunu önlemek için gömülü kök formunda ve ortognatik ve kraniofasial uygulamalarda yer tutucu olarak kullanılabilir. Gözenekli ya da dens HA seramikleri in vivo olarak biyorezorbsiyon göstermediklerinden kalıcı kemik implantları olarak değerlendirilirler (8,17,25,141,145).

2.4.4.1.2 Trikalsiyum fosfat (TCP)

TCP, bir kalsiyum fosfat formu olup kimyasal kompozisyonu ve kristal yapısıyla kemiğin mineral yapısına benzerlik göstermektedir. TCP, HA gibi biyoabsorbe olabilen ve biyouyumlu bir materyaldir ancak HA'ya göre daha hızlı çözünür ve rezorbe olur. Rezorpsiyon hızı materyalin kimyasal yapısına bağlıdır (57,145,148). Alfa (α), beta (β) ve gama (γ) olarak üç tipi bulunmaktadır. Alfa ve beta tipleri tıpta kullanılan formlarıdır (83,147). Sinterizasyon sıcaklığındaki varyasyonlar, farklı kristal fazların oluşmasına neden olur. 900°C'lik sıcaklıkta β -TCP oluşur. β -TCP ısıya maruz bırakıldığında (1180°C'den fazla) kimyasal formülünde meydana gelen değişikliğe bağlı olarak α -TCP'a dönüşmektedir. α veya β terimleri, TCP kristallerinin partikül oryantasyonunu ifade eder. α -TCP çok yavaş rezorbe olur ve yıllar sonra dahi kemikte saptanabilir. Diğer yandan β -TCP tamamen rezorbe olur ve 8-12 ay sonra tamamen doğal kemikle yer değiştirir. Bu sebeple α -TCP'ın klinik kullanımı önerilmemektedir (147,148,149).

β -TCP, biyouyumluluğu yüksek, rezorbe olabilen ve osteokondüktif özellikleri olan bir greft materyali olup kemik grefti olarak kullanılan ilk kalsiyum fosfat bileşenlerindendir. β -TCP gözenekli veya katı formda olabildiği gibi granüllü veya blok şeklinde de bulunabilmektedir. Gözenek yapısının çok küçük olması ve gözenekler arasında bağlantı bulunmaması nedeniyle rezorpsiyon olmadan kemik hücreleri yapının içine ilerleyemez. Bu yüzden TCP'in granül formu kemik grefti olarak daha kullanışlıdır. Bu greftin yapısındaki küçük porlar; kemik şekillendiren hücrelerin, besinlerin, büyüme faktörlerinin, kapiller damarların ve rezorbsiyon yapan fagositik hücrelerin araya girmesine izin verir. Daha büyük porlar vaskülarizasyonu ve içten büyümeyi teşvik eder (7,61,149,150). Rezorbe olan biomateryallerin rezorbsiyon hızı porözite miktarı ile kontrol edilebilir. Porözitesi yüksek olan greft materyalleri daha hızlı rezorbe olmaktadır. Kemikleşmenin ve damarlanmanın en iyi koşullarda

oluşabilmesi için porların en az 60 µm boyutunda olması gerekmektedir. Kullanılan greft materyalinin tanecik büyüklüğü greftin stabilitesini etkilemektedir (72,149). Poröz granüler formun, erken dönemde fibrovasküler yapıların greftin içine doğru büyümesine izin vermesiyle stabilizasyon sağlanır deneysel. β -TCP, osteokondüksiyon için optimum büyüklükte porları (150-500µm) içermektedir ve partikülleri yeniden şekillenme fazında osteoklastların içeri girebilmesi için ortalama 100 nm çapında üretilmiştir (9,127,150). β -TCP'ın rezorbe olma sürecinin diğer greft materyallerine oranla daha yüksek olduğunu bildirilmektedir. β -TCP 6-18 aylık periyot boyunca çözünme ve parçalanma yoluyla reabsorpsiyona maruz kalırlar. Ancak β -TCP'ın kemik ile yer değiştirmesi eş zamanlı meydana gelmez. Bu nedenle reabsorbe olan β -TCP hacmine oranla daha az miktarda kemik üretilir. Bundan dolayı β -TCP klinik olarak diğer daha az reabsorbe olan kemik greftleriyle birlikte kullanılmaktadır. Ayrıca tüm seramik yapıdaki materyaller gibi β -TCP'ta osteoindüktif özellik göstermemektedir Manipülasyon kolaylığı sağlaması ve osteoindüktif özellik sağlaması için TCP'ın tercihen otojen kemik greftleri veya allogreftler ile kombine kullanılması önerilmektedir (9,78,150).

2.4.4.1.3 Bioaktif cam:

Bioaktif cam greftler; kalsiyum tuzu, sodyum tuzu ve silikon karışımı olup, silikon dioksit (%45), kalsiyum oksit (%24,5), disodyum oksit (%24,5) ve pirofosfattan (%6) oluşur (7,122,137). Cam yüzeyinde hidroksikarbonat apatit tabakası oluşması ile materyal kemiğe kimyasal olarak bağlanır. Cam granülleri birbirine bağlı bir kitle oluşturur ve kan ile temas ettiğinde dağılmaz (57,78). Yapısal destek bakımından hidroksiapatit implantlardan daha dayanıklıdır. Uygulandığı zaman kollajen, büyüme faktörleri ve fibrine bağlanarak osteojenik hücrelerin ilerlemesini sağlayan poröz bir matriks oluşturur. Klinik olarak periodontal cerrahide kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Granül, blok ve çubuk şeklinde üretilmiş olup rezorbe olabilen ve olamayan tiplerde bulunabilir. Granüllerin ortalama boyutu 300-355 µm'dir. Diş kaybı sonrası alveoler sırt korunması amacıyla diş kökü formuna sahip bioaktif camlar da kullanıma sunulmuştur. Ancak bu malzemenin antibiyotikler ile ve kemik yapımını arttıran maddeler ile karıştırılarak kullanılmaları önerilmez (7,66,78,122,145,151).

2.4.4.1.4 Kalsiyum sülfat:

Paris alçısı yada Gypsum olarak bilinen kalsiyum sülfat ilk kullanılan alloplastik kemik greft materyalidir. İlk defa 17. yüzyılda sert bandaj şeklinde harici olarak kullanılmış, daha sonra kemik içi defekt onarımı amacıyla kullanımı ilk kez 1892’de Dressmann tarafından rapor edilmiştir. Alçı, alçı taşının yıkılma ürünüdür. Alçı taşı, 110-130 C’de ısıtıldığında, kristalleri içindeki suyun bir kısmını kaybederek kalsiyum sülfat hemihidrat şeklini oluşturur. Alçı taşının yıkılma yöntemine bağlı olarak iki değişik şekilde hemihidrat meydana gelir. Alçı taşı açık havada ısıtılırsa β 1 hemihidrat şekli ortaya çıkar ve bu paris alçısı olarak bilinir. Alçı taşı basınçlı buhar tatbiki ile otoklavda 120-130 C’de ısıtılırsa sert alçı şekli elde edilir. Kalsiyum sülfat tozu, sıvısı ile karıştırıldığında alçı formuna dönüşmekte ve kolaylıkla manipüle edilerek uygulanabilmektedir. Defekt bölgesinde matriks görevi görerek osteokondüktif etki gösterir. Yaklaşık 30-60 gün içinde rezorbe olur. Önemli avantajları enfeksiyon varlığında kullanılabilmesi ve ucuz olmasıdır. Buna karşın, nadir de olsa bu materyalin kullanımına bağlı allerjik reaksiyon ve inflamatuvar cevap rapor edilmiştir (9,66,78,152).

2.4.4.1.5 Kalsiyum karbonat:

Mercan kaynaklıdır. Bu materyalin rezorpsiyonu yavaştır. Ayrıca kemik formasyonu için yüzey transformasyonuna ihtiyaç duymaz böylece daha hızlı kemik formasyonu sağlar. Kalsiyum karbonat greftler, iyi derecede hemostatik özelliğe sahiptir ve ilgili alandan kolay uzaklaştırılmaz. Diğer yandan bu materyal hassas yapıdadır ve iyileşme periyodu sırasında stres altında migrasyon olur. Ticari olarak piyasada mevcut olan ürün Biocoral®’dır (57,66,78).

Biocoral® 1977 yılında Fransa’da Ortopedik Araştırma Enstitüsünde (IRO) geliştirilmiştir. Doğal mercanın (scleratin koral) doğal mineral iskeletinden elde edilen bir materyal olup argonit gibi metastabil kristal kalsiyum karbonattan (%97) oluşur. Doğal mercan iskeleti, çok sayıda kanalları ve iskelet oluşumu sırasında kalikoblastik epitelin içinde sıkıştığı boşlukları olan polikristalin seramiktir. Biocoralin kemik defektlerinde kullanıma dair ilk çalışmalar biyomimetik özelliği dikkate alınarak

yapılmıştır. Koralin yapısındaki kalikoblastların argoniti salgılayarak koralin ektodermal tabakası oluşturmalarının, osteoblastların osteoid dokuyu oluşturmalarını çağrıştırması dolayısıyla kemik ve koral arasında benzerlik olduğu düşüncesiyle yapılmıştır. Biocoral osteokondüktif özellikte bir biyomateryal olup granül veya blok şeklinde üretilir. Bu greft materyalinin değer kazanmasının nedenleri; enflamatuvar reaksiyon göstermemesi, immünolojik reaksiyon oluşturmaması, doku nekrozu meydana getirmemesi, manipülasyon kolaylığı ve kemiğe direk bağlanabilmesi olarak sayılabilir (145,153).

2.4.4.2. Polimerler

Sentetik polimerler, sert ve yumuşak dokunun ikisinde de kullanım alanı bulan en yaygın biyomateryaldir. Polimerler küçük tekrar eden grupların uzun zincirlerini içeren moleküllerdir. Amorf ya da semikristalin olabilirler ve yüzeyleri kimyasal ve biyokimyasal olarak değiştirilebilir. Polimerler doğaları gereği sayısız konfigürasyonda şekillendirilebilirler. Silikon rubber (SR), poliprofilen (PP). Polietilen (PE), polimetilmetakrilat (PMMA), gibi hidrofobik olabilir, yada suyla şişen hatta polietilenglikol (PEG) gibi suda çözünür. Bazıları bozunabilirken, diğerleri vücutta neredeyse hiç değişmeden kalır. Poliglilikolik asit (PGA) ve polilaktik asit (PLA) kombinasyonları yıllardır rezorbe olabilen suture üretiminde kullanılmaktadır. Ayrıca son zamanlarda rezorbe olabilen fiksasyon vidaları, kemik vidaları olarak da yine bu kombinasyonlar kullanılmaya başlanmıştır (66,145,154,155). Son yıllarda polilaktik asit ve poliglilikolik asitin düşük dansiteli kopolimerleri üretilmiştir. Bu kopolimerler minimum 3-4 ay, maksimum 6-8 aylık degradasyon zamanına sahiptir. Toz formu üç duvarlı osseöz defektler için, sünger formu iki veya üç duvarlı defektler için endikedir. Jel formu, şırınga ile enjekte edilerek derin defektler için kullanılır. Polimetil metakrilat (PMMA) ve polihidroksietyl metakrilat (PHEMA) karışımı rezorbe olmayan polimerlerdir. Radyoopasite sağlaması için materyale az miktarda baryum sülfat eklenmiştir. Mevcut kemik greft materyallerinin çoğunluğu uygun sonuçların elde edilebilmesi için yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu (YKR) membranlarının kullanılmasını gerektirir. Fakat bu materyalin kullanılması ile membran gereksinimi elimine edilebilir, çünkü materyalin kendisinin membran görevi gördüğü belirtilmektedir (66,78).

HTR (Hard Tissue Replacement) günümüzde kullanılan tek polimer esaslı greft maddesidir. Polimetilmetakrilat, polihidroksietilmetakrilat ve kalsiyum hidroksit'den meydana gelen doku uyumlu, mikroporöz bir greft maddesidir. Alveol kemiği ile yakın temasta olduğunda yeni kemik oluşumu için bir yapı iskelesi görevi gördüğü ve osteokondüktif etki gösterdiği anlaşılmıştır. Rezorbe olmaz. Hidrofilik özelliği pıhtı oluşumunu kolaylaştırır ve partiküllerin negatif yüzey enerjisi yüklü olmaları kemiğe yakınlaşmalarını sağlar. HTR kemiği (kret) korumak, çekimi takiben alveolar kemik kaybını önlemek, kret ogmentasyonu, periodontal ve diğer kemik defektlerinin onarımında kullanılmaktadır. Stahl ve ark. insan periodontal defektlerinde, HTR uygulamasını takiben histolojik incelemeler yapmışlardır. Çalışmacılar, HTR partiküllerinin rezorbe olmadığını ve alıcı doku tarafından iyi tolere edildiğini saptamışlardır. Ayrıca, HTR partiküllerinin bağ dokusu ile çevrelendiklerini, bazı partiküllerin çevresinde ise sınırlı miktarda kemik oluşumu meydana geldiğini belirlemişlerdir (18,156).

2.5. Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu

Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu (YDR) terimi, kayıp periodontal dokuların (periodontal ligament, sement, alveolar kemik) yerine, seçilmiş hücreler ve periodontal yaranın doku repopulasyonu aracılığı ile sağlıklı yeni periodontal dokuların rejenerasyonunu tanımlamaktadır (157,158). YDR'nin biyolojik prensibi, epitel ve bağ dokusunun ayrı tutulmasına dayanmaktadır. Bu sayede hücrelerin öncelik sırasında göre rejenerasyonu sağlanarak periodonsiyumun üniteleri istenilen şekilde yeniden oluşturulabilir (159,160). *Nyman ve ark.* maymunlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında YDR ile yeni ataşman elde edilebileceğini göstermişlerdir. Bu yöntem, operasyon sırasında kök yüzeyi ile yumuşak doku arasına bir bariyer membran yerleştirilerek gingival epitelin apikale migrasyonun engellenmesini temin etmekte, böylece rejeneratif potansiyeli daha yüksek olan periodontal ligament öncü hücrelerin bölgeye ulaşmalarını sağlamaktır (161,162).

2.5.1. Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu

Oral ve maksillofasiyal cerrahide özellikle geniş rekonstrüktif cerrahi içeren vakalarda fibröz iyileşme istenmeyen bir durum olarak karşımıza çıkmaktadır. Başarılı bir kemik iyileşmesi ve yeni kemik oluşturulması sürecinin önündeki en önemli engel hızlı büyüyen yumuşak dokulardır. Yara bölgesine ya da defekt içine hızla büyüyen yumuşak dokular osteogenezisi tamamen veya kısmen engelleyebilir. Osteogenezisi lokal olarak stimüle etmek amacıyla geliştirilen yöntemlerle de her zaman istenilen sonuçlar elde edilememektedir. Kemik greftleri ile yapılan uygulamalarda, değişik oranlardaki postoperatif rezorbsiyonu da kapsayan birçok komplikasyon ortaya çıkmaktadır. Sentetik biyomateryallerde ise ekspoz olma, yara enfeksiyonu ve iyileşme bölgesindeki vaskülarizasyonun önlenerek osteogenezisin engellenmesi gibi riskler bulunmaktadır (143,163,164).

YDR prensibi doğrultusunda geliştirilen yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu (YKR) tekniği kemik defekti ile çevresindeki yumuşak dokular arasına bir bariyer membran yerleştirilerek fibroblastları defektten uzak tutmayı ve osteoblastların defekt içindeki kemik iyileşmesini organize etmesini sağlamaktadır (163,165). Bariyer membran kullanılan ve kullanılmayan vakalarda kemik iyileşmesinin karşılaştırıldığı birçok klinik çalışmada membran kullanımı sonucunda kemik oluşumunun hızlandığı belirtilmiştir. Klinik uygulamalarda kullanılan kemik greftleri genellikle partiküllü materyallerdir. Kombine membran ve kemik grefti uygulaması ile yapılan deneysel çalışmalarda genellikle başarılı sonuçlar alındığı görülmektedir. Hayvanlar üzerinde gerçekleştirilen çalışmalarda özellikle kritik boyut defektlerinde kombine membran ve kemik grefti uygulamalarının, kemik onarımını tek başına membran uygulamalarına göre daha iyi sağladığı görülmektedir (143,163,166).

2.5.2. Bariyer Membranlar

Bir anatomik bölgenin belli tipteki dokuyla iyileşmesi için kullanılan bariyer membranlar 1950'den beri özellikle rekonstrüktif cerrahide nöral rejenerasyon amacıyla kullanılmaktadır. Sinir ve tendon rejenerasyonu amacıyla mikropöröz selüloz asetat materyaller kullanılmıştır (78).

Bariyer membranlar dokuların beslenmesi için gerekli çeşitli doku sıvıları ve besinlerin geçişine izin verirken hücre geçişine izin vermeyen selektif geçirgen yapıdadırlar. İdeal bir membran inert olmalı, antijenik ve piyojenik olmamalı, minimal doku reaksiyonu göstermeli ve uygulanması kolay olmalıdır (160).

YKR ‘nunda bariyer membranın temel işlevi kemik rejenerasyonu için belli bir sürede uygun bir ortam sağlamaktır. Membranların kemik oluşumundaki etkinliği farklı mekanizmaların kombinasyonunun bir sonucudur. Bu mekanizmalar;

1. Fibroblast kütle aktivitesinin önlenmesi,
2. Heterotrofik hücre etkileşimi sayesinde kontakt inhibisyonun önlenmesi,
3. Hücresel inhibisyon faktörlerinin uzaklaştırılması,
4. Lokal büyüme faktörlerinin konsantrasyonu,
5. Membranın kendi stimülasyon özellikleridir (78,160).

Bununla beraber YKR ile başarılı sonuçlar elde etmek için klinik uygulamalar sırasında biyolojik prensiplere dikkat edilmelidir. Başarılı YKR uygulamaları için geçerli olan dört ana prensip; primer yara kapanması, anjiyogenez, boşluk yaratma ve muhafaza etme, pıhtı ve greft materyalinin stabilizasyonu şeklindedir (167).

Günümüzde yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu tekniği kapsamında pek çok biyomateriyal kullanılmaktadır. Bu teknikte kullanılan bariyer membranlar esas olarak iki ana grupta toplanabilirler. Birinci grupta rezorbe olmayan tipler vardır. Bunların belirli bir süre sonra ikinci bir operasyonla çıkarılmaları gerekmektedir. Rezorbe olabilen tipler de ikinci grubu oluşturur. Bunlarda operasyon gerekmez kendiliğinden rezorbe olurlar (160,168).

2.5.2.1. Rezorbe olmayan bariyer membranlar

YDR’da kullanılan ilk materyaller rezorbe olmayan membranlardır. Bu amaçla en uzun süreli ve en sık denenen materyaller rezorbe olmayan genişletilmiş politetrafloroetilen (e-PTFE) membranlardır. Bu tip rezorbe olmayan membranların en büyük dezavantajı, materyali çıkarmak için ikinci bir cerrahi işlem gerektirmesidir.

Aynı zamanda membranın ekspoz olması ya da çıkarılması sırasında iyileşmekte olan dokunun zarar görmesi riski bulunur. Membranın ekspoz olması oral çevre ile yeni oluşan dokular arasında bir geçiş oluşmasına; bu durum da enfeksiyon riskinin artmasına ve kemik rejenerasyonu potansiyelinin azalmasına neden olur. Bu dezavantajlar rezorbe olan membranların gelişmesine neden olmuştur (158,169).

2.5.2.1.1 Genişletilmiş politetrafloroetilen (ePTFE)

Genişletilmiş politetrafloroetilen (ePTFE); yapısında teflon olan pöröz bir bariyer (Gore-Tex®) olup sinterlenmiştir, ayrıca yapısında 5-30 µm'lik porlar içerir. e-PTFE birçok yönden tıbbi amaçlara uygun bir materyal olup 1972'den beri birçok uygulamada kullanılmaktadır. Biyolojik olarak inerts ve yabancı cisim reaksiyonu göstermez. Porozite ve kalınlık özellikleri farklı periodontal defektler için farklı şekillerde hazırlanabilir. e-PTFE osseöz rejenerasyonu ilerletmek amacıyla dizayn edilmiş olup epitel göçünü sınırlamakta ve yarayı stabilize etmektedir. Konak dokuları ve mikroorganizmalar tarafından yıkıma uğratılmaya karşı dirençlidir ve immunolojik reaksiyonlara neden olmaz. Bu materyal oral kaviteye ekspoz olması durumunda bile intakt halde kalmaya devam eder (66,158,169,170).

2.5.2.1.2 Nanopolitetrafloroetilen

Nanopolitetrafloroetilende sinterleme işlemi yapılmaz; bu da materyali daha esnek, manüplasyonu ve adaptasyonu daha kolay hale getirir. 0,2 – 0,3 µm'lik porlara sahiptir. Bu daha küçük porların epiteliyal büyümeyi ve bakteriyel infiltrasyonu limitlediği düşünülmektedir (66,78,170).

2.5.2.1.3 Titanyumla Güçlendirilmiş PTFE

Bazı durumlarda ePTFE membranlar, iki tabaka PTFE arasına yerleştirilen titanyum ile içten güçlendirilir. Titanyum ile güçlendirme; rejenerasyon oluşması istenen bölgenin idamesinin sağlanması, yumuşak dokunun çökmesinin engellenmesi, greft materyali üzerine kuvvet gelmesini ve bunun sonucunda da rezorpsiyon oluşmasının engellenmesi gibi avantajlar sağlar. Vertikal kret augmentasyonlarında ve

büyük defektlerin tedavisinde bu membranlar ile başarılı sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir (66,78,171).

2.5.2.2. Rezorbe olabilen membranlar

Rezorbe olabilen bariyerler ya hayvan kaynaklı ya da sentetik polimerler olarak bulunurlar. Yavaş yavaş hidrolize olurlar ya da enzimatik reaksiyonla çözünürler. Vucüt içinde bu membranların hidrolize olması yaklaşık olarak 6. haftada başlar ve tam olarak 8. ayda tamamlanır. En önemli avantajları ikinci cerrahi işlemle uzaklaştırılmalarına gerek duyulmamasıdır. Kemik iyileşmesine olan etkileri geleneksel e-PTFE kadar etkin bulunmuştur. Geçmişten günümüze kadar sıçan ve sığır kollajeni, öküz peritonu, polilaktik asit, poliglikolid, vikril, yapay deri ve dondurulmuş kurutulmuş dura mater gibi değişik kaynaklardan elde edilmişlerdir (66,169).

2.5.2.2.1 Doğal Rejeneratif Bariyerler

Polilaktik ve sitrik asit esterleri; glikolat ve laktat polimerleri; üç katlı matriks fiber içinde düzenlenmiş glikolat ve laktat polimerleri; poliglikolik asit; polilaktik asit; trimetilen karbonat; sığır tendon kollajeni; domuzlardan elde edilen çift katlı kollajen; domuz dermisinden elde edilen kollajen ve insan derisinden elde edilen kollajen doğal rejeneratif bariyer membranlar olarak kullanılmaktadır. Sığır ve domuzların Tip I veya Tip II kollajeninden hazırlananan kollajen membranlar son zamanlarda uygun biyolojik özelliklerinden dolayı tercih edilmeye başlanmıştır. Tip I kollajen periodontal bağ dokuda bulunan temel proteindir bu da membranların temel komponentini oluşturur. Kollajen membranlar çapraz bağlı yapıdadırlar ve hazırlanma şekline göre 4 - 40 hafta arasında rezorpsiyon süreleri vardır. Kullanılan materyalin rezorpsiyon süreci kemik greftinin iyileşmesini doğrudan etkiler. Kollajen bariyer membranlar sadece rejenerasyon için boşluk oluşturmazlar, epitelyal hücre migrasyonunu da önlemekte ve yeni bağ dokusu oluşumuna yardımcı olmaktadırlar. Ayrıca zayıf immünojenite, hemostaz ve fibroblastlarda kemotaksise neden olması gibi ekstra avantajlara sahiptir. Bağ dokunun ataşmanına ve platelet agregasyonuna izin vererek erken bir pıhtı formasyonu oluşumuna yardım ederler. Diğer bariyer membranlarla karşılaştırılınca fibroblastlar için kemotaktik olması sayesinde, flep operasyonu sonrası erken dönemde bariyer üzerindeki hücre migrasyonunu daha iyi düzenlediği rapor edilmiştir. Bu özellikleri nedeni ile

membranın ağız ortamına açılması ve buna bağlı olarak enfeksiyon riskleri daha düşüktür (78,167,172,173).

2.5.2.2.2 Sentetik Rejeneratif Bariyerler:

Laktik asit ve glikolik asidin polimerleri şeklinde bulunurlar. Bunların ester bağları 30 – 60 gün arasında çözünürler ve inflamatuvar reaksiyon oluşturabilme potansiyeli olan serbest asitler ortaya çıkar. Membranlar, ağız ortamına açılma ve bakteriyel infiltrasyon riski nedeniyle operasyon bölgesinin kapatılmasında problemlere neden olabilir. Sentetik bariyerler de kollajen ve ePTFE bariyerler gibi başarılı klinik sonuçlar vermektedir (66,174).

2.6. Diş Dokusu

Dişler kuron ve kök kısmından meydana gelmiş olup, sert ve yumuşak dokular içerirler. Sert dokular mine, dentin ve sementtir. Yumuşak dokular ise dişlerin kuron ve köklerinin içinde, etrafı dentin dokusu ile çevrili olan pulpadır. Dişler kuron kısmında mine, kök kısmında ise sement ile örtülüdür. Mine - sement birleşimi dişin kolesini oluşturur (175).

2.6.1. Mine

Mine dişin anatomik kronunun tümünü kapsar. Mine yüksek derecede mineralize yapıda olup, vücutta bulunan en sert dokudur. Ağırlık bakımından; %96 inorganik, % 3 su, %1 organik, hacim bakımından ise; %89 inorganik, %9 su, %2 organik yapı içerir. Minenin organik kısmı genel olarak protein ve lipidlerden oluşmuştur. İnorganik yapının tamamına yakını, kimyasal yapısı $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ olan hidroksiapatit kristalleri oluşturur. Kristal yapısının fazlalığı mineye yüksek enerji yüzeyi verir (175,176,177,178).

2.6.2. Dentin

Diş yapısının büyük kısmı, dişin canlı kısmı olan dentinden oluşmaktadır (179). Canlı bir doku olması itibarıyla tübüllerin içinde özelleşmiş odontoblast hücreleri içerir. Odontoblast hücreleri, gövdeleri dentinin dışında yer almasına rağmen tübüller boyunca

dentin içinde uzanırlar (176). Dentin; kalınlığı, yaşı ve diğer değişkenlere bağlı olarak hem geçirgen bir yapı hem de bir bariyer olarak değerlendirilebilir (179,180). Kompakt kemikten daha sert olan dentin yapısı, gelişme ve kimyasal yapı bakımından kemiği andırır. Sert ve kırılğan olan minenin aksine hafif deformasyonlara karşı koyabilir ve çok elastiktir. Dentin ağırlık bakımından; %70 inorganik yapı, %20 organik yapı ve %10 su, hacim olarak ise; %50 inorganik yapı, %30 organik yapı ve %20 su içerir. Organik kısmın %92'si kollajendir ve ana maddesi mukopolisakkarittir. Kalanını ise nonkollajenöz protein büyüme faktörleri ve proteoglikanlar oluşturmaktadır. İnorganik yapı ise mine, sement ve kemikte olduğu gibi hidroksiapatit kristalleri içerir. Hidroksiapatit, kalsiyum fosfat ve kalsiyum hidroksit bileşimi şeklinde bulunur. Dentindeki hidroksiapatit kristalleri minedekinden daha küçük yapıdadır. Böylelikle dentin dokusunda hacimce daha çok total yüzey alanı işgal ederler. Diğer büyük inorganik bileşenler arasında fosfat, karbonat, magnezyum ve sülfat vardır (26,30,175,176,177,181).

2.6.3. Sement

Sement ağırlık olarak % 45 - 50 inorganik, % 50 - 55 organik yapı ve su içerir. İnorganik kısım esas olarak hidroksiapatit formunda kalsiyum ve fosfat içerir. Bunun yanında birçok element de sementin inorganik yapısında bulunur. Mineralize olan dokular içinde sement en çok flor içeren dokudur. Sementin organik yapısında ise esas olarak Tip I kollojen ve protein polisakkaritler bulunmaktadır (26,175,181).

2.7. Diş dokusunun yapısı

2.7.1. İnorganik yapı

Dişi oluşturan mineraller biyolojik kalsiyum fosfatın beş farklı fazından (hidroksiapatit, trikalsiyum fosfat, oktakalsiyum fosfat, amorf kalsiyum fosfat, dikalsiyum fosfat) oluşur. Kalsiyum fosfatın bu beş fazı birbiriyle ilişki içinde olup, iyi kemik oluşumunda kalsiyum fosfatın olumlu etkisi olduğu belirtilmiştir. Karşılıklı etkileşim içerisinde bu kalsiyum fosfatlar kemik grefti olarak kullanıldıklarında greftlenen bölgede yeni kemik yapımına yardımcı olmaktadır. Kemik yapısındaki

apatitin seramik/yüksek polimer nano kompozit yapısında olduğu bildirilmektedir (26,30,182).

Dentin %70 oranında hidroksiapatit içermektedir. Dentinin yapısında bulunan hidroksiapatit, kemiğin yeniden şekillenmesini sağlayan düşük kristalize yapıdaki kalsiyum fosfat kristali şeklindedir. Kemik dokusu da genel olarak düşük yapıdaki kristalize apatit şeklindedir. Buna karşın minenin yapısında bulunan kalsiyum fosfat yüksek kristalize yapıdadır. Yüksek kristalize yapıdaki içerikler osteoklastlar tarafından kolayca parçalanamaz. Bu durum rezorpsiyonun yavaş ve osteokondüktivitenin zayıf olmasına neden olur (26,40,41).

2.7.2. Organik yapı

Dentin ve sementin organik kısmında tip I kollajen ve kemik morfojenik proteini (BMP) gibi büyüme faktörleri yer almaktadır. Dentinin organik kısmının %90'nını tip I kollajen oluşturmaktadır. Tip I kollajen organik dokuların %90'nını oluştururken, geri kalanını non-kollajen proteinler, biopolimerler ve yağlar oluşturmaktadır. Non-kollajen proteinler siyaloprotein, osteokalsin, dentin matrix protein-1, osteopontin (OPN), gibi proteinleri içermekte olup bu proteinler kemik rezorpsiyonu ve kemiğin oluşmasında etkilidir (26,183,184).

BMP'ler, kemik matriksinde bulur ve perivasküler mezenkimal hücrelerin kondrositlere ve osteojenik hücrelere farklılaşmasını sağlayarak yeni kemik oluşumuna yardımcı olur. Yapılan çalışmalarda sığır, tavşan ve sıçan dişlerinin dentin, mine ve sement dokularından BMP izole edilmiştir (185,186,187).

2.8. Diş Dokusunun Biyolojik Uyumu Ve Etkisi

2.8.1. Dişin osteoindüksiyon özelliği

Dentinin organik yapısı dentin ağırlığının %20'si oluşturur ve organik yapının %90'ı da tip I kollajenden oluşur. Bununla birlikte dentin osteokalsin, osteonektin,

fosfoprotein gibi nonkollajen proteinler ve kemik yapımı uyaran kemik morfojenetik proteini (BMP) içerir (29,30,31,188). BMP farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin kondrositlere ve osteojenik hücrelere farklılaşmasını uyarak kemik yapımını sağlar (186,189).

BMP yüksek çözünme özelliğine sahip olduğu için tek başına kullanıldığı zaman osteoindüktif etki göstermez. Bu nedenle BMP'ler taşıyıcılar aracılığı ile uygulanarak uygulandıkları bölgede sabit kalmaları amaçlanmıştır. İdeal bir taşıyıcı büyüme faktörlerinin ya da hücrelerin salınımı kontrol etmeli, bozunmasını ve etkisini yitirmesini önlemelidir. Birçok değişik materyal taşıyıcı olarak kullanılmış olup klinik uygulamalarda en yaygın olarak kullanılan taşıyıcılar kollajenler ve TCP'lardır (190,191).

Yapılan araştırmalarda dentin dokusunun kemik yapımında etkili olan proteinler için potansiyel taşıyıcı olması ve alveol kemiğine benzer özellikteki biyolojik yapısı nedeni ile greft materyali olarak kullanılması araştırılmıştır. Demineralize dentin matriksi (DDM) BMP'ler için alternatif bir taşıyıcı olarak düşünülmüştür. *Ike ve Urist* çekilmiş dişlerden elde edilen kök dentininin BMP'ler için taşıyıcı olabileceğini belirtmişlerdir (33,34,190). *Yeoman ve Urist* ve *Bang ve Urist* tavşanlar üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında DDM' nin BMP salınımda etkili olduğunu ve osteoindüktif özellik gösterdiğini bildirmişlerdir (192,193). *Bessho ve ark.* yapmış oldukları çalışmada tavşanlardan dişleri çektikten sonra çekim soketini oluşturan alveol kemik matriksinden, çekilmiş dişlerin dentin matriksinden ve çekim soketindeki yumuşak dokudan BMP elde etmişlerdir. Farklı kaynaklardan elde edilen bu BMP'lerin ksenojenik olarak uygulandıklarında yeni kemik oluşumunu uyardılarını saptamışlardır (32).

Dişlerde bulunan endojen BMP oldukça az miktarda olduğu için, yeni kemik oluşumu için, yeni kemik oluşumunun DDM taşıyıcı olarak kullanıldığında oluştuğu bildirilmiştir. İnsan DDM ve BMP-2' nin kemik ve kıkırdak oluşumuna etkisinin araştırıldığı biyokimyasal ve histomorfometrik analizler sonucunda araştırmacılar canlı diş kaynaklı insan DDM'nin kemik ve kıkırdak oluşumunu uyardığı ve DDM taşıyıcı

sisteminde bulunan BMP-2'nin kemik oluşumunu hızlandırdığını bildirmişlerdir (32,35).

Bir greft materyalinin osteoindüksiyon potansiyeli, greft materyalinin kemik dokusu olmayan başka bir dokuda uygulandığı zaman da kemik dokusu oluşumu uyarması ile belirlenmektedir (194,195).

Farelerde ve domuzlarda yapılan çalışmalarda kas içine yerleştirilen DDM'nin heterotrofik kemik oluşumunu sağladığı bildirilmiştir. Hidroksiapatit kristalleri büyüme faktörlerinin salınımını engelleyebildiği için demineralizasyon işlemi gerekmektedir. Dekalsifiye dentinin BMP salınımını uyarak osteoindüksiyon sağladığı düşünülmüştür (189,192,196). Farklı araştırmacılar tarafından birçok dekalsifikasyon yöntemi geliştirilmiştir. 0.6N HCl ile dekalsifiye edilen dentin ve kemiğin kas ve deri gibi bağ dokularında bağ doku hücrelerini uyardığı ve endokondrol kemikleşmenin oluşmasını sağladığı bildirilmiştir (26,189,197). *Ike ve Urist* pariyel demineralize matriks (PDM) elde etmek için dişlerin kök kısımlarına 24 saat boyunca 0.6N HCl uygulamışlar ve keserek 0.5 gr'lık bloklar haline getirmişlerdir. Daha sonra soğuk suda yıkayarak liyofilize etmişlerdir (33). Bir başka yöntem olarak da DDM elde etmek için %2'lik HNO_3 kullanılmış, yapılan araştırmalarda yeni kemik oluşumunun gözlemlendiği bildirilmiştir (196,198).

Murata ve ark. yaptıkları çalışmada insanlardan çekilen yirmi yaş dişlerine likit nitrojen uyguladıktan sonra sodyum hipokloritle yıkamışlar ve HCl solüsyonu ile tamamen demineralize ederek DDM elde etmişlerdir. Elde edilen DDM partikülleri soğuk suda yıkanmış ve liyofilize edilmiştir. Bu yöntemle elde edilen DDM farelerde subkutanöz dokuya uygulanmış ve küçük miktarda sement içeren tamamen demineralize edilmiş dentin matriksinin kemik ve kıkırdak oluşumunu uyardığı bildirilmiştir (34). Ancak yapılan bazı çalışmalar bunun aksini idda etmektedir. *Ike ve Urist* PDM'nin intramusküler alanda osteoindüksiyon sağlamadığını bildirmişlerdir. Bu durum farklı asit uygulama yöntemlerinin elde edilen DDM'nin osteoindüktif özelliklerini etkileyebileceğini düşündürmüştür (26,33).

İnsanlardan çekilen canlı diş kaynaklı DDM'nin osteoindüktif etkisinin; fare, sıçan, tavşan, domuz ve sığır gibi diğer hayvanlardan çekilen dişlerden elde edilen DDM'nin osteoindüktif etkisinden daha az olduğu bildirilmiştir. 1991 yılında yapılan bir çalışmada insan dişinden elde edilen BMP'nin bilinen BMP ailesinden olmadığı belirlenmiş ve dentinde bulunan BMP'lerin tam olarak tanımlanmadığı bildirilmiştir (33,34,186,192).

2.8.2. Dişin osteokondüksiyon özelliği:

Dentinin yapısında bulunan HA düşük kristal yapıdaki kalsiyum fosfattan oluşmaktadır. İnsan kemik dokusunda bulunan HA apatitleri de düşük kristal yapıya sahiptir. Bu nedenle dentinin biyouyumu yüksek ve osteokondüksiyonla yeni kemik yapımını uyaran bir kemik grefti olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (26,30,40,41).

Kim ve ark. insan dişini yüksek sıcaklıkta yaktıktan ve öğüterek 0.149 mm boyutunda partikül haline getirerek elde ettikleri materyale diş külü yada partikül dentin adını vermişlerdir. Daha sonra yaptıkları çalışmada; bileşen analizi ve elektron mikroskobu incelemelerinde diş külünün temel bileşenlerinin osteokondüktif özellikte ve zamanla rezorbe olabilen HA ve β -TCP olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte yüksek sıcaklıkta sinterleme ile elde edilen HA yüksek kristal yapısına sahip olup sinterleme sırasında meydana gelen hacimsel artıştan dolayı insan kemik dokusunda bulunan apatitlerden çok daha büyüktür. Partikül boyutu büyük oldukça ve kristal yapı yüksek oldukça materyalin biyolojik yıkımı daha az olmakta ve osteokondüksiyon kapasitesi azalmaktadır. Bu nedenle kristal yapısı düşük olan materyallerin osteokondüksiyon etkisi daha fazladır (27,29,37,199,200,201).

HA kristalizasyonu ve HA miktarı dişin farklı bölgelerinde değişiklik göstermektedir. X-ray difraksiyon (XRD) yöntemi toz haline getirilen katı materyallerin kristal yapısını analiz etmek için kullanılan bir yöntemdir. Farklı materyallerin kimyasal bileşenleri aynı olsa da kristal yapıları değişik olabilmektedir. Ayrıca difraksiyon analizi farklı kristal yapılarının boyutları ile ilgili değerlendirme sağlamaktadır. Analiz sonuçlarında geniş ve alçak tepe noktalarının oluşması düşük kristal yapıyı, dar ve

yüksek tepe noktalarının oluşması yüksek kristal yapıyı ifade etmektedir (29,42,202,203).

Kim ve ark. çekilmiş dişlerin inorganik analizini yaptıkları çalışmalarında XRD yöntemi ile dişin kristal yapısını incelemişlerdir. XRD analizlerinde kuron kısmında kök kısmına oranla daha fazla dar ve yüksek tepe noktaları olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak dişin kuron kısmının yüksek kristal yapıdaki kalsiyum fosfattan dişin kök kısmının ise düşük kristal yapıdaki kalsiyum fosfattan oluştuğunu bildirmişlerdir. Bu durum diş kuron kısmının büyük çoğunluğunu oluşturan minenin yüksek CA/P oranına sahip olması nedeni ile yüksek kristal yapıda olması, dişin kök kısmını oluşturan dentin ve sementin ise daha düşük CA/P oranına sahip olması nedeni ile düşük kristal yapıda olması şeklinde açıklanmıştır. Graft materyallerinin biyolojik yıkımı ve osteokondüktif özeliği kalsiyum fosfat çözünmesine bağlıdır. Kalsiyum fosfat çözünmesi Ca/P oranı ölçülerek belirlenmekte olup, Ca/P oranı kristal yapının derecesiyle ilişkilidir. Kemik yapısının düşük kristal yapıda olması nedeni ile dentin ve sement graft materyali olarak kullanırsa osteokondüksiyon ile yeni kemik yapımını uyaracağı bildirilmiştir (40,41,42,204).

Kim ve ark.'nın otojen dişin yüzey özelliklerini ve fizyokimyasal karakterini eletron mikroskobu görüntüleme yöntemi (scanning electron microscope-SEM) kullanarak diğer graft materyalleri ile karşılaştırdıkları çalışmada; dişin kuron ve kök kısmı ayrı ayrı değerlendirilmiş ve graft materyalleri olarak otojen mandibular kortikal kemik, ksenograft (Bi-Oss®), allograft (ICB) ve alloplastik materyal (MBCP) incelenmiştir. Materyallerin kristal yapısı XRD analizi ile, çözünebilirlikleri ise Ca/P oranını belirleyen ayrıştırma testi ile değerlendirilmiştir. XRD analizleri sonucunda otojen diş kökünün ve allograftın otojen mandibular kortikal kemiğe benzer şekilde düşük kristal yapı gösterdikleri saptanmıştır. Sonuç olarak otojen diştan elde edilen graft materyallerinin fizyolojik karakterinin otojen kemiğe benzer olduğu bildirilmiştir (42).

Yapılan çalışmalarda; dental implant etrafında oluşturulan defektlerde, sinüs tabanın yükseltilmesi operasyonlarında, alveol kemiğin ogmentasyonunda, soket korumada, deneysel olarak oluşturulan kemik defetlerinin iyileşmesinde diş külünün

etkinliği; trombositten zengin plazma, paris alçısı, kitosan ve doku adezivleri gibi farklı materyallerle kombine edilerek ve yönlendirilmiş doku rejenerasyonu uygulanarak veya uygulanmadan değeriendirilmiş ve diş külünün biyolojik olarak uyumlu osteokondüktif bir greft materyali olduğu bildirilmiştir. Akademik bildirilerde diş külü ya da partikül dentin terimleri kullanılmaktadır.

2.8.3. Diş dokusunun kemik grefti olarak kullanılması

Dişler ve kemikler benzer özelliklere sahiptir. Dişler, kırıkdağlar, sinirler ve maksillofasiyal kemikler embriyolojik olarak aynı kaynaktan gelişmişlerdir. Dişlerin, özellikle kemik ve dentinin kimyasal özellikleri birbirine çok yakındır. Mine %96 inorganik bileşenler ve %4 su içerirken, dentin %65 inorganik bileşenler, %35 organik bileşenler ve su içermektedir. Sement %45-50 inorganik bileşenler, %50-55 organik bileşenler ve su içermektedir. Son olarak alveolar kemik %65 inorganik ve %35 organik bileşenler içermektedir (26,28).

Diş ve kemiğin benzer histogeneze sahip olması ve dişin yapısında bulunan büyüme faktörlerinin osteokondüktif, osteoindüktif ve osteojenik potansiyellerine bağılı olarak çekilmiş dişlerin inorganik ve organik bileşenleri ile yeni bir greft materyalinin geliştirilebileceği düşünölmüştür. Restore edilemeyecek dişlerin ve üçüncü azı dişlerinin çekim endikasyonu bulunmaktadır. Bu çekilen dişler greft yapımında kullanılabilir (28).

Oral ve maksillofasiyal cerrahide üçüncü molar dişlerin çekimi sırasında sinir zedelenmesini önlemek için parsiyel odondotomi yapılarak dişlerin köklerinin kasıtlı bir şekilde kemik içinde bırakılması uygun bir yöntem olarak tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalarda araştırmacılar, kemik içinde bırakılan diş köklerinin kemik dokusuyla birleştiğini ve herhangi bir komplikasyonun gözlemlenmediğini bildirmişlerdir. Dental implantlarla ilgili yapılan çalışmalarda dental implant çevresindeki kemik kaybını önlemek için dental implantın uygulanacağı bölgede daha önceden var olan diş kökleri yerinde bırakılmış ve dental implant bu diş köklerinin içine uygulanmış, sonuçlar osseointegrasyonun başarılı olduğunu belirtmiştir (30,205,206).

Otojen diş kökünün alveol kemikle olan mükemmel uyumu otojen dişlerin kemik greft materyali olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Bununla birlikte çekilen dişlerden otojen diş kemik greft materyali geliştirilmiş ve 2009'da Seul'de diş kaynaklı materyaller geliştirmek için Kore Diş Bankası kurulmuş ve kemik rejenerasyonu için yenilikçi bir araştırma başlamıştır (30).

Kim ve ark. çekilmiş dişler üzerinde dişin inorganik bileşenlerini analiz ettikleri çalışmalarında dişin krun kısmının kristalizasyonu yüksek yapıda kalsiyum fosfattan, kök kısmının ise kristalizasyonu düşük yapıda kalsiyum fosfattan oluştuğunu rapor etmişlerdir. Kemik dokusunun temel minerallerinin kristalizasyonu düşük yapıda apatitten oluşması nedeniyle; kemik greft materyali olarak dentin ve sementin kullanılmasının, osteokondüksiyonla kemiğin yeniden oluşmasını sağlayacağı düşünülmüştür (40,41,42).

Yaptığımız çalışmada diş köklerinin yakılmasıyla elde edilen partikül dentin-sement bileşiminin kemik iyileşmesine olan etkisi incelenmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Çalışmamızda:

- En az 30-40 kg ağırlığında 8 adet erkek koyun
- 2 adet Rompun®, flakon 50ml, Bayer
- 56 adet 1 g seftriakson preparat (Nevakson®, Mustafa Nevzat İlaç San. A.Ş, İstanbul)
- 7,5 ve 8 numara 3' er adet endotracheal entübasyon tüpü
- 15 adet pembe anjiokat
- 4 şişe izofluran (Forane Likid, ABBOTT Laboratories Ltd., İngiltere)
- 4 adet 1 litrelik izotonik sodyum klorür
- Fizyodisperser ve anguldruva
- 5mm'lik trefan frez
- Formaldehit çözeltisi (%10)
- 4.0 yarım yuvarlak (.) 16mm vicryl dikiş ipliği (Ethicon Coated Vicryl®, Johnson&Johnson)
- 3.0 yarım yuvarlak (.) 16mm ipek dikiş ipliği (Doğsan, Türkiye)
- Ameliyat seti

kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Deney hayvanları ve grupları

Tez çalışmamız; İstanbul Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kuruluna proje olarak sunulmuş olup, 31.01.2013 tarihi ve 2013/09 numara ile onaylanmıştır. Laboratuar çalışmalarında hayvanların kullanımı ve bakımında uluslararası etik kurallara uyulmuştur.

Çalışmamızın deney hayvanlarının ameliyatları İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı'nda, kemik dokularının histolojik ve histomorfometrik incelemeleri İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

Çalışmamızda 8 adet ortalama 30-40 kg ağırlığında 8 adet erkek koyun kullanıldı. Hayvanların çenelerinde kırık oluşmaması için gelişimini tamamlamış (1 yaşında), en az 30-40 kg ağırlığında hayvanlar tercih edilmiştir. Cinsiyete bağlı metabolizma farklılıklarının kemik oluşumu üzerinde etkisi olabileceği için sadece erkek hayvanlar deney hayvanı olarak kullanılmıştır. Deney hayvanı olarak koyun tercih edilmesinin nedeni koyundaki kan değerlerinin insandakine benzerlik göstermesi ve koyun alt çenesinin defekt oluşturmaya uygun olmasıdır. Deney hayvanları deney süresi boyunca İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne ait yaklaşık 20 koyun kapasitesine sahip hayvan barınaklarında bakılarak ad libitum olarak beslenmişlerdir.

Çalışmamızda kullanılan tüm deneklerin sağ ve sol alt çeneleri deney protokolüne dahil edilmiştir. Etik kurallar ve deney hayvanlarının uygun kullanımı ilkelerine bağlı kalmak açısından daha fazla koyun kurbanı edilmemesi amacıyla aynı hayvan üzerinde hem deney hem kontrol grupları uygulanmıştır. Araştırmamız 3 ana grup ve 15. ve 45. günlerde sakrifikasyon dönemlerine göre düzenlenmiş 2 alt grup içermektedir.

Belirlenen ana ve alt gruplar aşağıdaki gibidir;

Ana gruplar

Alt çenedeki

1. Defekt (kontrol gurubu): Boş bırakılmıştır.
2. Defekt (deney grubu): Mineralize kök dentini sement bileşimi grefti uygulanmıştır.
3. Defekt (standart gurup): Hayvan kaynaklı mineralize kemik grefti (Bi-Oss® Geistlich Pharma, Wolhusen, Switzerland) uygulanmıştır.

Alt gruplar:

Alt grup 1: Toplam 4 deney hayvanı kullanılan bu grupta, deney hayvanları 15. günde sakrifiye edilmiştir.

1.grup: Kontrol grubu – Grup I (15.gün)

Aynı deney hayvanının sağ ve sol alt çenesine birinci grup için birer adet defekt oluşturuldu. Toplamda kontrol grubu için 2 defekt oluşturuldu ve defektler boş bırakıldı.

2.grup: Deney grubu- Grup II (15.gün)

Aynı deney hayvanının sağ ve sol alt çenesine ikinci grup için birer defekt oluşturuldu. Toplamda birinci deney grubu için 2 defekt oluşturuldu ve defektlere mineralize kök dentini sement bileşimi grefti uygulandı.

3.grup: Deney grubu- Grup III (15.gün)

Aynı deney hayvanının sağ ve sol alt çenesine dördüncü grup için birer defekt oluşturuldu. Toplamda üçüncü deney grubu için 2 defekt oluşturuldu ve defektlere mineralize kemik grefti (Bi-Oss®) uygulandı.

Alt grup 2: Toplam 4 deney hayvanı kullanılan bu grupta, deney hayvanları 45. günde sakrifiye edilmiştir.

1.grup: Kontrol grubu – Grup I (45.gün)

Aynı deney hayvanının sağ ve sol alt çenesine birinci grup için birer adet defekt oluşturuldu. Toplamda kontrol grubu için 2 defekt oluşturuldu ve defektler boş bırakıldı.

2.grup: Deney grubu- Grup II (45.gün)

Aynı deney hayvanının sağ ve sol alt çenesine ikinci grup için birer defekt oluşturuldu. Toplamda birinci deney grubu için 2 defekt oluşturuldu ve defektlere mineralize kök dentini sement bileşimi grefti uygulandı.

3.grup: Deney grubu- Grup III (45.gün)

Aynı deney hayvanının sağ ve sol alt çenesine dördüncü grup için birer defekt oluşturuldu. Toplamda üçüncü deney grubu için 2 defekt oluşturuldu ve defektlere mineralize kemik grefti (Bi-Oss®) uygulandı.

3.2.2. Mineralize kök dentini sement bileşimi elde etme yöntemi

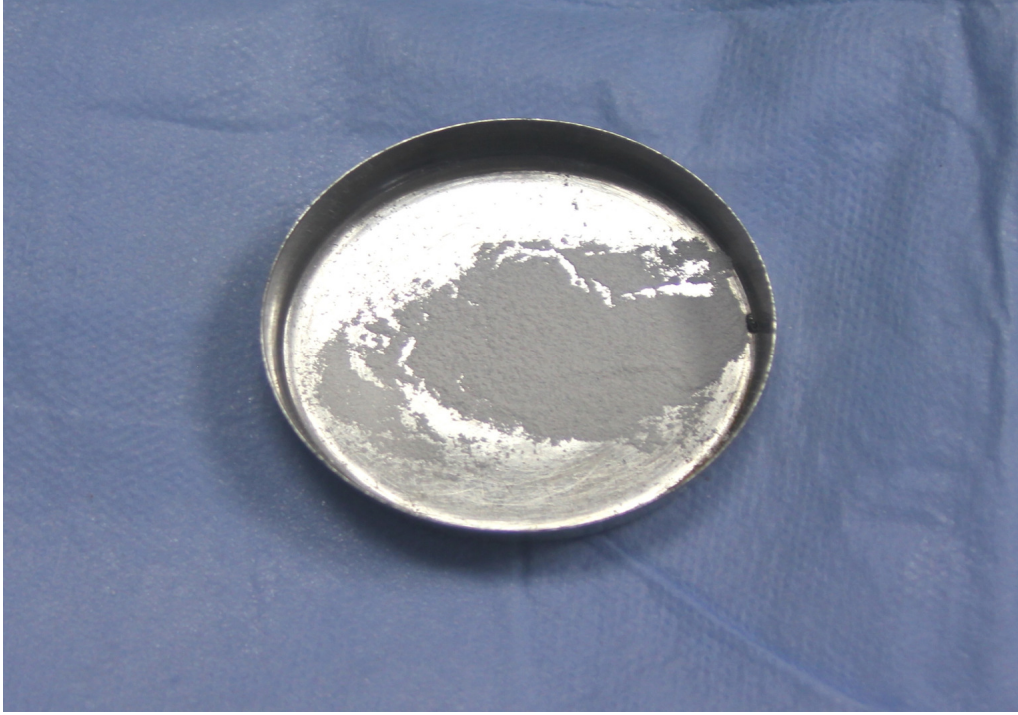
Çalışmada ağrı ve perikoronit şikayetiyle kliniğimize başvuran hastalardan çekilen ve üzerinde herhangi bir patoloji bulunmayan (çürük, dolgu, vb.) gömük 20 yaş dişleri kullanıldı. Dişler, yumuşak doku artıklarından arındırıldıktan sonra izotonik sodyumda saklandı. Dişler, kole bölgesi hizasından kesilerek kuron ve kök kısmı ayrıldı (Şekil 3-1). Çalışmamızda dişlerin sadece kök kısmı kullanıldı. Dişlerin ayrılan kök kısmı önce 350 °C’de 4 saat yakılarak organik bileşenlerin ortadan kaldırılmasıyla deproteinize edildi ve sonra 800 °C’de 4 saat yakılarak kalsifiye edildi (Şekil 3-2). Elde edilen kök dentini-sement bileşimi havanda dövüldükten sonra 50 mesh’lik elekten geçirilerek partikül boyutu 0.297 mm olarak belirlendi (Şekil 3-3). Elde edilen greft materyali operasyon sırasında kullanılmak üzere 0,1 gr’lık ayrı ayrı paketlere konularak gama ışını ile steril edildi ve steril ortamda korundu. Hazırlanan greft materyali izotonik sodyum klorür ile karıştırılıp krem kıvamına getirildikten sonra stabilasyonu sağlanarak oluşturulan defektlere uygulandı.



Şekil 3-1: Dişlerin kole bölgesi hizasından kesilerek kuron kısmının ayrılması ve elde edilen diş kökleri



Şekil 3-2: Dişlerin ayrılan kök önce 350 °C'de 4 saat ve sonra 800 °C'de 4 saat yakılarak kalsifiye edilmesi



Şekil 3-3: Elde edilen kök dentini-sement bileşimi havanda dövüldükten sonra 50 mesh'lik elekten geçirilerek partikül boyutu 0.297 mm olarak belirlenmesi.

3.2.3. Mineralize kök dentini sement bileşiminin X-ray difraksiyon (XRD) analizi

Çalışmamızda dişin kökünü yakarak elde ettiğimiz greft materyalinin kristal yapı değişimleri ve kalitatif mineral analizi için İstanbul Üniversitesi Teknoloji Transfer Merkezi Merkez Laboratuvarı (MERLAB)'da bulunan Rigaku D/Max-2200/PC XRD Cihazı 200 Vac 3q 20 A/50 Hz güç kapasitesine sahip X-Işını Toz Kristal Cihazı (X-Ray Powder Diffractometer) kullanılmıştır. Cu kaynaklı (A4 1L-Cu / 60 kV, 2.0 kw) X ışını tüpü ve tüpün ani sıcaklık değişimlerini kontrol eden su soğutucusuna (Thermo NESLAB, M 100) sahip olan cihazda monokromatize X-Işını elde edilmesini sağlayan Grafit Monokromatör bulunmaktadır. X-Işını Toz Difraktometre dedektörünün Theta-2Theta ve 2Theta-Theta taramaları sonucu kırınım deseni elde edilmektedir. Maddenin X-Işını Kırınım Deseni verilerinin Jade 6.5 yazılım programında bulunan, PDF kart numaralarına sahip yaklaşık 120.000 civarında madde ile karşılaştırılması sonucu Kalitatif Mineral Analizi yapılmaktadır. Cihazın yüksek sıcaklıkta ölçüm almasını sağlayan Yüksek Sıcaklık Fırın Ünitesi mevcuttur. Yüksek Sıcaklık Ünitesi sayesinde termal değişikliğe uğrayan çeşitli maddelerin faz diyagramları ve gözlenebilmektedir.

Çalışmada X-Işını Toz Difraktometre dedektörünün Theta-2Theta ve 2Theta-Theta taramaları ile dişin kökünü yakarak elde ettiğimiz greft materyalinin kristal yapı değişimleri değerlendirilmiş ve kalitatif mineral analizi yapılmıştır. Analizde geniş ve alçak tepe noktalarının oluşması düşük kristal yapı, dar ve yüksek tepe noktalarının oluşması yüksek kristal yapının göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

3.2.4. Cerrahi uygulamalar

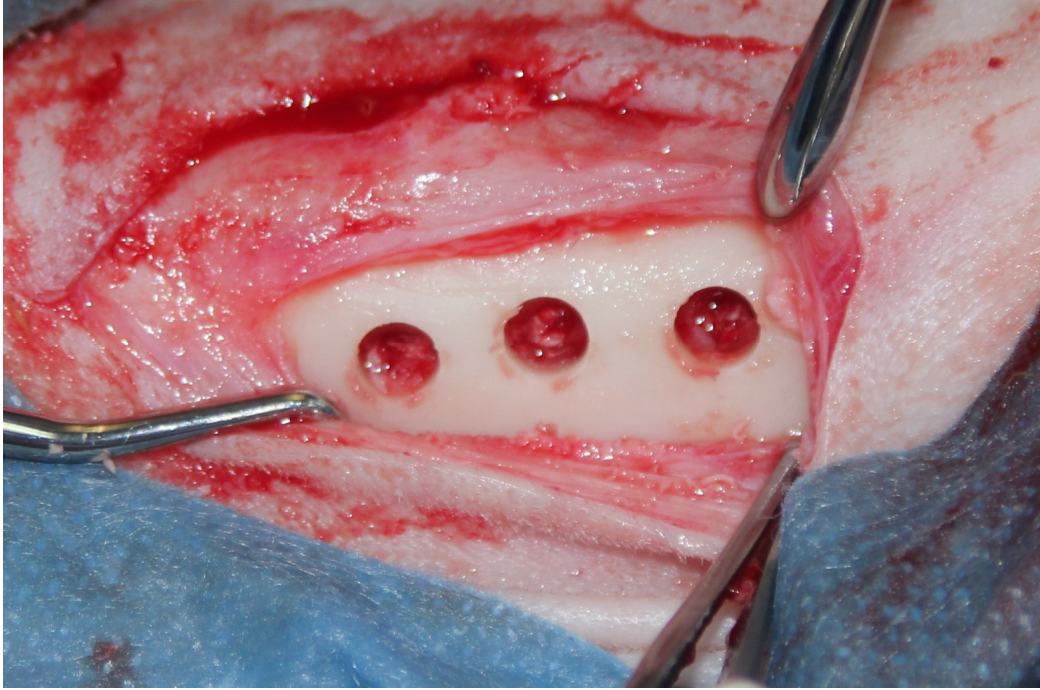
Deney hayvanlarının sedasyonu 0,25 mg/kg dozunda Xylazine HCl (Rompun®, flakon 50ml, Bayer) ile sağlandı. Sedasyonu takiben indüksiyon amaçlı ketamin HCl 5mg/kg (Ketalar®, Pfizer) intravenöz olarak verildi. Bunu takiben hayvanlar entübe edilerek başlangıçta %4-4,5 devamında ise %1,5-2 olmak üzere izofluran (Forane Likid, ABBOTT Laboratories Ltd., İngiltere) ile genel anesteziye alındı. Genel anesteziye alındıktan sonra her bir koyunun operasyon bölgesi olarak belirlenen alt çene kemiğinin gövde (korpus) ve ramus bölümündeki tüyler tıraş edildi. Cerrahi saha merkezden periferie doğru povidonyodin (Biokadin®, Biokan, İstanbul, Türkiye) ile boyanıp mandibular kemiğin alt sınırı palpe edildikten sonra bu referans noktasının 2 cm mesialinden alt çenesinin sağ ve sol bölümlerindeki dişsiz alanlarda 5 cm uzunluğunda yatay insizyonlar yapıldı. İnsizyon dikkatle tamamlandıktan sonra mukoza ve periosteumun ayrı ayrı kaldırılması sonrasında kemiğe ulaşıldı (Şekil 3-4). Kemiğin rahatça görüldüğü geniş bir çalışma ortamı sağlandıktan sonra 800 – 1000 devir /dak.'da steril izotonik sodyum klorür ile soğutma altında, 5mm'lik trefan frezle alt çenenin sağ ve sol dişsiz alanlarınının herbirinde üçer adet olmak üzere alt çenede toplam 6 adet 4 mm derinliğinde, kemiğin korteksinden medullasına kadar ulaşan kemik defektleri oluşturuldu (Şekil 3-5). Alt çenede oluşturulan defektlerin bir tanesi kontrol grubu olarak boş bırakıldı. İkinci defekte mineralize kök dentini sement bileşimi, üçüncü defekte ise hayvan kaynaklı mineralize kemik grefti (Bi-Oss®, Geistlich Pharma, Wolhusen, Switzerland) uygulandı (Şekil 3-6). Kollajen membran (Bio-Guide®, Geistlich Pharma, Wolhusen, Switzerland) tüm defektlerin üzerini tamamen örtecek ve etrafından bir miktar taşıyacak şekilde yerleştirildi (Şekil 3-7).

Cilt altı dokular 4.0 sentetik rezorbe olabilen dikiş (vicryl) ile, cilt dokuları 3.0 ipek dikişler ile, deri de tel dikişler (stapler) ile dikiş araları eşit olacak biçimde primer olarak kapatıldı (Şekil 3-8).

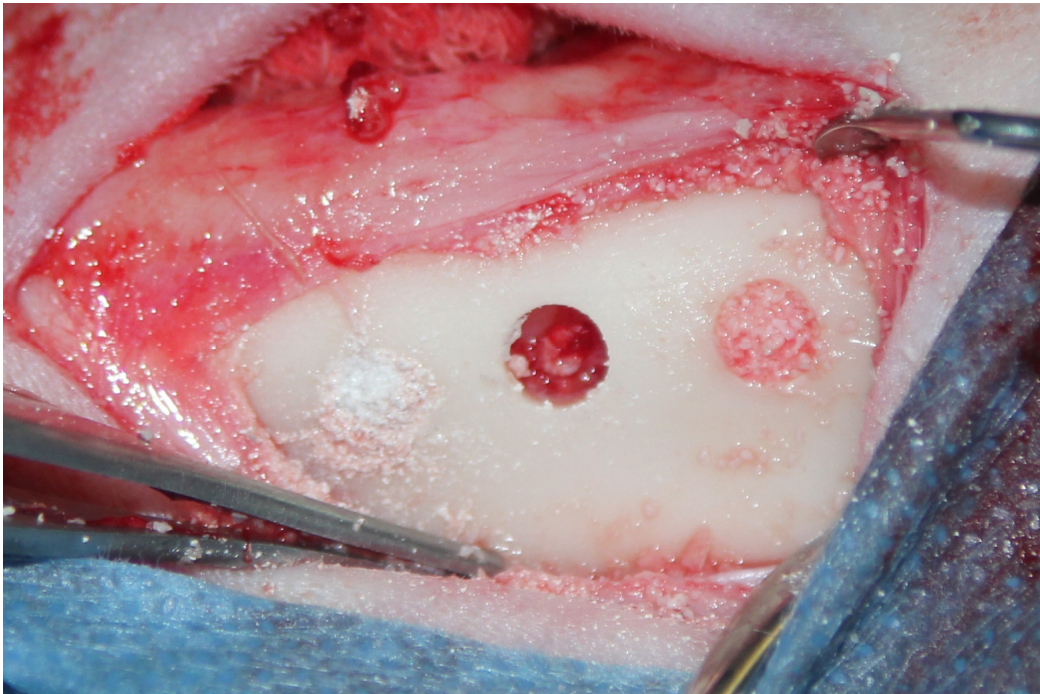
Hayvanlara operasyon sonrası sefritirakson grubu antibiyotik i.v. olarak günde 1g doz şeklinde 7 gün ve meloksikam grubu NSAİ intramuskuler olarak günde 0,3 mg/kg doz şeklinde 2 gün boyunca verilmiştir. Ameliyatların bitirilmesinden 1 hafta sonra mukoza üzerindeki dikişler alındı. Operasyondan sonra hayvanların beslenmesinin takibi için peristaltik hareketlerin muayenesi yapıldı.



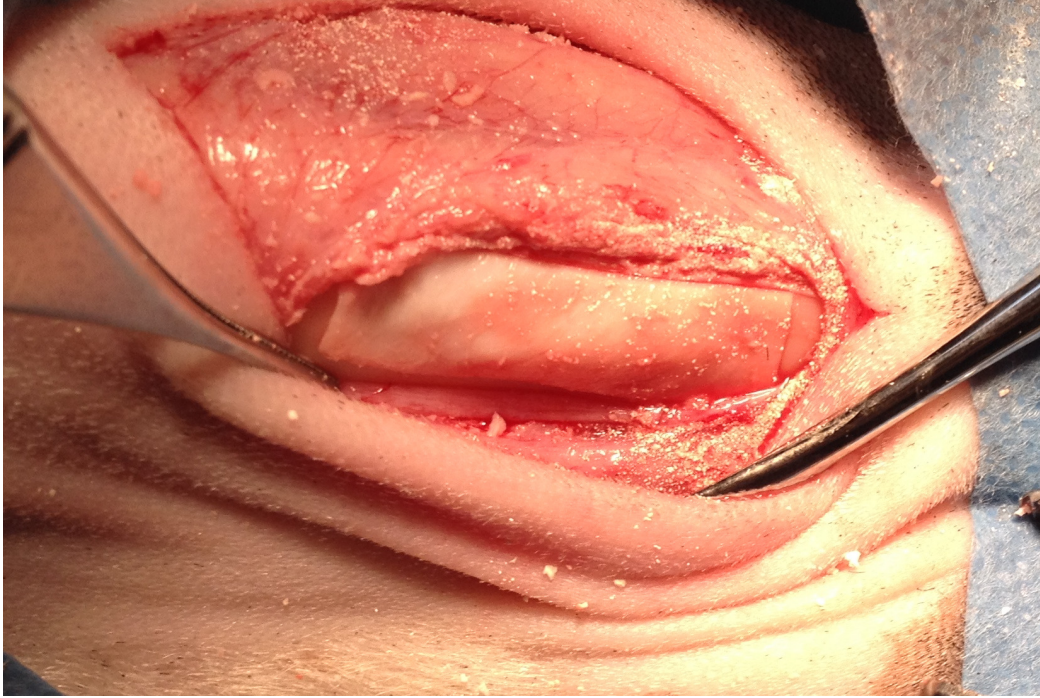
Şekil 3-4. İnsizyon tamamlandıktan sonra mukoza ve periosteumun ayrı ayrı kaldırılması sonrasında kemiğe ulaşılması.



Şekil 3-5: 5mm'lik trefan frezle alt çenenin sağ ve sol dişsiz alanlarınının herbirine üçer adet defekt oluşturulması



Şekil 3-6: Alt çenede oluşturulan defektlerin bir tanesi kontrol gurubu olarak boş bırakıldı. İkinci defekte mineralize kök dentini sement bileşimi, üçüncü defekte ise hayvan kaynaklı mineralize kemik grefti (Bi-Oss®) uygulanması.



Şekil 3-7: Kollajen membran (Bio-Guide®) tüm defektlerin üzerini tamamen örtecek ve etrafından bir miktar taşacak şekilde yerleştirilmesi.



Şekil 3-8: Cilt altı dokular 4.0 sentetik rezorbe olabilen dikiş (vicryl) ile, cilt dokuları 3.0 ipek dikişler ile, deri de tel dikişler (stapler) ile dikiş araları eşit olacak biçimde primer olarak kapatılması.

3.2.5. Işık mikroskobu takibi ve değerlendirme kriterleri

Deney hayvanları operasyondan sonraki 15. ve 45. günler sonunda sedasyona alındıktan sonra 8 mg/kg dozunda Sodyum Pentotal'ın intravenöz enjeksiyonu ile sakrifiye edilmiştir.

Sakrifikasyon sonrası cilt insizyonunu takiben alt çenedeki ameliyat bölgelerine ulaşarak koyun alt çeneleri çıkarıldı. Elde edilen kemik parçaları %10'luk tamponlanmış formalinde 1 hafta süreyle fikse edildi. Fiksasyonun ardından kemik parçaları %50'lik formik asit ve %20'lik sodyum sitrat solüsyonlarından 1'er ölçek alınarak hazırlanan dekalsifikasyon solüsyonunda dekalsifiye edildi. Bu işlem sırasında üç günde bir çözeltiler yenilenirken kemik parçaların fazla kısımları greftleme yapılan bölgenin etrafında 2 cm sağlıklı kemik kalacak biçimde parsiyel rezeksiyonlar yapılarak temizlendi. Dekalsifikasyon tamamlandıktan sonra defekt bölgesinden geçen kesitlerden 2 dilim çıkarılarak kesitler rutin doku takibine alındı. Hazırlanan parafin bloklardan alınan 5-7 mikron (μ) kalınlığındaki seri kesitler hematoksilen eozin yöntemi ile boyanarak ışık mikroskobunda incelendi.

İnceleme sırasında bütün gruplardan 15. ve 45. günlerde elde edilen kesitler;

- yeni kemik yapımı,
- kemik iyileşmesi,
- iltihap,
- nekroz,
- fibrozis,
- yabancı cisim reaksiyonu,
- kalan greft materyali

açısından değerlendirildi.

Bu bulguların değerlendirmeleri bir büyük büyütme alanında ($\times 400$) kapladıkları bölgenin yüzdesine göre;

%0-5 arası alanı kaplıyorsa (0)
 %5-30 arası alanı kaplıyorsa (1)
 %30sı-60 ar alanı kaplıyorsa (2)
 %60'dan fazla alanı kaplıyorsa (3) olarak skorlanmıştır.

Yabancı cisim reaksiyonu ve kalan greft materyali varsa (1), yoksa (0) olarak skorlanmıştır.

Fibrozis

%1-30 arası alanı kaplıyorsa (1)
 %31-60 arası alanı kaplıyorsa (2)
 %60'dan fazla alanı kaplıyorsa (3) değeri verilmiştir.

İtihip

%1-30 arası alanı kaplıyorsa (1)
 %31-60 arası alanı kaplıyorsa (2)
 %60'dan fazla alanı kaplıyorsa (3) değeri verilmiştir.

Nekroz

%1-30 arası alanı kaplıyorsa (1)
 %31-60 arası alanı kaplıyorsa (2)
 %60'dan fazla alanı kaplıyorsa (3) değeri verilmiştir.

Kemik iyileşmesi Allen'ın kırık iyileşmesi için yaptığı skarlama esas alınarak değerlendirilmiştir. Buna göre;

İyileşme olmaması (0)
 Tamamlanmamış kırık oluşumu (1)
 Tamamlanmış kırık oluşumu (2)
 Ossifikasyon evresiyle tamamlanmamış kemik oluşumu (3)
 Erken evrede ossifikasyonla tamamlanmamış kemik oluşumu (4)
 Geç evrede ossifikasyonla tamamlanmamış kemik oluşumu (5)
 Tamamlanmış kemik oluşumu (6) olarak skorlanmıştır.

Yeni kemik yapımı

%1-30 arası alanı kaplıyorsa (1)

%31-60 arası alanı kaplıyorsa (2)

%60'dan fazla alanı kaplıyorsa (3)

Defekt alanı olgun lameller kemik ile kapatılmışsa (4) değeri verilmiştir.

Yeni kemik yapımı incelenirken ölçüm ve sayım işlemlerinde “Olympus Soft imaging system analySIS FIVE” isimli görüntü analiz sistemi kullanıldı. Her defekt bölgesinden hazırlanan preperatlarda 5 büyük büyütme alanı incelenerek yeni kemik trabeküllerinin kapladıkları alan mikron kare cinsinden hesaplandı.

3.2.6. İstatiksel değerlendirmeler

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 programı kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden çıkan grubun tespitinde Mann Whitney U test kullanıldı. Parametrelerin 15. Gün ve 45. Gün karşılaştırmalarında Mann Whitney U test kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi kullanıldı. Anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

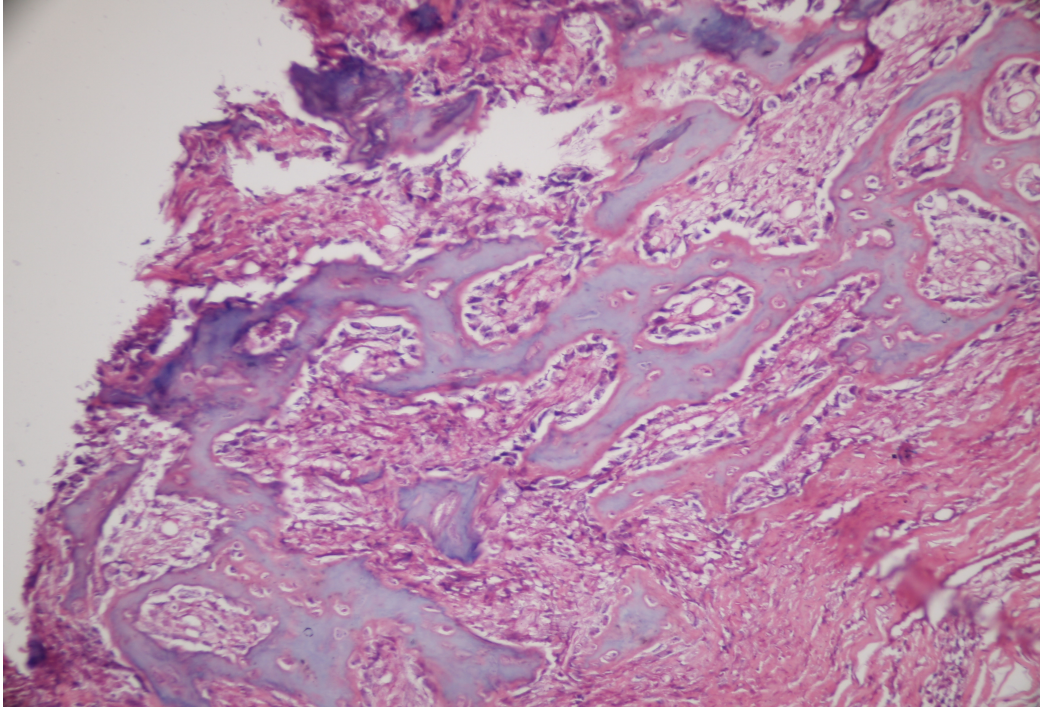
Tüm deney hayvanlarının cerrahi işlemleri iyi tolere ettiği görüldü. Her iki grupta da 4 hayvan olacak şekilde toplam 8 hayvan ile yapılması planlanan çalışmamız post-op takip sırasında kayıp verilmeden tamamlandı. Sakrifikasyon işlemleri 15. ve 45. günlerde tamamlanarak, histolojik kesitler incelemeye alındı.

4.1. Işık mikroskobu değerlendirmeleri

4.1.1. 15. Gün bulguları

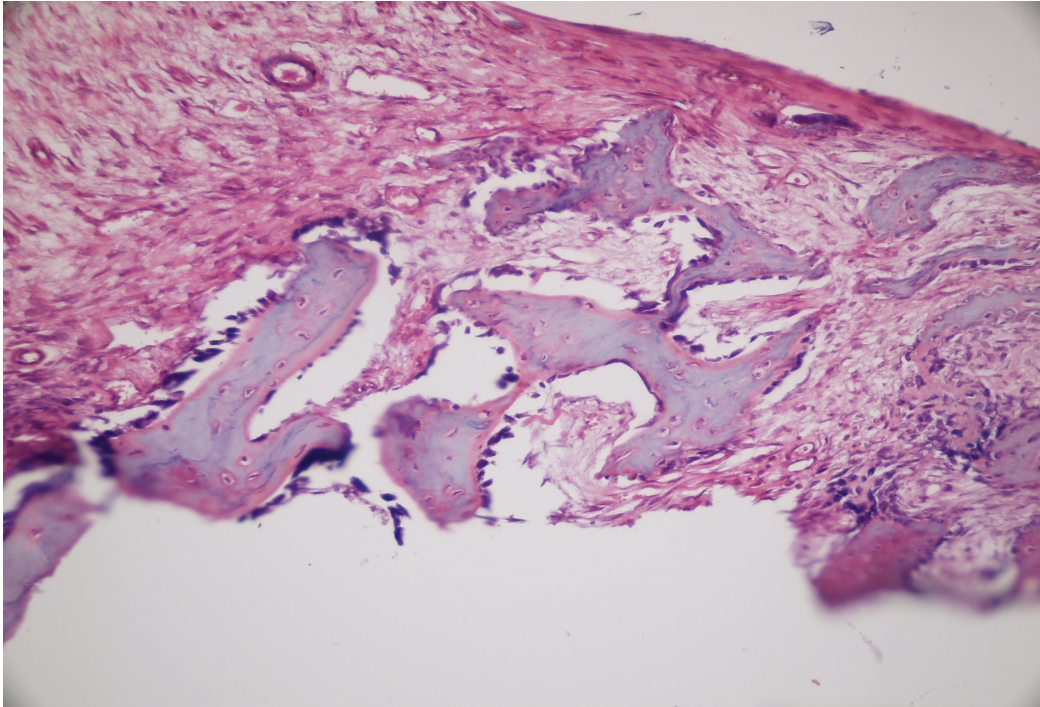
İlk on beş gün içerisinde deney hayvanlarında yara iyileşmesine ilişkin herhangi bir komplikasyon gözlenmemedi. Gruplar nekroz oluşumu ve yabancı cisim reaksiyonu açısından değerlendirildiğinde hiçbir grupta nekroz görülmedi ve benzer şekilde yabancı cisim reaksiyonuna rastlanılmadı. Tüm gruplarda defekt bölgelerinin damardan zengin, genç mezenkim hücreleri, fibrosit ve fibroblastlardan oluşan aktif fibröz doku ile dolu olduğu görüldü.

Grup I'de fibröz doku içinde bir bölümü anastomozlar yapan, aktif osteoblastlarla çevrili yeni kemik trabeküllerinin oluşumu saptandı. Grup II ve Grup III'te ise fibröz bağ dokusu içinde greft partikülleri ve bunların çevrelerinde büyük bölümü greft materyali ile temas halinde ve materyalden apozisyon çizgisi ile ayrılan yeni kemik trabekülleri gözlemlendi. Birçok alanda greft materyali çevresine toplanmış osteoklastik dev hücreler izlendi. Çevrede hafif derecede lenfosit, plazma hücresi ve az miktarda nötrofil polimorf infiltrasyonu olduğu görüldü.



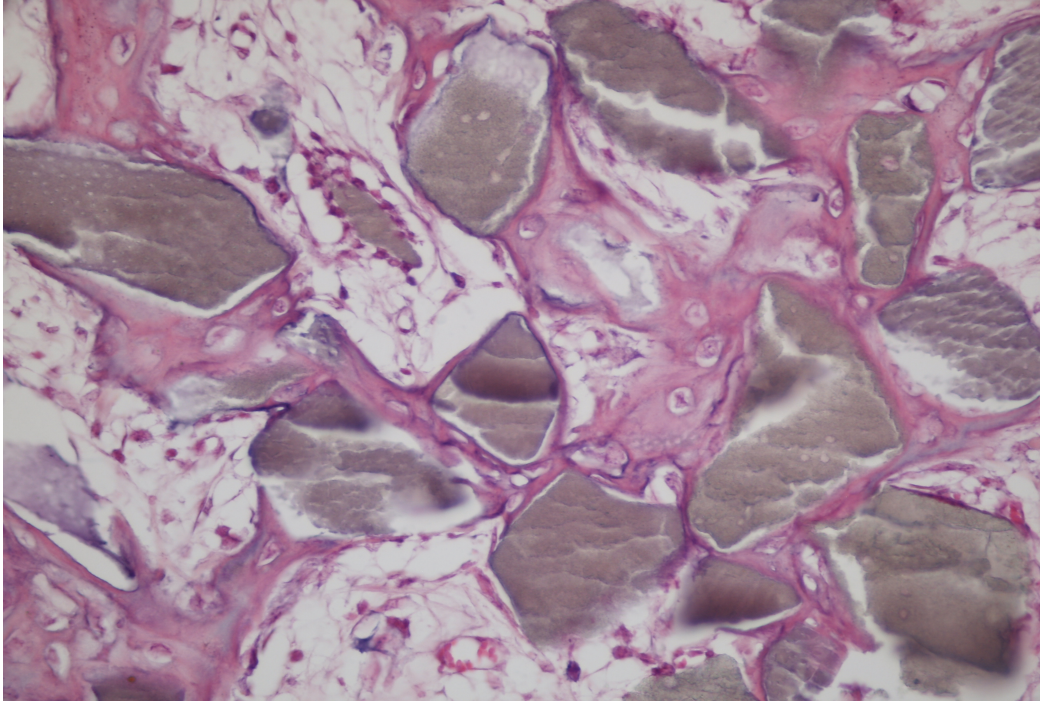
Şekil 4-1: 15. Gün Grup 1 (H&E x 200)

Liften zengin aktif bağ dokusu içinde anastomozlar yapan yeni kemik trabekülleri



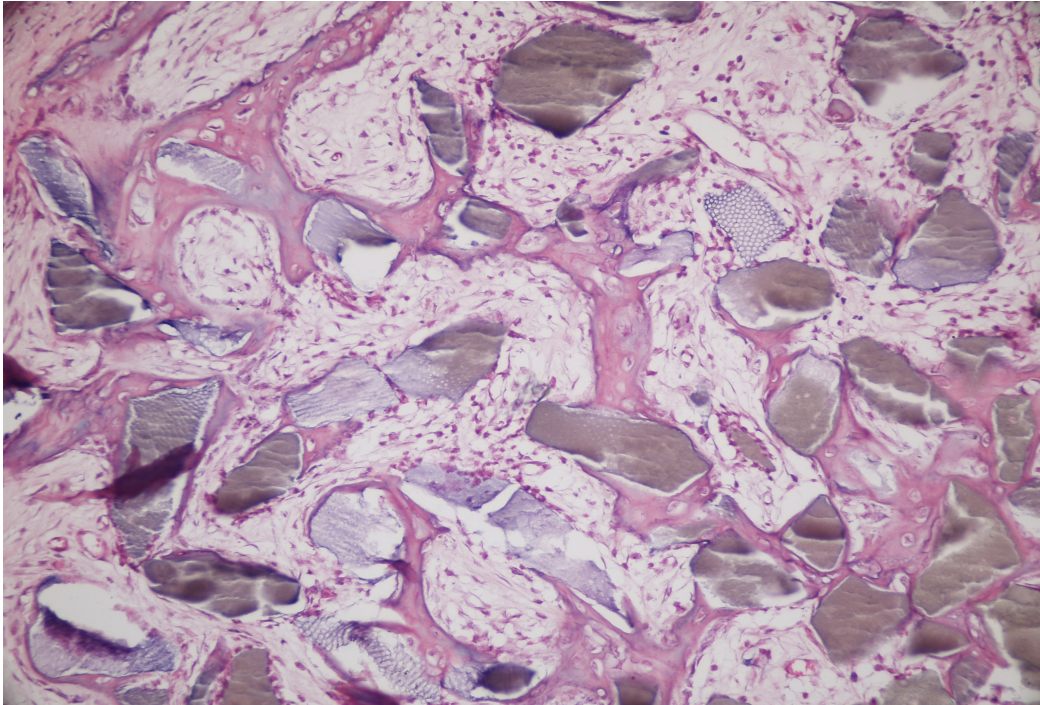
Şekil 4-2: 15. Gün Grup 1 (H&E x 200)

Aktif fibröz bağ doku içinde çevrelerinde osteoblastlar dizili kemik trabekülleri



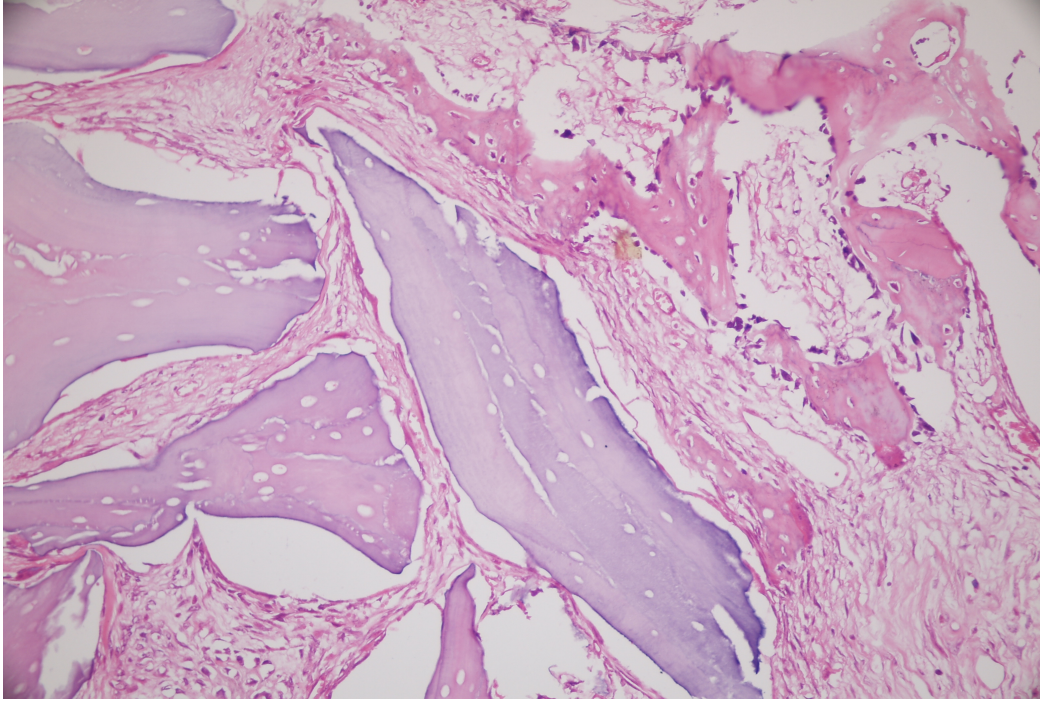
Şekil 4-3: 15. Gün Grup 2 (H&E x 200)

Fibröz bağ dokusu içinde greft materyali çevresinde yeni kemik yapımı



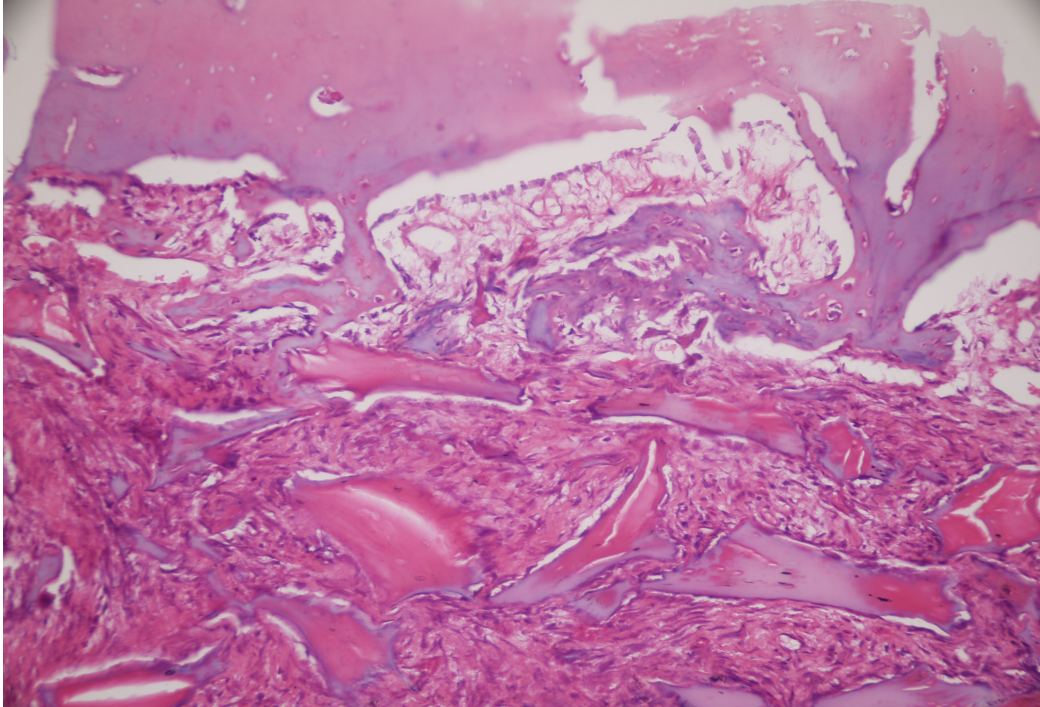
Şekil 4-4: 15. Gün Grup 2 (H&E x 200)

Fibröz doku içinde dentin ve sement partiküllerinden oluşan greft materyali çevresinde yeni kemik yapımı



Şekil 4-5: 15. Gün Grup 3 (H&E x 200)

Greft materyalini çevreleyen fibröz doku içinde yeni kemik trabekülleri

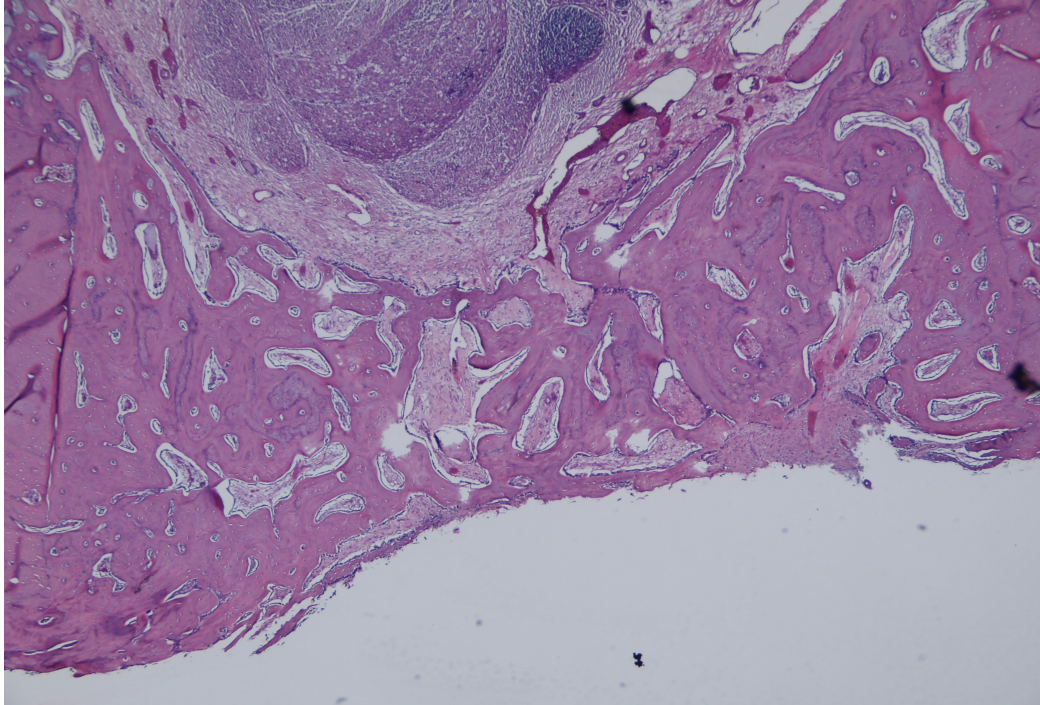


Şekil 4-6 : 15. Gün Grup 3 (H&E x 200)

Fibröz bağ dokusu içinde greft materyali ve çevresinde yeni kemik yapımı

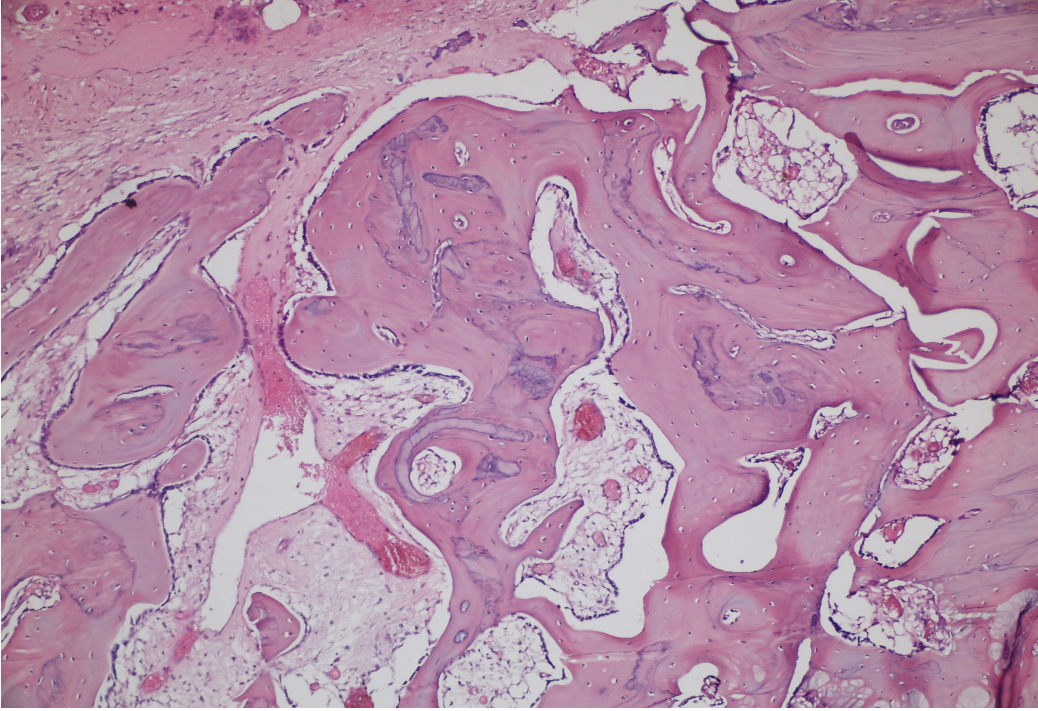
4.1.2. 45. Gün bulguları

Kırk beş gün içerisinde deney hayvanlarında yara iyileşmesine ilişkin herhangi bir komplikasyon gözlenmemiştir. Gruplar nekroz oluşumu ve yabancı cisim reaksiyonu açısından değerlendirildiğinde hiçbir grupta nekroz görülmedi ve benzer şekilde yabancı cisim reaksiyonuna rastlanılmadı. Grup I'de defekt bölgesini dolduran damardan zengin, aktif fibröz dokunun yerini büyük ölçüde yeni kemik yapımına bıraktığı görüldü. Yeni kemik trabeküllerinin defekt kenarları arasında defekti kapatacak şekilde anastomozlar yaparak köprü oluşturduğu saptandı. Birkaç alanda osteoklastik dev hücrelerin olduğu ve iltihabın büyük oranda ortadan kalktığı görüldü. Grup II ve III'te fibröz bağ dokusu içinde kalan greft partiküllerinin çevrelerinin dikkate değer şekilde tümüyle yeni kemik dokusu ile dolu olduğu gözlemlendi. Defektleri dolduran kemik dokusunun defektlerin periosteal ve endosteal alanlarında lameller biçim almaya başladığı saptandı. Kalan greft materyalleri çevrelerinde belirgin olmak üzere osteoklastik hücre aktivitelerinin olduğu belirlendi. Bu iki grupta hafif lenfosit ve plazma hücresi infiltrasyonunun varlığını sürdürdüğü gözlemlendi.



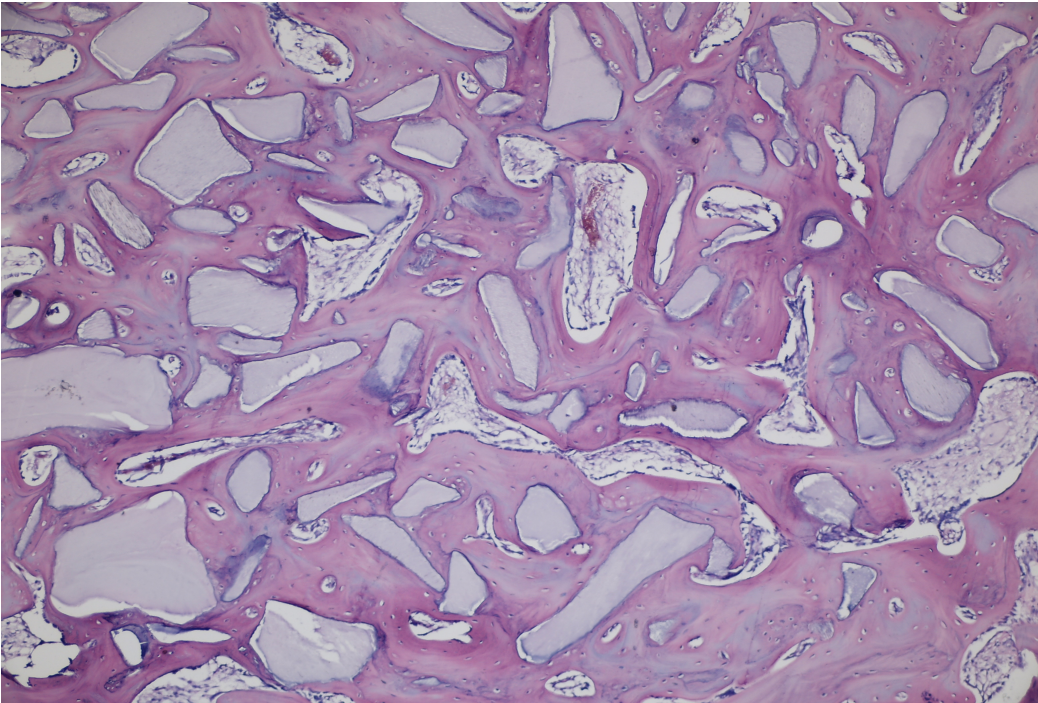
Şekil 4-7: 45. Gün Grup 1 (H&E x 40)

Defekt kenarları arasında defekt alanını dolduran yeni kemik trabekülleri



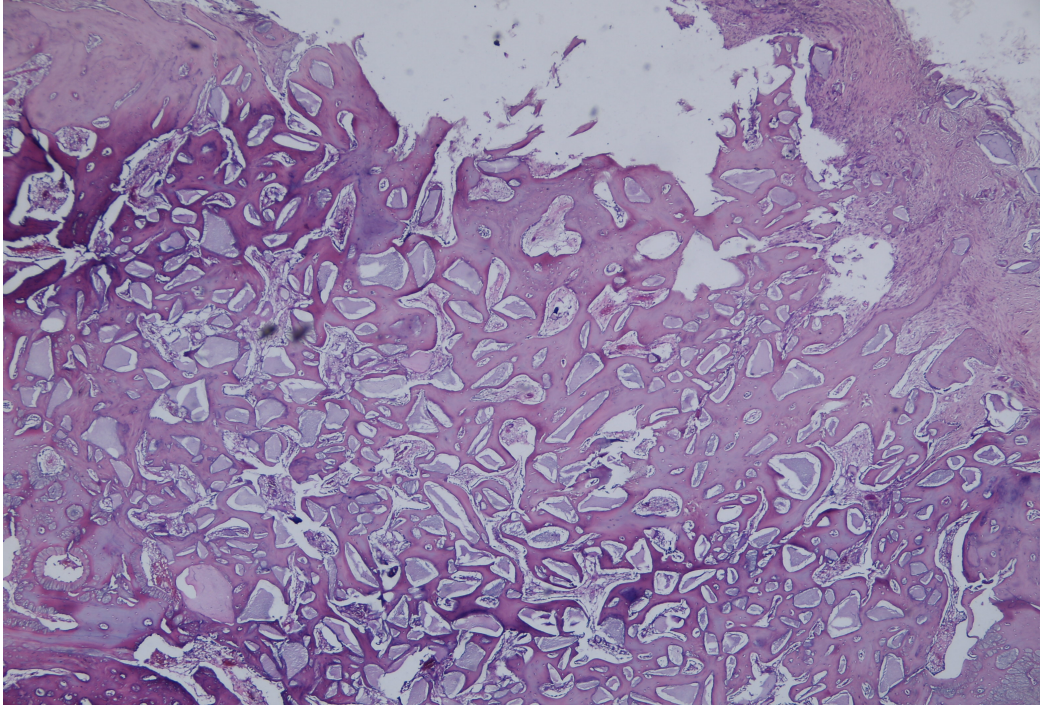
Şekil 4-8: 45. Gün Grup 1 (H&E x 100)

Defekt bölgesini dolduran yeni kemik yapımı



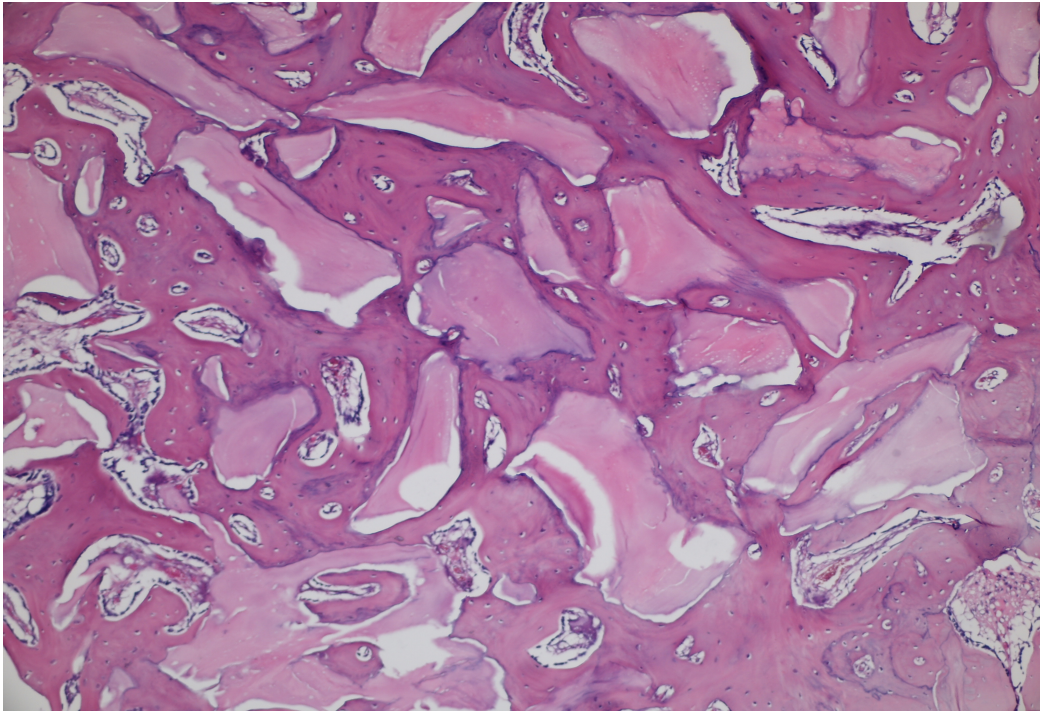
Şekil 4-9: 45. Gün Grup 2 (H&E x 100)

Defekt bölgesinde greft materyali çevresinde materyalden apozisyon çizgileriyle ayrılan yeni kemik dokusu



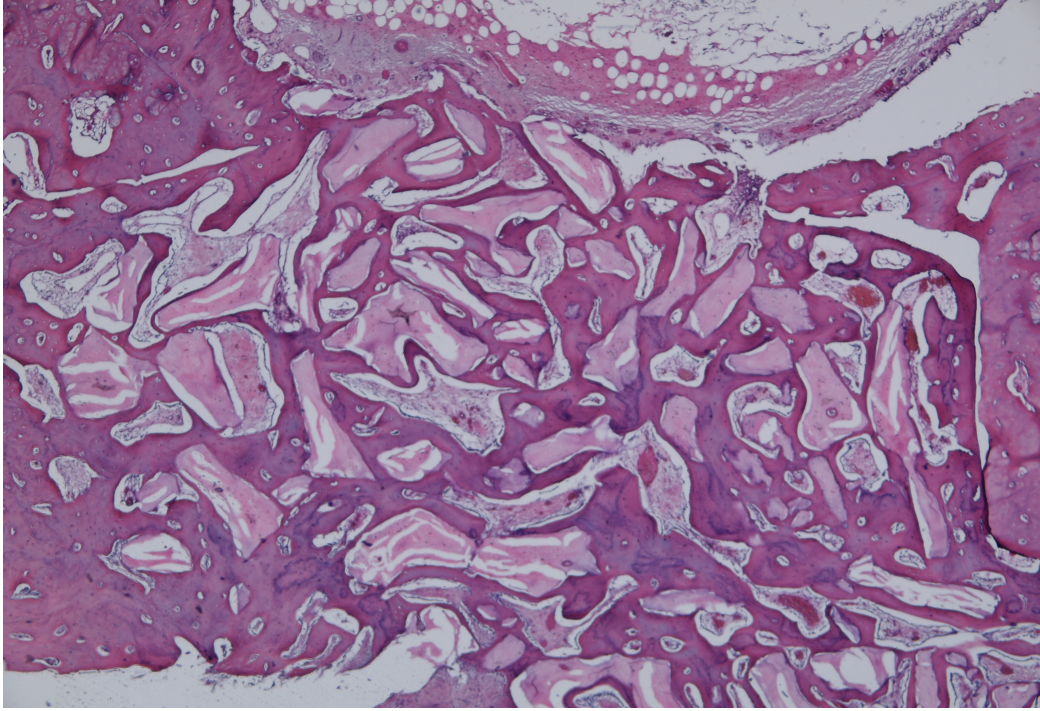
Şekil 4-10: 45. Gün Grup 2 (H&E x 40)

Defekt bölgesinde defekti dolduran greft materyali çevresinde defekt kenarlarını birleştiren yeni kemik yapımı



Şekil 4-11: 45. Gün Grup 3 (H&E x 200)

Greft materyali çevresinde materyalden apozisyon çizgisi ile ayrılan yeni kemik dokusu



Şekil 4-12: 45. Gün Grup 3 (H&E x 40)

Greft materyali çevresinde materyalden apozisyon çizgisi ile ayrılan yeni kemik dokusu

4.2. İstatiksel Değerlendirmeler ve Histomorfometrik bulgular

Çalışmamızda iltihap, fibrozis, kemik iyileşmesi ve yeni kemik oluşumu histolojik olarak skorlandırıldı ve sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi. Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 programı kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden çıkan grubun tespitinde Mann Whitney U test kullanıldı. Parametrelerin 15. Gün ve 45. Gün karşılaştırmalarında Mann Whitney U test kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi kullanıldı. Sonuçlar, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

Tablo 1: Grupların 15. ve 45. Günlerdeki iltihap düzeylerine göre değerlendirilmesi

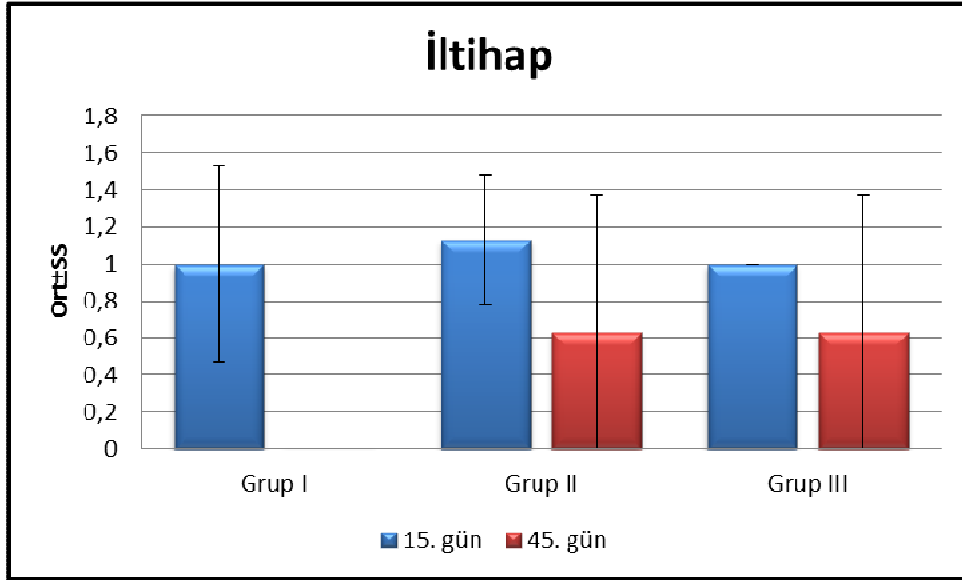
İltihap	Grup I		Grup II		Grup III		*p
	Range	Ort±SS (Medyan)	Range	Ort±SS (Medyan)	Range	Ort±SS (Medyan)	
15. gün	0-2	1±0,53 (1)	1-2	1,13±0,35 (1)	1-1	1±0 (1)	0,726
45. gün	0-0	0±0 (0)	0-2	0,63±0,74 (1)	0-2	0,63±0,74 (1)	0,042*
++p	0,001**		0,088		0,121		

+ Kruskal Wallis Test

++ Mann Whitney U test

* p<0.05

** p<0.01

**Şekil 4-13. Grupların 15. ve 45. Günlerdeki iltihap düzeylerinin değerlendirilmesi**

Grupların 15. Gün iltihap düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p:0.726; p>0.05).

Grupların 45. Gün iltihap düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p:0.042; p<0.05). Grup I'in 45. Gün iltihap düzeyi, Grup II (p:0.027; p<0.05) ve Grup III'ten (p:0.027; p<0.05) anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Grup II ve Grup III'ün 45. Gün iltihap düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p:1.000; p>0.05).

Grup I'de; 15. Gün iltihap düzeyi, 45. Gün iltihap düzeyinden istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p:0.001$; $p<0.01$).

Grup II'de; 15. Gün ve 45. Günlerdeki iltihap düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.088$; $p>0.05$).

Grup III'de; 15. Gün ve 45. Günlerdeki iltihap düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.121$; $p>0.05$).

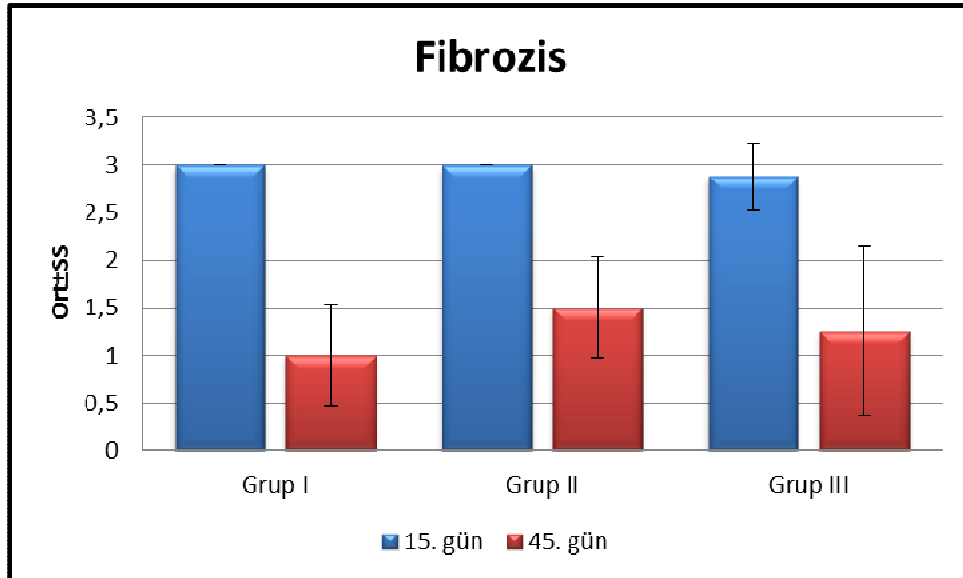
Tablo 2: Grupların 15. ve 45. Günlerdeki fibrozis düzeylerine göre değerlendirilmesi

Fibrozis	Grup I		Grup II		Grup III		⁺ p
	Range	Ort±SS (Medyan)	Range	Ort±SS (Medyan)	Range	Ort±SS (Medyan)	
15. gün	3-3	3±0 (3)	3-3	3±0 (3)	2-3	2,88±0,35 (3)	0,368
45. gün	0-2	1±0,53 (1)	1-2	1,5±0,53 (2)	0-2	1,25±0,89 (2)	0,308
⁺⁺ p	0,001**		0,001**		0,001**		

⁺ Kruskal Wallis Test

⁺⁺ Mann Whitney U test

** $p<0.01$



Şekil 4-14: Grupların 15. ve 45. Günlerdeki fibrozis düzeylerinin değerlendirilmesi

Grupların 15. Gün ve 45. Günlerdeki fibrozis düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p_1:0.368$; $p_2:0.308$; $p>0.05$).

Grup I'de; 15. Gündeki fibrozis düzeyi, 45. Gün fibrozis düzeyinden istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p:0.001$; $p<0.01$).

Grup II'de; 15. Gündeki fibrozis düzeyi, 45. Gün fibrozis düzeyinden istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p:0.001$; $p<0.01$).

Grup III'de; 15. Gündeki fibrozis düzeyi, 45. Gün fibrozis düzeyinden istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p:0.001$; $p<0.01$).

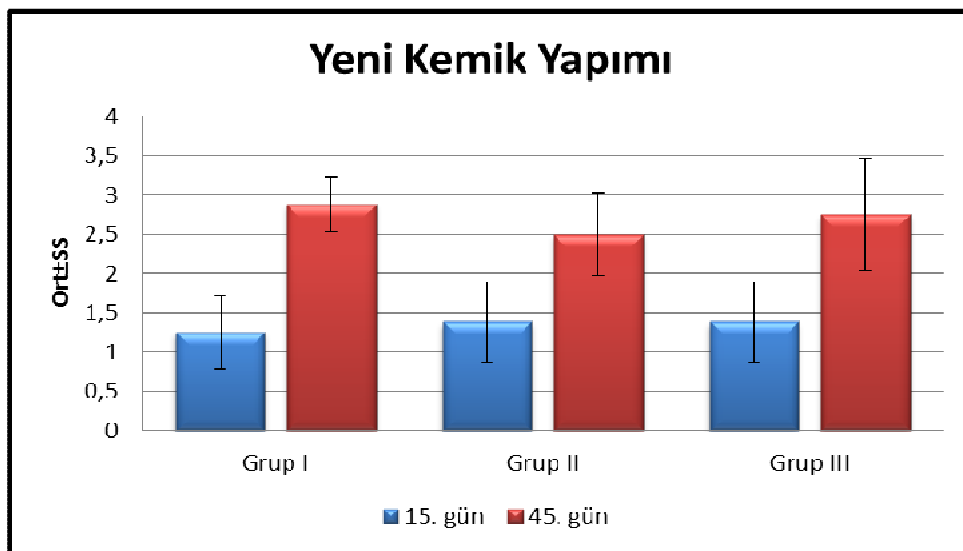
Tablo 3: Grupların 15. ve 45. Günlerdeki yeni kemik yapımı düzeylerine göre değerlendirilmesi

Yeni Kemik Yapımı	Grup I		Grup II		Grup III		⁺ p
	Range	Ort±SS (Medyan)	Range	Ort±SS (Medyan)	Range	Ort±SS (Medyan)	
15. gün	1-2	1,25±0,46 (1)	1-2	1,38±0,52 (1)	1-2	1,38±0,52 (1)	0,836
45. gün	2-3	2,88±0,35 (3)	2-3	2,5±0,53 (3)	2-4	2,75±0,71 (3)	0,354
⁺⁺ p	0,001**		0,003**		0,002**		

⁺ Kruskal Wallis Test

⁺⁺ Mann Whitney U test

** $p<0.01$



Şekil 4-15: Grupların 15. ve 45. Günlerdeki yeni kemik yapımı düzeylerinin değerlendirilmesi

Grupların 15. Gün ve 45. Günlerdeki yeni kemik yapımı düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p_1:0.836$; $p_2:0.354$; $p>0.05$).

Grup I'de; 45. Gündeki yeni kemik yapımı düzeyi, 15. Gün'den istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p:0.001$; $p<0.01$).

Grup II'de; 45. Gündeki yeni kemik yapımı düzeyi, 15. Gün'den istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p:0.003$; $p<0.01$).

Grup III'de; 45. Gündeki yeni kemik yapımı düzeyi, 15. Gün'den istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p:0.002$; $p<0.01$).

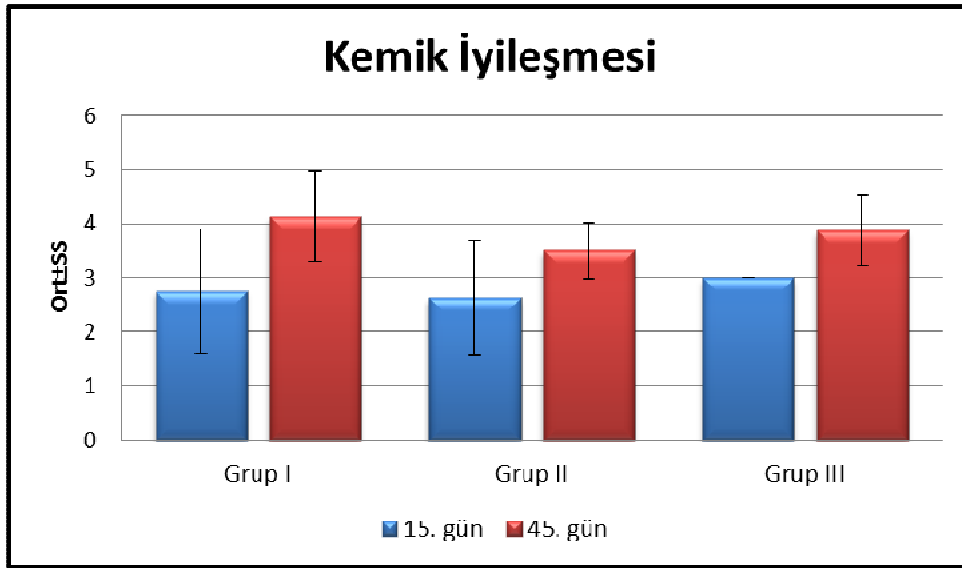
Tablo 4: Grupların 15. ve 45. Günlerdeki kemik iyileşmesi düzeylerine göre değerlendirilmesi

Kemik İyileşmesi	Grup I		Grup II		Grup III		⁺ p
	Range	Ort±SS (Medyan)	Range	Ort±SS (Medyan)	Range	Ort±SS (Medyan)	
15. gün	0-4	2,75±1,16 (3)	0-3	2,63±1,06 (3)	3-3	3±0 (3)	0,726
45. gün	3-5	4,13±0,83 (4)	3-4	3,5±0,53 (4)	3-5	3,88±0,64 (4)	0,226
⁺⁺ p	0,011*		0,020*		0,003**		

⁺ Kruskal Wallis Test

⁺⁺ Mann Whitney U test

* $p<0.05$ ** $p<0.01$



Şekil 4-16: Grupların 15. ve 45. Günlerdeki kemik iyileşmesi düzeylerinin değerlendirilmesi

Grupların 15. Gün ve 45. Günlerdeki kemik iyileşmesi düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p_1:0.726$; $p_2:0.226$; $p>0.05$).

Grup I'de; 45. Gündeki kemik iyileşmesi düzeyi, 15. Gün'den istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p:0.011$; $p<0.05$).

Grup II'de; 45. Gündeki kemik iyileşmesi düzeyi, 15. Gün'den istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p:0.020$; $p<0.05$).

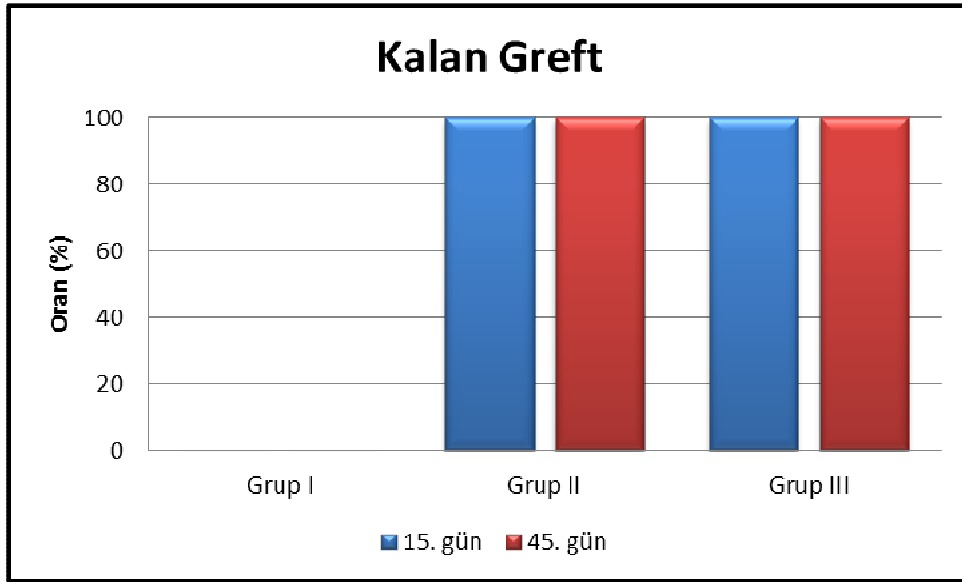
Grup III'de; 45. Gündeki kemik iyileşmesi düzeyi, 15. Gün'den istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p:0.003$; $p<0.01$).

Tablo 5: Grupların 15. ve 45. Günlerdeki kalan greft varlığına göre değerlendirilmesi

Kalan Greft	Grup I		Grup II		Grup III		⁺ p
	n	%	n	%	n	%	
15. gün	0	0	8	100	8	100	0,001**
45. gün	0	0	8	100	8	100	0,001**

⁺ Ki-kare Test

****** $p<0.01$



Şekil 4-17: Grupların 15. ve 45. Günlerdeki kalan greft varlığının değerlendirilmesi

15. günde kalan greft oranına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p:0.001; p<0.01). Grup I'de 15. Günde hiç greft görülmezken, Grup II ve Grup III'te tüm örneklerde greft tespit edilmiştir.

45. günde kalan greft oranına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p:0.001; p<0.01). Grup I'de 45. Günde hiç greft görülmezken, Grup II ve Grup III'te tüm örneklerde greft tespit edilmiştir.

Grup I'de; 15. Günde ve 45. Günde hiçbir örnekte greft tespit edilmemiştir

Grup II'de; 15. Günde ve 45. Günde tüm örneklerde greft tespit edilmiştir.

Grup III'de; 15. Günde ve 45. Günde tüm örneklerde greft tespit edilmiştir.

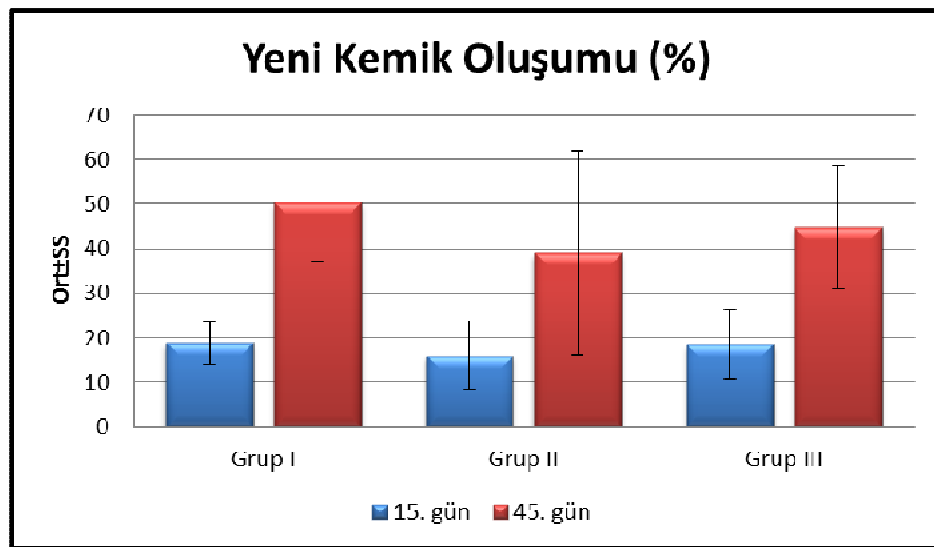
Tablo 6: Grupların 15. ve 45. Günlerdeki yeni kemik oluşumu yüzdesine göre değerlendirilmesi

Yeni kemik oluşumu (%)	Grup I		Grup II		Grup III		⁺ p
	Range	Ort±SS (Medyan)	Range	Ort±SS (Medyan)	Range	Ort±SS (Medyan)	
15. gün	13-26,5	18,87±4,7 (18)	7,7-30,1	16,05±7,6 (14,4)	7,1-27,5	18,51±7,68 (20,3)	0,573
45. gün	33,5-75,5	50,37±13,3 (50,6)	6,6-63,6	38,99±22,9 (46,4)	21,7-62	44,80±13,9 (40)	0,758
⁺⁺ p	0,001**		0,115		0,002**		

⁺ Kruskal Wallis Test

⁺⁺ Mann Whitney U test

** p<0.01



Şekil 4-18: Grupların 15. ve 45. Günlerdeki yeni kemik oluşumu yüzdesinin değerlendirilmesi

Grupların 15. Gün ve 45. Günlerdeki yeni kemik oluşumu yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p_1:0.573$; $p_2:0.758$; $p>0.05$).

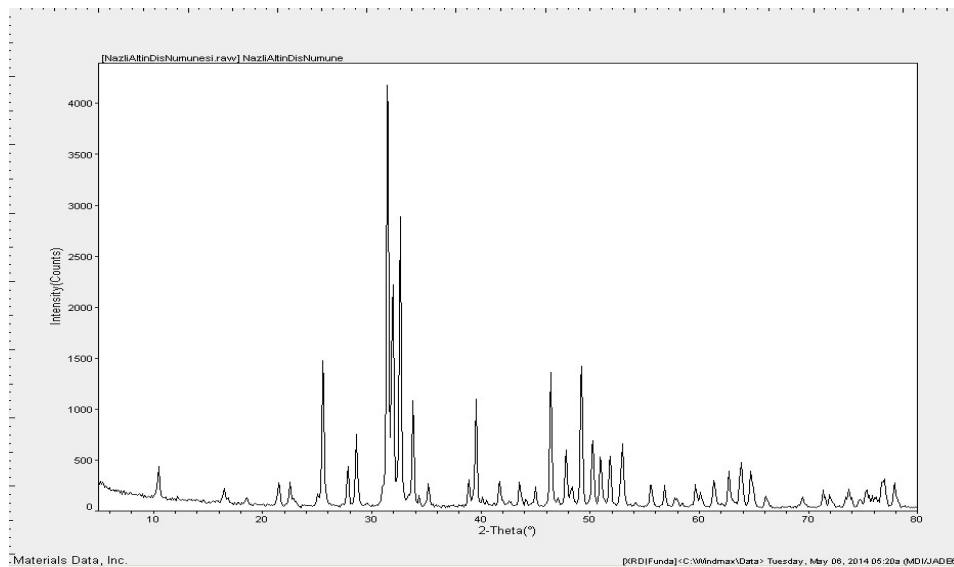
Grup I'de; 45. Gündeki yeni kemik oluşumu yüzdesi, 15. Gün'den istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p:0.001$; $p<0.01$).

Grup II'de; 45. Gündeki yeni kemik oluşumu yüzdesi, 15. Gün'den daha yüksek olmakla birlikte bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p:0.115$; $p>0.05$).

Grup III'de; 45. Gündeki yeni kemik oluşumu yüzdesi, 15. Gün'den istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p:0.002$; $p<0.01$).

4.3. X-ray difraksiyon (XRD) analizinin değerlendirilmesi

Çalışmada X-Işını Toz Difraktometre dedektörünün Theta-2Theta ve 2Theta-Theta taramaları ile dişin kökünü yakarak elde ettiğimiz greft materyalinin kristal yapı değişimleri ve kalitatif mineral analizi değerlendirmelerinde, oluşan tepe noktalarının yüksek ve keskin olduğu ve materyalin yüksek kristaliniteye sahip olduğu belirlendi. Bununla birlikte materyalin kalitatif analizinde, materyalin yüksek oranda HA ve kalsiyum hidrojen fosfat, düşük oranda da kalsiyum fosfatın diğer fazları ile uyumlu olduğu bulundu.



Şekil 4-19: X-ray difraksiyon (XRD) analizinin değerlendirilmesi

5. TARTIŞMA

Oral ve maksillofasiyal cerrahide, implant cerrahisinde ve periodontal cerrahide travmaya, enfeksiyona, konjenital deformasyona ve periodontal hastalıklara bağlı olarak meydana gelen kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunu sağlamak için farklı rejeneratif tedavi yöntemleri geliştirilmiştir (24,199,207). Bu amaçla kullanılan otojen, allojen, ksenojen ve alloplastik kemik greft materyalleri kemik hücrelerinin defekt bölgesindeki rejenerasyonunu sağlamaktadır (19,29). Kemik greft materyalleri uygulandıkları bölgede yeni kemik oluşumunu; osteogenezis, osteoindüksiyon, osteokondüksiyon mekanizmalarından bir ya da birkaçının birlikte işlemesiyle sağlar. Osteojenik, osteoindüktif ve osteokondüktif etkisi kesinleşmiş otojen kemik greft materyalleri kemik greftleri arasında altın standart olarak kabul edilmektedir (19,29,42). Erken revaskülarizasyon göstermesi, enfeksiyona karşı dirençli olması, immun reaksiyon oluşturmaması ve hızlı iyileşmesi gibi avantajlarının yanında; greftin rezorbsiyonunun kaçınılmaz olması, otojen kemik alınmasında verici bölgeden yeterli kemik elde edilememesi, ikinci bir cerrahi bölge oluşması ve bunun da hasta morbiditesini beraberinde getirmesi gibi dezavantajları vardır. Bu dezavantajlardan dolayı kemik defektlerinin rejeneratif tedavisinde otojen greftlere alternatif olarak allogreftler, ksenogreftler ve alloplastik greft materyalleri geliştirilmiştir (29,42,44,121). Allojenik ve ksenojenik greft materyallerinin immun reaksiyon oluşturmaması, enfeksiyona neden olması ve maliyetinin yüksek olması sentetik kaynaklı greft materyalleri olan alloplastların kullanımını gündeme getirmiştir. Daha düşük maliyetli olan, hastalık riski oluşturmayan ve yeterli miktarda elde edilebilen alloplastların osteojenik ve osteoindüktif özelliklerinin oldukça düşük olduğu gözlemlenmiştir (23,24,207). Bu nedenle kemik defektlerinin rejenerasyonu için alternatif biyomateriyallerin geliştirilmesi üzerine çalışmalar devam etmektedir.

Kalsiyum fosfat kaynaklı biyoseramikler kemiğin organik yapısına benzer bileşenler içermektedir. Kalsiyum fosfatın diş hekimliğinde ve tıp alanında kullanılan iki kristal fazı HA ve β -TCP'dir. Bu materyaller osteokondüktif özellikte olup, biyoyumları ve dirençleri yüksektir (21,22).

Dişî oluşturan mineraller biyolojik kalsiyum fosfatın beş farklı fazından (hidroksiapatit, trikalsiyum fosfat, oktakalsiyum fosfat, amorf kalsiyum fosfat, kalsiyum hidrojen fosfat [bruşit]) oluşur. Kalsiyum fosfatın bu beş fazı birbiriyle ilişki içinde olup, iyi kemik oluşumunda kalsiyum fosfatın olumlu etkisinin olduğunun belirtilmesi araştırmacıları insan diş dokusundan greft materyali geliştirmeye yönlendirmiştir (26,30,182).

Kim YK ve ark. 1993'ten beri insan dişini kullanarak yeni bir biyomateryal geliştirme üzerine çalışmalar yapmaktadır. Otojen greftlerin osteojenik etkisi nedeni ile altın standart olması ancak ikinci d n r alan oluşturması gibi dezavantajının bulunması, araştırmacıları diş dokusundan otojen greft geliştirmek üzerine yoğunlaştırmıştır (26,27,37,40).

Kim YK ve ark. insan dişini yüksek sıcaklıkta yaktıktan sonra elde ettikleri blokları 0.149 mm partikül boyutunda öğüterek elektron mikroskobunda inorganik bileşenlerin analizini değerlendirdikleri çalışmalarında yakılan dişin ana bileşeninin biyoyumu yüksek ve osteokondüktif greft materyali olarak kullanılan HA ve  -TCP olduğunu belirtmişlerdir. Bundan sonra diş dokusunun greft olarak kullanılması yönündeki araştırmalar önem kazanarak bu konuyla ilgili diğer kemik greft materyalleri ile karşılaştırma yapılan deneysel çalışmalarda; yabancı cisim reaksiyonu, hipersensitivite ve sitotoksik özellikler araştırılmıştır (27,30,37).

Yeni bir biyomateryalin geliştirilmesinde, biyomateryalin biyoyumunu değerlendirmek için yapılan deneysel ve klinik çalışmalar büyük önem taşımaktadır. Biyoyum testlerini değerlendirmek için fare, sıçan, ginepig, tavşan, köpek, keçi ve koyun gibi birçok farklı deney hayvanı kullanılmaktadır. Bununla beraber testler intraperitoneal, subkütanöz, intramusküler ve mandibula, femur, tibia, kranial kemik gibi intraosseöz alanlarda değerlendirilmektedir (208,209,210).

İnsan kemiğinin anatomisi, iyileşme süreci, biyomekanik ve biyokimyasal özellikleri; diğer canlı türleri ve canlı türleri arasında farklılık göstermektedir (211). İnsan ağırlığına daha yakın olması, kemik yapısının ve kemik rejenerasyonunun diğer deney hayvanlarına göre insan kemiğine daha çok benzerlik göstermesi, kemik ile ilgili

yapılan deneylerde koyunları daha değerli kılmaktadır. Kemirgenler daha ucuza mal edilmesine rağmen, kemik yapısının farklı olması ve kemik yüzeyinde daha küçük deney alanı sağlamaları gibi olumsuz özelliklerinden dolayı tercih edilmeyebilir (208,212,213).

Koyunlar kortikal ve kansellöz kemiğe sahip olup, kemiğin iyileşmesi ve yeniden şekillenmesi insan kemiğine benzerlik gösterir. Ayrıca geniş ve uzun kemiklere sahip olması, farklı deney materyallerinin bir hayvan üzerinde aynı anda çalışılmasına izin verir. Bu durum yeterli istatistiksel sayının oluşturularak deney hayvanı sayısının azaltılmasını sağlar (211,212,214,215).

Dişi canlılardaki hormonal döngünün kemik iyileşmesinde önemli bir etkisi vardır. Kemik mineral yoğunluğu ve endokondral büyüme, üreme zamanında oldukça baskılanmaktadır (211).

Yapılan çalışmalarda hayvan yaşının kemiğin kalitesini ve iyileşme zamanını etkilediği bildirilmiştir. Koyunlar genellikle primer kemik yapısına sahip olup, lameller kemik yapısı gelişimini tamamlamış hayvanlarda şekillenir. Yaşın artmasıyla birlikte mitoz bölünme yavaşlamakta, mitotik döngüye çok az sayıda hücre katılmakta ve mezenkimal hücreler tarafından üretilen osteojenik prekürsor hücrelerin sayısı azalmaktadır. Bu nedenle kemiğin yapısı ve iyileşmesi göz önüne alınarak hayvan yaşı dikkatli bir şekilde seçilmelidir. Bununla birlikte yaş ile ilgili kesin bir bilgi bildirilmemiştir. (212,214)

Belirtilen bu nedenler doğrultusunda çalışmamızda gelişimini tamamlamış (en az bir yaşında) erkek koyunlar kullanılması, bu sayede aynı hayvan üzerinde hem deney hem de kontrol grupları oluşturularak deney hayvanı sayısının azaltılması amaçlandı.

Bir kemik defektinde gerçekleşecek iyileşme miktarı, büyük oranda defektin büyüklüğüne bağlıdır. Bu nedenle iyileşmenin değerlendirilmesi için kullanılan deneysel kemik yarası, spontan iyileşmeye engel olacak kadar büyük olmalıdır. Bu noktada bir greftin osteojenik potansiyeli tam olarak değerlendirilebilir (211,216). Bu özelliklere sahip deneysel kemik yarası Hollinger ve Kleinschmidt tarafından osteojenik

materyallerin değerlendirilmesinde standart bir model olarak önerilmiş ve Kritik Boyut Defekti (KBD) olarak adlandırılmıştır (217). KBD, türlere ve ilgili bölgeye göre farklı olmak üzere hayat boyunca spontan olarak iyileşemeyecek en küçük intraosseöz yara olarak tanımlanabilir. Bununla birlikte pek çok çalışmada sürenin sınırlı olması ve hayvanın tüm hayatı boyunca sürdürülememesinden dolayı hayvan araştırmalarında KBD, çalışma süresi boyunca iyileşemeyen defektleri ifade etmektedir (216,218). KBD çalışmalarının yapıldığı anatomik bölgeler kalvaryaya, mandibula ve tibia gibi uzun kemiklerdir (217,219).

Yapılan literatür taramasında köpek mandibulaları hariç diğer türlerin mandibulalarında KBD'nin tanımlanması ile ilişkili çok az çalışmaya rastlanmıştır. Mandibulada KBD; ratlar, tavşanlar, köpekler ve maymunlar olmak üzere 4 hayvan modelinde tanımlanmıştır (216,217,219).

İnsanlarda kemiğin yapısını oluşturan Haversian sisteminin şekillenmesi kemik tipleri (femur, tibia, mandibula) arasında farklılık gösterebilir. Bu durum hayvanlar için de geçerlidir (214).

Andersson ve ark. tavşan mandibulasında ve tabiasında oluşturdukları defektlerde dentin bloklarının kemik iyileşmesine olan etkisini inceledikleri çalışmalarında; mandibula ve tibiadan elde edilen sonuçlardaki farklılığın sebebini mandibulanın daha ince olmasına ve yumuşak doku ve kaslarla çevrili olan mandibulanın çiğneme ve yutkunma hareketleri sırasında çok aktif olmasına bağlamışlardır (220). Daha önce koyun alt çenesinde kemik iyileşmesiyle ilgili bir çalışma yapılmamış olması çalışmamızda koyun alt çenesini tercih etme nedenimiz olmuştur.

Koyun alt çenesinin anatomik yapısı göz önüne alınarak yapılan literatür değerlendirmeleri sonucu oluşturulan 5 duvarlı defektlerin boyunun 5 mm çap 4 mm derinlik olacak şekilde hazırlanmasına karar verildi. Daha büyük defektler mandibulada kırılmaya ve enfeksiyona neden olabileceği için tercih edilmedi (220,221).

5 duvarlı defektlerde kansellöz kemiğin bol miktarda olması, kanamanın ve osteoblastik hücrelerin ortamda daha çok olmasını sağlayarak defekte yerleştirilen greft partikülleri arasındaki yeni kemik oluşumunu hızlandırmaktadır. Ayrıca greft materyaline komşu yumuşak doku alanının daha az olması yumuşak doku invazyonunun daha yavaş olmasına neden olduğu için çalışmamızda 5 duvarlı kemik defekti tercih edildi (222).

Deney süresi, kemik iyileşmesi ve kemiğin yeniden şekillenmesi ile ilgili daha önce yapılmış olan hayvan deneyleri esas alınarak 15 gün ve 45 gün olarak belirlendi. İnsanlarda ve hayvanlarda dentoalveolar ankiloz uzun yıllar sonunda gerçekleşmektedir. Daha uzun süre sonunda dentin-sement bileşiminin rezorbe olarak yeni kemik oluşumunun gözlenmesi beklendiği için sürenin kısa tutulmasına karar verildi (46,195,220,223).

Avulse dişlerin periodontal ligament elimine edildikten sonra reimplante edilmesi, uzun dönem sonunda kök rezorbsiyonuna ve yeni kemik oluşumuyla beraber dentoalveolar ankilozu neden olmaktadır (36,224). Klinik ve deneysel çalışmalarda canlı periodontal membrana sahip olmayan dişlerin reimplante edildiği durumlarda dişlerin ankiloz olduğu bildirilmiştir. Reimplante edilen dişlerde dentin dokusu “*yer değişim rezorbsiyonu*” olarak da adlandırılan osseöz değişim ile kemik dokusuyla büyük ölçüde yer değiştirerek kaynaşmaktadır (220,225,226). Bu durum dentinin kemik iyileşmesinde ve onarımında osteokondüktif özellikte bir materyal potansiyeli taşıdığını göstermektedir (36,220,226).

Andersson insanlardan ortodontik amaçla çekilen küçük azı dişlerinden elde ettiği 6 mm çapında ve 3 mm kalınlığındaki dentin bloklarının kemik ile kaynaşması sonucu ankiloz olmasını ve yer değiştirme rezorbsiyonu tavşanların tibiasında oluşturduğu defektlerde incelemiştir. Çalışmada postoperatif 3. ve 6. aylarda yapılan histolojik incelemelerde bütün dentin bloklarında dentin ve kemik arasında ankiloz olduğu bildirilmiştir. Çalışmada kullanılan ksenojen dentin bloklarının herhangi bir immun reaksiyon oluşturmadığı, bunun nedeninin çalışmada kullanılan tüm dişlerin periodontal membran ve pulpa gibi immun reaksiyona neden olabilecek tüm yumuşak doku artıklarından tamamen arındırılması olduğu belirtilmiştir. Bu durumun çekilen

gömük yirmi yaş dişlerinin ya da ortodontik sebeplerle çekilen küçük azı dişlerinin otograft ya da allograft olarak kullanılabileceği sonucunu doğurduğu bildirilmiştir (226). Çalışmamızda insanlardan çekilen ve üzerinde herhangi bir patoloji bulunmayan gömük yirmi yaş dişleri kullanılmıştır.

Dentinin inorganik içeriğinin yüksek olması kemik grefti olarak kullanımıyla ilgili çalışmalara olanak sağlamıştır. İnorganik yapısının yanı sıra organik yapısında BMP'leri barındırması, organik yapısına olan ilgiyi arttırmıştır. BMP'ler osteoindüktif özellik göstererek uygulandıkları alanda yeni kemik yapımına yardımcı olmaktadır (227,228). Osteoindüksiyon, osteoblastik aktiviteyi arttıran ve osteogenezisi uyaran bir mekanizmayla işlemektedir. Allogreftler ve otojen kemik greftleri bu özelliktedir. Bununla beraber demineralize dondurulmuş kurutulmuş allogreftlerin kemik rejenerasyonuna olan etkisi ile ilgili yapılan çalışmalar bu mekanizmanın tersini belirtmekte olup, demineralize dondurulmuş kurutulmuş allogreftlerin osteopromotif özellik gösterdiğini bildirmiştir. Osteopromosyon, osteogenezisin YDR tekniği kullanılarak yapılmasını anlatan bir terim olup, yeni kemik oluşumunda direk olarak osteoindüktif olmamakla birlikte kemik iyileşmesini uyarır (44,229).

Osteokondüksiyon çevre kemik dokunun apozisyonu ile karakterize olup, greft materyali içinde ve çevresinde kapillerlerin ve osteoprogenitör hücrelerin artışıyla çevre kemik yüzeyinden yeni kemik oluşumunu sağlamasıdır. Osteokondüktif materyaller canlı hücreler içermez, fiziksel bir matriks ya da çatı oluşturularak yeni kemik oluşumuna yardımcı olurlar (43,44,85).

Alloplastlar ve ksenogreftler en çok kullanılan osteokondüktif kemik greft materyalleridir. Alloplastların büyük çoğunluğunu HA gibi kalsiyum fosfatları içeren biyoseramikler oluşturur. Partikül ve blok formlar halinde hazırlanan HA osteokondüktif greft materyali olarak sıkça kullanılmaktadır. Çekilmiş dişlerden elde edilerek hazırlanan ve içeriği HA olan partikül dentin (diş külü) yeni bir kemik greft materyali olarak düşünülmektedir (44,199).

Allojenik dentinin kemik greft materyali olarak kullanılmasıyla ilgili çalışmalar devam etmektedir (222). Allojenik dentin; dondurulmuş kurutulmuş dentin,

demineralize dentin ve partikül dentin şeklinde değişik formlarda elde edilerek, bunların kemik iyileşmesine olan etkisi incelenmiştir. Dondurulmuş kurutulmuş dentinin apikal bariyer olarak kullanıldığında periapikal dokularla iyi uyum gösterdiği ve periodontal kemik defektlerinin onarımında etkili olduğu rapor edilmiştir. Demineralize dentinin yeni kemik oluşumunu uyardığı ve bu süre içinde rezorbe olarak yerini yeni kemik dokusuna bıraktığı bildirilmiştir (36,230,231). Ancak yapılan çalışmalar farklı canlıdan elde edilen dişlerin kemik grefti olarak kullanımda enfeksiyon riskini önlemek için organik kısmın yok edilmesi gerektiğini belirtmektedir (24,36). Çalışmamızda dişin organik kısmını elimine ederek, dişin inorganik kısmını oluşturan HA'nın osteokondüktif etkisinin incelenmesi amaçlandı.

Yapılan çalışmalarda diş dokusunun organik bileşenlerinin elimine edilmesiyle ilgili farklı yöntemler tanımlanmıştır.

Kim YK ve ark. çekilmiş sağlam dişleri üzerindeki yumuşak dokulardan temizleyerek 950 °C'de 30 dakika yaktıktan sonra medikal öğütücülerle partikül haline getirmişler ve partikül boyutunun aynı olması için 100 mesh'lik (0.149 mm) elekten geçirmişlerdir. Yüksek derecede ısıyla yakarak elde edilen bu materyale diş külü yada partikül dentin adı verilmiştir (37).

Dişin yakılmasıyla ilgili yapılan çalışmalarda farklı sıcaklık methotları denenmiştir. **Kim WB ve ark.** dişleri iztononik sodyumla yıkadıktan sonra 1200 °C'de yakmış ve yüksek sıcaklığı virüsleri, bakterileri ve mantarları elimine etmek için kullandıklarını belirtmişlerdir (46). **Vargas ve ark.** bu sıcaklık aralığının 300-1500 °C olabileceğini bildirmişlerdir (39). **Pongkao ve ark.** sığır kemiğini 700 derecede 3 saat yaktıktan sonra HA elde ettiklerini belirtmişlerdir (232).

Moharamzadeh ve ark. yaptıkları çalışmalarında genç sığırlardan çekilen kök ucu tam kapanmamış dişleri periodontal ligament ve pulpa dahil olmak üzere tüm yumuşak doku artıklarından temizledikten sonra dişin mine kısmını yüksek devirde çalışan elmas frezle ayırmışlardır. Elde edilen dentin küçük parçalara (5-10 mm) ayrılarak distile suda 2 saat kaynatıldıktan sonra, geriye kalan yumuşak doku artıklarını ve yağı ortadan kaldırmak için 2 saat boyunca izopropanol uygulanmıştır. Organik

kısmın tamamen giderilmesi için parçalar distile suda birkaç defa daha kaynatıldıktan sonra 100 °C’de kurutma işlemi uygulanmıştır. Elde edilen dentin parçaları yüksek devrideki öğütücü ile toz haline getirildikten sonra paketlenmiş ve gama ışınıyla steril edilmiştir (36).

Al-Namnam ve ark. tavşanlarda yaptıkları allojenik dentin ile ilgili çalışmalarında 4 farklı tavşandan çekilen santral dişleri kullanmışlardır. Çekilen dişler yıkanarak yumuşak doku artıklarından temizlenmiş ve pulpa da retrograd yöntemle tamamen çıkarılmıştır. Dişin kuron ve kök kısmı elmas separe ile ayrılmış ve çalışmada saf dentin elde edebilmek için sadece dişin kök kısmı kullanılmıştır. 70 mg dentin kiriyo tübe konularak likit nitrojen protokolü gereği 2 hafta boyunca -169 °C’de likit nitrojende bekletildikten sonra yavaş yavaş çözdürülerek oda sıcaklığına getirilmiş ve 15 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra dentin parçaları öğütülmüş (2-4 mm) ve steril cam şişe içindeki %70’lik etil alkol içeren 0.2 ml gentamisin solüsyonunda 30-60 dakika bekletilerek dezenfekte edilmiştir. Yaptıkları çalışmada kök dentinini -169 °C’de likit nitrojende bekletmedeki amaçlarının vital hücreleri öldürmek ve immun reaksiyona sebep olabilecek proteinleri denaturize etmek olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada elde ettikleri dentinin hem organik hem de inorganik bileşenler içerdiğini ancak çoğunlukla HA’dan oluştuğunu bildirmişlerdir (223).

Otter ve ark. sodyum hipokloritin (NaOCl) kollajen matriksin %99’unun ayrılmasında etkili olduğunu bildirmişlerdir. **Broz ve ark.** sığır kemiğinde yaptıkları çalışmalarında kortikal kemikten kollajen kısmı ayırmak için NaOCl solüsyonunu kullanmışlar ve 800 °C’de yakarak elde ettikleri kemik partikülleriyle solüsyon uygulanan kemik partiküllerinin yapısını karşılaştırmışlardır. Elde ettikleri sonuçlarda NaOCl’nin kemik bütünlüğünü bozduğunu ancak 800 °C’de yakılan kemiklerin kristal yapısının bozulmadığını bildirmişlerdir (38,233).

Oktar ve ark. yaptıkları çalışmada çekilen dişleri yıkayarak temizledikten sonra çeşitli enfeksiyon hastalıklarını önlemek için %1’lik antiseptik solüsyonunda bekletmişlerdir. Tekrar yıkama işleminin ardından alkali solüsyonunda (%1’lik NaOCl) deproteinize etmişlerdir. Daha sonra dişlerin 850 °C’de 2-3 saat yakılmasıyla HA elde ettiklerini belirtmişlerdir (38).

Lin ve ark. sığır kemiğinden elde ettikleri kansellöz kemik bloklarını distile suda 12 saat kaynattıktan sonra alkol ile dehidrate ederek 70 °C’de 3 gün kurutmuşlardır. Daha sonra organik kısmın ortadan kaldırılması için nikel-krom kaplı geleneksel fırında 800°C’de 6 saat yaktıktan sonra yaptıkları kristalografi analizlerinde elde edilen kemik minerallerinin büyük çoğunluğunun HA olduğunu bildirmişlerdir (234).

Kemik oktakalsiyum, kalsiyum hidrojen fosfat ve TCP gibi diğer kristal yapıları da içermektedir. **Mittelmeier ve ark.** sığır kansellöz kemiğini yüksek sıcaklıkta sinterlemişler ve yapısında %93 HA (normal kemikte %90) ve %7 TCP olduğunu belirtmişlerdir (38,234).

Park ve ark. sağlıklı domuzlardan çekilen dişler üzerinde yaptıkları çalışmalarında, dişleri izotonik sodyum klorür ile yıkadıktan sonra 950 °C’de yakmışlardır. Dişleri öğüterek partikül haline getirdikten sonra 100 mesh’lik (0.149mm) elekten geçirmişler ve etilen oksit ile steril etmişlerdir (21).

Kim SG ve ark. sağlıklı bireylerden ortodontik amaçlı çekilen sağlıklı dişleri 950 °C’de (1720 °F) 30 dakika yaktıktan sonra öğüterek 100 mesh’lik elekten geçirmişler ve yaptıkları klinik çalışmada elde ettikleri partikül dentini greft materyali olarak kullanmışlardır (44).

İnsan kemiğinde bulunan apatitler düşük kristal yapıdadır. Bununla beraber yüksek sıcaklıkta sinterleme işlemiyle elde edilen HA’lar yüksek kristal yapıda olmaktadır. Sinterleme işlemi sırasında kristal taneleri büyümektedir. Yüksek ve büyük kristal yapıdaki partiküllerin biyolojik yıkımı çok zor olmakta, osteokondüksiyon kapasiteleri azalmaktadır (42,235). Bununla birlikte **Kim JH ve ark.** farklı sıcaklıklarda yakılarak elde edilen diş külünün köpeklere uyguladıkları implantların etrafındaki yeni kemik oluşumuna olan etkisini inceledikleri çalışmalarında; diş külünü yüksek sıcaklıkta yakmanın düşük sıcakta yakmaya göre daha olumlu bir yöntem olduğunu ve daha iyi sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Çalışmada köpeklerden çektikleri dişlerden elde ettikleri otojen diş külünü köpeklerin iliak kemiğine yerleştirilen implantların etrafına uygulamışlardır. 1. Grup kontrol grubu olarak boş bırakılırken, 2. Grupta düşük

sıcaklıkta elde edilen diş külü, 3. Grupta ise yüksek sıcaklıkta elde edilen diş külü kullanılmıştır. Sağ tarafta iyileşme süresi 12 hafta beklenirken, sol tarafta 6 ay beklenmiştir. 12. haftada yapılan histomorfometrik analizlerde kontrol grubunda zayıf kemik oluşumu, 1. Grupta iyi kemik iyileşmesiyle beraber yeni kemik oluşumu gözlenirken, 2. Grupta 1. Gruba oranla çok daha fazla yeni kemik oluşumunun olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmada yakarak elde edilen otojen diş külünün yeni kemik oluşumunda etkili olduğu, ancak yüksek sıcaklıkta elde edilen diş külünün yeni kemik oluşumunda daha etkili olduğu bildirilmiştir (236).

Bu nedenle çalışmamızda kullandığımız dişleri literatürlerde uygulanmış olan 800 °C’de yakmayı uygun bulduk. Çalışmamızda kullandığımız sağlıklı bireylerden çekilen sağlıklı gömük 3. büyük azı dişleri izotonik sodyumla yıkanarak yumuşak doku artıklarından temizlendikten sonra önce ön yakma işlemi ile 350 C°’de 4 saat sonra 800 °C’de 4 saat yakıldı ve organik bileşenler elimine edildi.

Dişin kuron ve kök kısmında bulunan inorganik ve organik bileşenlerin farklı miktarlarda olduğu, bu durumun da kemik grefti olarak kullanıldıklarında kemik iyileşmesine olan etkilerinin farklı olmasına yol açtığı bildirilmiştir (42,200).

Kim YK ve ark. dişin inorganik bileşenlerini analiz ettikleri çalışmalarında kuron kısmının yüksek kristal yapıda kalsiyum fosfattan, kök kısmının ise düşük kristal yapıda kalsiyum fosfattan oluştuğunu bildirmişlerdir (40). **Kim YK ve ark.** daha önce yapmış oldukları çalışmalarında yüksek sıcaklıkta yakılarak elde edilen diş külünün ana bileşenlerin HA ve β -TCP olduğunu belirtmişlerdir (27). Bununla beraber diş kaynaklı greft materyallerinin de kemik dokusuna benzer şekilde 4 farklı tipte kalsiyum fosfat içerdiği ancak bunların oranlarının dişin kuron ve kök kısmında farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir. Dişin dentin ve sement kısmını oluşturan HA düşük kristal yapıdaki kalsiyum fosfattan, dişin mine kısmını oluşturan HA ise daha yüksek kristal yapıdaki kalsiyum fosfattan oluşmaktadır (24,237). Kemik dokusunda düşük yapıda kristallerin olması nedeniyle dişin büyük bir kısmını oluşturan dentin ve sementin kemik greft materyali olarak kullanıldığında osteokondüksiyon ile iyi kemik yapımını sağlayabileceği bildirilmiştir (30,40,41,42). Bu nedenle çekilen sağlıklı dişlerin sadece kök kısmı çalışmamıza dahil edildi. Çekilen dişlerin kuron ve kök kısmı elmas separe

ile ayrıldı. Daha sonra dişlerin sadece kök kısmı yakılarak çalışmamızda oluşturulan defektlere uygulandı. Çalışmada yakılarak elde edilen dentin sement bileşimi yapılan çalışmalar göz önüne alınarak partikül dentin olarak adlandırıldı.

Kemik greftlerinin partikül büyüklüğü, kemik iyileşmesini ve osteokondüksiyonu etkilemektedir. Yeni oluşan kapillerin ve kemik trabeküllerinin greft partikülleri arasında ilerleyebilmesi için, partikül boyutunun 0.1 mm'den büyük olması gerekmektedir (204,238). Yapılan literatür incelemelerinde 100 mesh'lik eleğin kullanılmasıyla partikül dentin boyutunun 0.149 mm olarak oluşturulduğu görüldü. Çalışmamızda dişlerin kökleri yakıldıktan sonra öğütülerek 50 mesh'lik elekten geçirildi ve partikül boyutu 0.297 mm olarak belirlendi. Çalışmamızda özellikle daha büyük partikül boyutunun tercih edilmesinin sebebi daha büyük partikül boyutunun kemik iyileşmesine ve osteokondüksiyona olan etkisini değerlendirmektir.

Bio-Oss®, bir ksenogreft olup anorganik sığır kemiğinin deproteinize edilmesiyle oluşan ve yapısında HA olan doğal bir greft materyalidir. Bio-Oss® 300 °C'de 15 saatten daha fazla bir süre ısıtma işlemi ile deproteinize edilmekte ve böylece tüm organik ve olası antijenik komponentleri elimine edilmektedir (15,16, 239). Daha sonra materyal alkalın ile işleme sokulmaktadır. Alkalın işleminden sonra hidroksiapatit ve karbonattan oluşan materyal 160 °C'de steril edilmektedir. Bu işlem materyalin yüksek porözite ile birlikte 10-60 nm büyüklüğündeki kristal yapısının oluşmasını sağlamaktadır. Bio-Oss®, son yıllarda kemik greft materyali olarak periodontoloji ve maksillofasiyal cerrahi dallarında geniş kullanım alanları bulmuştur. Maksillofasiyal cerrahide sinüs liftingde, alveoler kret yükseltme işlemlerinde, dişler ve implantların çevresindeki defektlerin tedavisinde, mandibula ve maksilla rekonstrüksiyonunda, çekim soketlerinin doldurulmasında kullanılmaktadır (15,16,239,240).

Çalışmalarda Bio-Oss®'un morfolojik olarak doğal bir yapısı olduğu, kemik ile karşılaştırıldığında daha geniş bir iç yüzeye ve poröziteye, kemik ile benzer kristal yapıya, elastikiyete, kimyasal bileşime ve kalsiyum/fosfor (Ca/P) oranına sahip olduğu belirtilmiştir (15,239,241,242). Bio-Oss® içindeki kalsiyum ve fosfor bileşenleri, anorganik kemik matriksinin kimyasal karakterizasyonu yoluyla tanımlanmıştır. Anorganik kemiğin infrared (kızılötesi) spektrum ve X-ray difraksiyon modeli

incelemelerinde kalsiyum oranı % $37,1 \pm 0,7$, fosfor oranı % $17,8 \pm 0,5$ ve kalsiyum /fosfor oranı da $2,1 \pm 0,1$ olarak saptanmıştır. Bazı çalışmalarda ise kalsiyum /fosfor oranı 1,80; kalsiyum oranı % 38,5; fosfor oranı % 17,1; magnezyum oranı % 0,49 olarak saptanmıştır (16,243,244).

Kim YK ve ark. dişin inorganik bileşenlerini analiz ettikleri çalışmalarında minenin bileşenlerinin %56'sının karbon olduğu ve Ca/P oranının 1.54 olduğu belirtilmiştir. Bununla beraber dentin ve sementte daha çok karbon bulunmuş, Ca/P oranları sırasıyla yaklaşık 1.02 ve 0.96 olarak saptanmıştır. Dişin kuron kısmının Ca/P oranı HA'e benzer şekilde 1.75 olarak, kök kısmının Ca/P oranı ise amorf kalsiyum fosfata benzer şekilde 1.32 olarak bulunmuştur. Aradaki bu farklılığın nedeni kuron kısmının büyük çoğunluğunun mineden, kök kısmının ise dentin ve sementten oluşması şeklinde açıklanmıştır (40).

Kemik greft materyallerinin kristal analizi; materyallerin biyolojik yıkımının, buna bağlı olarak da iyileşmenin değerlendirilmesinde önem taşımaktadır. Kalsiyum fosfat çözünmesi Ca/P oranına bağlı olup bu durum kristal yapının derecesiyle ilişkilidir. Daha düşük kristal yapıya sahip materyaller daha çözünebilir özelliktedir (204,245).

Kim YK ve ark. çekilmiş dişlerden elde edilen greft materyalinin yapısal ve fizyokimyasal özelliklerini diğer allojenik, ksenojenik ve sentetik greft materyalleriyle karşılaştırmalı olarak inceledikleri çalışmalarında dişin kuron ve kök kısmını ayrı ayrı değerlendirmişlerdir. Çalışmada etil alkol ile dehidrate edilen ve etil eter solüsyonu ile de yağlarından arındırılan dişler liyofilize edilmiştir. Çalışmada kontrol grubu için ortognatik cerrahi işlemlerinde çıkarılan blok mandibular kemik, ksenogreft olarak Bio-Oss® ve sentetik materyal olarak da kalsiyum fosfat kullanılmıştır. XRD analizi ile materyallerin kristal yapısı incelenmiştir. Çalışmada mandibular kemiğin mineral bileşenlerinin kristal yapısının düşük kristal yapıda olduğu belirtilmiştir. Dişin kuron kısmının büyük çoğunluğunu mine oluşturduğu için, dişin kuron kısmının mineral içeriğinin ve kristal yapısının kök kısmına oranla daha fazla olduğu, Bio-Oss®'un daha düşük kristal yapıya sahip olduğu ve kalsiyum fosfatın daha yüksek kristal yapıya sahip olduğu bildirilmiştir. Ca/P oranının belirlendiği iyon salınım testinde kalsiyum fosfat ve

Bio-Oss®'la karşılaştırıldığında dişin ve mandibular kemiğin erken evrede aynı kalsiyum salınımını gösterdiği, kalsiyum fosfat en yüksek fosfor salınımı gösterirken Bi-Oss®'un en düşük fosfor salınımı gösterdiği belirtilmiştir. Yapılan in vitro salınım testleri sonucunda diş dokusunun biyolojik yıkımının iyi olduğu ve bu durumun yeni kemik yapımının uyarılmasında etkili olduğu bildirilmiştir (42).

Kim YK ve ark. otojen dişlerden kemik greft materyali geliştirdikleri çalışmalarında kuron ve kök kısmını ayırarak, suyundan ve yağdan arındıkları dişleri liyofilize ettikten sonra inorganik bileşenlerin yapısını incelemek için XRD analizi yapmışlardır. XRD analizinde kuron ve kök kısmı ayrı ayrı incelenmiştir. Dişin bütün bölgelerinde çoğunluklu olarak HA saptanırken, küçük miktarlarda β -TCP, amorf kalsiyum fosfat (ACP) ve oktakalsiyum fosfat (OCP) bulunmuştur. Bununla beraber HA kristalizasyonun ve miktarının dişin farklı bölgelerinde değişiklik gösterdiği bildirilmiştir. XRD örneklerinin mine tabakasının varlığı nedeni ile kuron kısmında daha yüksek sonuç verdiği belirtilmiştir (24).

Çalışmamızda gerçekleştirdiğimiz XRD analizinde yakma işlemine tabi tutulan dişin kök kısmından elde edilen greft materyalinin XRD difraktogramında piklerin keskin olduğu ve materyalin yüksek kristaliniteye sahip olduğu gözlemlendi. Yakma işlemi ile elde edilen partikül dentinin kristal analizi ile ilgili bir literatür bulunmamaktadır. Kristal yapının daha yüksek olmasının nedeni diğer çalışmalardan farklı olarak dişe yakma işlemi ile yüksek sıcaklık uygulanmasının bir sonucu olduğunu düşünmekteyiz. Bununla birlikte materyalin kalitatif analizinde, materyalin yüksek oranda HA ve kalsiyum hidrojen fosfat, düşük oranda da kalsiyum fosfatın diğer fazları ile uyumlu olduğunun belirlenmesi yapılan çalışmalarda elde edilen bulgulara benzer niteliktedir.

Günümüze kadar yapılan bir çok deneysel ve klinik çalışma Bio-Oss®'un kemik defektlerinde, çeşitli amaçlar için kemik dokusu yerine geçebilecek bir greft olarak kullanılabileceğini göstermekle birlikte kemik iyileşmesine bir katkısının olmadığını belirten çalışmalar da bulunmaktadır (16,18,144,239,240,243). Bio-Oss®, doğal kemikle benzer kristal yapıya sahiptir. Blok ve partikül formları mevcut olup, partikül boyutları $0.25\pm0.5\text{mm}$ ve $0.5\pm1.0\text{ mm}$ aralığındadır (44,141). Çalışmamızda HA

içerikli olması nedeni ile deney gruplarından birine Bi-Oss® uygulanması tercih edilmiş ve $0.25\pm0.5\text{mm}$ boyutlarındaki Bio-Oss® kullanılmıştır.

HA biyolojik uyumu iyi bir materyal olup, greft materyali olarak kullanılan formlarında akışkan yapısı nedeni ile çevre kemikle olan stabilizasyonunda sorun yaşanmaktadır. Yapılan çalışmalarda bu durumun kemik grefti olarak kullanılan ve HA yapısında olan partikül dentin içinde geçerli olduğu bildirilmiştir (44,46).

Partikül dentinin stabilizasyonunu sağlamak ve kemik iyileşmesine olan etkisini arttırmak için paris alçısı, trombosit zengin plazma (platelet rich plasma-PRP), fibrin yapıştırıcı ve kitosan ile birlikte kullanımına ilişkin çalışmalar bulunmaktadır (21,43,44,45,46).

Partikül dentinin paris alçısıyla karıştırılmasının tercih edilmesinin sebebi, paris alçısının yabancı cisim reaksiyonun az olması, osteokondüksiyon sağlaması, rezorbe olabilmesi ve ucuz olması olarak sayılabilmektedir. Ayrıca karışım kemik ile direk bağlantı sağlayarak granüllerin hareketini önlemektedir. Bunun yanında partikül dentin ve paris alçısı karışımının, hemostazın sağlanmasında ve yara iyileşmesinde kullanılan fibrin yapıştırıcılar ile birlikte kullanımıyla ilgili çalışmalar da bildirilmiştir (44,199,246).

Choi ve ark. köpekler üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmalarında partikül dentin ve paris alçısı karışımının fibrin yapıştırıcı ile birlikte ve fibrin yapıştırıcı olmadan kullanımının dental implantların etrafındaki kemik defektlerinin iyileşmesine ve yeni kemik oluşmasına olan etkisini incelemişler ve partikül dentin ve paris alçısı karışımının fibrin yapıştırıcı ile birlikte kullanımının dental implantların etrafındaki kemik defektlerinin iyileşmesinde yeni bir tedavi yöntemi olarak uygulanabileceğini belirtmişlerdir (45).

Kim SG ve ark. köpekler üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmalarında partikül dentin ve paris alçısı karışımının PRP ile ve PRP olmadan dental implantların etrafında oluşturdukları kemik defektlerine uygulamışlar ve dental implantlar etrafındaki defektlerin partikül dentin ve paris alçısı karışımı ile başarılı bir şekilde tedavi

edilebileceğini ancak PRP ile beraber kullanımının daha etkili olacağını bildirmişlerdir (247).

Kim SG ve ark. doku yapıştırıcılarının erken evrede iyileşmedeki rolünü ve partikül dentin ve paris alçısının osteoporoz varlığında kemik iyileşmesine olan etkisini inceledikleri çalışmalarında partikül dentinin tek başına kullanımının yeni kemik oluşumunda etkili olduğunu belirtmişlerdir (248).

Partikül dentin ve paris alçısının izotonik sodyum klorür ile karıştırılarak kullanımının daha az akışkan özellik göstererek kemik ile direk temas sağladığı, karışımın daha az sitotoksik olduğu ve daha az alerjik reaksiyon oluşturduğu bildirilmiştir (44,199,246). Bununla birlikte partikül dentinin tek başına ya da sadece izotonik sodyum klorür ile karıştırılarak kullanımıyla ilgili çok az sayıda literatür bulunmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda partikül formdaki kök dentin-sement bileşimi sadece izotonik sodyum klorür ile karıştırılarak oluşturulan kemik defektlerine uygulandı ve sadece izotonik sodyum klorür ile karıştırılarak kullanımının yeni kemik oluşumuna olan etkisi incelendi.

Kim BK ve ark. tavşanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında partikül dentin ve paris alçısını 2:1 oranında karıştırarak elde ettikleri karışımının PRP ya da fibrin yapıştırıcı ile beraber kullanımının kemik iyileşmesi üzerine olan etkisini incelemişlerdir. Çalışmalarında her bir tavşanın kafatasında oluşturdukları 8 mm çapındaki defektlerde 1. Grup kontrol grubu olarak boş bırakılmış, 2. Grupta partikül dentin ve paris alçısı tek başına, 3. Grupta partikül dentin ve paris alçısı karışımı PRP ile karıştırılarak, 4. Grupta ise partikül dentin ve paris alçısı fibrin yapıştırıcı ile karıştırılarak uygulanmıştır. Postoperatif 4. haftada yapılan histolojik incelemelerde 2. Grupta kontrol grubuna oranla defekt kenarlarında daha fazla yeni kemik oluşumunun gözlemlendiği, 3. ve 4. Grupta ise defekt kenarlarında yeni kemik oluşumuyla beraber greft partikülleri arasında mineralize olmamış osteoid dokunun şekillendiği bildirilmiştir. Postoperatif 8. haftada yapılan histolojik incelemelerde ise kontrol grubunda 4. haftaya göre daha fazla yeni kemik oluşumunun olduğu, 2. Grupta ise defekt kenarlarında yeni kemik oluşumunun artışıyla beraber greft partikülleri arasında da yeni kemik oluşumunun olduğu, 3. ve 4. Grupta yeni kemik oluşumunun hem defekt

kenarlarında hem de defektin merkezinde artmış olduğu ve greft materyalinin kısmen rezorbe olduğu saptanmıştır. Histomorfometrik değerlendirmelerde kontrol grubuna oranla 2., 3. ve 4. Grupta daha fazla yeni kemik oluşumunun gerçekleştiği, PRP ve fibrin yapıştırıcı uygulanan 3. ve 4. Grupta ise 2. Gruba oranla daha fazla yeni kemik oluşumunun gözlemlendiği, 3. ve 4. Grupta meydana gelen yeni kemik oluşumu arasında anlamlı bir fark olmadığı bildirilmiştir. Çalışmada kullanılan PRP ve fibrinin büyüme faktörleri içermesi nedeni ile osteoindüksiyon sağladığı ve bu sayede yeni kemik oluşumunu arttırdığı; partikül dentin ve paris alçısı karışımının PRP ya da fibrin yapıştırıcı ile birlikte kullanımının yeni kemik oluşumunda daha etkili olduğu bildirilmiştir (43).

Park SS ve ark. partikül dentin ve kitosanın beraber kullanımının erken kemik iyileşmesine olan etkisini sıçanlarda oluşturdukları kraniyal defektlerde histolojik ve histomorfometrik olarak incelemişlerdir. Kitosan, kitin türevi, doğal, biyouyumlu ve toksisitesi çok düşük olan biyoaktif bir polisakkarit olup; kitosanın yara iyileşmesini hızlandırdığı ve kemik yapımını uyardığı bildirilmiştir. **Park SS ve ark.** yaptıkları çalışmada sağlıklı domuzlardan çekilen dişleri kullanmışlardır. Dişler çekildikten sonra izotonik sodyum klorür ile yıkanmış ve 950 °C'lik fırında yakıldıktan sonra 100 mesh'lik elekten geçirilecek şekilde öğütülmüş ve partikül boyutu sabitlenmiştir. Çalışmada 1. Grupta partikül dentin, 2. Grupta partikül dentin ve paris alçısı, 3. Grupta partikül dentin ve kitosan, 4. Grupta sadece kitosan uygulanırken, kontrol grubu boş bırakılmıştır. Postoperatif 2. haftada yapılan histolojik incelemelerde tüm gruplarda fibröz dokuyla dolan defektlerin kenarlarında çok az miktarda yeni kemiğin olduğu ancak 4. Grupta diğer gruplara oranla daha fazla yeni kemik yapımı olduğu bildirilmiştir. Postoperatif 4. haftada kontrol grubunda yeni kemik yapımının artmış olduğu, 1. ve 2. Grupta defekt kenarlarında ve dentin partikülleri etrafında yeni kemik yapımının 2. haftaya göre arttığı, 3. Grupta 2. Gruba oranla daha fazla yeni kemik yapımının meydana geldiği ve 2. haftaya göre oluşan yeni kemik trabeküllerinin daha çok olgunlaştığı, 4. Grupta ise defektin kenarlarıyla beraber merkezinde de yeni kemik yapımının meydana geldiği ve 2. Gruba göre daha fazla yeni kemik yapımının olduğu saptanmıştır. Postoperatif 8. haftada ise, kontrol grubunda yeni kemik yapımının sadece defekt kenarlarında sınırlı kaldığı, 1. ve 2. Grupta 2. ve 4. haftalara göre artmış yeni kemik yapımının gözlemlendiği, 3. Grupta 2. Gruba göre daha fazla yeni kemik

yapımının olduğu, 4. Grupta ise 4. haftaya göre artmış vaskülarizasyonla beraber oluşan kemiğin daha olgun olduğu ve 1. Gruba oranla daha fazla yeni kemik yapımının gözlemlendiği bildirilmiştir. Çalışmanın sonunda kontrol grubuyla yapılan karşılaştırmalarda deney gruplarının yeni kemik oluşumu açısından daha başarılı olduğu, partikül dentin ve kitosanın beraber kullanımının partikül dentinin paris alçısıyla kullanımına oranla daha iyi sonuç verdiği belirtilmiştir (21).

Çalışmamızda dentin-sement bileşimi (partikül dentin) ve Bi-Oss® sadece izotonik sodyum klorür ile karıştırılarak uygulandı. Grupların 15. gün ve 45. günlerdeki kemik iyileşmesi düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken, grup içi değerlendirmelerde 45. gündeki kemik iyileşmesi düzeyi, 15. gün'den istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Postoperatif 45. günde yapılan histolojik incelemelerde defektleri dolduran kemik dokusunun defektlerin periosteal ve endosteal alanlarında lameller biçim almaya başladığının saptanması bu çalışmalar ile uyumda olup kontrol ve deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmaması bu çalışma ile örtüşmemektedir.

Kim WB ve ark. sıçanların kafatasında oluşturdukları defektlerde sağlıklı insanlardan çekilen sağlıklı dişleri 1,200 C°'de yakarak elde ettikleri partikül dentin ve doku iyileşmesinde etkili olan fibrin yapıştırıcı Tisseel'in beraber kullanımının kemik iyileşmesine olan etkisini incelemişlerdir. Çalışmada 1. Grup kontrol grubu olarak boş bırakılırken, 2. Grupta partikül dentin ve paris alçısı, 3. Grupta partikül dentin, paris alçısı ve Tisseel, 4. Grupta ise sadece Tisseel uygulanmıştır. Postoperatif 4. haftada yapılan histolojik incelemelerde 1. 2. ve 4. Grupta sınırlı miktarda yeni kemik oluşumu gözlemlendiği, 3. Grupta ise yeni kemik oluşumuyla beraber oluşan ağsı kemiğin organize olarak devamlılık sağladığı ve kompakt kemik oluşumunun gözlemlendiği bildirilmiştir. Postoperatif 8. haftada ise 1, 2. ve 3. Grupta 4. haftaya göre yeni kemik oluşumunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmezken, 4. Grupta yeni kemik oluşumunun anlamlı derecede arttığı ve yeni oluşan kemiğin kompakt türde olduğu belirtilmiştir. Çalışmanın sonunda fibrin yapıştırıcıların hücrelerin ilgili bölgeye göçü için bir çatı oluşturduğu ve bu sayede yeni kemik oluşumunu hızlandırdığı bildirilmiştir. Bununla birlikte çalışmada uygulanan partikül dentin ve paris alçısının; partikül dentin,

paris alçısı ve Tisseel'in birlikte kullanımına göre defekt alanında kemik yüzeyi ile daha geniş bir temas alanına sahip olduğu bildirilmiştir (46).

Çalışmamızda grupların 15. ve 45. günlerdeki yeni kemik yapımı düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamakla birlikte bu çalışmadan farklı olarak gruplar içi yapılan değerlendirmelerde 45. gündeki yeni kemik yapımı düzeyi, 15. gün'den istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmaktadır. Bu çalışmada postoperatif 8. haftada 1, 2. ve 3. Grupta 4. haftaya göre yeni kemik oluşumunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemesi partikül dentinin daha yüksek sıcaklıkta elde edilerek hazırlanmasına bağlı olarak rezorbsiyonunun daha geç olması şeklinde yorumlanabilir.

Carmagnola ve ark. yaptıkları çalışmada köpeklerde oluşturulan defektlerde Bio-Oss® ve Tisseel'in birlikte kullanımının yeni kemik oluşumunu uyarmadığı, bununla birlikte iyileşme süresinde greft partikülleri etrafında fibröz bir kapsül oluşumunun gözlemlendiğini bildirilmişlerdir. Bu durum; defekt alanı bariyer membranla kapatılmadığı için kalan greft partikülleri ve kemik arasında meydana gelen mikro hareketler sonucu fibröz kapsülün oluşması şeklinde açıklanmıştır. Ayrıca fibrin yapıştırıcı materyalin (Tisseel) erken revaskülarizasyonu bozduğu bu nedenle yeni kemik oluşumunu engellediği bildirilmiştir (249).

Çalışmamızda kollajen membranla YKR tekniği kullanılarak epitel dokudan fibroblast göçü engellenmiş, postoperatif 45. günde yapılan histolojik incelemelerde kalan greft partiküllerinin ve greft partikülleri arasındaki fibröz dokunun yerini büyük ölçüde yeni kemik yapımına bıraktığı görülmüştür.

Kemik greft materyali olarak Bio-Oss®'un kullanılması ile ilgili literatürdeki ilk çalışma 1990 yılında **Mandelkow ve ark.** tarafından yapılmıştır. Bu araştırmacılar koyunlar üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada her koyunun tibiası üzerinde her biri 6 mm çapında sekiz defekt oluşturmuşlar ve bu defektlerden yedisini çeşitli seriler halinde Bio-Oss®, Pyrost, otojen spongiyöz ve dondurulmuş allojenik spongiyöz kemik materyali ile doldurmuşlardır. Altı hafta sonra elde ettikleri örneklerin incelenmesi sonucu tamamen inorganik materyaller olan Bio- Oss® ve Pyrost'un yeni kemik

oluşumunu stimüle etmediğini ve boş bırakılan defektler ile aralarında belirgin bir fark olmadığını bildirmişlerdir (250).

Merkx ve ark.'nın keçiler üzerinde yaptıkları 3 ayrı deneysel çalışmada; frontal sinüsü örten kemikte 4 adet 14 mm çapında tam kalınlık kritik boyut defekti oluşturulmuş ve defektlere rastgele kortikal kemik çipsleri, kansellöz kemik çipsi, Bio-Oss®'un spongiyöz granülleri yerleştirilmiş ve diğer defektler kontrol amacı ile boş bırakılmıştır. Araştırmacılar histolojik incelemeler sonucunda; Bio-Oss® ile doldurulan defektlerin sadece kenarlarında yeni kemik oluşumunun görüldüğünü ve çok az bir miktarda Bio-Oss®'un kemik doku ile birleştiğini bildirmişlerdir. Tek başına Bio-Oss®'un kritik boyut defekt modelinde osteokondüksiyonu stimüle etmediğini, buna karşılık aralarındaki gevşek ilişki nedeniyle yoğun osteoklastik aktiviteyi stimüle ettiğini ileri sürmüşlerdir (251).

Fukuta ve ark. yirmi yetişkin tavşan üzerinde yaptıkları çalışmada; oluşturdukları tam kalınlık kafatası defektlerinin bir kısmını otojen kemik tozu, poröz hidroksiapatit granülü ve Bio-Oss® partiküllerinden herhangi biri ile doldurmuşlar, bir kısım defekti de kontrol amacı ile boş bırakmışlardır. Histolojik inceleme sonrası Bio-Oss®'un kemik doku ile önemli bir enflamatuvar reaksiyon olmaksızın birleştiğini, yeni kemik oluşumu miktarının Bio-Oss®, hidroksiapatit ve kontrol grubunda aynı miktarda olduğunu, buna karşılık otojen kemik tozunun daha fazla oranda yeni kemik oluşumu sağladığını, bununla birlikte Bio-Oss®'un poröz hidroksiapatite benzer şekilde yeterli osteokondüktif özelliğinin olduğunu ve kemik greft materyali olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir (252).

Çalışmamızda 15. ve 45. günlerde yapılan histolojik incelemelerde Bio-Oss® uygulanan grupta enflamatuvar reaksiyon görülmemesi, greft partiküllerinin çevrelerinin dikkate değer şekilde yeni kemik dokusu ile dolması ve gruplar arasında yeni kemik yapımı düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaması Fukuta ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmayla uyumaktadır. Çalışmamız Merkx ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmayla kalan greft materyalleri çevresinde osteoklastik hücre aktivitelerinin olması yönünden özdeşmekte olup, Bio-Oss®'un büyük miktarda kemik dokusu ile yer değiştirmesi yönünden ayrılmaktadır.

Mandelkow ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada boş defektler ile Bio-Oss® uygulanan defektler arasında belirgin bir fark olmaması çalışmamızla uyusmaktadır. Ancak çalışmamızda Bio-Oss®'un yeni kemik oluşumunu uyardığı ve osteokondüktif etki gösterdiğini belirtebiliriz.

Hürzeler ve ark. dental implantların çevresinde oluşan defektlerde, YKR için rezorbe olabilen bir membran olan Bio-Gide®'ın; Bio-Oss® ile kombine olarak veya tek başına kullanılmasının etkinliğini maymunlarda yaptıkları deneysel çalışmada değerlendirmişlerdir. Çalışmada tüm premolar ve 1. molarların çekilmesini takiben kemikte defekt oluşturmuşlar ve sonra her yarım çeneye 2 adet olacak şekilde toplam 40 adet kemik içi implant yerleştirmişlerdir. Açıkta kalan implant yüzeyi çevresine 1. Grupta tek başına Bio-Gide®, 2. Grupta Bio-Gide® ve Bio-Oss® kombinasyonu, 3. Grupta Bio-Oss® ve rezorbe olmayan bir bariyer olan Gore-Tex® uygulamışlar, 4. Grupta da kontrol amacı ile herhangi bir bariyer ve greft materyali uygulamamışlardır. 6 hafta sonunda denekler sakrifiye edilmiştir. Yapılan histolojik incelemede 2. ve 3. Grupta diğer iki gruba göre daha fazla miktarda yeni kemik-implant teması olduğu gözlenmiş ve implant çevresindeki defektlerde Bio-Gide® ile Bio-Oss®'un kombine olarak kullanılmasının yeni kemik oluşumunu artırdığını bildirmişlerdir (253).

Kim SG ve ark. partikül dentin ve Paris alçısı kombinasyonu ile Bio-Oss®'un kemik iyileşmesi üzerine etkilerini karşılaştırmak için yaptıkları çalışmada; ratların kafatasında, orta hatta oluşturulan 8 mm çapındaki kritik boyut defektleri 1. Grupta partikül dentin ve paris alçısı ile 2:1 oranında; 2. Grupta partikül dentin, alçı ve Bio-Oss® ile 2:1:1 oranında; 3. Grupta paris alçısı ve Bio-Oss® ile 1:1 oranında; 4. Grupta sadece Bio-Oss® ile doldurulmuş; 5. Grup ise kontrol amacı ile boş bırakılmıştır. Partikül dentin, çekilmiş dişlerin 950 °C'de 30 dakika yakıldıktan sonra öğütülmesiyle elde edilmiş ve 100 mesh'lik elekten geçirilerek partikül boyutu 0.149 mm olarak belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan Bi-Oss®'un partikül boyutunun da 0.25-0.5 mm olduğu belirtilmiştir. Postoperatif 8. haftada yapılan histolojik analizlerde kontrol grubuyla 1. ve 2. Grupta elde edilen bulguların benzer nitelikte olduğu, Bi-Oss® uygulanan gruplarda az miktarda yeni kemik oluşumuyla beraber Bi-Oss® partiküllerinin kısmen rezorbe olduğu, ancak partikül dentin uygulanan gruplarda yeni kemik oluşumunun gözlemlenmediği bildirilmiştir 16. haftada ise 1. Grupta görülen

enflamasyonun zamanla azaldığı, partikül dentin uygulanan gruplarda (Grup 1 ve 2) partikül dentin etrafında devamlı yeni kemik oluşumunun şekillendiği, Bi-Oss® uygulanan gruplarda (Grup 3 ve 4) Bi-Oss® partiküllerinin büyük oranda rezorbe olmasıyla yeni kemik oluşumunun çoğalmış olduğu, kontrol grubunda (5. Grup) ise yeni kemik oluşumunun gözlemlenmediği ve fibröz dokunun defekt bölgesini doldurmuş olduğu belirtilmiştir. Histomorfometrik değerlendirmelerde Bi-Oss®'un tek başına uygulandığı 4. Grupta diğer gruplara oranla hem 8. haftada hem de 16. haftada daha fazla kemik oluşumu gözlemlendiği; gruplar arası yapılan değerlendirmelerde 2. ve 3. Grupta 8. haftaya göre 16. haftada gözlenen kemik oluşumunda daha çok artmış olduğu bildirilmiştir. Postoperatif 8. ve 16. haftalarda yapılan histolojik ve histomorfometrik analizlerde yeni kemik oluşumunun 4. Grupta en fazla oranda olduğu; bunu sırasıyla 3. Grup, 2. Grup, 1. Grup ve kontrol grubunun izlediği belirtilmiştir. Çalışmada partiküler dentin ve alçı kombinasyonunun alternatif bir greft materyali olabileceği ancak Bio-Oss®'dan daha az etkili olduğu; Bio-Oss®'un, organize olması ve kısmi rezorpsiyonu ile birlikte en iyi kemik formasyonunu sağladığı ve osteokondüktif özellikler gösterdiği bildirilmiştir (44).

Çalışmamızda grup içi değerlendirmelerde 45. gündeki yeni kemik yapımı yüzdesi 1. ve 3. Grupta 15. gün'den istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunurken, 2. Grupta bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Gruplar arasında 15. ve 45. günlerde yapılan histolojik ve histomorfometrik analizlerin istatistiksel değerlendirmelerinde yeni kemik oluşumu açısından gruplar arasında anlamlı bir fark gözlemlenmemesi ve 15. güne göre 45. günde izlenen yeni kemik oluşum yüzdesinin 2. Grupta anlamlı bir farklılık yaratmaması bu çalışma ile uyummamaktadır.

Çalışmamızda postoperatif 15. günde yapılan histolojik analizlerde partikül dentin uygulanan grupta greft materyalleri arasında yeni kemik oluşumunun gözlemlenmesi bu çalışmadaki bulgular ile örtüşmemektedir. Bu durum çalışmamızda kullanılan partikül dentinin partikül boyutunun daha fazla olmasıyla yeni oluşan kapillerin ve kemik trabeküllerinin greft partikülleri arasında ilerleyebilmesine izin vermesi şeklinde açıklanabilir. Postoperatif 45. günde yapılan histolojik analizlerde kontrol grubunda 45. günde aktif fibröz dokunun yerini büyük ölçüde yeni kemik yapımına bırakmış olması bu çalışmayla uymayan bir diğer bulgudur. Çalışmamızda

kollajen membranla (Bio-Guide®) YKR tekniğinin kullanılmasının fibröz dokunun defekt içine göçünü engellenmiş olduğu düşüncesindeyiz.

Kemik greftleri ile yapılan uygulamalarda, değişik oranlarda postoperatif rezorbsiyonu da kapsayan birçok komplikasyon ortaya çıkmaktadır. Fibroblastlar ve epitel hücreleri, kemik yapıcı hücrelere göre defekt bölgesine daha çabuk ulaşır, burada fibröz yapıda bir doku oluşturur. Kemik defektlerinde, fibröz konnektif dokunun defekt bölgesine invazyonu bölgede osseöz iyileşme yerine fibröz iyileşmeye yol açabilmektedir (143,164,172).

Bu amaçla kullanılan YKR tekniği, YDR prensibi doğrultusunda geliştirilmiş olup; kemik defekti ile çevresindeki yumuşak dokular arasında bir bariyer membran yerleştirilerek pıhtı ile dolmuş olan defekt bölgesine epitel ve bağ dokusu hücrelerinin göç etmesini engelleyip, buraya sadece kemik yapıcı hücrelerin ulaşmasını ve böylelikle elde edilen boş alanda osteogenezisin engellenmeksizin gelişebilmesini sağlamaktadır (143, 164,254).

Hayvanlar üzerinde gerçekleştirilen YKR çalışmaları, deneysel olarak oluşturulan maksiller ve mandibular kemik defektlerinde yeterli kemik oluşumu bulguları göstermektedir (164,165). İlk olarak **Dahlin ve ark.** sıçan mandibulasında oluşturdukları defektlerde YDR prensiplerini uygulayarak kemik dolumu gerçekleştiğini göstermişlerdir (254). 1994'te **Schenk ve ark.** köpekler üzerinde yaptıkları bir çalışmada, membran ile üzeri örtülmüş defektlerde kemik rejenerasyonunun çekim sonrası kemik oluşumuna benzer şekilde oluştuğunu göstermişlerdir (255).

YKR uygulamaları sırasında osteojenik, osteoindüktif veya osteokondüktif özelliklere sahip farklı kemik greftleri ve rezorbe veya non rezorbe membranlar kullanılmaktadır. Kollajen esaslı membranların, özellikle geniş defektlerde istenmeyen hücrelerin invazyonunu etkili bir şekilde engellediği bildirilmektedir (165,172).

Kemik içi defektlerde bariyer membranların greft materyali olmaksızın tek başlarına kullanımının kemik rejenerasyonunu arttırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur. **Taga ve ark.** membran kullanılan ve kullanılmayan kemik içi defektlerdeki

kemik iyileşmesini karşılaştırdıkları çalışmalarında, kollajen membran kullanılan grupta 9. ayda istatistiksel olarak anlamlı şekilde fazla kemik rejenerasyonu olduğunu bildirmişlerdir (256,257).

Kemik grefti ile birlikte bariyer membran uygulanması ile ilgili yapılan deneysel çalışmalarda genellikle başarılı sonuçlar alındığı görülmektedir (7,8,17). **Hockers ve ark.** köpeklerde yaptıkları çalışmalarında rezorbe olabilen membran ile kombine ksenogreft ve otojen greft kullanımını değerlendirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda rezorbe olabilen kollajen membranın kemik rejenerasyonunu arttırdığını, ayrıca destekleyici bir greft materyaliyle beraber kullanıldığında bu etkisinin daha belirgin olduğunu belirtmişlerdir (258).

Kollajen esaslı membranlarla yapılan çalışmalarda bu membranların zamanla çevre bağ dokusunun içine girdiği ve bağ doku elemanları tarafından 6-8 hafta içinde rezorbe edildiği bildirilmektedir (143,165).

Gu HR ve ark. insan dışından elde edilen diş külü ve paris alçısı karışımının YKR ile birlikte kullanımının periodontal doku rejenerasyonuna olan etkisini; köpeklerin alt çene küçük azı dişinin etrafında apikal, mesiodistal ve bukkolingual yönde 4 mm olacak şekilde hazırladıkları kemik içi defeklerde incelemiştir. Çalışmada, deney grubuna diş külü ve paris alçısı karışımı uygulanmış ve üzeri Bio-Gide® ile örtülmüş, kontrol grubuna ise sadece Bio-Gide® uygulanmıştır. Postoperatif 4. haftada yapılan histolojik incelemelerde Bio-Gide®'ın tamamen rezorbe olduğu ve oluşturulan defekt bölgesinin boş olduğu; deney grubunda ise benzer şekilde Bio-Gide®'ın tamamen rezorbe olduğu, bununla birlikte yeni kemik oluşumunun gözlemlendiği bununla birlikte greft partikülleri etrafında greftin rezorbsiyonuna işaret eden osteoklastların görüldüğü belirtilmiştir. Postoperatif 8. haftada yapılan histolojik incelemelerde kontrol grubunda yeni kemik oluşumuyla beraber defektin içine doğru yumuşak doku invazyonun görüldüğü, deney grubunda ise greft partikülleri arasında yeni oluşan kemiğin lameller yapıda trabeküler kemik olduğu bildirilmiştir. Çalışmada diş külü ve paris alçısı karışımının osteokondüktif etki gösteren bir greft materyali olduğu ve YKR ile birlikte kullanımının yeni kemik oluşumunda etkili olduğu sonucuna varılmıştır (259).

Çalışmamızda 45. günlerde yaptığımız histopatolojik incelemelerde kollajen membranın kısmen rezorbe olduğu gözlemlendi.

Hussain ve ark. tavşanların kafatasında oluşturdukları 8 mm çapındaki defektlerde sıgır dişlerinden elde edilen dentinin osteokondüktif ve osteoindüktif etkisini değerlendirmişlerdir. Çekilen dişler pulpa ve mine tabakası ayrıldıktan sonra 5-10 mm'lik parçalara bölünerek distile suda 2 saat kaynatılmıştır. Yumuşak dokudan ve yağdan arındırılmak için 2 saat boyunca isopropanol uygulanan dentin parçaları 100 C°'de kurutulduktan sonra partikül haline getirilmiştir. Çalışmada 1. Grupta elde edilen dentin partikülleri, 2. Grupta otojen kemik partikülleri uygulanmış, 3. Grup ise boş bırakılmıştır. Postoperatif 1. ve 6. haftada yapılan histolojik incelemelerde dentin partikülleri uygulanan defektlerde dentin partiküllerinin var olduğu ancak bazı bölgelerde rezorbe olarak fibröz doku enkapsülasyonu gösterdiği bildirilmiştir. Otojen kemik partikülleri uygulanan defektlerde kemik partikülleri kenarlarında osteoblastların belirlediği ve yeni kemik oluşumunun gözlemlendiği ancak bazı bölgelerde kemik partikülleri arasında yumuşak doku invazyonun olduğu belirtilmiştir. Boş bırakılan defektlerde ise yeni kemik oluşumunun gözlemlenmediği ve defektin yumuşak doku ile dolu olduğu saptanmıştır. Çalışmada membran kullanılmamıştır. Histolojik incelemelerde yumuşak doku invazyonun görülmesi oluşturulan defektlerin 4 duvarlı olması nedeniyle daha çok yumuşak doku komşuluğu olması ve bariyer membran kullanılmaması şeklinde açıklanmıştır (228).

Çalışmamızda cerrahi olarak oluşturulan 5 duvarlı tüm defektler 30x40 mm boyutlarında rezorbe olabilen kollajen membran ile defektlerin üzeri tamamen kaplanacak şekilde örtülmüştür. Rezorbe olmayan membranların ikinci bir cerrahi girişim gerektirmesi gibi önemli bir dezavantajından dolayı çalışmamızda rezorbe olabilen kollajen membran kullanılmıştır. Bu çalışmadan farklı olarak çalışmamızdaki histolojik incelemelerde yumuşak doku invazyonun görülmemesi ve boş defektlerde yeni kemik oluşumunun izlenmesi çalışmamızda kollajen membran kullanılmasıyla ilişkili olabilir. Postoperatif 15. ve 45. günlerdeki histolojik incelemelerde gözlenen dentin partiküllerinin kısmen var olması bu çalışma ile uyuşan bir bulgudur.

Kemik greft materyallerinde rezorpsiyonun mekanizması ve miktarının anlaşılması önemli bir konudur. Bununla birlikte greft rezorpsiyonunun, kemik ile greft materyali birleşmesinin gerçekleşmesinden önce olması istenmemektedir. Bu nedenle kemik greft materyallerinin yavaş rezorbe olması kemik matürasyonu için gerekli zamanı sağlaması açısından olumlu bir özellik olarak bildirilmektedir (16,17,139,260).

Oktar ve ark. insan dişinden elde ettikleri diş kaynaklı HA (DHA) ile koralin HA (KHA) partiküllerinin kemik iyileşmesi üzerine etkilerini karşılaştırmak için yaptıkları çalışmalarında koyunların sağ ve sol tibialarında 5 mm çapında ve 1 cm derinliğinde oluşturdukları defektlerin birine DHA diğerine ise KHA uygulamışlardır. DHA, insanlardan çekilmiş dişlerin %1'lik sodyum hipoklorit alkali solüsyonunda deproteinize edildikten sonra 850 °C'de 2-3 saat yakılmasıyla elde edilmiştir. Çalışmada yüksek sıcaklığa maruz kalan dişlerin mine ve dentin tabakalarının birbirinden kolayca ayrıldığı görülmüştür. Elde edilen dentin öğütülerek partikül haline getirilmiştir. Postoperatif 6. ayda ışık mikroskopunda yapılan histopatolojik değerlendirmede enfeksiyon, fibroz ve nekroz görülmediğini; DHA ve KHA partiküllerinin hemen hemen tamamının trabeküler kemik ile çevrelendiğini bildirmişlerdir. Polarizasyon mikroskopunda yapılan incelemelerde yeni oluşan trabeküler kemik dokusundaki lamellerin düzenli dizilim gösterdiği belirtilmiştir. Çalışmada DHA'nın biyolojik uyumu iyi olan ve yeni kemik oluşumunda etkili bir greft materyali olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (38).

Kim SG ve ark. yaptıkları klinik çalışmada ortalama 30 mm genişliğindeki defektlerin tedavisinde partikül dentin ve paris alçısını birlikte kullanmışlardır. Çalışmada 10 hasta partikül dentin ve paris alçısıyla tedavi edilirken, 10 hastada defektler kontrol grubu olarak tedavi edilmeden boş bırakılmıştır. Postoperatif 3. ve 4. aylarda yapılan klinik, radyolojik ve histolojik incelemelerde partikül dentin ve paris alçısıyla greftlenen defektlerde greftin kısmen rezorbe olduğu ve çevre kemik dokusundan yeni kemik yapımını uyardığı bildirilmiştir. Postoperatif 48. ayda yapılan klinik incelemelerde partikül dentin ve paris alçısının komplikasyon riski az ve kemik iyileşmesinde etkili bir greft materyali olduğu sonucuna varılmıştır (199).

Valentini ve ark. insanlarda yaptıkları klinik çalışmalarında sinüs lifting işlemlerini takiben 6. ayda alınan biyopsilerin histolojik incelemesinde Bio-Oss®

granülleri etrafında yeni kemik yapımı bulguları olduğunu, 12. ayda ise yeni lamellar kemik oluşumu gözlemlendiğini ve greft materyalinin rezorbe olmadığını bildirmişlerdir (261).

Zitzmann ve ark. iki aşamalı cerrahi prosedür ile yaptıkları sinüs lifting operasyonlarında, greft materyali olarak kullanılan Bio-Oss®'un, 6-8 aylık iyileşme periyodu sonunda yeni oluşan kemik içinde iyi bütünleşme gösterdiğini, Bio-Oss® partikülleri etrafında primer kemik oluşumunun gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Bunun yanında Bio-Oss®'un ilk 2 yıl içinde tamamen rezorbe olmadığını ve bu durumun kemik matürasyonu için gerekli zamanı sağladığını vurgulamışlardır (262).

Çalışmamızda 15. ve 45. günlerde yapılan histolojik incelemelerde partikül dentinin ve Bio-Oss®'un kısmen rezorbe olduğunun gözlemlenmesi daha önceki çalışmalarla benzer niteliktedir.

Moharamzadeh ve ark. çekilmiş sığır dişinden elde ettikleri dentinin kemik iyileşmesine olan etkisini sıçanların femurunda oluşturdukları defektlerde incelemişlerdir. Çalışmada mine tabakası ve pulpası ayrılan dişler küçük parçalara ayrıldıktan sonra distile suda 2 saat kaynatılmış ve izopropanol uygulanmıştır. Kaynatma işleminin ve izopropanol uygulamasının antijenik materyalleri tamamen elimine ettiğini ve böylelikle geriye sadece mineral yapının ve inert organik matriksin kalmasının sağlandığı bildirilmiştir. Elde edilen materyal 100 °C'de kurutulduktan sonra gama ışını ile steril edilmiştir. b (36).

Çalışmamızda önce 350 °C'de 4 saat sonra 800 °C'de 4 saat yakılarak elde edilen partikül dentin; tamamen organik bileşenleri yok edilerek kullanılmış, postoperatif 15. ve 45. günlerde yapılan histolojik incelemelerin hiçbirinde yabancı cisim reaksyonu ve nekroz saptanmamıştır. Grupların 15. gün iltihap düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken, grupların 45. gün iltihap düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. 1. Grubun 45. gün iltihap düzeyi, 2. ve 3. Gruptan anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. 2. ve 3. Grubun 45. gün iltihap düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. Kesitlerde gözlemlenen iltihapsal yanıt normal yara iyileşmesinin safhalarından biri olup daha

sonraki dönemlerde enfeksiyona veya ortamda yabancı cisim olmasına bağlı olarak gelişen iltihap görülmemiştir.

Al-Namnam ve ark. tavşanların femurunda oluşturdıkları defektlerde likit nitrojen protoküne tabi tutulan allojenik saf dentinin kemik iyileşmesine olan etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında likit nitrojenle -196 °C'ye hızla soğutulduktan sonra yavaş yavaş oda sıcaklığına getirme işleminin vital hücreleri ve immun reaksiyona neden olabilecek proteinleri denaturize ettiklerini bildirmişlerdir. Çalışmada deney grubu olarak belirlenen 1. Grupta allojenik dentin, pozitif kontrol grubu olarak belirlenen 2. Grupta otojen kemik grefti uygulanmış, negatif kontrol grubu olarak belirlenen 3. Grup ise boş bırakılmıştır. Postoperatif 2. ve 4. haftada yapılan histolojik incelemelerde yeni oluşan kemiğin deney grubunda negatif kontrol grubuna göre daha fazla olduğu bildirilmiştir. Pozitif kontrol grubunda ve deneysel grupta yeni kemik oluşumunun zamanla arttığı ancak 8. haftada osteoklastların varlığı nedeniyle azaldığı, 12. haftada ise tekrar artmaya başladığı saptanmıştır. Negatif kontrol grubunda ise yeni kemik oluşumunun 2.,4., ve 8. haftalarda arttığı, 12. haftada ise azaldığı belirtilmiştir. Araştırmacılar dentin ve otojen kemik partikülleriyle greftlenen alanlarda yoğun yeni kemik oluşum sürecini ve 8. haftadaki yeni kemik oluşumunun, kemiğin yeniden şekillenmesini içeren rezorbsiyon ve yeniden depolanma süreçlerini destekler nitetikle olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte greft partiküllerinin osteoklastik aktiviteyi arttırdığını belirtmişlerdir. Bu durumun pozitif kontrol grubunda ve deneysel grupta kemiğin yeniden şekillenmesinin daha erken evrede (8.hafta), negatif kontrol grubunda ise daha geç evrede (12. Hafta) olmasına neden olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada elde edilen dentininin hem organik hem inorganik bileşenler içerdiği, ancak çoğunlukla HA'ten oluştuğu, yapılan histolojik incelemelerde dentin partikülleri etrafında kemik yapımını destekleyen hücrelerin olduğu ve defekt kenarından merkeze doğru tüm defekt alanını kaplayacak şekilde osseöz köprülerin oluştuğu saptanmıştır. Bu histolojik bulguların dentinin osteokondüktif özellikte olduğunu desteklediği bildirilmiştir (223).

Çalışmamızda postoperatif 45. günde yapılan histolojik incelemelerde sadece inorganik bileşenler ve büyük çoğunlukla HA içeren dentin partikülleri etrafında osteoklastik hücre aktivitelerinin olduğu ve fibröz bağ dokusu içinde kalan greft

partiküllerinin çevrelerinin dikkate değer şekilde tümüyle yeni kemik dokusu ile dolu olduğu gözlemlendi. Bu histolojik bulgular hem organik hem inorganik bileşenler içeren dentin partikülleri ile yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlara benzer nitelikte olup, inorganik (mineralize) dentinin osteokondüktif özellikte olduğu desteklemektedir.

Dentinin organik bileşenlerinin kemik iyileşmesi üzerine olan etkisinin incelendiği çalışmalarda dentin demineralize edilerek kullanılmıştır.

Yagihashi ve ark. çekilmiş sıgır dişlerinden elde ettikleri demineralize dentin matriksinin (DDM) kemik grefti olarak kullanılmasıyla ilgili yaptıkları çalışmada DDM'nin osteokondral rejenerasyona olan etkisini tavşanların dizlerinde oluşturdukları tam kalınlıklı artiküler kartilaj defektlerinde incelemişlerdir. DDM *Urist ve ark.*'nın kullandığı demineralizasyon yöntemi ile elde edilmiştir. Bu yöntemde dişlerin kök kısımlarına 24 saat boyunca 0.6N HCl uygulanmış, daha sonra soğuk suda yıkanarak liyofilize edilmiş ve partikül haline getirilmiştir. Çalışmada 1. Grup kontrol grubu olarak boş bırakılırken 2. Gruba 50 mg, 3. Gruba ise 100 mg DDM uygulanmıştır. Postoperatif 3., 6. ve 9. haftada yapılan histolojik incelemelerde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 3. Grupta yeni kemik oluşumunun daha erken ve daha yoğun olduğu, ancak gruplar arasında kalsifikasyon oranı ile ilgili belirgin bir farklılığın olmadığı bildirilmiştir. Mikro bilgisayarlı tomografi ile yapılan radyolojik incelemelerde 1. Grupta yeni kemik oluşumunun defekt kenarlarında sınırlı kaldığı, 3. Grupta ise yeni kemik oluşumunun defektin hem kenarlarında hem de merkezinde ve postoperatif daha erken evrede geliştiği belirtilmiştir. Yapılan incelemelerde 9. haftada kontrol grubunda onarılan defekt yüzeyinde fissurların olduğu, ikinci grupta defektin normal artiküler kıkırdaktan iki kat daha kalın kıkırdakla dolu olduğu, 3. Grupta ise onarımın tamamlanmış olduğunu gösteren şekilde defektin yüzey alanının tamamının normal kıkırdak dokusuna benzer kalınlıkta hiyalin benzeri kıkırdakla dolu olduğu bildirilmiştir. Çalışmada DDM'nin osteokondral rejenerasyon için bir çatı görevi gördüğü ve erken postoperatif dönemde aktif yeni kemik oluşumunu uyardığı ancak DDM ile uyarılan aktif kemik onarımının kemik şekillenmesinin oluşum hızıyla ilişkilendirilmemesi gerektiği bildirilmiştir (263).

Reis-Filho ve ark. çekilmiş insan dişinin %10'luk etilendiamin tetraasetik asit ile demineralize edilmesiyle elde edilen demineralize insan dentin matriksinin (DHDM) çekim soketinin iyileşmesine olan etkisini sıçanların molar dişlerini çekerek oluşturdukları çekim soketinde incelemişlerdir. Çalışmada insanlardan çekilen ve üzerinde herhangi bir patoloji ya da çürük bulunmayan dişlerin kökleri pulpa ve periodontal ligamanet tamamen temizlendikten sonra demineralize edilerek kullanılmıştır. Çalışmada üst çenenin sağ ve sol bölgelerinden ikinci molar dişlerin çekilmesiyle oluşan çekim soketlerinde sol bölge deneysel grup olarak belirlenmiş ve DHDM uygulanmış, sağ bölge ise kontrol grubu olarak belirlenmiş ve boş bırakılmıştır. Postoperatif 3, 7, 14 ve 21. günlerde yapılan histolojik incelemelerde 3. günde hem deneysel grupta hem de kontrol grubunda enflamasyon görüldüğü, 7. günde periferik alanda yeni osseöz doku gelişimin olduğu ancak soketin konnektif doku ile dolu olduğu ve yeni kemik oluşumunun gözlemlenmediği, yeni kemik trabeküllerinin aktif oluşumunun 14. günde saptandığı bildirilmiştir. 21. günde epitel doku iyileşmesinin deney grubunda kontrol grubuna göre daha iyi olduğu ve DHDM'nin yeni kemik dokusu oluşumundaki etkisinin 14. günden sonra gözlemlendiği bildirilmiştir. Çalışmada elde edilen en önemli bulgulardan birinin yapılan immunohistokimyasal analizlerde DHDM'nin VEGF salınımı arttırdığı ve böylelikle çekim soketinin iyileşmesini hızlandırmış olduğu belirtilmiştir. DHDM ile tedavi edilen soketlerdeki kemik yoğunluğunun daha belirgin olduğu ve anjiyogenez oluşumuna işaret eden kapiller damarlar artışının gözlemlendiği bildirilmiştir. DHDM'nin osteoblastları uyarak VEGF salınımını arttırdığı, VEGF'nin de anjiyogenez oluşumunu artırarak osteogenezi olumlu yönde etkilediği belirtilmiştir. Kemik oluşumunun 7., 14. ve 21. günlerdeki artışının nedeni; DHDM'nin rezorbsiyon sürecinde hücre farklılaşmasını sağlayan faktörlerin salınımı uyarması şeklinde açıklanmıştır. Osteojenik hücrelerin proliferasyonu ve aktivasyonu haricinde, bu hücrelerin DHDM partikülleri üzerini kapladığı bu duruma DHDM'den salınan kemotatik faktörlerin etken olduğu belirtilmiştir. Çalışmada DHDM'nin anjiyogenik proteinlerin salınımını uyarak çekim soketlerinde kemik iyileşmesini hızlandırdığı ancak kemik kalitesinin değerlendirilmesiyle ilgili herhangi uygulama yapılmadığı bildirilmiştir (264).

Bakhshalian ve ark. tavşanların kafatasında oluşturdukları defektlerde tavşanlardan çekilen dişlerden elde ettikleri allojenik DDM'nin kemik iyileşmesine olan etkisini incelemişlerdir. Çalışmadaki amaçlarının dental atık olarak sayılan ve başka bireylerden çekilen gömük 20 yaş dişlerinden ya da ortodontik sebeplerle çekilen dişlerden, kemik rejenerasyonunu uyaran özellikte allogreft üretmek olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada oluşturulan defektlerden biri deneysel grup olarak belirlenmiş ve **Urist ve ark.**'nin kullanmış olduğu demineralizasyon yöntemi ile elde edilen allojenik DDM uygulanmış; diğeri ise kontrol grubu olarak boş bırakılmıştır. Oluşturulan defektlerinin hepsinin üzeri rezorbe olabilen kollajen membranla örtülmüştür. Postoperatif 15.,30.,45.,60.,75., ve 90. günlerde yapılan histolojik değerlendirmelerde allojenik DDM partikülleri etrafında osteoklastların belirdiği, bu durumun DDM partiküllerinin rezorbsiyonuna neden olarak kemiğin yeniden şekillenmesini ve böylelikle örgü kemik oluşumunu sağladığı bildirilmiştir. Bununla birlikte allojenik DDM'nin osteoindüktif özelliği destekler şekilde, DDM partiküllerine komşu osteoblastların bir sıra halinde dizilimi gözlemlenmiştir. Çalışmada allojenik DDM küplerinin kemik oluşumu için odak oluşturarak kemik oluşum merkezlerini arttırdığı belirtilmiştir. Bunun sonucunda 90. günde yapılan incelemelerde deneysel grupta yeni kemik oluşumu hem defekt kenarında hem de defekt merkezinde gözlenirken; kontrol grubunda sadece defekt kenarında yeni kemik oluşumunun gözlemlendiği, defekt merkezinde ise konnektif dokunun yer aldığı bildirilmiştir. Bu durum allojenik DDM'nin osteokondüktif özellik göstermesi şeklinde açıklanmıştır (195).

Demineralize dentin partikülleri ile ilgili yapılan çalışmalarda aktif kemik oluşumunun 14. günde başladığı, 6. haftada defektin merkezinde de yeni kemik oluşumunun gözlemlendiği ve DDM'nin osteoindüktif etkisi ile osteojenik hücrelerin çoğalmasını ve aktivasyonunu arttırdığı bildirilmiştir. Çalışmamızda mineralize partikül dentin kullanılmış ve 15. günde greft partikülleri arasında gözlemlenen kemik trabeküllerinin 45. günde daha da artmış olduğu ancak yeni kemik oluşumunun genellikle defektin kenarlarında sınırlı kaldığı belirlenmiştir. 45. günde greft partikülleri etrafında osteoklastik aktivite görülmekle birlikte, greft materyalinin kısmen rezorbe olduğu gözlemlendi. Bu durum inorganik ve kristal yapıdaki HA'nın yüksek sıcaklıkta daha yüksek kristal yapıya sahip olması nedeni ile rezorbsiyonunun güçlenmesine bağlı olabilir. Buna karşın çalışmamızda elde edilen bulgular, çalışmada yüksek sıcaklıkta

yakarak elde ettiğimiz partikül dentinin osteokondüktif özellikte bir greft materyali olduğunu destekler niteliktedir.

Richardson ve ark. orta-ciddi periodontitisi olan 17 sağlıklı hastadaki kemik içi defektlerde Bio-Oss® ile DDKKA kullanımını karşılaştırdıkları çalışmalarında toplam 30 defektten 14'ünü DDKKA ile 16'sını da Bio-Oss® ile doldurarak tedavi etmişlerdir. 6. ayda yapılan kontrol sonrası her iki greft materyalinde de iyileşmede yan etki görülmediği; DDKKA ile tedavi edilen grupta, defektlerin ortalama 2,4 mm (% 46,8), Bio-Oss® ile tedavi edilen grupta ortalama 3,0 mm (% 55,8) kemik ile dolduğu; kretteki rezorpsiyonun DDKKA grubunda $0,7 \text{ mm} \pm 1,3$, Bio-Oss® grubunda $0,8 \text{ mm} \pm 1,2$ oranlarında gerçekleştiği ve her iki greft materyalinin de kemik içi defektlerin tedavisinde tek başlarına kullanılabileceği belirtilmiştir (239).

Otojen dentinin kemik greft materyali olarak kullanıldığı çalışmalarda çekilen gömük yirmi yaş dişleri ya da ortodontik amaçlı çekilen küçük azı dişleri tercih edilmiş ve dentin demineralize edilerek kullanılmıştır. Ortodontik amaçla diş çekilmesi genellikle genç yaşlarda olmaktadır. Bununla birlikte kemik rezorpsiyonu olan ve kemik grefti kullanılması gerek hastalar daha yaşlı hastalardır. Bunun sonucu olarak çekilen diştten DDM elde edilmesiyle, elde edilen DDM'nin greft olarak kullanılması arasında uzun bir zaman dilimi geçmekte ve otojen DDM kemik greft materyali taze olmamaktadır. Yapılan çalışmalarda 10 yıldan fazla oda sıcaklığında kalan DDM'nin osteojenik potansiyelini koruduğu bildirilmiştir. Bunu temel alan çalışmalar çekilen dişlerden likit nitrojen protokolü ile elde edilen DDM'nin on yıldan fazla sakalanabileceğini belirtmektedir (264).

Otojen demineralize dentin matriksinin (ODDM) klinik uygulamasıyla ilk çalışma **Murata ve ark.** tarafından 2003 yılında yapılmıştır. Çalışmada ODDM partiküllerinin maksiller sinüs lifting uygulamasında kemik oluşumuna olan etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Üst çene arka bölgesinde ciddi derecede kemik kaybı olan 48 yaşındaki hastanın oklüzyonda olmayan malpoze dişi çekilerek ODDM elde edilmiştir. ODDM, PRP ve otojen demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik

matriksi ile birlikte sinüs kavitesine uygulanmıştır. Çalışmada membran kullanılmamıştır. Postoperatif 3 ay sonra incelenen bilgisayarlı tomografi görüntülerinde sinüs lifting yapılan bölgede normal kortikal kemik yoğunluğunda radyoopasite izlenmiştir. Postoperatif 5. ayda implantların yerleştirilmesi sırasında alınan biyopsilerin histolojik incelemesinde ODDM'nin yeni kemik oluşumunu uyardığı ve kısmen rezorbe olarak oluşan yeni kemikle kaynaştığı bildirilmiştir. Çalışmada elde edilen bulgular doğrultusunda çekilen dişlerden elde edilen dentin matriksinin osteoindüktif özellik gösteren otojen greft materyali olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (265).

Kim YK ve ark. otojen diş kaynaklı kemik grefti (AutoBT) elde etmek için çekilen dişleri yumuşak doku artıklarından temizledikten sonra 200-1000 µm çapında partikül haline getirmişlerdir. Oluşturdukları partikülleri dehidratasyon, yağlarından arındırma ve liyofilizasyon işlemlerine tabi tuttuktan sonra etilen oksit ile steril ederek paketlemişlerdir. Bu şekilde elde edilen greft materyalinin oda sıcaklığında 5 yıl saklanabileceğini bildirmişlerdir. Yaptıkları klinik çalışmada implant tedavisinde YDR endikasyonu konan 6 hastada, implant yerleştirilmesi sırasında daha önce bireylerden çekilen dişlerden elde ettikleri AutoBT kullanmışlardır. Postoperatif 3. ayda hastaların da izni üzerine ilgili bölgeden alınan doku örneklerinin histolojik incelemesinde AutoBT'nin kısmen rezorbe olduğu ve greft partikülleri etrafında yeni kemik oluşumunun gözlemlendiği bildirilmiştir. Postoperatif 6. ayda yapılan histolojik incelemelerde AutoBT büyük çoğunluğunun rezorbe olduğu ve yerini trabeküler kemiğe bıraktığı saptanmıştır. Çalışmada elde edilen bulguların hem organik hem de inorganik bileşenler içeren AutoBT'nin osteoindüktif ve osteokondüktif etki göstermesi sonucu olduğu bildirilmiştir (24).

AutoBT klinik uygulamalarda sinüs lifting operasyonlarında, alveol kret ogmentasyonunda, çekim soketi korunmasında ve yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu gerektiren işlemlerde kullanılmaktadır.

Çalışmamızda insanlardan çekilen gömük yirmi yaş dişlerinden yakma yöntemi ile elde edilen HA'nın kemik iyileşmesi üzerine olan etkisi koyunlarda oluşturulan defektlerde incelenmiş ve başarılı bulunmuştur. Otojen dişlerden HA elde edilmesiyle

ilgili az sayıda çalışma bulunması bu alanda daha fazla çalışma yapılmasını gerekli kıldığı düşüncesindeyiz.

6. SONUÇ

Sağlıklı insanlardan çekilen gömük 20 yaş diş köklerinin yakılmasıyla elde edilen dentin sement bileşiminin koyunların mandibulasında oluşturulan deneysel defektlerde kemik iyileşmesine olan etkisinin 15. ve 45. günlerde histopatolojik değerlendirmesinin yapıldığı çalışmamızda;

1. Partikül formda hazırlanan dentin sement bileşiminin sadece izotonik sodyum kullanılarak stabilizasyonunun sağlanabildiği,
2. Deney gruplarında nekroz oluşumu ve yabancı cisim reaksiyonunun gözlemlenmediği,
3. 45. gün sonunda deney gruplarında defektleri dolduran kemik dokusunun lameller biçim almaya başladığı, kalan greft materyalleri çevrelerinde belirgin osteoklastik hücre aktivitelerinin olduğu ve greft materyallerinin rezorbe olmaya başladığı,
4. 45. gün sonunda deney ve kontrol grupları arasındaki kemik iyileşmesine ve yeni kemik yapımına yönelik parametreler değerlendirildiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken gruplar içi değerlendirmede 45. gündeki yeni kemik oluşumu yüzdesi, 15. gün'den istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunduğu saptanmıştır.

Önce 350 C°'de 4 saat, sonra 800 C°'de 4 saat yakılmasıyla elde edilen dentin-sement bileşiminin XRD analizinde materyalin yüksek kristalinite göstermesinin yakma işlemiyle ilişki olduğunu belirtebiliriz. Bununla birlikte materyalin yüksek oranda HA ile uyumlu olduğunun belirlenmesi diş dokusundan biyolojik uyumu iyi olan HA'nın elde edilebileceğini gösteren diğer çalışmalarla da benzerlik göstermektedir. Bu durum dental atık olarak değerlendirilen gömük yirmi yaş dişleri ve ortodontik amaçla çekilen dişlerin kemik grefti olarak kullanılabileceğini desteklemektedir.

Yaptığımız çalışmada dişler yakılarak organik bileşenler tamamen elimine edilmiştir. İleride yapılması düşünülen çalışmalarda;

- Farklı sıcaklık derecelerinin materyalin kristalizasyonuna olan etkisi
- Farklı partikül boyutlarında hazırlanan dentin partiküllerinin kemik yapımına olan etkisi
- Histomorfometrik analizlerle birlikte sonuçların bilgisayarlı tomografi ile de incelenmesi
- Otojen dişlerin deprotenize ve demineralize edilerek klinik kullanımın sağlanabileceğinin değerlendirilmesinin araştırılabileceği düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Atay M, Yılmaz R. İki Farklı Kemik Greftinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi. *Dicle Tıp Dergisi* 2005; **32**(4): 172-178.
2. Aaboe M, Pinholt ME, Hjorting-Hansen E. Healing of Experimentally Created Defects: A Review. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 1995; **33**(5): 312-318.
3. Kömürcü E, İnanmaz ME, Işık C, Akan B, Köse KÇ. Kemik Yerine Geçen Biyomateryaller 1. Kısım: İnsan Kaynaklı Greftler. *Düzce Tıp Dergisi* 2011; **13**(2): 59-61.
4. Tuskan C, Yaltirik M. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Biyomateryaller. *İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Yayınları* 2002; 17-52.
5. Bauer TW, Smith ST. Bioactive materials in orthopaedic surgery: overview and regulatory considerations. *Clin Orthop*. 2002; **395**: 11-22.
6. Paderni S, Terzi S, Amendola L. Major bone defect treatment with an osteoconductive bone substitute. *Musculoskelet Surg*. 2009; **93**(2): 89-96.
7. Şimşek A, Çakmak G, Cila E. Kemik greftleri ve kemik greftlerinin yerini tutabilecek maddeler. *Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği Dergisi* 2004; **3**(3-4): 21-34.
8. Kökden A, Türker M. Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan kemik greftleri ve biyomateryaller. *Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi* 1999; **2**(2): 134-140.
9. Gazdag AR, Lane JM, Glaser D, et al. Alternatives to Autogenous Bone Graft: Efficacy and Indications. *J Am Acad Orthop Surg*. 1995; **3**: 1-8.
10. Bauer TW, Muschler GF. Bone Graft Materials: An overview of the basic science. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 2000; **371**: 10-27.
11. Lane JM, Sandhu HS. Current Approaches to Experimental Bone Grafting. *Orthop Clin North Am*. 1987; **18**(2): 213-25.
12. Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science* 1965; **150**(3698): 893-899.

13. Aneja A, Krantz C, Tucci M, Benghuzzi HA. Use of demineralized bone matrix protein in osteoporotic rats: a histological evaluation. *Biomed Sci Instrum.* 2009; **45**: 36-41.
14. Garg AK. *Bone: Biology, harvesting, grafting for dental implants.* Berlin: Quintessence; 2004.
15. Kasabah S, Simunek A, Krug J, Lecaro MC. Maxillary Sinus Augmentation with Deproteinized Bovine Bone (Bio-Oss) and Impladent Dental Implant System. Part II. Evaluation of Deproteinized Bovine Bone (Bio-Oss) and Implant Surface. *Acta Medica (Hradec Kralove)* 2002; **45**(4): 167-71.
16. Bozkaya S. Maksillofasiyal Cerrahide Kemik Rejenerasyonunu Kolaylaştırmak için Greft Materyali Olarak Deproteinize Sığır kemiği Minerali (Bio-Oss®)'in Kullanımı. *Klinik Bilimler Dergisi* 2006; **1**(1): 61-70.
17. Artzi, Z, Nemcovsky, CE, Tal H, Dayan D. Histopathological morphometric evaluation of different hydroxyapatite-bone derivatives in sinus augmentation procedures: A comparative study in humans. *J Periodontol* 2001; **72**: 911–920.
18. Aichelmann-Reidy ME, Yukna RA. Bone Replacement Grafts: The Bone Substitutes. *Dent Clin North Am.* 1998; **42**(3) :491-503.
19. Misch CE, Dietsh F. Bone-grafting materials in implant dentistry. *Implant Dent.* 1993; **2**(3): 158-167.
20. Jensen SS, Bosshardt DD, Buser D. Bone grafts and bone substitute materials. İçinde Buser D editor. *20 years of guided bone regeneration* 2nd ed. Berlin: Quintessence; 2009. pp. 71-96.
21. Park SS, Kim SG, Lim SC, Ong JL. Osteogenic activity of the mixture of chitosan and particulate dentin. *J Biomed Mater Res A.* 2008; **87**(3): 618-23.
22. Kim SG. Bone grafting using particulate dentin. *Key Eng Mater.* 2007; **342**: 29–32.
23. Brydone AS, Meek D, MacLaine S. Bone grafting, orthopaedic biomaterials, and the clinical need for bone engineering. *Proc Inst Mech Eng H.* 2010; **224**(12): 1329-43.
24. Kim YK, Kim SG, Byeon JH, Lee HJ, Um IU, Lim SC, Kim SY. Development of a novel bone grafting material using autogenous teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010; **109**(4): 496-503

25. Constantino PD, Freidman CD. Synthetic bone graft substitutes. *Otolaryngol Clin North Am.* 1994; **27**: 1037-73.
26. Kim YK, Lee J, Um IW, Kim KW, Murata M, Akazawa T, Mitsugi M. Tooth derived bone graft material. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg.* 2013; **39**(3): 103-11.
27. Kim YK, Yeo HH, Ryu CH, Lee HB, Byun UR, Cho JE. An experimental study on the tissue reaction of toothash implanted in mandible body of the mature dog. *J Korean Maxillofac Plast Reconstr Surg.* 1993; **15**: 129-36.
28. Yoshida T, Vivatbutsiri P, Morriss-Kay G, Saga Y, Iseki S. Cell lineage in mammalian craniofacial mesenchyme. *Mech Dev.* 2008; **125**: 797-808.
29. Kim YK, Lee JK, Kim KW, Um IW, Murata M. Healing Mechanism and Clinical Application of Autogenous Tooth Bone Graft Material. In: *Advances in Biomaterials Science and Biomedical Applications*. Chapter 16. Pignatello R. editor. *Materials Science, Biomaterials*; 2003. p. 405-435. <http://dx.doi.org/10.5772/53200>.
30. Kim YK. Bone Graft Material Using Teeth. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg.* 2012; **38**: 134-8.
31. Feng JQ, Luan X, Wallace J, Jing D, Ohshima T, Kulkarni AB, et al. Genomic organization, chromosomal mapping, and promoter analysis of the mouse dentin sialophosphoprotein (Dspp) gene, which codes for both dentin sialoprotein and dentin phosphoprotein. *J Biol Chem.* 1998; **273**: 9457-64.
32. Bessho K, Tagawa T, Murata M. Purification of rabbit bone morphogenetic protein derived from bone, dentin, and wound tissue after tooth extraction. *J Oral Maxillofac Surg.* 1990; **48**: 162-9.
33. Ike M, Urist MR. Recycled dentin root matrix for a carrier of recombinant human bone morphogenetic protein. *J Oral Implantol.* 1998; **24**: 124-32.
34. Murata M. Bone engineering using human demineralized dentin matrix and recombinant human BMP-2. *Hard Tissue Biol.* 2005; **14**: 80-1.
35. Murata M, Akazawa T, Hino J, Tazaki J, Ito K, Arisue M. Biochemical and histomorphometrical analyses of bone and cartilage induced by human decalcified dentin matrix and BMP-2. *Oral Biol Res.* 2011; **35**: 9-14.
36. Moharamzadeh K, Freeman C, Blackwood K. Processed bovine dentine as a bone substitute. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2008; **46**(2): 110-3

37. Kim YK, Yeo HH, Yang IS, Seo JH, Cho JO. Implantation of toothash combined with plaster of Paris: experimental study. *J Korean Assoc Maxillofac Plast Reconstr Surg*. 1994; **16**: 122-9.
38. Oktar FN, Sayrak H, Ozsoy S, Heybeli N. Histological study on a novel bone graft substitute: Human derived tooth-hydroxyapatite compared with coralline hydroxyapatite. *Engineering in Medicine and Biology Society, 2001. Proceedings of the 23rd Annual International Conference of the IEEE*. 2001; **3**: 3005-3008.
39. Vargas G, Méndes M, Méndes J, Lopes J. Thermal processing of compact bovine bone. *Proceedings of the 10 th Int. Sym, on Ceram, in Med*. 1997; **10**: 565-568.
40. Kim YK, Kim SG, Oh JS, Jin SC, Son JS, Kim SY, et al. Analysis of the inorganic component of autogenous tooth bone graft material. *J Nanosci Nanotechnol*. 2011; **11**: 7442-5.
41. Kim GW, Yeo IS, Kim SG, Um IW, Kim YK. Analysis of crystalline structure of autogenous tooth bone graft material: X-Ray diffraction analysis. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg*. 2011; **37**: 225-8.
42. Kim YK, Kim SG, Yun PY, Yeo IS, Jin SC, Oh JS, Kim HJ, Yu SK, Lee SY, Kim JS, Um IW, Jeong MA. Autogenous teeth used for bone grafting: a comparison with traditional grafting materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2012 Aug 29. [Epub ahead of print].
43. Kim BK, Kim SG, Kim SY, Lim SC, Kim YK. A comparison of bone generation capability in rabbits using tooth ash and plaster of Paris with platelet-rich plasma or fibrin sealant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010; **110**(3): 8-14
44. Kim SG, Kim HK, Lim SC. Combined implantation of particulate dentine, plaster of Paris, and a bone xenograft (Bio-Oss) for bone regeneration in rats. *J Craniomaxillofac Surg*. 2001; **29**: 282-8.
45. Choi DK, Kim SG, Lim SC. The effect of particulate dentin– plaster of Paris combination with/without fibrin glue in the treatment of bone defects around implants. *Hosp Dent (Tokyo)* 2007; **19**: 121-6.

46. Kim WB, Kim SG, Lim SC, Kim YK, Park SN. Effect of Tisseel on bone healing with particulate dentin and plaster of Paris mixture. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010; **109**: 34-40.
47. Arıncı K, Elhan A. *Anatomi.* 3. Baskı. Ankara:Güneş Kitapevi; 2001. s: 1-5.
48. Roberts WE, Hartsfield JK Jr. Bone development and function: genetic and environmental mechanisms. *Semin Orthod.* 2004; **10**: 100–122.
49. Junguiera LC, Carneiro J, Kelley RO. *Temel Histoloji.* 8.Baskı. İstanbul: Barış Kitabevi Ltd. Sti; 1998; 132-151.
50. Sommerfeldt DW, Rubin CT. Biology of bone and how it orchestrates the form and function of the skeleton. *Eur Spine J.* 2001; **10**(2): 86-95.
51. Miller JD, McCreddie BR, Alford AI, Hankenson KD, Goldstein SA. *Form and function of bone.* In: Einhorn TA, O’Keefe RJ, Buckwalter JA, editors. *Orthopaedic basic science. Foundations of clinical practice.* 3rd ed. Rosemont: American Academy of Orthopaedic Surgeons; 2007. p. 129-59.
52. Ward BB, Edwards SP, Feinberg SE. Healing of traumatic injuries. In: *Oral and Maxillofacial Trauma.* In Fonseca RJ, Walker RV, Betts NJ, Barber HD, Powers MP, editors. Third Ed. Elsevier Saunders, Philadelphia; 2005. p.5-67.
53. Carranza F.A. *Bone loss and patterns of bone destruction* In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA (eds). *Carranza’s Clinical Periodontology.* 9. ed. Philadelphia: W.B. Saunders Publishing; 2002. p.354-358.
54. Baron R. Anatomy and ultrastructure of bone. İçinde Favus M, editor. *Primer on the Metabolic Bone Disease and Disorder of Mineral Metabolism.* 4th ed. Lippincottwilliams&Wilkins, 1999.
55. Jee WSS. *İntegrated Bone Tissue Physiology: Anatomy and Physiology.* In: Cowin SC, editor. *Bone Mechanics Handbook.* 2.ed. CRC Press, Florida; 2001. p.1-68.
56. Mercan AŞ. Farklı Antiembolik Ajanların Kırık İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Ratlarda İncelenmesi. T.C. Sağlık Bakanlığı Baltalimanı Metin Sabancı Kemik Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1. Ortopedi Ve Travmatoloji Kliniği, Uzmanlık Tezi 2008; İstanbul.
57. Ashammakhi N, Ferretti P. *Topics in tissue engineering.* (Electronic book). 2003; **1**: Chapter 7:1-46.

58. Kierszenbaum Al. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*. 1th ed. Ankara: Palme Yayıncılık; 2006. p. 95-144
59. Martin RB, Burr DB. *Mechanical adaptation, in Structure, Function and Adaptation Of Compact Bone*. New York: Raven Press; 1989. chaps.2,4,7 and 8.
60. Ten Kate AR. *Oral Histology*. 4th ed. St Louis: Mosby; 1994. pp. 120-146.
61. Gönülol E. Kemik Defektlerinde Kullanılan Farklı Greft Materyallerinin Tavşanlarda Lipit Peroksidasyon Oluşumu Üzerine Etkisi, Doktora Tezi 2010; Samsun.
62. Gartner LP, Hiatt JL. *Color textbook of Histology*. Philadelphia: Saunders, Elsevier; 2001.
63. Junqueira LC, Carneiro J. *Basic Histology Text & Atlas*. New York: The McGraw-Hill Co; 2007; Chap. 8.
64. Fawcett DW. Bloom and Fawcett: *A Textbook of Histology*. Twelfth Edition. New York: Chapman & Hall; 1994.
65. Wang X, Nyman JS, Dong X. *Fundamental Biomechanics in Bone Tissue Engineering Synthesis Lectures on Tissue Engineering #4*. Morgan & Claypool Publishers; 2010.
66. Sanrı M. Cerrahi Olarak Oluşturulan Kemik Defektlerinde Sığır Kaynaklı Anorganik Kemik Grefti ve Kanama Durdurucu Bitki Ekstresinin Kombine Kullanımının Kemik Rejenerasyonuna Etkisi. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi 2013; Adana.
67. Akay MT. *Genel Histoloji*. Beşinci Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 2001.
68. Cowin SC. *Bone Mechanics Handbook*. Boca, Raton, London, New York, Washington: CRC Press. 2001; Bölüm 1: 1-68.
69. Bancroft JD, Stevens A. *Theory and Practice of Histological Techniques*. 4th ed. Churchill Livingstone; 1996. p.309-339.
70. Erdoğan D, Hatipoğlu M, Görgün M, Ilgaz C. *Genel Histoloji*, İkinci baskı. Ankara: Hatipoğlu Yayınevi; 1999.
71. Ozaki A. Role of fracture hematoma and periosteum during fracture healing in rats. Interaction of fracture hematoma and the periosteum in the initial step of the healing process. *J Orthop Sci*. 2000; **5**(1): 64-70.

72. Taşkaldıran A. Trombositten Zengin Plazma Ve Trombositten Zengin Fibrin Yapılarının Kemik İyileşmesi Üzerindeki Etkilerinin Hayvan Modelinde Karşılaştırılması. Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi 2013; Kırıkkale.
73. Manson PN. Facial Bone Healing and Bone grafts. *Clin, Plast, Surgery*. 1994; **21**(3): 331-348.
74. Delacure MD. Physiology of Bone Healing and Bone grafts. *Otolaryngol. Clin. North Am*. 1994; **27**(5): 859-73
75. Weiner S, Traub W, Wagner HD. Lamellar bone: structure function relations. *J Struct Biol*. 1999; **126**: 241-55.
76. Korkusuz F, Tomin E, Yetkinler DN, Timuçin M, Öztürk A, Korkusuz P. Yapay kemik dokusu. *TOTBİD Dergisi*. 2011; **10**(2): 134-142.
77. Lindhe J, Karring T, Lang NP. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. 4th Ed. Oxford: Blackwell Publishing Company; 2003.
78. Görmez U. Dental İmplant Çevresinde Cerrahi Olarak Oluşturulan Kemik Defektlerinde Sığır Kaynaklı Laktoferrinin Kemik Rejenerasyonuna Etkisi. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi 2008; Adana.
79. Soydan N. *Genel Histoloji*. Birinci Baskı. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları; 1992.
80. Ömeroğlu H. Kas İskelet Sisteminde Temel Anatomik Oluşumların Yapısı, İşlevi, İyileşmesi Ve Kemik Metabolizması. *TOTBİD Dergisi* 2010; **9**(2): 78-84.
81. Turner CH. Bone strenght: current concepts. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2006; **1068**: 429-446.
82. Brinker MR, O'Connor DP. *Basic sciences*. In: Miller MD, editor. *Review of orthopaedics* 5th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2008. p. 1-132.
83. Dindar B. Deneyisel Kemik Defektlerinde Lokal Olarak Uygulanan Simvastatinin İyileşme Üzerine Etkilerinin Histopatolojik Yöntemler İle İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi 2012; İstanbul.

84. Friedenstein AJ. Determined and inducible osteogenic precursor cells. In: *Hand Tissue Growth Repair and Remineralisation. Aba Foundation Symposium*. 1973; **11**:169-181.
85. Lynch SE, Genco RJ, Marx RE. *Tissue Engineering*. Illinois: Quintessence books; 1999. p. 217-226.
86. Minkin C, Marinho VC. Role of the Osteoclast at the Bone-Implant Interface. *Adv. Dent. Res*. 1999; **13**: 49-56.
87. Khan SF, Bostrom MPG, Lane JM. Bone growth factors. *Orthop Clin North Am*. 2000; **31**: 375-389
88. Yıldırım A, Tunik S, Çetin Ç, Akkuş M. Osteogenezde Fibroblast Büyüme Faktörleri (Fbf) ve Kemik Morfogenetik Proteinlerin (Kmp) Rolü. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2009; **16**(2): 135-140.
89. Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P. *Netter Temel Histoloji*. Ankara: Güneş Kitabevleri; 2009. p.139
90. Leeson T, LeesonR, Raparo A. *Text and Atlas of Histology*. Philadelphia: WB. Saunders Co; 1988.
91. Miclau III T, Bozic KJ, Tay B, Kim HT, Colnot C, Puttlitz CM, et al. *Bone injury, regeneration and repair*. In: Einhorn TA, O'Keefe RJ, Buckwalter JA, editors. 3rd ed. Rosemont: American Academy of Orthopaedic Surgeons; 2007. p. 331-48.
92. Miloro M, Ghali GE, Larsen PE, Waite PD. *Peterson's Oral and Maxillofacial surgery*. 2. Ed. London: BC Decker Inc Hamilton; 2004.
93. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. *Robbin's Pathologic Basis of Disease*. Fifth Ed. London: WB Saunders Co; 1994.
94. Frost HM. The biology of fracture healing. An overview for clinicians. Part I. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 1989; **248**: 283-293.
95. Brond AR, Rubin TC. Fracture Healing. Surgery of the Musculoskeletal System. 2nd ed. New York: Churchill Livingstone; 1990. p.93-114
96. Kılıçoğlu SS. Mikroskopi Düzeyinde Kırık İyileşmesi. *AÜTF Dergisi* 2002; **55**(2): 143-150.
97. Hayda RA, Brighton CT, Esterhai JL Jr. Pathophysiology of delayed healing. *Clin Orthop Relat Res*. 1998; **355** :31-40.

98. Hiltunen A, Aro HT, Vuono E. Regulation of extracellular matrix genes during fracture healing in mice. *Clin Orthop*. 1993; **297**: 23-27.
99. Schindeler A, McDonald MM, Bokko P, Little DG. Bone remodeling during fracture repair: The cellular picture. *Semin Cell Dev Biol*. 2008; **19**(5): 459-466.
100. Mehrara BJ, McCarthy M. *Repair and grafting of bone*. In: Mathes SJ, editor. Plastic surgery Vol 1. Second edition. Saunders; 2005. p. 639-705.
101. Yılmaz C, Erdemli E, Selek H, Kınık H, Arıkan M. The Contribution of Vitamin C to Healing of Experimental Fractures. *Arch Trauma Surg*. 2001; **121**: 426-8.
102. Lind M, Bunger C. Factors stimulating bone formation. *Eur Spine J*. 2001; **10**: 102-109.
103. Wozney JM, Rosen V, Byrne M, et al. Growth factors influencing bone development. *J Cell Sci Suppl*. 1990; **3**: 149.
104. Gronowicz GA, McCarthy MB. Glucocorticoids inhibit the attachment of osteoblasts to bone extracellular matrix proteins and decrease integrin levels. *Endocrinology* 1995; **136**: 598-608.
105. Çankaya B. Deneysel Olarak Oluşturulan Kemik Defektlerinde İki Farklı Kriyojen Madde Olan Sıvı Nitrojen ve Karbondioksit Gazı Uygulamasının Kemik İyileşmesi Üzerine Olan Etkilerinin Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı 2006; İstanbul.
106. Einhorn TA. Clinical Applications of Recombinant Human BMPs: Early Experience and Future Development. *J. Bone Joint Surg*. 2003; **85A**(3): 82-88.
107. Bernard GW: Healing and Repair of Osseous Defects. *Dent Clin North Am*. 1991; **35**(3): 469.
108. Elsalanty ME, Genecov DG. Bone grafts in craniofacial surgery. *Craniofac Trauma Reconstruction* 2009; **2**: 125-134.
109. Urist MR, Silverman BF, Buring K, Dubuc FL, Rosenberg JM. The bone induction principle. *Clin Orthop*. 1967; **53**: 243-83.
110. Craft PD, Sargent LA. Membranous Bone Healing and Techniques in Calvarial Bone Grafting. *Clin. Plast. Surg*. 1989; **16**(1): 11-19

111. Urist MR, O'conner BT, Burwell RG. *Bone Grafts, Derivatives and Substitutes*. Oxford: Butterworth-Heinemann Ltd; 1994.
112. Manhin JH, Doppelt S, Tomlord W. Clinical Experience with Allograft Implantation. *Clin Orthop*. 174; **69**: 1983.
113. Şener N, Özger H. Kemik greftleri ve kemik bankaları. *Acta Orthop Traumatol Turc*. 1995; **29**: 335-338.
114. Shegarfi H, Reikeras O. Review article: Bone transplantation and immune response. *J Orthop Surg (Hong Kong)*. 2009; **17**(2): 206-11.
115. Plominski J, Watral Z, Kwiatkowski K. Dynamic testing of bone grafts. *Acta Bioeng Biomech*. 2008; **10**(4): 27-31.
116. Alfaro FH, Opispo CA, Biosca MJ, Díez EG, Medina JG, Pages CM. *Bone Grafting in Oral Implantology Techniques and Clinical Applications*. 1th edition. Barcelona: Quintessence books; 2006. p. 9-24
117. Benlidayı ME. Sinüs Tabanı Greftlemesi ve Eş Zamanlı İmplant Yerleştirme İşlemlerinde Sığır Kaynaklı Spongioz Hidroksiapatit Blok ve Granül Hidroksiapatit Greft Materyallerinin Deneysel Olarak Karşılaştırılması. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi 2008; Adana.
118. Perry CR. Bone repair techniques bone grafts and bone substitutes. *Clin Orthop*. 1999; **360**: 71-86.
119. Albrektsson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J*, 2001; **10**: 96-101.
120. Sandor GKB, Lindholm TC, Clokie CML. In: Askahammakhi N, Ferretti P, editors. *Bone regeneration of the craniomaxillofacial and dento-alveolar skeletons in the framework of tissue engineering*. Topics in Tissue Engineering; 2003. pp.1-46.
121. Misch CE. *Bone augmentation for implant placement: Keys to bone grafting*. In: Misch CE Ed. Contemporary Implant Dentistry, St. Louis: Mosby; 1999. p. 451-469.
122. Moore WR, Graves SE, Bain GI. Synthetic bone graft substitutes. *ANZ J Surg*. 2001; **71**(6): 354- 361.
123. Goldberg VM. Bone grafts and their substitutes: facts, fiction, and futures. *Orthopedics* 2001; **24**(9): 875-6.

124. Adem A. Yağlı Kalsiyum Hidroksit Süspansiyonun ve Ksenogreft + Trombositten Zengin Plazma (Tzp) Karışımının Deneysel Olarak Kemik Defektlerinde Uygulanmasının Kemik İyileşmesi Üzerine Olan Etkilerinin Karşılaştırmalı Olarak Histolojik Değerlendirilmesi İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi 2007; İstanbul.
125. Ersu B. İmplant Dişhekimliğinde Kullanılan Ağız İçi Otojen Kemik Greftleri. *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 2007; **10**(2): 135-140.
126. Misch CM, Misch CE. *Intraoral autogenous donor bone grafts for implant dentistry*. In: Misch CE Ed. Contemporary implant dentistry, St. Louis: C.V. Mosby; 1999. p. 497-508.
127. Atılğan SS. Kalsiyum Sülfat Partikülleri ile β -Trikalsiyum Fosfat/Hidroksiapatit Granüllerinin Kemik İçi Kavitelelerinde Osteogenezis Üzerine Olan Etkilerinin Deneysel Olarak Karşılaştırılması. Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız-Diş-Çene Hastalıkları Ve Cerrahisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi 2006; Diyarbakır.
128. Silva FM, Cortez AL, Moreira RW, Mazzonetto R. Complications of intraoral donor site for bone grafting prior to implant placement. *Implant Dent*. 2006; **15**(4):420-426.
129. Dayangaç E. Mandibuler Onlay Greft Uygulamalarında Kortikal Perforasyonun Kemik İyileşmesine Olan Etkisinin Histolojik ve Radyolojik Olarak İncelenmesi. Başkent Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi 2008; Ankara.
130. Buck BE, Malinin TI. Human bone and tissue allografts. Preparation and safety. *Clin Orthop Relat Res*. 1994; 303: 8-17.
131. Betz RR. Limitations of autograft and allograft. New synthetic solutions. *Orthopedics*. 2002; **25**: 561-70.
132. Cornu O, Libouton X, Naets B, Godts B. Freeze dried irradiated bone brittleness improves compactness in an impaction bone grafting model. *Acta Orthop Scand*. 2004; **75**: 309-314.

133. Swenson CL, Arnoczky SP. Demineralization for inactivation of infectious retrovirus in systemically infected cortical bone: in vitro and in vivo experimental studies. *J Bone Joint Surg A*. 2003; **85**-A(2): 323-32.
134. Kaya Y, Şahin S. Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftlerinin periodontal kemik defektlerinde uygulanımı ve son gelişmeler. *Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 2010; **34**(1-2): 37-45.
135. Zhang M, Powers R, Wolfinbarger L. Effects of Demineralization Process on the Osteoinductivity of Demineralized Bone Matrix. *J Periodontol* 1997; **68**: 1085- 1092.
136. Urist MR, Dawson E. Intertransverse process fusion with the aid of chemosterilized autolyzed antigen-extracted allogenic (AAA) bone. *Clin Orthop*. 1981; **154**: 97-113.
137. Finkemeier CG. Bone-grafting and bone-graft substitutes. *J Bone Joint Surg Am*. 2002; **84**-A(3): 454-64.
138. Rekow D. Informatics challenges in tissue engineering and biomaterials. *Adv. Dent. Res*. 2003; **17**: 49- 54.
139. Bozkaya S, Karaca İ, Oygür T, Barış E. Deproteinize Kemik Grefti (Bio-Oss®)'nin Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisinin Deneysel Olarak İncelenmesi. *Klinik Bilimler Dergisi* 2008; **2**(2): 87-97.
140. Peetz M. Characterization of xenogenic bone material. In: Boyne PJ, Evensen L. Eds. *Osseous reconstruction of the maxilla and the mandible: surgical techniques using titanium mesh and bone mineral*. Carol Stream: Quintessence Publishing; 1997.p. 87–100.
141. Klinge B, Alberius P, Isaksson S, Jönsson J. Osseous response to implanted natural bone mineral and synthetic hydroxylapatite ceramic in the repair of experimental skull bone defects. *J Oral Maxillofac Surg*. 1992; **50**(3): 241-249.
142. Karaca İ, Türker M, Akbay C. Experimental Investigation of Bone Regeneration Using Pyrost in Animals. *J.Nihon Univ.Sch.Dent*. 1994; **36**: 95-101.
143. Karaca İ, Çılbır Ö, Sabuncuoğlu B, Akbay C. Saf Mineralize Kemik Grefti Pyrostun Membranlı ve Membransız Uygulamalarının Kemik İyileşmesi Üzerindeki Etkilerinin Deneysel Olarak İncelenmesi. *Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi* 1999; **2**(2): 91-97.

144. Carmagnola D, Berglundh T, Lidhe J. The Effect of a Fibrin Glue on the Integration of Bio-Oss with Bone Tissue. A Experimental Study in Labrador Dogs. *J Clin Periodontol* 2002; **29**(5): 377-83.
145. Dumitrescu AL. *Chemicals in Surgical Periodontal Therapy. Bone Grafts and Bone Graft Substitutes in Periodontal Therapy*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2011. p. 73-144
146. Khan SN, Tomin E, Lanr JM. Clinical applications of bone graft substitutes. *Orthop Clin North Am*. 2000; **31**: 389-96.
147. Allison DC, Lindberg AB, Samimi B. A Comparison of Mineral Bone Graft Substitutes for Bone Defects. *US Oncology & Hematology* 2011; **7**(1): 38–49.
148. Horch HH, Sader R, Pautke C, Neff A, Deppe H, Kolk A. Synthetic, pure-phase beta-tricalcium phosphate ceramic granules (Cerasorb) for bone regeneration in the reconstructive surgery of the jaws. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2006; **35**(8): 708-713.
149. Jensen OT. *The Sinus Bone Graft*. 2nd edition. Colorado: Quintessence books; 2006. p. 3-41.
150. Turner TM, Urban RM, Gitelis S, Haggard W, Richelsoph K. Resorption evaluation of a large bolus of a calcium sulfate in a canine medullary defect. *Orthopedics* 2003; **26**: 577-9.
151. Hall EE, Meffert RM, Hermann JS, Mellonig JT, Cochran DL. Comparison of bioactive glass to demineralised freeze-dried bone allograft in the treatment of intrabony defects around implants in the canine mandible. *J Periodontol* 1999; **70**: 526-535.
152. Köylüoğlu AÖ. Tavşanlarda Deri Altı ve Kas İçi Paris Alçısı İmplantasyonu. *E.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 1977; **2**(2): 241-257.
153. Öztürk Ö. Diş Hekimliği Cerrahisinde Kullanılan Biyomateryaller. Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Hastalıkları Cerrahisi Anabilim Dalı, Bitirme Tezi 2003; İzmir.
154. Nuss KMR and von Rechenberg B. Biocompatibility Issues with Modern Implants in Bone - A Review for Clinical Orthopedics. *Open Orthop J*. 2008; **2**: 66–78
155. Li Y, Nothnagel J, Kissel T. Biodegradable brush-like graft polymers from poly (D,L-lactide) or poly (D,L-lactideco-glycolide) and charge-modified,

- hydrophilic dextrans as backbone-Synthesis, characterization and in-vitro degradation properties. *Polymer* 1997; **38**(25): 6197-6206.
156. Stahl SS, Froum SJ, Tarnow D. Human clinical and histologic responses to the placement of HTR polymer particles in 11 intrabony lesions. *J Periodontol* 1990; **61**: 269-274.
 157. Gray JL, Hancock EB. Guided tissue regeneration. Nonabsorbable barriers. *Dent Clin North Am.* 1998; **42**: 523-41.
 158. Toygar HU, Arpak MN, Güzeldemir E. Farklı İki Yapıda Membran Kullanılarak Gerçekleştirilen Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu Tekniğinin 5 Yıllık Klinik Sonuçlarının Değerlendirilmesi. *A.Ü. Diş Hek. Fak. Derg.* 2006; **33**(1): 89-96.
 159. Caffese RG, Becker W. Principles and Techniques of Guided Tissue Regeneration. *Dent.Clin. North. Am.* 1991; **35**: 479- 494.
 160. Develioğlu H, Taner İl. Duramater Membranın Proksimal Kemikçi Defektlerinde Kullanımı. *Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi* 2000; **3**: 99-101.
 161. Nyman S, Gottlow J, Karring T, Lindhe J. The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey. *J Clin Periodontol* 1982; **9**: 257-265.
 162. Çehreli FG. Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonuna Yönelik Periodontal Cerrahi Girişimler. *Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg.* 2003; **13**(2): 76-83.
 163. Alberius P, Dahlin C, Linde A. Role Of Osteopromotion in Experimental Bone Grafting To The Skull. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 1992; **50**: 829-34,
 164. Linde A, Thorén C, Dahlin C, Sandberg E. Creation of New Bone by an Osteopromotive Membrane Technique: An Experimental Study in Rats. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 1993; **51**: 892-7.
 165. Mundell RD, Mooney MP, Siegel ML, Losken A. Osseous Guided Tissue Regeneration Using a Collagen Barrier Membrane. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 1993; **51**: 1004-12.
 166. Malmquist JP. Successful implant restoration with the use of barrier membranes. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 1999; **57**(9): 1114-6.
 167. Wang H, Boyapati L. 'PASS' principles for predictable bone regeneration. *Implant Dentistry* 2006; **15**: 8-17.

168. Cortellin LP, Prato G, Baldi C, Clauser C. Guided Tissue Regeneration with Different Materials. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 1990; **10**: 137-151.
169. Caffesse RG, Nasjleti CE, Morrison EC, Sanchez R. Guided tissue regeneration: comparison of bioabsorbable and non-bioabsorbable membranes. Histologic and histometric study in dogs. *J Periodontol* 1994; **65**: 583-91.
170. Simion M, Baldoni M, Rossi P, Zaffe D. A comparative study of the effectiveness of e-PTFE membranes with and without early exposure during the healing period. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1994; **14**: 167-180.
171. Fontana F, Santoro F, Maiorana C, Iezzi C, Piatelli A, Simion M. Clinical and histological evaluation of allogeneic bone matrix versus autogenous bone chips associated with titanium reinforced e-PTFE membrane for vertical ridge augmentation: A prospective pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008; **23**: 1003-1012.
172. Bornstein M, Von Arx T, Bosshardt DD. Properties of barrier membranes. İçinde Buser D editor. *20 years of guided bone regeneration in implant dentistry*. 2th edition. Berlin: Quintessence; 2009. pp. 47-69.
173. Alptekin NÖ, Gözlü M. Dişeti Çekilmelerinin Tedavisinde “Kollajen Bariyer Membran ile Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu” ve “Bağdokusu ile Yarım Kalınlık Çift Saplı Greft” Operasyonlarının Karşılaştırılması. *Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg.* 1999; 9(1): 5-14.
174. Stavropoulos F, Dahlin C, Ruskin JD, Johansson C. A comparative study of barrier membranes as graft protectors in the treatment of localized bone defects. An experimental study in a canine model. *Clin Oral Impl Res.* 2004; **15** :435-42.
175. Karaman GT. Türk Toplumunda Üst 1. ve 2. Büyük Azı Dişlerinin Kanal Morfolojileri ve Yaş - Cinsiyete Bağlı Gösterdikleri Değişiklikler. Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi 2008; Ankara
176. Oi T, Saka H, Ide Y. Three-dimensional observation of pulp cavities in the maxillary first premolar tooth using micro-CT. *Int Endod J.* 2004; **1**: 46-51
177. Asarkaya B. Yeni Nesil Adeziv Sistemler. Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı, Bitirme Tezi 2011; İzmir.

178. Öztürk N, Öztürk F. Dentin Bonding Ajanlar ve Simantasyon. *Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi* 2001; **4**: 10-12.
179. Ulu G, Kırzioğlu Z. Dentin Geçirgenliği Ve Dentin Geçirgenliğini Etkileyen Faktörler: Derleme. *Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg.* 2012; **6**: 60-65.
180. Pashley DH. *Pulpodentin Complex*. In: *Seltzer and Bender's Dental Pulp*. KM Hargreaves, HE Goodis. Quintessence Publishing Co; 2002. p.63-85.
181. Bhaskar SN. *Orban's oral histology and embryology*. 9th ed. Saint Louis: Mosby Co; 1980. p. 47, 107, 180, 252.
182. Lee DD, Glimcher MJ. Three-dimensional spatial relationship between the collagen fibrils and the inorganic calcium phosphate crystals of pickerel (*Americanus americanus*) and herring (*Clupea harengus*) bone. *J Mol Biol.* 1991; **217**: 487-501.
183. Schmidt-Schultz TH, Schultz M. Intact growth factors are conserved in the extracellular matrix of ancient human bone and teeth: a storehouse for the study of human evolution in health and disease. *Biol Chem.* 2005; **386**: 767-76.
184. Nampo T, Watahiki J, Enomoto A, Taguchi T, Ono M, Nakano H, et al. A new method for alveolar bone repair using extracted teeth for the graft material. *J Periodontol* 2010; **81**: 1264-72.
185. Hanamura H, Higuchi Y, Nakagawa M, Iwata H, Nogami H, Urist MR. Solubilized bone morphogenetic protein (BMP) from mouse osteosarcoma and rat demineralized bone matrix. *Clin Orthop Relat Res.* 1980; **148**: 281-90.
186. Kawai T, Urist MR. Bovine tooth-derived bone morphogenetic protein. *J Dent Res.* 1989; **68**: 1069-74.
187. Chung PH. Tooth protein extracted from extracted tooth and method for using the same. Korea intellectual property rights information service. Patent. Application No. 10-2004-0 051812.
188. Morotome Y, Goseki-sone M, Ishikawa I, Oida S. Gene expression of growth and differentiation factors-5,-6, and-7 in developing bovine tooth at the root forming stage. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; **244**(1): 85-90.
189. Urist MR, Strates BS. Bone morphogenetic protein. *J Dent Res* 1971; **50**: 1392-406.

190. Bessho K, Tagawa T, Murata M. Purification of bone morphogenetic protein derived from bovine bone matrix. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; **165**: 595-601.
191. Urist MR. *Experimental delivery systems for bone morphogenetic protein*. In: Wise DL, Altobelli DE, Schwartz ER, Gresser JD, Trantolo DJ, Yaszemski M, eds. *Handbook of biomaterials and applications*. Section 3: *Orthopaedic biomaterials applications*. Boston: Marcel Dekker; 1995. p. 1093-133.
192. Yeomans DJ and Urist MR. Bone induction by decalcified dentin implanted into oral osseous and muscle tissues. *Arch Oral Biol*. 1967; **12**(8): 999-1008.
193. Bang G and Urist MR. Bone induction in excavation chambers in matrix of decalcified dentin. *Arch Surg*. 1967; **94**(6): 781-789.
194. Van de Putte KA, Urist MR. Osteogenesis in the interior of intramuscular implants of decalcified bone matrix. *Clin Orthop Relat Res*. 1965; **43**(6): 257-270.
195. Bakhshalian N, Jalayer T, Shahoon H, Arjmandi BH, Azimi HR. Osteopromotive property of allogenic demineralized dentin matrix: a pilot study. *J West Soc Periodontol Periodontal* 2013; **61**(2): 35-8.
196. Bang G. Induction of heterotopic bone formation by demineralized dentin: an experimental model in guinea pigs. *Scand J Dent Res*. 1973; **81**: 240-50.
197. Urist MR, Dowell TA, Hay PH, Strates BS. Inductive substrates for bone formation. *Clin Orthop Relat Res*. 1968; **59**: 59-96.
198. Inoue T, Deporter DA, Melcher AH. Induction of cartilage and bone by dentin demineralized in citric acid. *J Periodontal Res*. 1986; **21**: 243-55.
199. Kim SG, Yeo HH, Kim YG. Grafting of large defects of the jaw with a particulate dentine-plaster of Paris combination. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1999; **88**(1): 22-25.
200. Lee SH. Low Crystalline hydroxyl carbonate apatite. *J Korean Dental Assoc* 2006; **44**: 524-533.
201. Fulmer MT, Ison IC, Hanker mayer CR, Constantz BR, Ross J. Measurements of the solubilities and dissolution rates of several hydroxyapatites. *Biomaterials* 2002; **23**(3): 751-755.

202. Tadic D, Epple M. A thorough physicochemical characterisation of 14 calcium phosphate-based bone substitution materials in comparison to natural bone. *Biomaterials* 2004; **25**: 987-94.
203. Balasundaram G, Sato M, Webster TJ. Using hydroxyapatite nanoparticles and decreased crystallinity to promote osteoblast adhesion similar to functionalizing with RGD. *Biomaterials* 2006; **27**: 2798-805.
204. Accorsi-Mendonça T, Conz MB, Barros TC, de Sena LA, Soares Gde A, Granjeiro JM. Physicochemical characterization of two deproteinized bovine xenografts. *Braz Oral Res.* 2008; **22**(1): 5-10.
205. Hatano Y, Kurita K, Kuroiwa Y, Yuasa H, Aiji E. Clinical evaluations of coronectomy (intentional partial odontectomy) for mandibular third molars using dental computed tomography: a case-control study. *J Oral Maxillofac Surg* 2009; **67**: 1806-14
206. Davarpahah M, Szmukler-Moncler S. Unconventional implant placement. 2: placement of implants through impacted teeth. Three case reports. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2009; **29**: 405-13.
207. Lee JY, Kim YK, Yi YJ, Choi JH. Clinical evaluation of ridge augmentation using autogenous tooth bone graft material: case series study. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg* 2013; **39**: 156-160.
208. Nuss KM, Auer JA, Boos A, von Rechenberg B. An animal model in sheep for biocompatibility testing of biomaterials in cancellous bones. *BMC Musculoskelet Disord* 2006; **7**: 67.
209. Hunziker EB. Tissue engineering of bone and cartilage. From the preclinical model to the patient. *Novartis Found Symp* 2003; **249**: 70-78.
210. Sousa CJ, Loyola AM, Versiani MA, Biffi JC, Oliveira RP, Pascon EA: A comparative histological evaluation of the biocompatibility of materials used in apical surgery. *Int Endod J* 2004, **37**(11): 738-748.
211. Mills LA, Simpson AHRW. Instructional Review: Research. In Vivo Models Of Bone Repair. *The Journal of Bone and Joint Surgery.* 2012; **94**(7): 865-874.

212. Liu T, Wu G, Wismeijer D, Gu Z, Liu Y. Deproteinized bovine bone functionalized with the slow delivery of BMP-2 for the repair of critical-sized bone defects in sheep. *Bone*. 2013; **56**(1): 110-8.
213. Theiss F, Apelt D, Brand B, Kutter A, Zlinsky K, Böhner M, Matter S, Frei C, Auer J, von Rechenberg B. Biocompatibility and resorption of a brushite calcium phosphate cement. *Biomaterials* 2005; **26**: 4383-4394.
214. Pearce AI, Richards RG, Milz S, Schneider E, Pearce SG. Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *Eur Cell Mater* 2007; **13**: 1–10.
215. Newman E, Turner AS, Wark JD. The potential of sheep for the study of osteopenia: current status and comparison with other animal models. *Bone* 1995; **16**: 277–284.
216. Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop Relat Res* 1986; **205**: 299–308.
217. Hollinger JO, Kleinschmidt JC. The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. *J Craniofac Surg* 1990; **1**: 60–68.
218. Bosch C, Melsen B, Vangervik K. Importance of the Critical-Size Bone Defect in Testing Bone-Regenerating Materials. *J. Craniofac. Surg.* 1998; **9**(4): 310-6.
219. Kleinschmidt JC, Hollinger JO. *Animal Models in Bone Research*. In: *Bone Grafts & Bone Substitutes*. Mutaz HB, Reddi AH. Editors. Vol: 13. Pennsylvania, Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1992. p. 133-146.
220. Andersson L, Ramzi A, Joseph B. Studies on dentin grafts to bone defects in rabbit tibia and mandible; development of an experimental model. *Dental Traumatology* 2009; **25**: 78–83.
221. Aaboe M, Pinholt EM, Hjorting-Hansen E. Unicortical critical size defect of rabbit tibia is larger than 8 mm. *J Craniofac Surg* 1994; **5**: 201–3.
222. Tint K, Kondo H, Kuroda S, Fujimori T, Aoki K, Ohya K, Kasugai S. Effectiveness of extracted teeth as bone substitute: application to parietal bone defects in rabbits. *Journal of Oral Tissue Engineering* 2005; **3**: 7–16.

223. AL-Namnam NM, Shanmuhasuntharam P, Siar CH. Processed Allogenic Dentine as A Scaffold for Bone Healing: An in vivo study. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 2010; **4**(12): 5932-5940.
224. Andersson L. Dentoalveolar ankylosis and associated root resorption in replanted teeth. Experimental and clinical studies in monkeys and man. *Swed Dent J Suppl* 1988; **56**: 1–75.
225. Andreasen JO, Andreasen F, Andersson L. (Editors) *Textbook and Color Atlas of Traumatic Injuries to the Teeth*. 4th ed. Oxford: Blackwell Munksgaard; 2007.
226. Andersson L. Dentin xenografts to experimental bone defects in rabbit tibia are ankylosed and undergo osseous replacement. *Dental Traumatology* 2010; **26**: 398–402.
227. Nakashima M. Induction of dentin formation on canine amputated pulp by recombinant human bone morphogenetic proteins (BMP)-2 and -4. *Journal of Dental Research* 1994; **73**(9): 1515–1522.
228. Hussain I, Moharamzadeh K, Brook IM, José de Oliveira Neto P, Salata LA. Evaluation of osteoconductive and osteogenic potential of a dentin-based bone substitute using a calvarial defect model. *Int J Dent*. 2012; **2012**: 396316 (7 pages).
229. Bowers G, Felton F, Middleton C. Histologic comparison of regeneration in human intrabony defects when osteogenin is combined with demineralized freeze-dried bone allograft and with purified bovine collagen. *J Periodontol* 1992; **62**: 690-702.
230. Yoshida T, Itoh T, Saitoh T, Sekine I. Histopathological study of the use of freeze-dried allogenic dentin powder and True Bone Ceramic as apical barrier materials. *J Endod* 1998; **24** :581–6.
231. Gomes MF, dos Anjos MJ, Nogueira Tde O, Catanzaro Guimaraes SA. Autogenous demineralized dentin matrix for tissue engineering applications: radiographic and histomorphometric studies. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002; **17**: 488–97.
232. Pongkao D, Lorprayoon C, Conradt R. Dissolution/precipitation behavior of hydroxyapatites prepared from cattle bone ash. *Proceedings of the 12th Int. Sym., on Ceram. in Med*. 1999; **12**: 357-360.

233. Broz JJ, Simske SJ, Corley WD, Greenberg AR. Effects of deproteinization and ashing on site-specific of cortical bone. *J. Mater. Sci. Mater. In Med.* 1997; 8: 395-401.
234. Lin FH, Liao CJ, Chen KS, Sun JS. Preparation of a biphasic porous bioceramic by heating bovine cancellous bone with Na₄P₂O₇·10H₂O addition. *Biomater.* 1999; 20: 475-484.
235. Lu J, Descamps M, Dejou J, Koubi G, Hardouin P, Lemaitre J, Proust JP. The Biodegradation mechanism of calcium phosphate biomaterials in bone. *J Biomed Mat Res Appl Biomater* 2002; **63**: 408-12.
236. Kim JH, Kim SG, Lim SC, Oh JS, You JS, Jeong MA. Histomorphometric analysis of bone formation in bony defects around implants in adult dogs: a comparison of grafts of low and high heat-treated autogenous tooth ash. *Implant Dent.* 2013; **22**(6): 639-44.
237. Kim YK, Lee HJ, Kim SG, Um IW, Im SC, Kim SG. Analysis of inorganic component and SEM analysis of autogenous teeth bone graft material and histomorphometric analysis after graft. *J Korean Acad Implant Dent* 2009; **28**: 1-9.
238. Werner J, Linner-Krcmar B, Friess W, Greil P. Mechanical properties and in vitro cell compatibility of hydroxyapatite ceramics with graded pore structure. *Biomaterials.* 2002; **23**(21): 4285-94.
239. Richardson CR, Mellonig JT, Brunsvold MA, Mc Donnell HT, Cochran DL. Clinical Evaluation of Bio-Oss: A Bovine-Derived Xenograft for the Treatment of Periodontal Osseous Defects in Humans. *J Clin Periodontol* 1999; **26**(7): 421-8.
240. Stavropoulos A, Kostopoulos L, Nyengaard JR, Karring T. Deproteinized Bovine Bone (Bio-Oss) and Bioactive Glass (Biogran) Arrest Bone Formation When Used as an Adjunct to Guided Tissue Regeneration (GTR): An Experimental Study in the Rat. *J Clin Periodontol* 2003; **30**(7): 636-43.
241. Stephan EB, Jiang D, Lynch S, Bush P, Dziak R. Anorganic Bovine Bone Supports Osteoblastic Cell Attachment and Proliferation. *J Periodontol* 1999; **70**(4): 364-9.
242. Tadjoedin ES, De Lange GL, Bronckers AL, Lyaruu DM, Burger EH. Deproteinized Cancellous Bovine Bone (Bio-Oss) as Bone Substitute for Sinus

- Floor Elevation. A Retrospective, Histomorphometrical Study of Five Cases. *J Clin Periodontol* 2003; **30**(3): 261-70.
243. Clergeau LP, Danan M, Clergeau-Guerithault S, Brion M. Healing Response to Anorganic Bone Implantation in Periodontal Intrabony Defects in Dogs. Part I. Bone Regeneration. A Microradiographic Study. *J Periodontol* 1996; **67**(2):140-9.
 244. Lucchini F, Mongiorgi R, Valdre G, Bertocchi G, Corvo G, Ruggeri B, Tartaro GP. Analisi in Spettrometria Per Fluorescenza di Raggi X (XRF) di Biomateriali Utilizzati in Odontostomatologia. Nota 2 [The X-Ray Fluorescence (XRF) Spectrometry of Biomaterials Used in Dentistry. 2]. *Minerva Stomatol* 1995; **44**(1-2): 13-20.
 245. Le Geros RZ. *Calcium phosphates in oral biology and medicine. Monographs in oral science.* vol.15. Basel: Karger; 1991.
 246. Kim YK, Kim SG, Lee JH. Cytotoxicity and hypersensitivity test of toothash. *J Korean Maxillofac Plast Reconstr Surg* 2001; **23**: 391-5.
 247. Kim SG, Chung CH, Kim YK, Park JC, Lim SC. Use of particulate dentin-plaster of Paris combination with/without platelet-rich plasma in the treatment of bone defects around implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002; **17**: 86-94.
 248. Kim SG, Kim SH, Lim SC, Bae CS. Effect of fibrin sealant on early bone healing with tooth ash and plaster of Paris in ovariectomized rats. *Key Eng Mater* 2007; **330/332**: 1281-4.
 249. Carmagnola D, Berglundh T, Araujo M, Albrektsson T, Lindhe J. Bone healing around implants placed in a jaw defect augmented with Bio-Oss. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol* 2000; **27**: 799-805.
 250. Mandelkow HK, Hallfeldt KK, Kessler SB, Gayk M, Siebeck M, Schweiberer L. New Bone Formation Following Implantation of Various Hydroxyapatite Ceramics. Animal Experiment with Bone Hole Models of the Sheep Tibia. *Unfallchirurg* 1990; **93**(8): 376-9. Abstract.
 251. Merckx MA, Maltha JC, Frehofer HP, Kuijpers-Jagtman AM. Incorporation of three types of bone block implants in the facial skeleton. *Biomaterials* 1999; **20**(7): 639-45.

252. Fukuta K, Har-Shai Y, Collares MV, Lichten JB, Jackson IT. Comparison of Inorganic Bovine Bone Mineral Particles with Porous Hydroxyapatite Granules and Cranial Bone Dust in the Reconstruction of Full-Thickness Skull Defect. *J Craniofac. Surg.* 1992; **3**(1): 25-9. Abstract.
253. Hurzeler MB, Kohal RJ, Naghshbandi J, Mota LF, Conradt J, Hutmacher D, Caffesse RG. Evaluation of a New Bioresorbable Barrier to Facilitate Guided Bone Regeneration Around Exposed Implant Threads. An Experimental Study in the Monkey. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1998; **27**(4): 315-20.
254. Dahlin C, Lindhe J, Gottlow J. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg* 1988; **81**: 672-676.
255. Schenk RK, Buser D, Hardwick WR, Dahlin C. Healing pattern of bone regeneration in membrane-protected defects: A histologic study in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1994; **9**: 13-29.
256. Schliephake H, Dard M, Planck H, Hierlemann H, Jakob A. Guided bone regeneration around endosseous implants using a resorbable membrane vs a PTFE membrane. *Clin Oral Implants Res* 2000; **11**(3): 230-241.
257. Taga ML, Granjeiro JM, Cestari TM, Taga R. Healing of critical-size cranial defects in guinea pigs using a bovine bone-derived resorbable membrane. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008; **23**(3): 427-436.
258. Hockers T, Abensur D, Valentini P, Legrand R, Hammerle CHF. The combined use of bioresorbable membranes and xenografts or autografts in the treatment of bone defects around implants. A study in beagle dogs. *Clin Oral Impl Res* 1999; **10**: 487-98.
259. Gu HR, Jang HS, Kim SW, Park JC, Kim BO. Periodontal Regeneration Using the Mixture of Human Tooth-ash and Plaster of Paris in Dogs. *J Korean Acad Periodontol* 2006; **36**(1):15-26.
260. Spector M. Anorganic Bovine Bone and Ceramic Analogs of Bone Mineral as Implants to Facilitate Bone Regeneration. *Clin. Plast. Surg.* 1994; **21**(3): 437-444.
261. Valentini P, Abensur D, Wenz B, Peetz M, Schenk R. Sinus Grafting with Porous Bone Mineral (Bio-Oss) for Implant Placement: A 5-Year Study on 15 Patients. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2000; **20**(3): 245-53.

262. Zitzmann NU, Scharer P. Sinus Elevation Procedures in the Resorbed Posterior Maxilla. Comparison of the Crestal and Lateral Approaches. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; **85**(1): 8-17.
263. Yagihashi K, Miyazawa K, Togari K, Goto S. Demineralized dentin matrix acts as a scaffold for repair of articular cartilage defects. *Calcif Tissue Int.* 2009; **84**(3): 210-20.
264. Reis-Filho CR, Silva ER, Martins AB, Pessoa FF, Gomes PV, de Araújo MS, Miziara MN, Alves JB. Demineralised human dentine matrix stimulates the expression of VEGF and accelerates the bone repair in tooth sockets of rats. *Arch Oral Biol.* 2012; **57**(5): 469-76.
265. Murata, M. Autogenous demineralized dentin matrix for maxillary sinus augmentation in human. The first clinical report. *81th International Association for Dental Research* Geteburg, Sweden; 2003.

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 2013/ 09

31/01/2013

Sn: Prof. Dr. Hakkı TANYERİ
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Karar No :2013/09

Başvuru :24.01.2013

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, aşağıda çalışma materyali belirtilen **Dok. Öğr. Nazlı ALTIN'a** ait "Mineralize Dentin Ve Mineralize Dentin Sement Bileşiminin 5 Duvarlı Kemik Defektlerinin İyileşmesine Olan Etkisinin Histomorfometrik Ve Histolojik Analizinin İn Vivo Olarak Değerlendirilmesi: Deneysel Çalışma" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Koyun
	Cinsiyeti	Erkek
	Sayısı	8
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi	Şubat 2013/Şubat 2014	

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ
İ.Ü.HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIRIK
İ.Ü.HADYEK Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Pınar YAMANTÜRK ÇELİK
Üye

Prof. Dr. Ufuk ÇAKATAY
Üye

Doç. Dr. Alper OKYAR
Üye

Yard. Doç. Dr. Altan ARMUTAK
Üye

Uzm.Vet.Hek.Fatma TEKELİ
Üye

Mak.Yük.Müh. Yard.Doç.Dr.Burak OLGUN
Üye

Avukat Selma DEMİR
Üye

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	NAZLI	Soyadı	ALTIN
Doğ.Yeri	İstanbul/Fatih	Doğ.Tar.	22.09.1986
Uyruğu	TC	TC Kim No	
Email	nazlialtin@hotmail.com	Tel	05056444725

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2014
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2009
Lisans	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2009
Lise	Adnan Menderes Anadolu Lisesi	2004

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	87	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Word	iyi
Excel	iyi
Powerpoint	iyi

Yayınlar:

Altın N, Ergun S, Katz J, Sancaklı E, Koray M, Tanyeri H. Implant-supported oral rehabilitation of a patient with pemphigus vulgaris: a clinical report. J Prosthodont. 2013; 22(7): 581-6.

Saruhanoglu A, Altın N, Ergun S, Tanyeri H. Oral Lökoplakinin Malign Transformasyonu: Olgu Sunumu. İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi 2013; 47: 50-56.

