T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İMPLANT YÜZEYİ HAZIRLAMADA LAZER KULLANIMI

Hakkı ÇELEBİ

DOKTORA TEZİ

PROTETİK DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Serhan AKMAN

KONYA-2014

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İMPLANT YÜZEYİ HAZIRLAMADA LAZER KULLANIMI

Hakkı ÇELEBİ

DOKTORA TEZİ

PROTETİK DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Serhan AKMAN

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından **11202034** proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2014

ÖNSÖZ

Mesleki eğitimimde bana yol açan, doktora tezimin hazırlanmasında beni yönlendiren ve değerli katkılarını esirgemeyen kıymetli hocam ve tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Serhan AKMAN'a derin minnet duygularımla teşekkür ederim.

Hücre kültürünü bana öğreten, sevdiren, önemli katkıları olan ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. Pembegül Uyar'a ve Sayın Prof. Dr. İlhami Çelik'e teşekkür ederim.

Mesleki ve hayata dair her türlü bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen, Sayın Prof. Dr. Ercan Durmuş'a ve Sayın Prof. Dr. Yağmur Şener'e teşekkür borçluyum.

Protetik Diş Tedavisi doktora eğitimim süresince pratik ve teorik olarak katkıda bulunan tecrübe ve deneyimlerini benimle paylaşan bölümümüzde görev yapmakta olan değerli öğretim üyelerine, birlikte çalıştığım araştırma görevlisi ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma ve personelimize,

Doktora eğitimim boyunca desteğini her zaman yanımda hissettiğm sevgili kardeşim Dt. Elif Sümeyye Tobi'e

Doktora ve iş hayatımın her anında yanımda olan ve desteğini esirgemeyen kardeşlerim Dr. Dt. Emre Korkut ve Dr. Dt. Arslan Terlemez'e,

Tüm hayatım boyunca maddi ve manevi olarak desteğini esirgemeyen anneme, babama, ağabeyime ve diğer bütün akrabalarıma,

İyi günde ve kötü günde her zaman yanımda olan sevgili eşim Tuba Çelebi'ye

sonsuz teşekkürlerimi sunarım…

İÇİNDEKİLER **Sayfa**

SİMGELER VE KISALTMALAR…….……vi

1. GİRİŞ 1

1.1. İmplant Nedir? 3

1.2. Dental İmplantolojinin Tarihsel Gelişimi 4

1.3. Dental İmplantların Sınıflandırılması 6

1.3.1. Kullanılan Materyale Göre 6

1.3.2. Yüzey Özelliklerine Göre 9

1.3.3. Tasarımlarına Göre 10

1.3.4. Yerleştirildikleri Yer ve Destek Dokularına Göre 10

1.3.5. İmplant Materyallerinin Kemikle Olan İlişkilerine Göre (Strunz'a Göre) 11

1.4. Dental İmplant Tasarımı, Yüzey Yapısı ve Özellikleri 12

1.4.1. Dental İmplant Tasarımı (Makrostrüktür) 12

1.4.2. Dental İmplant Yüzey Morfolojisi (Mikrostrüktür) 13

1.4.3. Dental İmplant Nano Yüzey Yapısı (Ultrastrüktür) 14

1.4.4. Dental İmplant Yüzey Kimyası 15

1.4.5. Dental İmplant Yüzey Özellikleri 16

Fiziksel ve Kimyasal Yöntemler 17

Morfolojik Yöntemler 21

1.5. Yüzey Topografilerini Saptama Teknikleri 34

1.5.1. Mekanik Profilometre Cihazları 35

1.5.2. Optik Profilometre Cihazları 35

1.5.3. Tarayıcı İğne Mikroskopları 35

1.5.4. Taramalı Elektron Mikroskopları 35

1.6. Yüzey Topografisinin Ölçülmesi 36

1.6.1. Ra Yüzey Pürüzlülük Değeri 36
1.6.2. Rz Yüzey Pürüzlülük Değeri 37
1.7. Lazer Nedir? 37
1.7.1. Lazerin Tarihçesi 38
1.7.2. Lazer Sisteminin Bileşenleri 39
1.7.3. Lazer Işığının Özellikleri 40
1.7.4. Lazerin Çalışma Prensibi 41
1.7.5. Lazer Kullanım Parametreleri 42
1.7.6. Lazer Sistemlerinin Sınıflandırılması 45
1.8. Periodontal ve Peri-implanter Dokular 46
1.8.1. Periodontal Doku Anatomisi 46
1.8.2. Peri-implanter Doku Anatomisi 46
1.9. Osseointegrasyon 48
1.9.1. Yumuşak Doku Ara Yüzü 50
1.9.2. Kemik-İmplant Ara Yüzü 50
1.9.3. Titanyum Oksit Tabakası 52
1.9.4. Osseointegrasyondan Sorumlu Mekanizmalar 52
1.10. İmplant Yüzeyine Fibroblast Adezyonu (Fibroentegrasyon) 53
1.11. Osseointegre Dental İmplantlarda Başarı Kriterleri 54
1.12. Periimplantitis 56
1.12.1. Etyoloji 56
1.12.2. Periimplant Enfeksiyonunun Nedenleri 57
1.13. Osseointegre Dental İmplantlarda Başarı Kriterlerinin Ölçümü 59
1.13.1. Yıkıcı Teknikler 59
1.13.2. Yıkıcı Olmayan Teknikler 60
1.14. Biyouyumluluk 62
1.15. Toplam Hücre Sayısının ve Hücre Canlılık Oranının Saptanması 66
1.15.1. Tripan Mavisi Boyama Metodu 66

1.15.2. MTT 67
1.15.3. XTT 67
1.15.4. Taramalı Elektron Mikroskobu İle Saptama 68
1.15.5. Akridin Turuncusu Testi (Acridine Orange Test) (AOT) 68
2. GEREÇ VE YÖNTEM 69
2.1. Titanyum Disklerin Hazırlanması 69
2.2. Titanyum Disk Yüzeylerinin Modifikasyonu 70
2.3. Hazırlanan Numuneler Üzerinde Yapılan Metalurjik Yüzey Analizleri 71
2.3.1. SEM ile Fotomikroskobi 71
2.3.2. Profilometre Cihazı ile Yüzey Pürüzlülüğü Ölçümleri 72
2.4. Biyolojik Deneyler 72
2.4.1. HGF-1 Hücrelerinin Numune Yüzeylerine Tutunumu ve Hücre Morfolojilerinin Analizi 72
2.4.2. XTT 76
2.4.3. Akridin Turuncusu Testi (Acridine Orange Test) (AOT) 77
2.5. İstatistiksel Değerlendirme 78
3. BULGULAR 79
3.1. Numuneler Üzerinde Yapılan Metalurjik Yüzey Analizi Bulguları 79
3.1.1. SEM Bulguları 79
3.1.2. Profilometre Cihazı ile Elde Edilen Yüzey Pürüzlülüğü Ölçümleri Bulguları 83
3.2. HGF-1 Hücrelerinin Numune Yüzeylerine Tutunması ve Hücre Morfolojisi Analizi Bulguları 84
3.2.1. XTT Bulguları 84
3.2.2. Biyolojik SEM Bulguları 85
3.2.3. Akridin Turuncusu Testi (Acridine Orange Test) Bulguları 89
4. TARTIŞMA 94
5. SONUÇ ve ÖNERİLER 108

6. ÖZET 109

7. SUMMARY 111

8. KAYNAKLAR 112

9. EKLER 124

10. ÖZGEÇMİŞ 125

SİMGELER VE KISALTMALAR

Al_2O_3: Alüminyum Oksit

TiO_2 : Titanyumdioksit

TiO : Titanyum Oksit

OH : Hidroksil

HA : Hidroksiapatit

CaP : Kalsiyum Fosfat

DPS : Deep Profile Surface

XPS : X- ışını Destekli Fotoelektron Spektroskopisi

HCL : Hidroklorik Asit

A^0 : Angstrom

Hz : Hertz

∏ : Pi

°C: Santigrat Derece

cm : Santimetre

cm^2 : Santimetre Kare

dak : Dakika

ISO : Uluslararası Standartlar Teşkilâtı

µm: Mikrometre

mm: Milimetre

m^2 : Metrekare

mm^2: Milimetrekare

ml : Mililitre

n : Örnek sayısı

Nm : Nanometre

N: Newton

SEM: Tarayıcı Elektron Mikroskobu

TEM : Transmisyon Elektron Mikroskobu

RFA : Rezonans Sıklığı Analizi

ISQ : *Implant Stability Quotient*

AOT : Acridine Orange Test (Akridin Turuncusu Testi)

sn : Saniye

J : Joule

mj : Mili joule

Pps : Pulse per second

λ : Lambda, ışığın dalga boyu

SS: Standart Sapma

PMMA : Polimetil Metakrilat

ADA : Amerikan Dişhekimliği Birliği

GD : Glow Discharge

SPSS: *İstatistik Programı*

W: Watt

V: Volt

M: Mol

U: Ünite

SLA: Kumlanmış ve asitle pürüzlendirilmiş implant yüzeyi

SLActive: Hidrofilik özellikli SLA yüzey

DMSO : Dimetilsülfoksit

ETOH : Etil alkol

1. GİRİŞ

Dişhekimlerinin en önemli uğraşılarından biri diş kayıplarından kaynaklanan eksikliklerin geri iade edilmesidir. Kaybedilen dişlerin ve komşu yapıların çiğneme, konuşma ve görünüm gibi ağız içi fonksiyonlarının iade ve idamesini sağlayan suni aygıtlara protez denir.

Dental implantlar kaybedilen dişin yerini alan, sabit ve hareketli protezlerde destek sağlamak amacıyla kemik içine yerleştirilen apereylerdir. Günümüzde doğal dişlerin kaybında uygulanabilecek en iyi tedavi alternatifidir ve bu tedavi seçeneği uzun süredir başarı ile kullanılmaktadır.

İmplantlar başlangıç cerrahisini takiben genellikle 3 ile 6 ay yüklenmeden bırakılır. Bu periyot esnasında okluzal yükleri taşıyacak olan düzenli yeni kemik implant etrafında gelişir (osteointegrasyon) ve implant fonksiyonel çiğneme kuvvetlerini karşılayabilecek duruma gelir. Bu aşamadan sonra implant üzerine protetik restorasyon yapılarak implantlar fonksiyonel hale gelir.

İmplant tasarımı, implant materyali, implantın yüzey özellikleri, yaş, cinsiyet, kemik morfolojisi ve metabolizması, cerrahi uygulama, protetik planlama ve uygulamanın doğru yapılması, oral hijyen gibi kriterler implantın başarısını etkileyen faktörlerdir. İmplantın başarısında pek çok faktör rol oynasa da implant ve çevre dokuları araştırıldığında implantasyonun başarısının güçlü supracrestal peri-implant dokuların yapısı ve fonksiyonu ile etkilendiği görülmüştür (Listgarten ve ark 1991, Buser ve ark 1992, Bakaeen ve ark 2009).

Dental implantlar her ne kadar alveoler kemik içine yerleştirilse de ve oral kaviteye nüfuz ettiklerinden ara yüzeyde üç tip hücre söz konusudur: peri-implant epitelinde epitel hücreleri, bağ dokuda fibroblastlar ve kemikte osteoblastlar (Abrahamsson ve ark 1996). Dental implantlar oral kavitede peri implant dokuların enflamasyonuna yol açan dental plakla da temastadırlar (Meffert 1992). İmplant yüzeyine yumuşak doku hücrelerinin adezyonunu arttırmak, peri-implant yumuşak doku dejenerasyonunu önlemede önemli bir yöntemdir (Werner ve ark 2009).

İmplant yüzeylerine değişik yüzey mühendisliği uygulamaları yapılarak, implantın kemik ve periodontal dokularla olan bağlantı ve tutunma kalitesi arttırılmaya çalışılmaktadır. İmplant yüzeyinin hazırlanmasında topografi ve pürüzlülük ne kadar etkiliyse yüzeyin temizliği ve pasivizasyonu da bir o kadar önemlidir. Başarı için tüm faktörlerin etkisine dikkat edilmeli, tüm aşamalarda özen gösterilmelidir.

Önceki çalışmalarda araştırmacılar, dental implantların uzun dönem prognozunun sadece osseointegrasyonun kalitesine bağlı olmadığına aynı zamanda implant abutmenti ya da implant gingiva arasındaki mukozal kapamanın kalitesine bağlı olduğu sonucuna varmışlardır (Listgarten 1996, Kawahara ve ark 1998 Report I, Kawahara ve ark 1998 Report II).

Pek çok çalışmada implant ve kemik dokularının bağlantısı araştırılmıştır, implant ve gingival dokuların bağlantısı üzerine yapılan çalışmaların sayısı azdır. Bu konuda etkili faktörlerden biri olan implant yüzey özelliklerinin geliştirilmesine ayrı bir önem verilmelidir. Bu çalışmalar hücrenin bağlantı özellikleri, yüzey enerjisi, ıslanabilirlik, pürüzlüklük ve yüzeyin biyouyumluğu konularına odaklanmaktadır.

Yapılan çalışmalarda lazerle yüzeyi hazırlanmış implantların kemik dokusu ile bağlantısı diğer implant yüzeylerine göre daha başarılı bulunurken lazerle yüzeyi hazırlanmış titanyumun dişeti ile bağlantısı konusunda bilgiler yetersizdir (Heinrich ve ark 2008). İmplant yüzeylerini hazırlamada lazer uygulaması kullanılarak yüzey topografisi oluşturulurken yüzeyde artık madde oluşmaz ve biyouyumluluk korunur. Lazer uygulama teknolojisindeki gelişmelerle beraber istenilen yüzey özellikleri (pürüzlülük, yüzey topografisinin düzenli ve kontrollü bir şekilde hazırlanabilmesi, yüzey enerjisi, yüzey temizliği) isteğe göre oluşturulabilir.

Lazerle pürüzlendirmenin temel avantajı, istenilen topografyanın tek basamakta ve zararlı olabilecek artıklar oluşmadan kontrollü bir şekilde oluşturulabilmesidir. Böylece pürüzlendirmede oluşabilecek dezavantajlar da en aza indirilmiş olur. Başarısı kanıtlanmış bu yöntemde hala hangi uygulamanın optimum yüzey topografisi elde edeceğini belirlemek gereklidir ve bu konuda yapılacak çalışmalar yöntemin bilinen başarısının üst sınırını belirleyecektir.

Klinik ve deneysel çalışmalar, dental implantların uzun vadeli stabilitesinin, devamlı osseointegrasyon ve implantın transmukozal parçasının düzgün işleyen bir bariyer olmasını gerektirdiğini göstermiştir. Dental implantlarda kemik iyileşmesi ile ortaya çıkan pek çok sorunun çözümünde önemli ilerlemeler elde edilmiş olmasına rağmen, yumuşak doku yoluyla implant yüzeyinin sızdırmazlığı, terapötik sonucun çok önemli bir belirleyicisi olmaya devam etmektedir. Son zamanlarda, implant araştırmalarında yumuşak doku stabilitesine giderek artan bir eğilim gözlenmektedir (Berglundh ve ark 1992, Abrahamsson ve ark 1998, Khadra ve ark 2005).

Bu çalışmada titanyum disklere lazerle pürüzlendirme işlemiyle farklı yüzey topografileri uygulanmış ve fibroblast hücre kültürü yöntemi ile implant-dişeti bağlantı başarısındaki ideal uygulamanın belirlenmesi amaçlanmıştır.

1.1. İmplant Nedir?

"İmplant" kelimesi, Latince "implantare", bitki ekmek fiilinden türemiştir. İmplant, kelime anlamı olarak tedavi amacı ile canlı dokulara, cansız maddelerin yerleştirilmesini ifade etmektedir. Dental implantlar kemik içine, üzerine veya mukozaya yerleştirilen ve dişin yerini tutması amaçlanan ya da protetik araçların kullanımını kolaylaştıran yapılardır (Hakkı ve Ertuğrul 2009).

İnsanoğlu çok eski tarihlerden beri fonksiyonel ve estetik nedenlerle kayıp dişlerin yerini doldurmak için çeşitli yöntemler geliştirmiştir. Bu yöntemlerden birisi de dişsiz boşlukların implant ile onarılmasıdır (Peterson ve ark 1997).

İmplantlar kaybedilen dişlerin rehabilitasyonunda, kraniyofasiyel iskeletin rekonstrüksiyonunda, ortodontik tedavide ankraj olarak ve distraksiyon osteogenezi ile yeni kemik oluşumuna yardımcı olma işlemlerinde kullanılmaktadır (Brunski ve ark 2000).

Arkeolojik bulgular implant tarihinin eski Mısır ve Güney Amerika uygarlıklarına kadar uzandığını göstermektedir. Oral implantolojideki büyük atılımı, İsveç'te Lund Üniversitesinin Vital Mikroskopi Laboratuvarında bir ortopedik cerrah olan Dr. Ingvar Branemark başkanlığındaki İsveçli araştırma gurubu

gerçekleştirmiştir. O günden bu güne implantların hem tasarımlarında hem de yüzey özelliklerinde pek çok değişiklik yapılmıştır (Uzun ve Keyf 2007).

1.2. Dental İmplantolojinin Tarihsel Gelişimi

Oral implantolojinin tarihine bakıldığında, geçen yüzyılın sonlarından bu yüz yılın başına kadarki gelişmelerin daha çok tranplantasyon ve reimplantasyon denemeleri şeklinde olduğu görülmektedir.

Çin imparatorlarından Chin-Nong'un M.Ö. 3216 ve Han-Ang-Tu'nun 2637 yıllarında akupunktur, altın ve gümüş iğneler, diş implantasyonları ve reimplantasyon uygulamaları diş implantlarına yönelik en eski bilgi olarak dikkat çekmektedir.

Maya uygarlığı döneminde inorganik materyaller insanlarda implant olarak kullanılmıştır. 1931'de Papanoe, Hounduras'ta M.S. 600 yıllarına ait bir alt çene kemiği bulunmuştur. Bugün Harward Arkeoloji ve Etnoloji Müzesi'nde saklanan bu çene kemiğinde, eksik olan üç alt kesici dişin yerine deniz hayvanlarının kabuklarından diş formu verilmiş materyallerin implante edildiği gözlenmiştir. Fransa'da Pare tarafından 1500'lü yıllarda bir dişi çekilen prensesin çekilen dişinin yerine hizmetkârlarından birinin dişi transplante edilmiştir. Maggialo, 1809'da altın kökleri pivo ayağı olarak tarif etmiştir ve implant tariflerine uygun ilk teorileri ortaya atmıştır.

19. yüzyılda implantasyon yaklaşımı denemeleri söz konusu olmuştur. 1880'de California'da Harris, 1886'da New-York'ta Edmonds demirden kemik içi implant yapmayı denemişlerdir. 1889'da Lewis ise, diş çekiminden sonra çekim yerinin ölçüsünü alıp, bu boyutlarda implant yapmıştır. 1905 yılında School, porselen kökleri implante etmiştir.

1909 'da Greenfield, kafes tarzında implant geliştirerek kemikle tutunmasını araştırmıştır. Daha sonra ise Leger-Dorez, birkaç parçadan oluşan ve bir vida ile birleştirilen implant modeli ortaya atmıştır. Bu yaklaşımlar yüzyıllardır süren reimplantasyon ağırlıklı yaklaşımlardan sonra alloplastik implantlar devrini açmıştır.

1900'lü yıllarda altın, porselen, gutta-perka ve platin implant materyali olarak kullanılmıştır.

Bugünkü implantolojinin doğuşu;

1938'de Strock ilk defa içi dolu vida şeklinde bir implant geliştirmiştir ve ayrıca 1940'da endodontik implantı geliştirmiştir. 1938'de Dahl, implantı kemiğin içine değil, kemiğin üstüne yerleştirmek fikrinden hareketle ilk subperiostal implantı geliştirmiştir.

1947'de Formiggini, kemiğin implantın kıvrımlarının arasına girmesini sağlamak ve böylelikle implantın sabitleşmesini sağlamak amacıyla içi boş vida şeklinde bir implant geliştirmiştir. 1950 'de Lew, subperiostal implant tasarımlarında pek çok modifikasyonlar yaparak bugün bile kullanılan implant tasarımlarını çizmiştir. 1953'de Sollier ve Chercheve, tüm implantın vidalarla sabitleştirilmesi düşüncesinden hareketle alt çenede endikasyon bulan transosseos implantı geliştirmiştir.

Formiggini'nin vida şeklindeki implantını 1962 yılında geliştiren Perron-Andre, bir implant yerleştirildiği bölgede travmaya maruz kalmadan tutunabiliyorsa, implantın kıvrımlarında bir kemik entegrasyonu olduğunu ifade etmiştir. Branemark, çalışmalarına ilk olarak 1965 yılında başlamış, sabit seramik implant birleşimini tanımlamış, histolojik olarak da ispat etmiş ve osseointegrasyon kavramını ortaya atmıştır.

1968 dönemine kadar yapılan implantlarda alveol kemiğinin sadece iki boyutu değerlendiriliyordu. Derinlik boyutu (vida şeklinde implantlar) ve yüzey boyutu (subperiostal implantlar). Linkow ise alveol kemiğinin genişlik boyutunu da değerlendirmiş ve blade implantları geliştirmiştir (Tunalı 2000, Savaş 2007).

1974 ' te Schroeder ve ark titanyum plazma sprey (TPS) yüzey hazırlama yöntemini uygulamaya başlamıştır (Weinlander 1996).

1984 ‘de Steinemann ve Straumann, 1979’da ve 1986’da ise Ladermann var olan farklı iki sertlikteki titanyum yüzeyden başka, titanyum plazma sprey tabakasının da osseointegrasyon için şart olduğunu belirtmişlerdir (Tunalı 2000, Savaş 2007). Asitleme/kumlama tekniği ile ilk olarak 1986 yılında New Ledermann Screw, daha sonraları 1989’da Frialit-2 piyasaya sürülmüştür (Ledermann 1988).

Straumann 1997 yılında SLA yüzeyi kumlanmış ve asitlenmiş titanyum yüzey olarak piyasaya sunmuştur (Martin ve ark 1995). Straumann firması tarafından 2005 yılında SLActive yüzey piyasaya sunulmuştur (Uzun ve Keyf 2007).

1.3. Dental İmplantların Sınıflandırılması

1.3.1. Kullanılan Materyallere Göre İmplantlar Şu Şekilde Sınıflandırılmaktadır (Rolant ve Langer 1992) :

a) Metal ve alaşımları
   Titanyum
   Titanyum 6-alüminyum- 4 vanadyum
   Kobalt-krom-molibden
   Demir-krom- nikel

b) Seramikler
   Alüminyum oksit (alümina ve safir)
   Hidroksilapatit
   Trikalsiyum fosfat
   Kalsiyum alüminat

c) Karbonlar
   Polikristal (vitröz) cam karbon
   Karbon-silikon

d) Polimerler
   Polimetilmetakrilat
   Politetrafloroetilen

Polietilen

Silikon lastik

Polisülfon

Dental implantlar için en çok kullanılan materyaller metaller ve bunların alaşımlarıdır. Paslanmaz çelik ve kobalt-krom alaşımı güçlü darbelere dayanıklıdır ancak çatlak ve nokta korozyonunun en sık karşılaşıldığı alaşım tipleridir (Rolant ve Langer 1992).

Altın, palladyum, tantalyum, platin ve bu metallerin alaşımları da implant materyali olarak kullanılmıştır. Bu maddeler çok pahalı olduklarından dolayı günümüzde kullanılmamaktadır (Neville ve ark 1995).

Seramikler üstün biyolojik uyumları ve inert olmalarından dolayı dental implantlar için uygun materyallerdir. Bu materyaller özellikle alveolar kret yükseltilmesinde veya kemik defektlerinin doldurulmasında implant olarak kullanılmıştır (Dayangaç 1988).

Seramik materyaller korozyona dirençli, doku ile uyumlu olan ancak gerilme ve bükülme dayanıklılığı düşük olan kırılgan maddelerdir. Günümüzde seramik implant materyali olarak hidroksiapatit, trikalsiyum fosfat, alüminyum oksit, tek kristalli safir ve bioglasslar sayılabilir (Yücetaş ve Türker 2005).

Karbon implantlar kolay kontamine olabilen, iltihabi ve yabancı cisim reaksiyonu yapmadığı halde kolay kırılabilen maddelerdir (Yücetaş ve Türker 2005).

Polimerler ise ucuz ve kolay hazırlanan maddelerdir ancak toksik ve karsinojen olduklarına dair çalışmalar vardır (Yücetaş ve Türker 2005).

Metallerin içinde saf titanyum veya titanyum alüminyum-vanadyum alaşımı en sık kullanılanıdır. Bu alaşımın gittikçe artan bir şekilde daha çok vakada ve farklı implant tiplerinde kullanılmasının nedeni biyouyumluluğunun iyi olmasıdır. Hava ve suda titanyumun üzeri titanyum dioksit ile kaplanmaktadır. Oksitin kalınlığı milisaniyede 10 A°, birkaç dakikada 100 A°, ilerleyen sürede 2000 A°'e

ulaşmaktadır. Titanyumun üzeri bu dioksit tabakasıyla kaplandıktan sonra organizmadaki sıvı hücumuna karşı direnç göstermektedir (Bişkin 1986).

Titanyum, birçok metal ile alaşımlanabilmektedir. Bu şekilde, direncin arttırılması, akma direncinin yükseltilmesi ve dökülebilirlik gibi özelliklerin iyileştirilmesi sağlanabilmektedir (Mark ve Wagar 2007).

Titanyumun galvanik etkilere sahip olmaması, diğer metallere göre elastisite modülünün kemiğe daha yakın olması, titanyum ve alaşımlarının diş hekimliği açısından cazibesini daha da artırmaktadır (Lautenschlager ve Monaghan 1993,Van Noort 2002).

Titanyumun alüminyum ve vanadyum ile alaşımlanmasında alüminyum, α-stabilitörü olarak görev yaparken, vanadyum β- stabilizasyonunda rol oynamaktadır. α-β dönüşümünün ortaya çıktığı sıcaklıkta bu elementlerin titanyuma ilave edilmesiyle dönüşüm baskılanmış olur ve bu şekilde oda sıcaklığında hem α- hem de β- formları oluşmuş olur. Bu nedenle Ti-6Al-4V, α ve β grenlerinin iki fazlı yapısına sahiptir. Kolay ulaşılabilirliği, çalışma şartlarının uygunluğu ve düşük sıcaklıklarda güçlü mekanik özelliklere sahip olmalarından dolayı bu alaşımlar, farklı titanyum alaşımları arasında hala en yaygın olarak kullanılan implant materyalleridir (Niinomi 1998,Van Noort 2002, Niinomi 2008).

İmplant yüzey materyalleri yerleştirildikleri doku ve bu dokuya gösterdikleri uyuma göre değişik sınıflara ayrılırlar. Yabancı bir materyalin canlı bir dokuya gösterdiği uyum 'biocompability' olarak adlandırılır. Schoeder, biyouyumlu materyali, dokuyla olumsuz etkileşimi minimum olan materyal olarak tanımlar. Biyouyumluluk, yüzeyel, mekanik ve kimyasal faktörlere bağlıdır (Ünal 2001).

- Biyolojik Özellikler:
  - Alerjik olmamalı,
  - Yangıya neden olmamalı,
  - Sitotoksik, irritan, karsinojenik olmamalı.

- Kimyasal Özellikler:
  - İnert olmalı,
  - Korozyona uğramamalı,
  - Hafif, dayanıklı, aşınmaya dirençli ve üstün şekillendirilme yeteneğine sahip olmalı.

- Mekanik Özellikler:
  - Sağlam olmalı (Elastisite modülü kemiği yakın, çekme dayanıklılığı yeterli olmalı).
  - Biyomekanik olarak dokuların fiziksel özelliklerine uyum gösterebilmeli.
  - Mekanik basınçlarla fiziksel değişimlere uğramamalı.

- Diğer Özellikler:
  - Ekonomik olmalı,
  - Kullanım ve uygulama kolaylığı olmalı,
  - Steril edilebilmeli.

1.3.2. Yüzey Özelliklerine Göre İmplantların Sınıflandırıması (Tancan 2005):

1. İşlenmemiş yüzeyli implantlar,
2. İşlenmiş yüzeyli implantlar,

a) Parlatılmış yüzeyli implantlar,
b) Kumlanarak pürüzlendirilmiş yüzeyli implantlar,
c) Asitle pürüzlendirilmiş yüzeyli implantlar,
d) Kumlanarak ve asitle pürüzlendirilmiş yüzeyli implantlar,
e) Lazerle pürüzlendirilmiş yüzeyli implantlar,
f) Pöröz yüzeyli implantlar,
g) Pöröz sinterlenmiş yüzeyli implantlar,

3. Kaplanmış yüzeyli implantlar:

a) Plazma spreyi kaplanmış yüzeyli implantlar,
b) Seramik kaplanmış yüzeyli implantlar,

I- Trikalsiyumfosfat (TCP) kaplanmış yüzeyli implantlar,
II- Hidroksiapatit (HA) kaplanmış yüzeyli implantlar

4. Kombine implantlar.

1.3.3. Tasarımlarına Göre (Tancan 2005):

1. Silindirik implantlar,
2. Yivli implantlar,
3. İğne şeklinde implantlar,
4. Spiral şeklinde implantlar,
5. Kök şeklide implantlar.

1.3.4. Yerleştirildikleri Yere ve Destek Dokularına Göre (Neville ve ark 1995):

a) Subperiostal implantlar
b) İntramukozal implantlar
c) Endosseöz (Endosteal- Kemik içi) implantlar
d) Endodontik stabilizatörler
e) Transosseöz (Transmandibular) implantlar

Subperiosteal implantlar periost altında, kemik üzerinde yer alan yapılar olup, eğer şeklinde iskeletleri bulunmaktadır ve aşırı rezorbe kretlerde kullanılmaktadırlar. İntramukozal implantlar mantar şeklinde titanyum yapılardır ve hareketli protezleri sabitlemek amacıyla kullanılmaktadırlar.

Endo-osseöz implantlar kemiğin içine yerleştirilen ve kemiğe osseointegre olan implantlar olarak tanımlanmıştır. Dental implantlar içinde en çok kullanılan implant çeşididir. Endo-osseöz implantlar kemik içine gömülerek fikse edilmektedirler.

Endodontik implantlar kron/kök oranının değiştiği periodontal sorunlu dişlerin sabitlenmesi için kullanılmaktadırlar (Neville ve ark 1995). Transmandibular implantlar yalnızca alt çeneye uygulanırlar. Vertikal kemik boyunun destek için yetersiz olduğu durumlarda, bu desteği arttırmak ve her iki kortikal kemik tabakasından yararlanmak için kullanılırlar. Komplike bir cerrahi müdahale

gerektirmesi ve yalnızca bir bölgede uygulanabiliyor olmasından dolayı pek fazla popülariteleri yoktur (Gürsoy 2008).

1.3.5. İmplant Materyallerinin Kemikle Olan İlişkilerine Göre (Strunz'a Göre) (Ünal 2001) :

Çizelge 1.1. Strunz'a göre implant materyalinin kemikle olan ilişkilerine göre sınıflandırılması.

	Materyal	Osteogenez Tipi	Özellikler
Biyotoleran	1- Paslanmaz çelik 2- Co-Cr-Mo alaşımlar 3- Altın alaşımları 4- Vitalyum soy metal alaşımları 5- PMMA 6- PTFE (politetrafloroetilen)	Distant (mesafeli) osteogenezis (fibro-osseoz entegrasyon)	Bu materyaller kemik dokusu tarafından bir dereceye kadar tolere edilebilir ancak kemiğe tam olarak entegre olmazlar. Bunun nedeni, materyal etrafında bağ dokusu kapsülün bulunmasıdır.
Biyoinert	1- Titanyum 2- Karbonlar 3- Niobium 4- Tantalyum 5- Alüminyum oksit seramiği	Kontak (temas) osteogenezis	Bu materyal ve kemik dokusu arasında herhangi bir fibröz bağ dokusu oluşmaz. Kemik dokusu implant yüzeyine doğru oluşur ve implant yüzeyi kemikle temas eder.

Çizelge 1.1 (Devam). Strunz'a göre implant materyalinin kemikle olan ilişkilerine göre sınıflandırılması.

Biyoaktif	1- Biyoseramikler 2- Kalsiyum fosfat seramikleri 3- Biyocamlar 4- Hidroksilapatit seramikleri	Exchange (karşılıklı değişim) osteogenezis (bientegrasyon)	Kemikle moleküler ve kemik kristalleri düzeyinde kimyasal bağ oluşturduklarından canlı doku tarafından iyi tolere edilirler. Bu sayede kemik doku yapımı materyalin yüzeyinde oluşur.
Biyoadeziv materyaller	1- Kumlanmış 2- Asit aşındırılmış 3- TPSF (Ti, Ta, Niobium-oksit)	Bond (bağlantı) osteogenezis (adaptif osteointegrasyon)	Kemikle fizikokimyasal bağ yaparlar. Bu nedenle dirençleri kötüdür.

1.4. Dental İmplant Tasarımı, Yüzey Yapısı ve Özellikleri

1.4.1. Dental İmplant Tasarımı (Makrostrüktür)

İmplantın kemik ve dişeti ile olan bağlantısı, implant tasarımından etkilenebilmektedir. Özellikle implanta gelen kuvvetlerin kemiğe uniform şekilde iletilmesi gerekmektedir. Kemiğe iletilen kuvvetler az olursa kullanılmama atrofisi, çok olursa da aşırı yüke bağlı kemik yıkımı oluşur (Ünal 2001).

Yapılan bir çalışmada mikro oluklu yüzeylerin kullanılması, polisajlı yüzeylere göre gingival bölgede implant entegrasyonunu arttırdığı rapor edilmiştir. Ayrıca mikro oluklu yüzeylerin, biyolojik bir kapak oluşturulması için kritik olan ve sonuçta doku integrasyonunu geliştiren erken fibroblast adezyonunu ve

aktivasyonunu arttırdığı gözlenmiştir. Bu çalışmada geniş oluklu yüzeyler (≥50 μm), dar oluklu yüzeylere (<50 μm) göre daha iyi sonuçlar vermiştir (Guillem-Marti ve ark 2013).

Dişli vida şeklindeki implantlar kemikle daha iyi kenetlenme sağlar ve böylelikle implanta gelen yük karşısında kemik de daha güçlü olur. Ayrıca implant yüzeyindeki yivler yüzey alanını arttırdığından, implantın kemik ve dişeti ile olan bağlantısının başarısı da artmış olur (Şener ve ark 2006).

Bilindiği gibi aşırı baskılar osteoklastik aktiviteyi arttırmaktadır. Primer stabilitesi iyi olsun diye implant kemiğe sıkıca yerleştirilirse o implantın kaybedilme riski artmış olur. Bunun tam tersi durumda, eğer implant kemiğe iyi yerleştirilmezse de primer stabilite kötü olur ve implant kemiğin içerisinde mikro düzeyde hareket eder. Böylece osseointegrasyon gerçekleşmez, bu da yivlerin tasarımının ne kadar önemli olduğunu gösterir (Sonugelen ve ark 2002).

1.4.2. Dental İmplant Yüzey Morfolojisi (Mikrostrüktür)

Yüzey topografisi, yüzeyin pürüzlülük derecesine ve yüzey düzensizliklerinin oryantasyonuna bağlıdır (Albrektsson ve Wennerberg 2004).

İmplantın tasarımı kadar yüzey morfolojisi de osseointegrasyonda ve peri-implant dokuların davranışlarında büyük önem taşıdığından implant yüzeyleri pürüzlendirilmektedir (Abrahamsson ve ark 1998, Şener ve ark 2006).

Pürüzlendirmenin faydaları:

1- Yüzey yaklaşık 5 misli genişler, kuvvet dağılımı daha dengeli olur. Birim alana uygulanan kuvvet azalacağından implant çevresindeki kemikte yoğunlaşan stres belirgin bir biçimde dağıtılmış olur.

2- İmplantın mikro mekanik tutuculuğu artar; bu da primer stabilizasyon açısından önemlidir.

3- Özellikle rotasyon ve çekme kuvvetlerine karşı implantın direnci artar.

4- Pürüzlü yüzeylere kemik ve peri-implant dokular daha iyi penetre olmakta ve tutunmaktadır. Böylece yalnızca malzemenin yüzey topografyası değiştirilerek malzemeye daha üstün özellikler kazandırılmış olur (Şener ve ark 2006).

Pürüzlü yüzeyin transmukazol kısımda konumlaması durumunda implantın kemiğe bitişik kısmındaki artmış yüzey alanı, implant yüzeyinde artmış hücre ataçmanı, implant yüzeyinde artmış kemik miktarı gibi özellikler ve peri implant mukozada artmış olan enflamasyon, yüzey pürüzlülüğündeki artışa bağlanmıştır (Le Guéhennec ve ark 2007). Aynı zamanda, yüzey pürüzlülüğünün çok aşırı miktarda artmış olması peri implant bölgede oral bakterilerin tutunması içinde elverişli bir bölge oluşturur.

Pürüzlülük 100 μm'den büyükse makropörözite, 100 μm ile nm arasındaysa mikropörözite oluşturulmuş olur. Mikro pürüzlülük sadece mekanik kilitlenme ile açıklanamayacak şekilde implantın kemiğe tutuculuğunu arttırır, hücresel fonksiyonları etkileyerek matriks birikimi ve mineralizasyonunu indükler. Yani hücreler yüzeyin mikro yapısına karşı hassastır ve bu yapıyı oryantasyon ve migrasyon için kullanırlar. Ayrıca mikrotopografi, mezenşim hücrelerinin fibroblast, kondroblast veya osteoblastlara diferansiye olmalarında rol oynar. Bu pürüzlülüğün ideal ölçüsü her ne kadar kemiğin kalitesi ve implantla gelen yüke göre farklılık gösterse de yaklaşık 1.0-1.5 μm olarak saptanmıştır. Bu da 25-75 μm arasındaki Al_2O_3 partikülleri tarafından oluşturulur. Daha büyük partiküller daha fazla pürüzlülük yaratmasına rağmen, kemik cevabını olumlu yönde etkilemez ve implant-kemik temasını arttırmaz. Tüm bunlar kemik hücrelerinin oluk biçimli alanları sevdiğini ve yüzey pürüzlülüğüne steoid matriks birikimi ve mineralizasyonu ile cevap verdiğini göstermektedir. Kemik hücreleri 1,0-1,5 μm'lik pürüzlülükleri tanıyıp ve hücresel fonksiyonlarını ona göre ayarlarken, ondan daha büyük pürüzlülükleri sanki yüzey düzmüş gibi algılamaktadır (Gustavo ve ark 2008).

1.4.3. Dental İmplant Nano Yüzey Yapısı (Ultrastrüktür)

Nanometre düzeyindeki morfolojik düzensizlikler biyolojik cevabı etkiler. Yüzeydeki oksit tabakası kalınlaştırılırsa metal yüzeyi non-kristalize oksit içeren

amorf durumdan, kristalin tabakasına sahip polikristalin bir yüzeye dönüşür. Bu yüzey, nanometre düzeyinde pöröziteye sahiptir. Kalın oksit tabakası implantasyonun ilk haftalarında kemik cevabını arttırır, ancak bu fark ileriki haftalarda anlamını yitirir (Gustavo ve ark 2008).

1.4.4. Dental İmplant Yüzey Kimyası

Biyomateryallerin en dıştaki moleküler tabakaları önemlidir. Bunların kimyasal özellikleri doku cevabını yönlendirir. Örnek olarak; titanyumun kendisi değil yüzeyinde spontan oluşan TiO tabakası ona iyi bir biyomateryal özelliği vermektedir. Bu durumda kemik, pasif büyümeyle Ti yüzeyine sıkıca yapışmaktadır (adaptif osteoentegrasyon). Oysa implant yüzeyi kemiğin major bileşenlerinden olan hidroksilapatit ile kaplandığında bu biyoaktif yüzey, yeni kemik yapımını stimüle ederek implant ile kemiğin moleküler düzeyde bağlanmasına (biyoentegrasyon) neden olmaktadır (Gustavo ve ark 2008).

Titanyumun yüzeyindeki oksit tabakasını manipüle ederek, bu tabakanın kimyasal yapısını değiştirmek mümkündür, bu da titanyumun biyolojik özellilklerini değiştirir. Örneğin, Lantalyumun iyonları kalsiyumla ön işlemden geçirilmesi sonucu, titanyumun osseoentegrasyon kapasitesi önemli ölçüde azalır. Bunun terside mümkündür. Bilindiği gibi flor iyonları, kalsifiye dokularda OH iyonlarıyla yer değiştirerek hidroksilapatitten daha az çözünürlüğe ve daha gelişmiş kristaliniteye sahip florapatit oluştururlar. Florür ile modifiye edilmiş oksit tabakasına sahip cilalı titanyum implantların kemiğe tutunmaları hiçbir mekanik retansiyon elemanı bulunmamasına karşın önemli ölçüde artmıştır (Gustavo ve ark 2008).

Titanyum oksit yüzeyin florür ile temasa geçmesi sonucunda flor iyonları muhtemelen titanyuma bağlı olan yüzeydeki oksijen ile yer değiştirerek titanyum florür bileşiklerini oluştururlar. Flor ile modifiye edilmiş bu implantlar kemiğe yerleştirildiğinde, kemikteki fosfatla karşılaşırlar. Titanyum yüzeyine bağlı olan flor iyonları bu kez de nötral pH'ta fosfat iyonlarındaki oksijen ile yer değiştirerek fosfatın titanyum yüzeyine kovalent bağla bağlanmasına neden olur. Bu sırada kendisi serbest kalarak çevre dokuda benzer reaksiyonları katalize ederek titanyum yüzeyinde yeni kemik yapımına aracılık eder (Gustavo ve ark 2008).

Görüldüğü gibi tümüyle yüzey özelliklerini değiştirmek suretiyle temelde biyoinert olan titanyuma, mikropürüzlülük kazandırılarak biyoadeziv, florla modifiye edilerek de biyoaktif özellik kazandırılabilir (Gustavo ve ark 2008).

Malzemelerin farklı yüzey tasarımları da farklı düzeylerde implant etrafında sert ve yumuşak dokuların şekillenmesine neden olabilir. Sonuç olarak, implant yüzeyinin kimyasal bileşimi ve fiziksel özellikleri peri-implant dokuların davranışını etkileyebilir (Smith 1993, Abrahamsson ve ark 1996,.Guehennec ve ark 2007, Teng ve ark 2012).

1.4.5. Dental İmplant Yüzey Özellikleri

Vücut sıvılarıyla temasta olan herhangi bir implantın dokularla etkileşimi, başlangıçta hızlı iyonik makromoleküler ve son olarak hücresel etkileşimler tarafından oluşturulan yüzey özelliklerinin dinamik değişimleri ile karakterize edilir (Ellingsen 2000a).

İn vivo ortamda biyomoleküllerin yüzeye absorbsiyonu, yeni yerleştirilmiş olan implant çevresindeki çeşitli biyomolekülleri içeren bir süreçtir. Bu süreç sonunda konakçının hücresel yanıtını düzenleyen hazırlayıcı bir koşullandırma filmi şekillenir. Ara yüzeye, implante edilen herhangi bir materyalin perspektifinden bakıldığında anahtar soru materyal yüzeyinin biyolojik cevabı nasıl indüklediği ve biyosistemin hücre-biyomateryal ara yüzeyinin kurulmasında kritik bir rol oynayan yüzey özelliklerini nasıl etkilediğidir (Rupp ve ark 2004).

İmplantın kemik ve yumuşak dokularla arasında bağlantı oluşmasında implant yüzey özelliği belirleyici rol oynamaktadır. Dokuların implant materyalinin kendisi ile değil implantın en dış yüzeyindeki oksit tabakasıyla temasta olduğu bilinmektedir (Parr ve ark 1985).

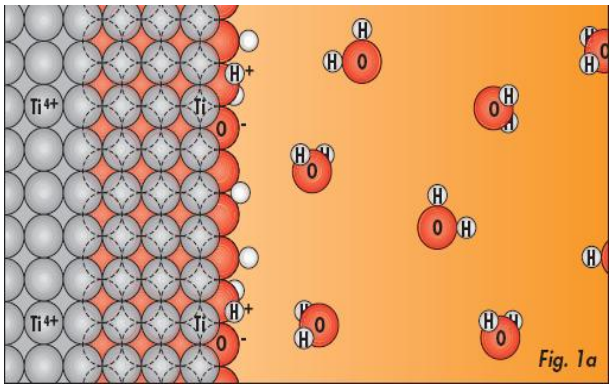
İmplant yüzeyleri iki farklı yöntemle hazırlanmaktadır:

1. Fiziksel-Kimyasal Yöntemler,
2. Morfololik Yöntemler.

Fiziksel ve Kimyasal Yöntemler:

Yüzey enerjisini değiştirmek, yüzey pasifizasyonu, yüzey kompozisyonu üzerindeki değişiklikler fizyokimyasal yöntemlerdir (Keyf ve ark 1998). Pozitif veya negatif yüklü yüzeylerin kemik oluşumunu yönlendirdiği bilinmektedir (Hamamoto ve ark 1995).

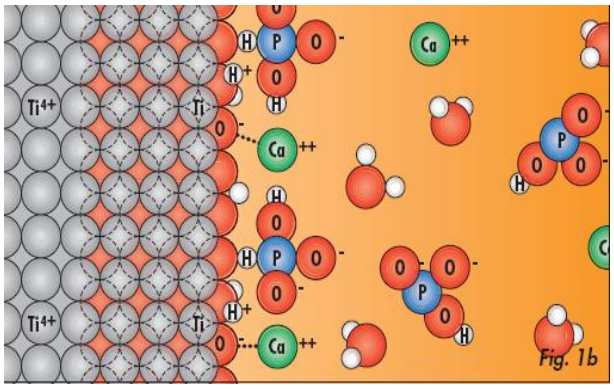
Vücut içerisine yerleştirilen bir biyomateryalin kimyasal kompozisyonu doku cevabı gelişmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu cevabın önemi, materyalin vücut içinde ne için kullanıldığına bağlıdır. Dental implantoloji ve ortopedik cerrahide fonksiyonel olarak biyomateryal ve kemik dokusu arasında güçlü ve tercihen stabil bir bağlantıyı sağlamak için hızlı bir iyileşme süreci ve yük dayanım koşulları altında fonksiyon görebilmeyi sağlanmak en önemli amaçlardır. Geçen birçok yıl boyunca bu gereksinimleri karşılayan birçok madde tanıtılmıştır (Kamacı 2009).



Resim 1.1. Titanyum yüzeyindeki oksit tabakası (Kamacı 2009).

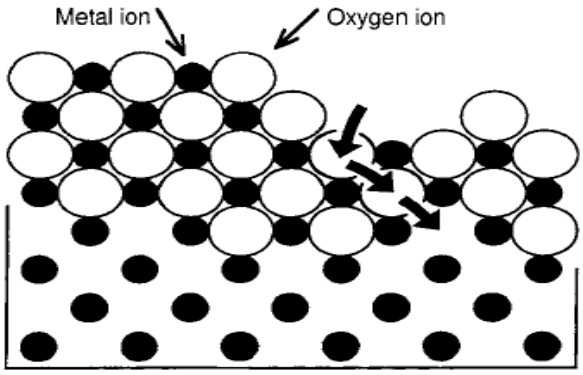
Bu materyallerden titanyum mükemmeldir. Titanyumun biyouyumluluğu büyük bir olasılıkla yüzeyindeki oksit tabakasının spontan oluşumuna bağlıdır (Resim1.1). Titanyum oksit yaklaşık 4 nm'lik bir kalınlığa sahiptir ve metal yüzeyinde etkili bir bariyer oluşturur. İmplantasyon sonrasında doku cevabını belirleyen aslında materyalin kendisi değil titanyum oksit (TiO_2) moleküllerinin kimyasal özellikleridir. Negatif olarak yüklenmiş oksijene bağlı olarak TiO- iyon değişim özelliklerine sahiptir ve vücut sıvılarına maruz kaldığında kalsiyum iyonunu bağlayabilir (Resim 1.2). Bu; silisyum oksitleri, zirkonyum oksit, aluminyum oksit ve hidroksiapatit gibi kemiğe entegre olan materyaller tarafından paylaşılan bir

özelliktir. Yüzeylerdeki kalsiyum bağlama kapasitesinin titanyumun biyouyumluluğu için temel benzerlik olduğu ileri sürülmektedir. Serum proteinleri hem titanyumda hem de hidroksiapatitte muhtemelen yüzeye absorbe edilen kalsiyum vasıtasıyla aynı tip mekanizmalarla absorbe edilir. Titanyum oksitin albumin ve proteoglikan gibi asidik molekülleri absorbe edebilirliği kalsiyum iyonlarının yüzeye absorsiyonundan sonra artış gösterir. Bu yolla yüzey anyonik durumdan katyonik duruma geçecektir. Bu durum titanyumun hidroksiapatitle ortak özelliğidir. Titanyum ve hidroksiapatit yüzeylerdeki bu özelliğin gerçekte titanyumun biyouyumluluğu için temel olabileceği ileri sürülmektedir (Davis 1999).



Resim 1.2. Vücut sıvılarına maruz kalan iyonize titanyum oksitin (TiO^-) kalsiyumu bağlama mekanizması (Kamacı 2009).

Oksit filmin büyüme biçimi kendine özgüdür. Oksijen iyonları, metale doğru göç eder ve oksitin tabanındaki karşı iyon titanyum ile reaksiyona girer (Resim 1.3). Bu reaksiyon titanyum, silisyum ve zirkonyum gibi elementler için eşsizdir. Genellikle metal oksidasyona ya da korozyona uğradığı zaman hem oksijen anyonu hem de metal katyonu göç eder. Titanyum üzerinde oluşan oksit büyümesinin bu özgün formu hiçbir metal iyonunun yüzeye ulaşıp elektrolite salınmadığı pozitif bir etkiye sahiptir (Steinemann 2000).



Resim 1.3. Oksit iyonlarının metale doğru göç etmesi (Kamacı 2009).

Titanyum diskler üzerinde oluşan oksit tabakasının kalınlığı ve içeriği XPS (x- ışını destekli fotoelektron spektroskopisi) ile incelendiğinde, TiO_2'in ortama hakim oksit tipi olduğu gösterilmiştir (Machnee ve ark 1993).

Titanyumun yüzey oksit tabakası kimyasal yöntemlerle manipule edilebilir. Titanyum yüzeylerin; uyarılmış vücut sıvılarıyla etkileşimi, biyolojik moleküllerin kovalent bağla tutunması, yüzey iyon içeriğindeki değişiklikler, alkali muamelesi vb. yollarla kimyasal modifikasyonunun implanta olan hücresel cevapları etkilediği rapor edilmiştir. İmplant yüzeyini biyolojik olarak aktive etmek amacıyla adeziv polimerlerle biyolojik greftlemenin etkisinden ve yüzey hidrofobisitesindeki değişimden de ayrıca yararlanılmıştır. Bu farklı çalışmalar, titanyumun yüzey kimyasındaki küçük değişikliklerin bile hücre kültüründeki hücresel cevabı etkilediğini göstermektedir. Kemik hücrelerinin florla muamelesinin hücre içi kalsiyum seviyelerinde akut bir artışı tetiklediği gösterilmiştir. Hücre içi kalsiyumdaki artışlar hücre çoğalmasıyla ilişkilendirilmiştir ve bunun florun etkisiyle olabileceği öne sürülmüştür. Florid sadece fizikokimyasal seviyede değil aynı zamanda osteoprogenitör hücreler tarafından oluşturulan büyüme faktörlerinin yapımı için bir düzenleyici olarak hücresel seviyede işlev görerek kemik oluşumunu ve rejenerasyonunu teşvik edebilir. Sonuç olarak, bu etki kemik oluşumunu katalize edebilir (Ellingsen 2000b).

Yapılan başka bir çalışmada ise, ıslanılabilirliği artmış bir implant yüzeyinin (hidrofilik yüzey) konak doku hücrelerinin proteinleri tarafından daha suya benzer

kabul edileceğini, dolayısıyla bu proteinlerin normal hallerini koruyabilecekleri rapor edilmiştir (Kasemo ve Lausmaa 1988).

Yüzey kompozisyonu ve yüzey serbest enerjisi implant yüzeyleri vücutla etkileştiğinde belirleyici rol oynar. İmplant yüzeylerinin serbest yüzey enerjisi ve implant yüzeyinin hidrofilisitesi proteinler tarafından oluşturulan ilk koşullandırma ve ilk hücre adezyonu süresince özellikle önemli olabilir (Rupp ve ark 2006).

Yüzey ıslanabilirliğinin, implant yüzeyi ve çevre doku arasındaki etkileşimlere etki ettiği bilinmektedir. Kalsiyum ve fosfat iyonları gibi inorganik moleküller, hidroksile olmuş TiO_2 yüzeylere kandan hızlıca absorbe edilirler. Yüzey ıslanabilirliği büyük oranda yüzey enerjisine bağlıdır ve fizyolojik çevre ile olan teması belirler. Artmış ıslanabilirlik bu yüzden implant yüzeyi ve biyolojik çevre arasındaki etkileşimleri arttırır (Buser ve ark 1991).

Titanyum yüzeyler X-ışını destekli fotoelektron spektroskopisi (XPS) ile incelendiğinde yüzey kompozisyonunun karbon kirliliği içerdiği saptanmıştır (Ameen ve ark 1993).

XPS bulgularına göre kullanılmamış implantlarda da yüzeyde karbon saptanmıştır. Bu durum implantların havayla temasta olmasına bağlanmaktadır. Sonuçta, kullanılan tüm titanyum implantlar havayla temasa geçtikleri anda oksitlenerek TiO_2 ile kaplanmakta ve karbon kirliliğine maruz kalmaktadırlar (Mouhyi ve ark 1998).

İmplant yüzeyindeki kontaminasyonu engellemenin en etkili yöntemlerinden birisi Glow-Discharge (GD) tekniğidir. GD, serbest yüzey enerjisini artırmak ve doku adezyonunu geliştirmek için uygulanmıştır. Bu teknikte temel olarak vakumlu bir basınç odasında radyofrekans jeneratörü yardımıyla belirli bir gazın plazma haline gelmesi sağlanır. Plazma halindeki gazlar atomlarına ve iyonize moleküllere ayrışarak gelişmiş bir enerji kaynağı haline gelirler. Plazmanın önemli bir özelliği, düşük enerji seviyelerine inen statik elektrikle yüklü moleküllerin gözle görülebilir bir akım yaratmasıdır. Plazma iyon ve elektronlarının basınç odasında sıkışması sonucunda, oda içerisinde bulunan nesneler üzerine bir püskürme sağlayarak,

inorganik nesneler üzerindeki her türlü organik yüzey kirliliğini temizler, yüzeyi steril hale getirir, yüzey enerjisini arttırarak ıslanabilirliği geliştirir ve organik maddelere adezyon kabiliyetini arttırır. Saf Ti ve Ti-6Al-4V alaşımı implantların orijinal paketlenmiş ve GD ile steril edilmiş hallerini 2 ve 12 hafta serum fizyolojikte bekleterek korozyon ürünlerinin incelendiği çalışmada, GD ile hazırlanan implantlarda istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük korozyon ürünleri saptanmıştır (Vargas ve ark 1992).

Morfolojik Yöntemler

Biyomateryal yüzeyinde yapılan pürüzlülük ve morfolojik değişikliklerin doku ve hücrelerin implanta olan cevabında etkili olabilecekleri düşünülmektedir. Pürüzlü kaplamalar başlangıçta mekanik stabiliteyi arttırmaya yönelik olarak planlanmışlardır. Hayvan deneyleri, pürüzlü yüzeyler ile cilalı olanların rotasyon testi ile denenmelerinde pürüzlü olanların daha yüksek tork değerlerine dirençli olduğunu ortaya koymuştur. Fakat yine bu deneylerde pürüzlü alanların çok az bir bölümünün kemikle dolduğu da ortaya çıkmıştır (Uzun ve Keyf 2007).

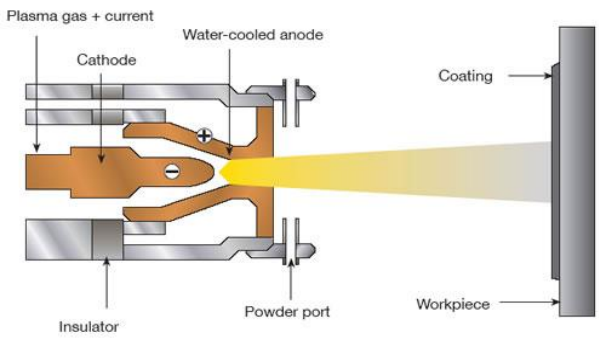
İmplant yüzey pürüzlülüğü, konakçı dokuların hücresel davranışı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Brunette 1986, Oates ve ark 2005). Örneğin, titanyum yüzey topografisi hücre ataçmanı, yönlendirme, yayma, proliferasyon, farklılaşma ve protein sekresyonu değiştirir. Özellikle, titanyum yüzeyinin pürüzlülüğü, özellikle integrin alt birimleri ve insan osteoblastları tarafından yapılan kemik-ilişkili hücre dışı matriks proteinlerinin üretimini indükler (Oates ve ark 2005).

Saf titanyum implantların torna cihazı ile işlenmesinden sonraki 1000 nm pürüzlü yüzeye sahip hali ile, platin elektrod karşısında 540 ml metanol, 350ml N-bütanol ve 60 ml perklorik asit banyosunda 22.5 V elektrik akımına tabi tutularak elektro-cila yapılarak 10nm pürüzlülüğe indirgenen implantlar tavşan femurlarında 6 haftalık iyileşmeden sonra, sökme torkları açısından kıyaslandıklarında elektro-cilalı olanlar istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek değerler ile çıkartılabilmiş, fakat histolojik ve morfometrik analizlerde önemli fark gözlenmemiştir (Carlsson ve ark 1988).

Plazma Sprey Kaplı Yüzeyler

Maddenin katı, sıvı ve gaz halinden başka çok yüksek sıcaklıklarda karşılaşılan, plazma olarak da adlandırılan dördüncü bir hali daha vardır. Langmuir'e göre ise plazma terimi: içerisinde molekül, atom, iyon ve elektron bulunduran malzemenin iyonize halini ifade eder (Kamacı 2009).

Kaplamanın amacı implantın kemikle bağlanma kuvvetini arttırmak için pürüzlü bir implant yüzeyi oluşturmaktır. Teknik yeni bir uygulama değildir ve metaller ile seramiklerde kullanılmaktadır. Günümüzde kullanılan titanyum implantların bazıları plazma sprey tekniği kullanılarak titanyumla kaplanırlar (Kamacı 2009).



Resim 1.4. Titanyum Plazma Sprey (TPS) (Kamacı 2009).

Titanyum Plazma Sprey (TPS) 1974'ten itibaren Schroeder ve ark (1976) tarafından implantların yüzey alanlarını, daha doğrusu kemiğe tutunmayı arttırmak için kullanılmaya başlanmıştır. Bu teknikte 40 µm büyüklükte titanyum partikülleri plazma aleviyle ısıtılarak yüksek ısı ve hızla titanyum yüzeye püskürtülerek pürüzlü kaplama elde edilir (Weinlander 1996, Kamacı 2009) (Resim 1.4.).

TPS-kaplı ITI-Bonefit implantlarını plazma-sprey tabakasının 20-30 µm kalınlık ve 15 µm pürüzlülükte olduğu bildirilmiştir (Leize ve ark 2000). IMZ ve ITI implantlarının kıyaslandığı çalışmada TPS kaplama kalınlıklarının farklı olduğu ortaya konmuştur (Lüthy ve ark 1987).

Leize ve ark (2000), çeşitli sebeplerle insanlardan sökülen TPS-kaplı implantları (ITI-Bonefit), elektron mikroskobu ile incelediklerinde kemikle kimyasal bir bağlantı kurulduğunu, pürüzlü yüzey içine doğru kalsiyum fosfat kristallerinin büyüdüğünü gözlemlemişlerdir. Bu çalışmada pürüzlü titanyum yüzeye çok yakın, çapları 5-50 nm arasında değişen titanyum parçacıkların varlığı gösterilmiştir.

Kumlanmış ve Asitlenmiş Yüzeyler

TPS-kaplamalara alternatif olarak, daha iyi bir yüzey kimyası ve topografisi elde etme çabaları sonunda asitleme-kumlama tekniği ile titanyum implantların pürüzlendirilmesine başlanılmıştır (Ledermann 1988). Asitleme/kumlama tekniği ile ilk olarak 1986 yılında New Ledermann Screw, daha sonraları 1989'da Frialit-2, 1998'de SLA (Sand-blasted, Large grid, Acid-etched) ve Osteotite piyasaya sürülmüştür. Günümüzde farklı isimler altında, benzer tekniklerle üretilen asitleme-kumlama teknikleri ile üretilen implantlar mevcuttur (Kamacı 2009).

Yapılan bir çalışmada araştırıcılar tavşan femurlarına yerleştirdikleri cilalı Ti ve HCL/H_2SO_4 ile asitlenerek pürüzlendirilmiş (Osteotite) 3.25x4 mm lik implantları tork testine tabi tutmuşlardır. İki aylık iyileşme dönemi sonunda osteotite ve cilalı Ti için 20.5 Ncm ve 4.95 Ncm değerleri saptanmış; asitle pürüzlü yüzey için 4 kat daha fazla olan tork direncinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ortaya konarak; pürüzlü yüzeylerin kemiğe bağlanmayı arttırdığı sonucuna varılmıştır (Klokkevold ve ark 1997) .

SLA implant yüzeyleri, Straumann tarafından 1997'de kumlanmış ve asitlenmiş titanyum yüzeyleri olarak piyasaya sürülmüştür. SLA yüzey, kaplama bir yüzey değildir. Büyük kum tanelerinin implant yüzeyine püskürtülmesi ile makro pürüzlülük oluşturulur. Asidin yüzeye uygulanmasıyla 2-4 μm derinliğinde mikro çukurcuklar elde edilir. SLA implant yüzeyleri orta derece pürüzlü yüzeylerdir. Pürüzlülük derecesi implant yüzeyi boyunca aynıdır. Yapılan bir çalışmada, osteoblast benzeri hücrelerdeki alkalen fosfataz aktivitesinin TPS yüzeylere göre SLA yüzeylerde daha fazla olduğu gösterilmiştir (Martin ve ark 1995).

Li ve ark (2002), SLA yüzeylerle, asit uygulanmış torna yüzeylerin biyomekanik olarak osseointegrasyonunu incelemişler ve SLA yüzeylerin tork direncini daha yüksek bulmuşlardır. Buser ve ark (1991), electropolished, medium-grid, kumlanmış-asitlenmiş, TPS, Large-grid kumlanmış, HA kaplama, SLA yüzeyleri kıyasladıkları bir çalışmada, HA kaplı yüzeylerden sonra en fazla implant-kemik temasının SLA yüzeylerde olduğunu bildirmişlerdir.

Frialit 2 implantları Deep Profile Surface (DPS), TPS ve Cell Plus olarak farklı yüzey özellikleriyle tasarlanmıştır. Frialit 2 implant yüzeyleri kumlanmış ve asitle pürüzlendirilmiştir, bu nedenle SLA yüzeylere benzerler (Uzun ve Keyf 2007). Gomez Roman ve ark (1997) tarafından 696 Frialit 2 implantla yapılan 5 yıllık bir çalışmada başarı oranı %96'olarak belirtilmiştir. Aynı araştırıcılar, 2001 yılında yaptıkları başka bir çalışmada hemen çekim sonrası 1124 implant uyguladıkları ve 6 yıllık takipte %97 başarı elde etmişlerdir.

Krennmair ve ark (2002) 146 Frialit 2 tek implantla 3 yıllık bir çalışma yapmışlar ve % 97 başarı elde etmişlerdir. Wheeler (2003) 802 implant uygulamış ve 1-3 yıllık takipte % 96 başarı elde etmiştir. Yine aynı implantların kemik greftleri ile yapılan bir çalışmada 2 ve 3 yıllık takiplerde % 94,8 başarı görülmüştür (Maiorana ve Santoro 2002).

SLActive Yüzey

SLA implant yüzeyine hidrofilik özellik kazandırılmıştır. Yerleştirilene kadar salin solüsyonu içeren özel ambalajında saklanması gerekir. İmplant yüzeyi, hidrofilik özelliği sayesinde, doku içerisine yerleştirilince, kanı sahip olduğu mikroporlara çeker (Uzun ve ark 2007).

Diş implantı uygulamaları giderek yaygınlaşırken, bu alanda 2007′den itibaren kullanıma giren "suyu seven" hidrofilik yüzeyli implantların tedavi başarısını arttırdığını gösteren bilimsel kanıtlar yayınlanmıştır. Bilimsel çalışmalara göre hidrofilik implant yüzeyinin en büyük avantajı vücuda yerleştirildiği andan itibaren iyileşmenin başlıyor olmasıdır (Schwarz ve ark 2009). Hidrofilik yüzeyli olmayan titanyum implantlarda ise implant çeperinde oluşan asidik tabakanın vücut

tarafından ortadan kaldırılmasından sonra iyileşme başlamaktadır. Bir İsviçre implant firmasına patentli olan hidrofilik yüzey teknolojisinde fabrikasyon aşamasında titanyum hiçbir şekilde havayla temas etmeden implant haline getirilerek sıvı içersinde ambalajlanmaktadır. Bu sayede hep doku içersinde imiş gibi ıslak kalan implant vücuda yerleştirildiğinde vücut tarafından hep orada varmış gibi algılanarak iyileşme hızla devreye girmektedir (Wall ve ark 2009). Yapılan bilimsel araştırmalar aynı firmanın hidrofilik olmayan implantının başarı oranını %98 olarak verirken hidrofilik implantta bu oran ‰ 999'a ulaşmış ve 10 kat artış göstermiştir (Bornstein ve ark 2009).

Hidrofilik implantlar ile implant başarısının artmış olmasının yanısıra tedavide toplam bekleme süresi de rutin olarak üç haftaya inmiştir (Morton ve ark 2010). Bu konuda yapılan çalışmalarda hücresel düzeyde iyileşme sürecinde nelerin değiştiğinin daha fazla açıklanmasına ihtiyaç vardır.

İki Defa Asit Uygulanmış Yüzeyler (dual-acid-etch)

İmplant yüzeyleri, hidroklorik ve sülfürik asit kullanılarak iki kez asitle pürüzlendirme işlemine tabi tutulmuşlardır. Peri-implantitis riskini azaltmak için implant boyun kısmı makineyle hazırlanmış yüzey olarak bırakılır. Osseotite implantlar minimal derecede pürüzlüdür. Osseotite dual-asit-etch yüzeylerde en uzun takipli çalışma 6 yıllıktır ve başarı oranları %95-99 olarak saptanmıştır (Sullivan ve ark 2001). İmmediate yüklemede %97-99 civarında başarı bulunmuştur (Garlini ve ark 2003). Osseotite implantlarla, makine yüzeyli implantların kıyaslandığı bir çalışmada 3 yıllık bir takipte başarı oranı osseotite için % 95 iken, diğer düz yüzey implantlarda % 86,7 olarak bulunmuştur (Khang ve ark 2001).

HA Kaplı Yüzeyler

Seramik alloplastların biyomekanik özellikleri metallerden daha düşük olduğu için tek başlarına diş implantı olarak kullanıldıklarında okluzal yükler altında kırılma problemleri ile karşılaşılmıştır (örneğin: Tübingen Al_2O_3, Kyocera monokristal Saphir). Kalsiyum fosfat yüzey kaplamaları kemiğin mineral matriksine benzemelerinden dolayı uygulanmış ve geniş olarak araştırılmıştır (Brunski ve ark

2000). HA kaplama teknikleri ile ilgili yapılan araştırmaların sonucunda bu tip implantlar ticari olarak pazarlanmaya başlanmıştır (Denissen ve ark 1989). Hidroksiapatit kaplamanın implant yüzeyinde kemik büyümesini arttıracağı gösterilmiştir (Cook ve ark 1987). HA'in osteokondüktif etkisinden yararlanarak, kemik kalitesi düşük olan tip 3 ve 4 kemiklerde implant ankrajının arttıracağı düşünülmüştür (Lozada ve ark 1993).

Farklı HA kaplama teknikleri vardır:

1- Daldırarak kaplama-sinterleme
2- Elektroforetik deposizyon
3- Daldırma-kaplama
4- Sıcak izostatik baskılama
5- İyon-ışın demeti püskürtme ile kaplama
6- Plazma-sprey
7- Elektro-mıknatıs püskürtme (Jansen ve ark 1993).

Bu metodlarla birkaç μm ile mm arasında değişen kalınlıklarda kaplama satıhları elde edilebilir. Yukarıdaki metodların tamamında kaplamanın metale tutunması ve kaplama yapısının bütünlüğünün korunması gibi temel sorunlar vardır. Plazma-sprey ve püskürtme-kaplamanın en yaygın yöntemler olduğu görülmektedir (Lacefield 1988, Koeneman ve ark 1990).

Kullanılan bütün tekniklerde HA-kaplamada farklı oranlarda kristalin ve amorf yapılar bulunmaktadır. Kaplama sırasında titanyum yüzeyle ilk temasa geçen Ca/P partikülleri, metalin ısısından etkilenip hızla soğuyarak düzensiz kristal yapı olan amorf tabakayı oluştururlar (Gross ve ark 1998a). Kaplama sırasında ısıyı 500 ile 700°C'ye yükseltmek amorf yapının üzerine gelen diğer partiküllerin daha yavaş soğuması kristal tabakasının oluşmasını sağlar (Gross ve ark 1998b). Kristal yapıda hidroksilapatit ve Ca/P kristalleri düzenli şekilde sıralanmışlardır. Kristal tabakasının kalınlığının üretici firmaların kullandıkları tekniklere göre değiştiği, ancak genelde amorf tabakanın metal yüzeye yakın bulunduğu, dışa doğru gidildiğinde, kaplama sırasında daha çok ısınan yivlerin tepe noktaları ve apikal kısımlarda kristalleşme oranının arttığı gösterilmiştir (Gross ve ark 1998c). Amorf tabakanın metal bağlantısının daha gevşek olduğu ve buna bağlı olarak rezorpsiyona daha elverişli

olduğu düşünülmektedir (Denissen ve ark 1990, Cook ve ark 1993). Bu görüşe karşı olarak, de Groot ve ark (1994) HA-kaplamadaki yüksek kristal yapısının doku dostu özelliğini arttırmayacağını, amorf kaplamalarla kıyaslandığında biyoaktifliği azaltacağını ileri sürerek, kemik iyileşmesi için amorf bir dış katman ve çözülmeyi önlemek için kristal yapısında bir iç katmandan oluşacak bir ideal kaplamayı önermişlerdir.

Gottlander ve ark (1997), 4 ve 24 haftalık dönemlerde cilalı titanyum Branemark implantları ve bunların HA kaplı versiyonlarını tavşan tibia ve femurlarında test etmişler, histolojik incelemede her iki implant tipi etrafında da dev hücrelerine ve makrofajlara rastlamışlardır. Histomorfometri her iki iyileşme periyodunda da HA kaplı implantlarda daha fazla kemik teması göstermiştir. Buna karşın, kemik alan ölçümlerinde 6. aydan sonra cilalı implant yivlerinde daha fazla kemik yüzdesi saptanmıştır. Uzun dönemde HA kaplı implantlardaki kemik alanının azalması makrofajlardan kaynaklanan rezorpsiyona bağlanabilir.

HA kaplamalara ait olumlu kısa dönem sonuçlar bulunmasına rağmen, kaplamada soyulmalar, erimeler ve çözülmeler olduğu gösterilmiştir (David ve ark 1995).

Bioglass (Cam Seramik) Yüzeyler

Cam seramikler Hanch tarafından yaklaşık 20 yıl önce oranları belirlenmiş olan silika fosfat, calcia ve soda içerirler. Fizyolojik bir solüsyona bırakıldığında çözünmeye başlar ama silikadan zengin bir yüzey tabakası bırakır. Kollagen, non-kollagen proteinler ve gliko proteinler bu tabakanın içine katılarak hidroksil apatit kristallerinin presipitasyonu (çökelmesi) gerçekleşir. Bu da mekanik açıdan güçlü bir bağ dokusu oluşturur. Bu materyallerde yaşanan en büyük problem cam seramiklerin intrensik kuvvetlerini ve uygun kırılma sertliklerini kaybetmeleridir. Bu nedenle cam seramikler yaygın klinik kullanıma ulaşamamışlardır (Ünal 2001). Trikalsiyum fosfat (TCP) 1920'de kemik boşluklarını doldurmak için ilk önerilen biyoemilebilir maddedir. Bununla beraber, TCP ve alçı zayıf seramiklerdir. Dolayısıyla önemli yüklenmelere dayanabilmeleri mümkün değildir. Sert ve güçlü bir seramik gereksinimi 1965'den önce karşılanamamıştı, fakat ilk alümina (Al_2O_3)

materyalin kalça eklemi için uygulanması bu tarihte gerçekleşmiştir. Sentetik kalsiyum fosfat seramikler (kalsiyum ve fosfor içeren seramik ve camlar) ve zirkonyum, TCP ve alüminaya alternatif olarak önerilmiştir. İlk klinik kullanımdan şu ana kadar geçen 100 yıllık bir sürece karşın, kemikle sert ve güçlü bir biyolojik arayüz oluşturacak ideal bir seramik henüz elde edilememiştir. Bununla beraber, son yıllarda elde edilen seramik ve camlar, araya giren fibröz yumuşak dokular olmaksızın doğrudan kemik implant tutunmasına önderlik edebilmesi açısından umut vaadetmektedir. (Bulut ve Karakurt 2011).

Kalsiyum Fosfat Kaplı Yüzeyler

Kalsiyum fosfat kristali kemiğin mineralize matriksine olukça benzerdir. Bu tip implantların yüzeyleri kemik apatitine benzer mineral veya karbonat hidroksiapatit kaplıdır ve biyoaktiftir. Hücresel fonksiyonu tetikleyerek güçlü bir kemik-kalsiyum bağlantısı oluştururlar. Günümüzde kalsiyum fosfatların biyoaktif kapasitesi kabul edilmekle birlikte bu olayın mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Düşünülen hipotez, arada oluşan karbonat apatit tabakasının biyoseramik materyalin iyon çözünürlüğünden kaynaklandığıdır. Başka bir görüşe göre yüksek kalsiyum ve fosfat konsantrasyonları ile büyüme faktörlerinin yüksek afinitesi bağlanmayı sağlamaktadır (Albrektsson ve ark 2004).

Kalsiyum fosfat seramikler oldukça farklı mekanik özelliklere sahiptir. Düşük dirençte olanlar partikül formunda olup genellikle yüzey kaplamada kullanılırlar. Kırılgan ve düşük gerilme direncine sahip olmaları kullanımlarını oldukça sınırlamaktadır. Kalsiyum fosfat seramiklerin en önemli avantajları, biyolojik mikroortamla aynı yapıda olmaları, yumuşak ve sert dokuya tutunmaları, yabancı cisim reaksiyonu oluşturmamaları, osteokondüktif özelliğe sahip olmalarıdır (Ünal 2001).

Baxter ve ark (2002) yapmış oldukları bir çalışmada, kalsiyum fosfat yüzeylerde fibroblast ve osteoblast adezyonunu ve morfolojisini incelemişler, kalsiyum fosfat ve HA yüzeylerde kültüre edilen hücrelerde hemen hemen hiç fibroblast yayılması olmadığını ve çok düşük adezyon gözlendiğini rapor etmişlerdir.

Trikalsiyum Fosfat (TCP) Kaplı Yüzeyler

İlk olarak 1970'lerin başlarında bulunmuş olan küçük ve orta büyüklükteki kemik defektlerinde kullanılan sentetik, multikristal ve poröz yapıda bir implant yüzey materyalidir. Fizyolojik ortamda açığa çıkan iyonlar çevre dokuya dağılarak vücut tarafından kullanılırlar. Bu poröz özellik, yeni gelişen kemiğin implant içine doğru büyümesine olanak sağlar (Ünal 2001).

Kemik fiksasyonunda implant gevşemesi, internal fiksasyonla ilgili olan çözülmemiş bir komplikasyondur. Genel olarak, bu problemin osseointegrasyonu geliştirmek için implant / kemik arayüzünü değiştirilerek aşılabilir kabul edilmektedir. Bu sonuç hidroksiapatit (HA) ya da trikalsiyum fosfat kaplama ile kısmen elde edilebilmektedir. Bu kaplamaların implant yüzeylerine olan adezyonları ve kaplamanın kendi katmanları içerisinde bağlantılar zayıftır (Baxter ve ark 2002).

Yapılan çalışma sonuçları TCP seramiklerin lokal ve sistemik toksik etki göstermediğini, dokuyla biyolojik uyumunun tam olduğunu, yani kemik yapısını olumlu etkilediğini, kemik için uygun bir matriks görevi yaptığını ve mandibulanın direncini arttırdığını göstermiştir. TCP seramikler zaman içinde rezorbe olur ve osteojeniteye de olumlu etkir (Ünal 2001).

Florlu Yüzeyler

Titanyum yüzeyine flor uygulaması ilk defa Ellingsen tarafından yapılmıştır (Ellingsen ve ark 2004). Kum püskürtme ve asitle dağlama işlemine tabi tutulmuş yüzeylerle ilişkili olan yeni bir yüzey modifikasyonu yüzeyin kimyasal yapısında değişimlere yol açan florlanmış yüzeylerdir. Florlanmış yüzeyler osteogenezi teşvik etmek amacıyla kemiğin temel elementlerinden biri olan florun yüzeye eklendiği kimyasal bir yüzey modifikasyonudur (Cooper ve ark 2006).

İn vitro ve in vivo çalısmalardan elde edilen bilgiler kemik-implant kontağının yanı sıra osteoblast farklılaşması ve büyümesinin, florla modifiye edilmiş yüzeylerde kolaylaştığı belirtilmektedir (Kılınç ve Erkmen 2011).

Albrektsson ve ark (2004) düzgün yüzeyli titanyum implantlarda, kumlanmış-orta derece pürüzlü-florlanmış ve florlanmamış yüzeyli implantlarla karşılaştırmış ve tork değerleri kumlanmış implantlarda belirgin bir şekilde daha güçlü bulunmuştur. Bununla beraber, florlanmış-kumlanmış implantlarda sadece kumlanmış implantlara göre daha yüksek tork değeri gösterilmiştir ki bu da florlanmış titanyum implantların biyoaktif reaksiyonu indüklediğini kanıtlamaktadır.

İmplant yüzeyinin biyoaktivitesine ilişkin çeşitli bulgular vardır (Albrektsson ve ark 2004):

1. Bu teoriye göre yüksek güçlü transmisyon elektron mikrografisinde dokular biyomateryal yüzeyine doğru ilerlemektedir. Aradaki mesafe çok küçük olduğu için biyokimyasal bağlanma mümkün görülmektedir.
2. Bir implant çıkarıldığında veya çekme testi uygulandığında kırılma ara yüzeyde değil, kemik dokusunda olur. Bu önemlidir çünkü iyonik bağlanmanın çok kısa mesafelerde, nanometrik düzeyde gerçekleştiğini gösterir ki osseointegre implantlarda hareket mikrometre düzeyinde gerçekleşir. Eğer bu hareketler kemik-implant ara yüzeyinde oluşsaydı o zaman kırık da kemik dokuda değil bu yüzeyde oluşurdu. Bu da iyonik bağlanmayı destekler. Yine de çıkarılan implant yüzeyinde kemik dokusunun bulunması biyoaktivitenin kesin kanıtı değildir. Çünkü bu kemik dokusu, implant yüzey düzensizliklerine kilitlenmenin bir sonucu olarak da gelişmiş olabilir.
3. Kimyasal bir kanıt ise kalsiyum fosfat seramik implant yüzeyinde karbonat apatit tabakasına rastlanmasıdır.
4. Yüzeyleri modifiye edilmiş implantlarda daha güçlü bir kemik bağlantısı olması da önemli bir bulgudur.

TiO_2 ile Kumlanmış Yüzeyler

Tioblast ve Osseospeed implantlar

Tioblast implantlar, implant yüzeyine titanyum dioksit püskürtülmesiyle elde edilmiştir. Osseospeed implantlar ise Tioblast yüzeyin flor ile modifiye edilmiş

şeklidir. Fixture Microthread-Osseospeed implantlar, titanyum kumlama tekniğiyle pürüzlendirildikten sonra seyreltilmiş hidroflorik aside tabi tutularak oluşturulmuş bir yüzey yapısına sahiptir. Tioblast yüzeyle osseospeed yüzey kıyaslandığında, hücre kültür deneylerinde flor modifikasyonu yapılmış yüzeyde osteoblast oluşum miktarının ve hızının önemli ölçüde daha fazla olduğu, 14 gün sonra 3 kat daha fazla kemik sialoproteini oluştuğu saptanmıştır. Ayrıca kemik-implant kontak miktarında da belirgin artış bulunmuştur (Cooper ve ark 2006).

Ellingsen (2000a), TiO_2 ile pürüzlendirilmiş implantlarla (TiOblastTM), TiO_2 ile pürüzlendirilip florla modifiye edilmiş implantları (OsseospeedTM), CaP solüsyonunda bekleterek reaksiyona soktuğu çalışmasında, florla modifiye implantlarda çok daha fazla fosfat bağlantısı olduğunu ve flor modifikasyonunun implant yüzeyinin fosfatla reaksiyona girme eğilimini arttırdığını göstermiştir.

Ellingsen ve ark (2004), TiO_2 ile pürüzlendirilmiş implantları sulandırılmış HF çözeltisi içinde bekleterek florla modifiye edilmiş yüzeyler elde etmişler ve bunları tavşan kemiğine uygulamışlardır. Dört hafta sonra yapılan histolojik incelemede, TiO_2 ile pürüzlendirilmiş yüzeylerden anlamlı derecede yüksek kemik-implant birleşimi gösterdikleri tespit edilmiştir. Florla modifiye edilmiş yüzeylerin daha düşük Sa (3 boyutlu ölçümlerde yüzey deviasyonunun aritmetik ortalaması) ve Scx (Yüzey düzensizliklerinin ortalama dalga boyu) değerleri göstermesine rağmen ossointegrasyonu hızlandırması, periimplant bölgede oluşan florapatit kristallerinin kemik hücreleri ve kalsifiye dokunun implant yüzeyine yapışmasını sağlamasıyla açıklanmaktadır.

Cooper ve ark (2006), insan mezenkimal kök hücrelerinden hazırladıkları kültürde TiO_2'le pürüzlendirilmiş ve TiO_2'le pürüzlendirilip flor iyonlarıyla modifiye edilmiş deney implantlarını karşılaştırmışlardır. Florla modifiye edilen yüzeylerde kemik sialoprotein (BSP) ve kemik morfogenetik proteinde (BMP-2) artış gözlendiği, böylece osteogenesisin hızlandığı ve daha fazla osteoblast farklılaşması sonucu implant yüzeyindeki kemikte artış olduğu belirtilmektedir.

Okside Edilmiş (Electro-polished) Yüzeyler

Ti Unite İmplantlar

Titanyumun H_2SO_4, H_3PO_4, HNO_3, HF gibi güçlü asitler içerisinde yüksek yoğunlukta (200 A/m^2) veya potansiyelde (100 V) potansiyostatik veya galvanostatik anodizasyonu sonucu mikro veya nano poröz yüzeyler elde edilebilmektedir. Anodizasyon sonucunda titanyum yüzeyindeki oksit tabakası 600-1000 nm veya daha kalın olmaktadır. Bu oksit tabakasının konveksiyon çizgilerinde çözünmesiyle yüzeyde mikro veya nano çukurcuklar elde edilmektedir (Le Guehennec ve ark 2007).

Anodizasyonla pürüzlendirilmiş yüzeylerden en fazla kullanılan marka Nobel Biocare firmasına ait TiUnite ® implantlarıdır (Le Guehennec ve ark 2007).

Yapılan geriye dönük bir çalışmada Tip 4 kemiğe uygulanan 27 adet TiUnite implantın bir sene sonunda ilk bir ayda rezonans frekans analizi (RFA) değerlerinde düşme, daha sonra bir artış; bir sene sonunda marjinal kemik kayıplarının 1 mm civarında ve başarı oranının % 100 olarak saptandığı belirtilmiştir (Glauser ve ark 2000).

Lazerle Pürüzlendirilmiş Yüzeyler

Titanyum implant yüzeyinin pürüzlendirilmesinde Nd: Yag lazer, Diode pompalı katı lazer, CO_2 lazer, Fiber lazer gibi değişik lazerler kullanılmaktadır. Son yıllarda kullanım alanına girmiş olan bu yeni teknikle hazırlanan implantlar diğer yöntemlerle hazırlanan implantlardan daha üstün özellikler göstermektedir.

Yapılan bir çalışmada lazer uygulanmış titanyum yüzeylerin insan gingival fibroblast (HGF) canlılığı, çoğalması ve adezyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Cilalı (parlatılmış) ve kumlanmış titanyum diskler kontrol grubu olarak kullanıldığı bu çalışmada lazer uygulanmış yüzeylerde HGF adezyonu daha başarılı bulunmuştur. Sonuçlar modifiye Ti yüzeylerin HGF'lerin yaşayabilirliğini etkilemediğini

göstermiştir. Farklı lazer uygulanmış gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (Baltriukienė ve ark 2014).

Heinrich ve ark (2008) yaptıkları bir çalışmada, bakteriyel enfeksiyona karşı biyolojik bir bariyer olarak vazgeçilmez olan mukozal adezyonu sağlamak için titanyum implantlara KrF Excimer lazer kullanarak yüzey işlemi uygulamışlar ve polisajlı implant yüzeylerinde delikli yapılar oluşturmuşlardır. Fibroblast hücrelerinin tercihen bu delikli yapılara bağlandıklarını ve delikli yüzeyi kapayacak şekilde iç köprüler oluşturduklarını rapor etmişlerdir.

Nd:Yag lazer ve machine yüzeyin karşılaştırıldığı bir çalışmada tavşan tibialarına yerleştirilen implantlara çıkarma tork testi uygulanmış ve lazer uygulanmış yüzeyde daha yüksek çıkarma tork değerleri elde edilmiştir. Benzer şekilde, machine yüzeyli ve lazer yüzeyli implantların karşılaştırıldığı tavşan deneylerinde, tibiaya yerleştirilen implantlara 8 hafta sonunda çıkarma tork testi uygulanmış ve sonuç olarak lazer uygulanmış grupta machined yüzeyli kontrol grubuna göre daha yüksek çıkarma tork değerleri elde edilmiştir (Cho ve Jung 2003, Brånemark ve ark 2001).

Sisti ve ark (2012) yüzeyi lazerle modifiye titanyum implantların başlangıç aşamasında osseointegrasyonu artırabileceğini rapor etmişlerdir. Hallgren ve ark (2003) da yüzey topografileri lazerle oluşturulan implantların kemik-implant temaslarını inceledikleri in vivo bir çalışmada, kontrol grubuna göre daha fazla kemik-implant teması gözlemlemişlerdir.

Yapılan başka bir in vivo çalışmada değişik dalga boylarında diot pompalı katı lazer kullanılmıştır. Bu şekilde oluşturulan yedi farklı lazerle oluşturulmuş implant yüzeyi analiz edilmiştir. Ortalama kemik-implant temas değerleri test edilen tüm yüzeyler için yaklaşık % 50 bulunmuştur. Lazer ışınının gücü ve açısı değiştirilerek farklı yüzey pürüzlülüklerinin histolojik cevabı etkilediği rapor edilmiştir (Berardi ve ark 2011).

Klinik çalışmalar lazer uygulanmış yüzeyli implantlar etrafında daha fazla kemik oluşumunun gerçekleştiğini göstermiştir. Bunun sebebinin ise lazer işleminin

implant yüzeyinde biyouyumluluğu geliştirmesi olabileceği rapor edilmiştir (Alla ve ark 2011).

BioHorizons firması Laser-Lok adını verdiği yüzeyde geleneksel implantlara göre kemik kaybının daha az olduğunu iddaa etmektedir. Laser-Lok'un aşağı yönde epitelyal büyümeyi engellerken ve kemik koronal seviyesini korurken, implant üzerindeki önceden belirlenmiş bir bölge için fiziksel bağ dokusu ataçmanı oluşturduğu bildirilmiştir (Nevins ve ark 2008).

1.5. Yüzey Topografilerini Saptama Teknikleri

İmplant yüzeyleri nanometre ile milimetre ölçeklerinde değişen topografilere sahiptir ve bu yüzeylere karşı verilecek biyolojik cevapların değerlendirilmesinde yüzey topografilerinin özelliklerinin saptanması büyük önem taşımaktadır. Topografi karakterizasyon teknikleri; yatay ve/veya dikey çözünürlük, yüzey oluşumlarına girebilme, tarama uzunluğu/alanı, dikey aralık gibi kriterler bakımından sınırlamalar göstermektedir. Bu sınırlamalar, uygulanan metotların kendi içindeki fiziksel farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Yüzeyde aşırı eğim varsa ya da düşük önyansıtırlık özelliği gösteriyorsa odaklama problemleriyle karşılaşılmaktadır. Temasla ölçüm esnasında 'gerçek' yüzeyin deforme edildiği sonuçlar gözlenmektedir. Optik ölçüm esnasında keskin kenarlar ve aşırı eğimler mevcutsa optik artifaklar görülebilir (Klokkevold ve ark 2001, Wieland ve ark 2001, Zinger ve ark 2004).

Yapılan bir çalışmada, kullanılan cihazların ölçüm yönteminin ve yüzey işlemlerinin pürüzlülük verilerini anlamlı derecede etkilediği bildirilmiştir (Kohles ve ark 2004).

Yüzey topografisi ölçümlerinde kalitatif ve kantitatif veriler sağlayabilen cihazlar mevcuttur. Bunlar; mekanik profilometre cihazları, optik profilometre cihazları, tarayıcı iğne mikroskopları ve taramalı elektron mikroskopları olarak sınıflandırılabilir (Yeniyol 2006).

1.5.1. Mekanik Profilometre Cihazları

İnce metalik bir kanatçığın yüzey üzerinde sabit bir hızla kaydırılma prensibine dayanır. Bir kantilevere bağlı olarak X aksı boyunca hareket ettirilen ucun hareketleri dijital veya analog sinyaller olarak işlenerek yüzey profili kaydedilir. İmplant araştırmalarında, silindir şeklindeki ve yassı örneklerde kullanılabilmektedir. Temas etmesinden dolayı kullanılan uç ve yüzey, ölçüm işleminden zarar görebilmektedir (Wennerberg ve Alberktsson 2000).

1.5.2. Optik Profilometre Cihazları

Yüzeye temas etmedikleri için daha çok yumuşak ve hassas biyomateryallerin yüzeylerini değerlendirmede kullanılırlar. Mekanik aletlere göre daha hızlı ve daha iyi çözünürlüğe sahiptirler. Optik aletler de disk ve silindiri değerlendirmede kullanılmaktadırlar (Wennerberg ve Alberktsson 2000).

1.5.3. Tarayıcı İğne Mikroskopları

Kantilevere bağlı sivri bir uç yardımıyla örnek yüzeyi taranır ve meydana gelen dikey hareketler kayıt edilmektedir. Yalıtkan yüzeylerde en çok atomik kuvvet mikroskobu kullanılır. Yüksek çözünürlüğe sahip oldukları için bir protein molekülü büyüklüğündeki yapılar bile görüntülenebilmektedir. Maksimum dikey ölçüm mesafesi ve ölçüm alanı çoğu implant yüzeyi için yetersizdir ve tüm implant yüzeyine genellenememektedir (Wennerberg ve Alberktsson 2000, Yeniyol 2006).

1.5.4. Taramalı Elektron Mikroskopları

Taramalı Elektron Mikroskobunda görüntü, yüksek voltaj ile hızlandırılmış elektronların numune üzerine odaklanması, bu elektron demetinin numune yüzeyinde taratılması sırasında elektron ve numune atomları arasında oluşan çeşitli girişimler sonucunda meydana gelen etkilerin uygun algılayıcılarda toplanması ve sinyal güçlendiricilerinden geçirildikten sonra bir ekrana aktarılmasıyla elde edilir. Modern sistemlerde bu algılayıcılardan gelen sinyaller dijital sinyallere çevrilip bilgisayar monitörüne verilmektedir. Gerek ayırım gücü (resolution), gerek odak derinliği

(depth of focus) gerekse görüntü ve analizi birleştirebilme özelliği, taramalı elektron mikroskobunun kullanım alanını genişletmektedir (Flegler ve ark 1993).

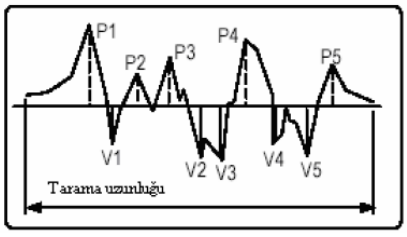
1.6. Yüzey Topografisinin Ölçülmesi

Üretim sonucunda yüzey yapısında oluşan düzensizliklere pürüzlülük denir (Brunette ve ark 2001). İmplant yüzeyinin uygunluğunu değerlendirmek ve matematiksel büyüklüklere (parametrelere) çevirmek için pürüzlülük ölçümleri yapılır. Pürüzlülük ölçümlerini değerlendirmek maksadıyla ölçülen profilde pürüzlülük, form ve dalgalılık sapmaları birbirinden ayrılır. Pürüzlülük ölçümlerinin doğru ve hassas yapılmasının yanında hangi pürüzlülük parametrelerinin kullanılacağının doğru tespiti ve bunların doğru değerlendirilmesi gerekir. Yüzey pürüzlülük parametreleri, salınım, aralık ve hibrid (karma) parametreler olmak üzere üç gruba ayrılır (Aksulu ve ark 2001, Brunette ve ark 2001).

Salınım parametreleri yüksekliği; aralık parametreleri düzensizlikler arasındaki yatay mesafeleri tarif etmektedir. Karma parametreleri ise hem aralık hem de salınım parametrelerini içermektedir. Yüzeyler tek bir parametre ile tanımlanamazlar. Bir yüzey başka bir yüzeyle aynı salınım sapmasına sahip olabilir fakat bu yüzeylerin aralık sapmaları farklı olabilmektedir (Wennerberg ve ark 2000, Yeniyol 2006).

1.6.1. R_a Yüzey Pürüzlülük Değeri

R_a, belirli bir ölçüm mesafesinde, tüm yüzey düzensizliklerinin (yükseklik ve derinliklerinin) mutlak toplamlarının aritmetik ortalamasıdır (İnan ve ark 2008).



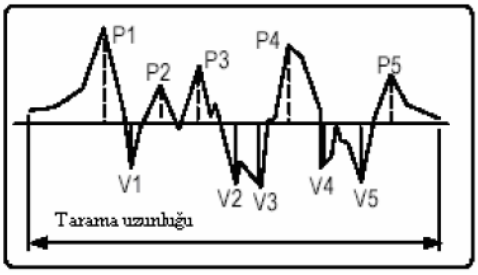
Şekil 1.1. R_a Pürüzlülük değeri diyagramı (Yeniyol 2006).

$$R_a = \frac{1}{L}\int_0^L |z(x)|dx$$

Şekil 1.2. Ortalama pürüzlülük için formül (Yeniyol 2006).

1.6.2. R_z Yüzey Pürüzlülük Değeri

R_z, belirli bir mesafede birbirini izleyen 5 maksimum yükseklik ve derinliğin ortalamasını ifade etmektedir (İnan ve ark 2008).



Şekil 1.3. R_z Pürüzlülük değeri diyagramı (Yeniyol 2006).

$$R_z = \frac{(P1 + P2 \ldots P5) - (V1 + V2 \ldots V5)}{5}$$

Şekil 1.4. R_z pürüzlülük için formül (Yeniyol 2006).

1.7. Lazer Nedir?

Lazer terimi; radyasyonun uyarılmış yayılımı ile ışık şiddetinin arttırılması anlamına gelen Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation (LASER) sözcüklerinin baş harflerinden oluşmaktadır. İlk Lazer cihazı Theodore H. Maiman tarafından 1960 yılında Ruby (yakut) kristali kullanarak üretilmiştir. Daha sonra farklı dalga boylarında lazerler piyasaya sunulmuştur (Coluzzi 2004).

Maddeler üzerindeki işlemler için en çok kullanılan iki lazer tipi Nd: YAG ve CO_2 lazerleridir. Bu iki lazer tipinden CO_2 lazerlerinin daha kullanışlı olduğunu birçok amaca yönelik olarak kullanım esnekliğine sahip olduğunu söylemek genel

anlamda doğrudur. Bu lazer tipi geniş bir bölgede çıkış gücünü verecek şekilde kullanım amacıyla elde edilebilir ve makul bir maliyete sahiptir. Daha kısa çalışma dalga boyuna sahip olması nedeni ile bazı alanlarda Nd: YAG lazerler bir çok avantaja sahiptirler (Çolpan 2008).

Lazerin malzemeyle etkileşiminde temel olarak iki yöntem vardır. İlk yöntem sürekli ışıma ile malzeme işlemedir. Buradaki temel prensip, noktasal olarak malzemenin ısıtılması ve eritilmesidir. Bu eskiden beri uygulanan ve iyi bilinen bir tekniktir. Yeni olan yöntem ise kısa pulslarla malzemenin işlenmesidir. Bu işlem sırasında anlık olarak çok yüksek güçler oluşturulur, normal şartlarda gerçekleşmeyen çoklu foton etkileşmeleri kuvvetli hale gelir. Malzeme, eritilerek ya da parçalanarak değil, bir plazma ortamının çok kısa sürede oluşturulması ve moleküler bağların koparılmasıyla işlenir. Çok hızlı lazer kullanıldığında ışığın odaklandığı küçük işlem bölgesinin dışında malzemeye etkide bulunulmaz, böylece çok daha kontrollü işlem yapılır (Çolpan 2008).

1.7.1. Lazerin Tarihçesi

- Lazerin prensipleri ve kuantum mekaniksel temelleri ilk kez 1917 yılında A. Einstein tarafından atıldı.
- 1953 yılında bu prensibi kullanan ilk cihaz C. Townes tarafından geliştirildi.
- 1956 yılında N. Bloembergen sürekli pompalanan 3-seviyeli mikrodalga maseri keşfetti.
- 1958 yılında C. Townes ve A. L. Schawlow lazer olayını anlatan bir makale yayınladılar. Patent aldılar.
- 1960 yılında ilk katı hal lazeri, T. H. Maiman tarafından Ruby (yakut) kristalinden oluşan çubuk kullanılarak yapıldı.
- 1963 yılında A. Javan ilk gaz lazeri (Helyum-Neon) icat etti.
- Artık günümüzde, teknolojinin; optik, elektronik, fizik ve kimya alanlarındaki gelişmelerine bağlı olarak çok çeşitli lazer türleri ortaya çıkmıştır (Akın 2011).

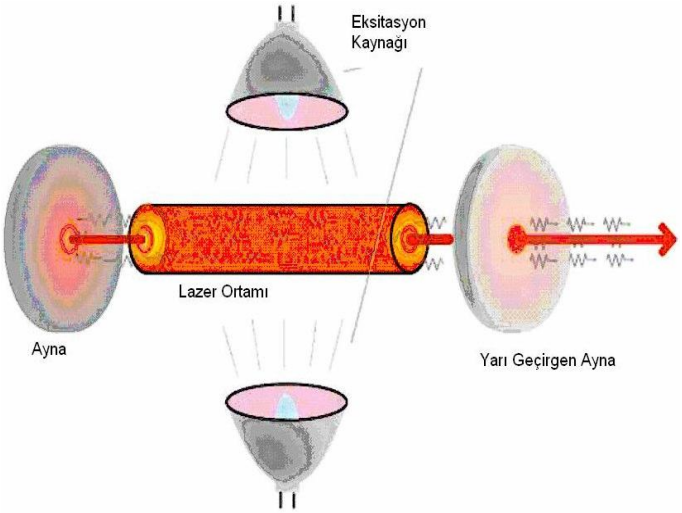
1.7.2. Lazer Sisteminin Bileşenleri

Bir lazer cihazının lazer ışını üretebilmesi için gereken üç ana birim ; lazer materyali, enerji kaynağı ve mekanik yapılardır.

a) Lazer Materyali: Lazer materyali başka bir kaynak tarafından yayılan enerjiyi, sahip olduğu atomlar ya da moleküller yoluyla absorbe edip daha sonra bu enerjiyi ışık fotonları olarak yayabilen materyale verilen addır. Lazer materyalinin seçimi, oluşacak lazer ışınının özellikleri açısından önem taşımaktadır. Işının dalga boyu, gücü ve rengi, seçilecek madde ile doğrudan ilgilidir. Bu yüzden bir lazer ışınının adı, dalga boyu ile değil, HeNe lazer, Erbiyum lazer, CO_2 lazer gibi lazer ortamının içinde bulunan materyalin adıyla anılır (Clayman ve Kuo 1997, Coluzzi 2000, Yenen 2008).

b) Enerji Kaynağı: Enerji kaynağı, lazer materyalini, lazer ışını üretebilmesi için gerekli olan eksitasyonu başlatmak, yani daha üst enerji seviyelerine çıkartmak için kullanılır. Bugün tıpta kullanılan lazerlerin hemen hemen tümünde enerji kaynağı olarak elektrik enerjisi kullanılmaktadır. Optik ya da kimyasal enerji de lazer materyalinin eksitasyonlarında kullanılabilir (Baxter 1994).

c) Mekanik Yapı: Mekanik yapı, içerisinde lazer materyalini barındıran ve iki ucunda iki ayna bulunduran kapalı bir kutudur. Aynalar belli bir dalga boyundaki ışığı yansıtacak şekilde üretilirler ve birbirine paralel bir şekilde kutunun içine yerleştirilir. Bu aynalardan birisi yarı geçirgen, digeri tam geçirgendir. Rezanatörde oluşan lazer ışıgı kaviteyi, yarı geçirgen ayna aracılığıyla terk eder (Resim 1.5.) (Baxter 1994, Yenen 2008).

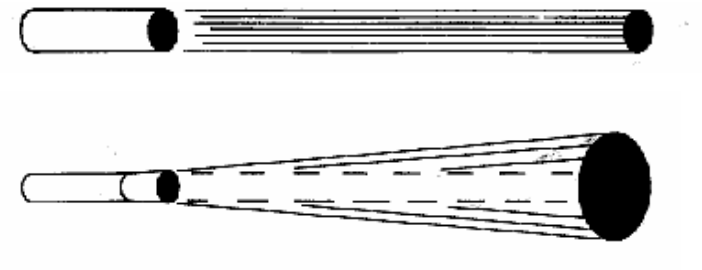


Resim 1.5. Lazer Sisteminin Bileşenleri (Yenen 2008).

1.7.3. Lazer Işığının Özellikleri:

Doğrusal, Dağılmayan (Collimated):

Lazer ışığı doğrusaldır. Fotonlar birbirine paraleldir. Tek çizgi gibi dağılmadan gidebilir (Resim 1.6) (Harris ve Pick 1995).



Resim 1.6. Dağılmayan ve Dağılan Işık (Yenen 2008).

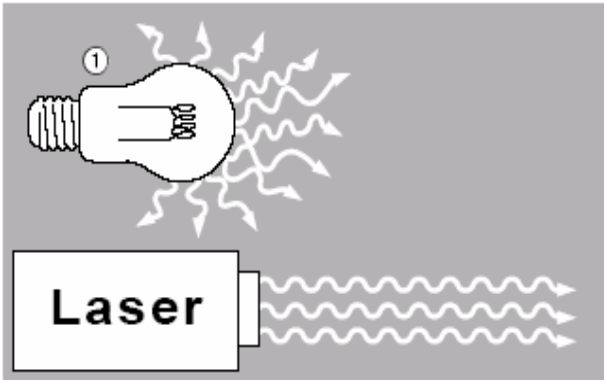
Tek Renkli (Monochromatic)

Lazer ışığının en belirgin özelliklerinden bir tanesi tek renkli oluşudur. Her ışığın kendine has bir dalga boyu vardır. Tipik olarak bir lazer ışınının rengi, merkezi dalga boyu ile karakterize edilir. Dalganın kendisini tekrarladığı mesafeye dalga boyu denir ve λ ile gösterilir. Bir grup fotonun tek bir frekansa sahip olması özelliğine tek renklilik (monokromatiklik) denir. Gerçek uygulamalarda dalga boyu

birimi için Angstrom veya nm, frekans birimi için ise Hertz (s-1) kullanılır (Çolpan 2008).

Aynı Fazda (Coherent):

Işık demetini oluşturan ışık dalgaları aynı fazdadır. Fotonların salınımının başladığı nokta aynıdır ve fotonlar birbiriyle uyum içindedir (Resim 1.7) (Harris ve Pick 1995, Coluzzi 2004, , Wintner ve ark 2006).



Resim 1.7. Aynı Fazda Lazer Işığı (Yenen 2008).

1.7.4. Lazerin Çalışma Prensibi

Lazer cihazına, lazer materyali doldurularak enerji kaynağından verilen enerjinin ortamdaki atomlara ulaşması sağlanır. Atomların bir kısmı bu enerjiyi emerler, fazla enerji ise kararsız atomların oluşmasını sağlar. Bu kararsız atomlar kendisine foton çarptığında, fazla enerjiyi foton yayarak verirler. Fotonlar benzer şekilde diğer fotonların yayılmasını sağlarlar. Uçlara ulaşan fotonlar paralel aynalardan yansıyarak geri döner ve bu olay devam eder. Atomların hepsi foton yaymaya başladığı zaman kuvvetlenen ışık yarı sırlı uçtan dışarı çıkar. İşte bu lazer ışınıdır. Lazer ışınındaki dalgalar birbirlerini kuvvetlendirici karakterdedir. Lazer ışını aynı fazda yapılan ışık dalgaları olduğu için şiddeti fazladır. Lazerin çalışabilmesi için, enerji seviyesi düşük olan atomların enerji seviyelerinin yükseltilmesi gerekmektedir. Bu durum ise normal olarak atomların enerji seviyesi dağılımının tersidir. Bu nedenle lazerin çalışması için gerekli durum tersine çevrilmiş

dağılım olarak adlandırılır ve bunu ortaya çıkarmak için pompalama işlemi kullanılır (Stabholz ve ark 2003).

Optik pompalama ise yüksek frekanslı yoğun ışınların yayılmasıyla yapılabilir. Yarı iletkenli lazerlerde pompalama elektrik akımı yardımıyla gerçekleştirilir ve işlem elektriksel pompalama olarak isimlendirilir. Gaz lazerlerinde ise pompalama işlemi elektron-atom ve ya atom-atom çarpıştırılmasıyla gerçekleştirilir ve çarpışma pompalaması olarak bilinir. Kimyasal pompalama işleminde ise kimyasal lazerlerde kimyasal reaksiyonlarla atom ve moleküller uyarılır. Gaz-dinamik lazerlerde de pompalama, ses hızı üstü gaz genişlemesi yoluyla gerçekleştirilir ve gaz genişleme pompalaması olarak isimlendirilir (Stabholz ve ark 2003).

1.7.5. Lazer Kullanım Parametreleri

Lazer kullanım parametreleri kullanım amacına göre değişmektedir. Lazer etkinliğinde; lazer ışığının gücü, dalga boyu, atım süresi, uygulama süresi, uygulanan materyalin fiziksel özelliği önem taşımaktadır. Bu faktörlerden herhangi birisinin değişmesi, lazer uygulamasının sonucunu da değiştirmektedir (Harris ve ark 1995, Karu 1998, Coluzzi 2004, Convissar 2004).

Güç Yoğunluğu (*Power Density*) (PD)

Güç yoğunluğu ışık yoğunluğu veya ışık konsantrasyonu olarak da adlandırılabilir ve birim alanda bulunan foton konsantrasyonudur. Foton konsantrasyonu cm^2 de W olarak ölçülür.

$PD=W/cm^2$

PD yi hesaplayabilmek için ışığın uygulandığı doku üzerinde oluşturduğu daire şeklindeki (spot) alanı hesaplamak gereklidir.

Dairenin alanı $A = \pi r^2$ ($\prod$=3.14) formülünden hesaplanır.

Eğer lazerin çıkış gücü 10 W ise ve spot çapı 1.0 cm ise:

$PD = 10 / 3.14 [(0.5) 1]^2$

$=10 / 0.79$

$=12.7 W/cm^2$ olarak hesaplanır.

Bu değer ortalama güç yoğunluğudur. Güç yoğunluğu dairenin merkezinde en yüksektir ve kenarlarında ise neredeyse sıfıra yaklaşır (Harris ve Pick 1995, Karu 1998, Tuner ve Hode 2002, Wintner ve ark 2006).

Lazer ışın demeti ile malzeme üzerinde işlem yapmak için lazer cihazının gücünden ziyade, malzemenin birim alanına düşen güç daha önemlidir. Bu parametre güç yoğunluğu olarak tanımlanmaktadır. Lazer demetinin monokromatikliği ve koherensliği, demetin çok küçük bir alana odaklanabilmesini ve çok büyük bir tepe gücü yoğunluğunun elde edilmesini mümkün kılmaktadır. Elde edilen güç yoğunluğuna göre malzeme üzerinde, kesme, kaynak, delme vb. işlemlerin yapılabilmesi mümkün olmaktadır (Çolpan 2008). Çizelge 1.2 lazerlerin güç yoğunluğuna göre malzemeler üzerinde yapabilecekleri işlemleri göstermektedir.

Çizelge 1.2. Lazer güç yoğunluğuna göre uygulama alanı (Çolpan 2008).

Güç Yoğunluğu (W/cm²)	**Malzemenin Tepkisi**	**Uygulama Alanı**
$<10^4$	Isınma	Isıtma, ısıl işlemler
10^4-10^6	Erime	Kaynak
10^6-10^8	Buharlaşma	Kesme, delme

Enerji Yoğunluğu (*Energy Density*) (ED)

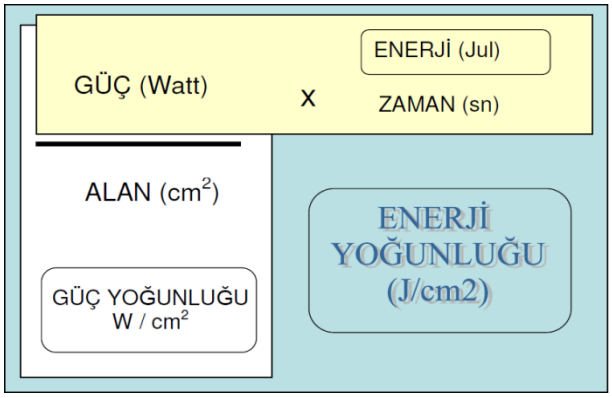
Çok kısa atımlı lazerlerde güç yerine atım başına enerjiyi kullanmak daha pratiktir. Enerji, belli bir zamanda gerçekleştirilen iş ya da belli bir zaman süresinde uygulanan güçtür. Enerji birimi jul (joul) dür (J) ve güç ile zamanın çarpımına eşittir.

1 J= 1 W X 1 sn.

Birçok atımlı lazer, atım başına 1 J den çok daha az enerji verir. Bu nedenle milijul (mJ) birimi kulllanılır.

1J=1000 mJ

Enerji yoğunluğu terimi, güç yoğunluğuna benzer ve birim alandaki enerji miktarıdır. Başka bir deyişle; belli bir zaman sürecinde uygulanan güç yoğunluğu, enerji yoğunluğudur. Güç, zaman, alan ilişkisi Resim 1.8'de görülmektedir. Birçok lazerde enerji yoğunluğu mJ/cm² olarak ifade edilir. Enerji, lazer ışığının uca iletiliş biçimine göre değişebilir (Harris ve Pick 1995, Wintner ve ark 2006).



Resim 1.8. Güç, alan ve zaman iliksisi (Yenen 2008).

Lazer Atımlarının Devamlılığı

Lazer atımlarının sürekli veya kesintili olması önemlidir. Bazı lazer sistemleri kesintisiz, sürekli lazer ışığı "Continuous Wave" (CW) sağlarken; bazı cihazlarda kullanılan metal perdeciklerle, ışığın pulsatif akımı sağlanır. Lazer ışığında meydana gelen kesinti gözle fark edilemeyecek kadar kısa zaman aralığı içinde gerçekleşmektedir. Bu tip kesikli ışığa 'chopped laser beam' denilmektedir. Bu sistemlerde bir saniyede yüzlerce kez ışığı durdurup yeniden göndermek mümkündür. Bazı sistemlerde ise enerji bir süre biriktirilip, daha kısa bir zaman diliminde salınmaktadır. Bu şekilde çok daha fazla enerji içeren bir atım elde edilebilmektedir. Bu karakterdeki lazer akımına duraksatılmış akım anlamına gelen 'pulsed laser irradiation' denmektedir (Dederich 1993).

Frekans (Hz)

Bilindiği gibi bir olgunun birim zamandaki tekrarı onun frekansıdır. Bu salımın 360 derecelik bir fazını tamamladığı uzunluk onun dalga boyudur. Tüm dalgalar belli bir frekansa sahiptir. Frekans, bir saniyede belli bir noktadan geçen dalgaların sayısıdır. Lazer cihazlarında ise frekans dalgayı oluşturan titreşimin saniyede kaç defa olduğunu belirtir. Bir dalganın frekansı ve dalga boyu arasında ters bir ilişki vardır. Bir dalganın boyu artarsa, frekansı azalır. Uzun dalgalar düşük bir frekansa, kısa dalgalar ise yüksek bir frekansa sahiptir. Frekansın ünitesi Hertz (Hz) dir. Saniyedeki atım sayısı "Pulse per second" (Pps) da aynı anlamda

kullanılmaktadır. Frekans aralığı geniş olan bir lazer, kullanım açısından kolaylık teşkil eder (Harris ve Pick 1995, Tuner ve ark 2002, Coluzzi 2004, Wintner ve ark 2006).

1.7.6. Lazer Sistemlerinin Sınıflandırılması

A- Kaynağındaki aktif maddelere göre:
   1) Katı maddeler içeren lazerler,
   2) Gazlar içeren lazerler,
   3) Uyarılmış asal gaz halojenitleri içeren lazerler,
   4) Boya tanecikleri içeren lazerler,
   5) Yarı iletken çubuklar içeren lazerler,

B- Lazer ışını hareketlerine göre:
   1) Devamlı ışın verenler,
   2) Nabızsal şekilde ışın verenler,
   3) Dalgalı akım olarak ışın verenler,

C- Lazerler dalga boylarına göre:
   1) Ultraviyole,
   2) Enfraruj,
   3) Görünen ışık olarak sınıflandırılabilirler (Önal 1993).

D- Kullanım alanlarına göre (Eldeniz 2003):
   1) Tip I Lazerler- Argon (rezin polimerizasyonu / diş beyazlatma),
   2) Tip II Lazer- Argon (rezin polimerizasyonu / diş beyazlatma ve yumuşak doku lazerleri)
   3) Tip III Lazer- Nd: YAG, CO_2, Diode (yumuşak doku lazeri),
   4) Tip IV Lazer- Er: YAG (sert doku lazeri),
   5) Tip V Lazer- Er,Cr:YSGG (sert doku / yumuşak doku / diş beyazlatma).

1.8. Periodontal ve Peri-implanter Dokular

Periodontal ve peri-implanter yumuşak dokular benzer özellikler göstermektedir. Yapılan çalışmalarda hem doğal dişler hem de implantlar etrafında fonksiyonel olarak transmukozal bariyer doku organizasyonuna ihtiyaç duyulur (Temür 2010).

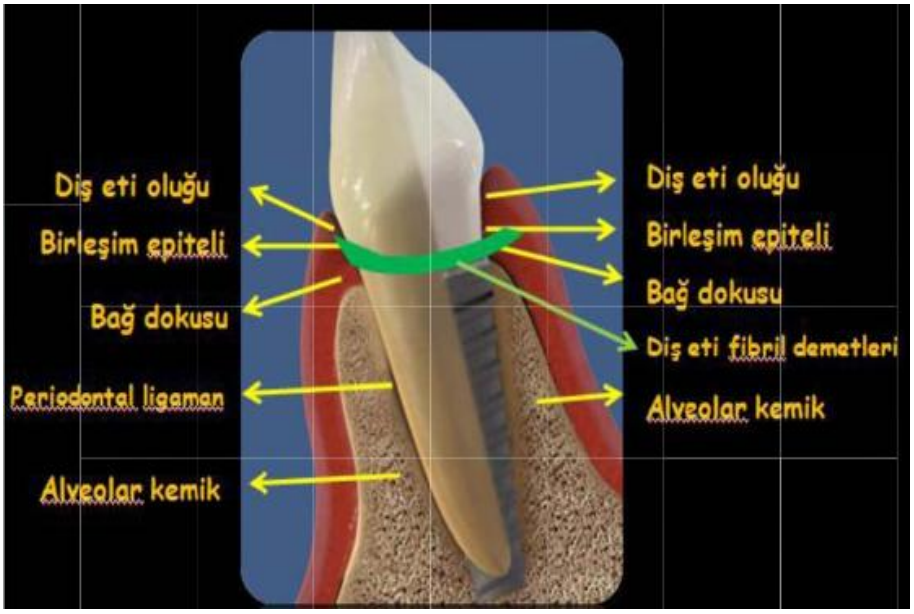
1.8.1. Periodontal Doku Anatomisi

Dişler, uygun ve yeterli desteğe sahip iseler işlev görebilirler. Bu destek, sert destek dokuları (sement ve kemik) ve yumuşak bağ dokularından (periodontal ligament ve dişetinin lamina propriası) oluşan bir organ olan periodonsiyum tarafından sağlanır. Periodonsiyum işlevsel bir birimdir ve sement aracılığıyla dentine, alveoler kret aracılığıyla da çene kemiğine bağlanır. Bu sert doku komponentleri arasındaki devamlılık, periodontal ligament ve lamina dura tarafından sağlanır. Doğal dişlerde, periodontal ligament metabolik açıdan aktif olan, yoğun sinir ağına sahip oldukça vasküler ve selüler fibröz bir bağ dokusudur. Ligament olarak adlandırılmasının nedeni, dişe yatay ve dikey yönde uygulanan her iki doğrultudaki kuvvete karşı koyacak biçimde düzenlenmiş olan ve hem dişin hem de kemiğin içine giren yoğun ve düzenli fibril demetlerinden **(**sharpey lifleri**)** oluşmasıdır (http://www.panoramix3d.com/content/dental-implantoloji 2014).

1.8.2. Peri-implanter Doku Anatomisi

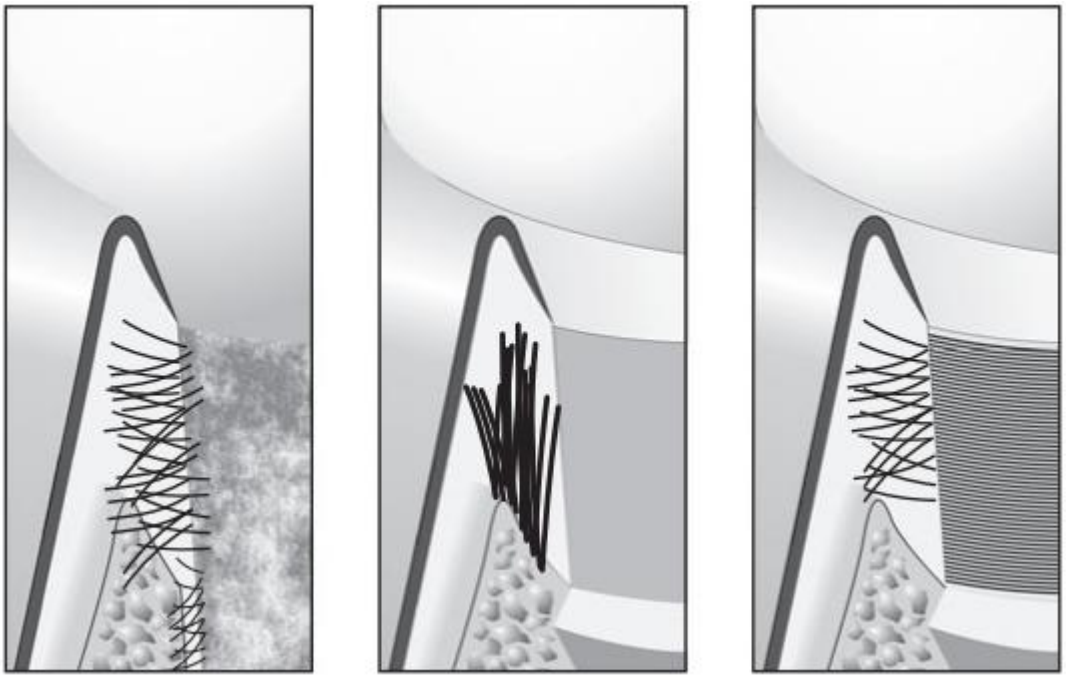
Periodontal ve peri-implanter yumuşak dokular arasındaki yapısal ve fonksiyonel benzerlik epitelyal yapı nedeniyledir. Peri-implanter yumuşak dokularda görülen oral, sulkuler ve birleşim epiteli yapısal ve fonksiyonel olarak periodontal yumuşak dokularla neredeyse aynıdır. Birleşim epiteli peri-implanter dokularda doğal diş yerine implanta tutunur. Her iki yapıda da birleşim epiteli mukozal yumuşak doku bariyerinin oluşmasında önemli bir görev üstlenir. Aynı şekilde sulkuler epitel implanta komşu olarak yer alır, doğal dişe sahip bireylerde olduğu gibi hücresel immünolojik korumayı sağlar. Oral epitel mevcut olduğu zaman keratinize ve kalın yapıdadır, çiğneme fonksiyonunun ve ağız hijyeninin sağlanması sırasında oluşan mekanik kuvvetlerden korunmayı sağlar. Periodontal oral ve

sulkuler epitel zengin vasküler beslenmeye sahipken, peri-implanter epitelde periodontal ligament olmadığı için vaskülarizasyon daha azdır. Peri-implanter dokularda dentoperiostal ve dentogingival fibriller bulunmadığından, implant alveolar kemiğin üzerinde bulunan bağ dokusundan çıkarak oral kaviteye açılır. Peri-implanter yumuşak dokuların immobilizasyonu, doğal dişlerde olduğu gibi bağ dokusu ataşmanının implanta doğru yönelerek tutunması biçiminde gerçekleşmez. Bağ dokusu fibrilleri alveolar kretten itibaren serbest diş etine kadar implantı çevresel olarak sıkıca sarar (Schwartz-Arad ve ark 2004, Temür 2010).



Resim 1.9. Periodontal ve peri-implanter doku anatomisi (Temür 2010).

Bir implant çevresindeki bağ dokusu bandı doğal bir diş çevresindekinden belirgin ölçüde farklılık gösterir. Kollogen fibriller implant yüzeyine çoğunlukla paraleldir ve alveoler kemik kretine tutunurlar (Resim 1.10). Bu bağ dokusu bölgesi aynı zamanda daha az vaskülerdir ve dişler üzerine karşılık gelen dokudan daha az fibroblast içerir. Kollagen fibrillerin paralel yönlendirme kombinasyonu, etkili bir ataçman olmaması, azalmış vaskülarite ve daha az fibroblast bulunması ağız bakterilerinin girişine karşı daha az mümkün olan düşük bir transmukozal sızdırmazlık sağlar (Kearns ve ark 2013).



Resim 1.10. Sol- Diş köküne diş eti bağ dokusu ataçmanı; **Orta-**İmplantın geleneksel transmukozal bileşeni etrafında gingival bağ dokusu manşeti; **Sağ-** İmplantın nano-fibril modifiye transmukozal bileşenine önerilen dişeti bağ dokusu ataçmanı (Kearns ve ark 2013).

1.9. Osseointegrasyon

İmplantoloji çalışmalarında ilk kabul gören teori fibro-osseoz entegrasyonudur. Fibro-osseoz entegrasyonda kemik ve implant arayüzünde organize olmuş kollagen doku bulunmaktadır. Periodontal memrana benzetilen bu yapı ilk yapılan çalışmalarda olması gereken bir bağlantı şeklinde kabul görmüştür. Fakat oluşan bu fibro-osseoz yapının periodontal ligamalardan farklı olarak implant yüzeyine paralel seyretmeleri sebebiyle bağlantıyı zayıflattığı düşünülmektedir. 1970'li yıllarda büyük bir araştırıcı grubunun savunduğu bu teori günümüzde geçerliliğini yitirmiştir (Hobo ve ark 1989, Lindhe ve ark 2000, Brenemark ve ark 2001).

Dental implant uygulamalarında kabul gören diğer teori ise osseointegrasyondur. Branemark 1955 yılında tavşan tibialarında revaskülarizasyonu vital mikroskopi ile inceleyen bir deney sırasında tesadüfen kemik ile titanyum arasındaki sıkı adaptasyonu fark ederek konuyu daha detaylı araştırmıştır. Branemark

ve ark (1985) bu fenomeni "osseointegrasyon" olarak adlandırıp "canlı kemik dokusuyla titanyum implant arasında, ışık mikroskobu düzeyindeki büyütme ile gözlenen direkt temas" olarak tanımlamışlardır. Aynı araştırıcılar daha sonra bu olguyu "canlı kemik dokusu ile yükleme altındaki implant yüzeyi arasında direkt yapısal ve işlevsel bağlantı" tanımı ile pekiştirmişlerdir.

Brenemark'ın osseintegrasyon tanımından sonra başka araştırmacılarda değişik tanımlar yapmışlardır. Alberktsson ve ark'nın osseointegrasyonu "canlı kemik ve yük taşıyan bir implant yüzeyi arasında direk bir fonksiyonel ve yapısal bağlantı" olarak tanımladıkları bildirilmiştir (Buser ve ark 2000).

Zarb (1991)'de, osseoentegrasyonun bilimsel anlamda yeterince tanımlanmadığı gerçeğini ortaya atmıştır; ancak, Branemark'ın bildirmiş olduğu tanımlama klinik olarak güvenli ve rijit bir implant fiksasyonunu sağladığı için klinisyenler arasında popülerliğini korumuştur. Zarb (1991) ise osseoentegrasyonu, alloplastik materyallerin fonksiyonel yükleme esnasında kemikte klinik olarak asemptomatik rijit fiksasyonun elde edilmesi ve devam ettirilmesi olgusu olarak tanımlamıştır.

El Askary ve ark'nın (1999) yapmış olduğu osseoentegrasyon tanımında; osseoentegrasyonun normal olarak yeniden şekillenmiş kemik ile implant yüzeyi arasında bağ dokusu olmaksızın kurulan direkt bağlantı olduğunu öne sürülmüştür. Bu tanım hala çok geneldir ve osseoentegrasyonu her açıdan tanımlamamaktadır.

Osseointegrasyon, oksit tabakasına proteoglikan ve glikozaminoglikan gibi doku ürünlerinin yapışması ve onların üzerlerine de kollagen demetlerinin tutunmasıyla başlamaktadır (Bişkin 1986).

Herhangi bir kemikiçi implantasyon prosedüründe, kemik ile implant arasında osseointegrasyon oluşması ve bunun korunması, canlı kemik dokusunun özelliklerine göre hassas bir cerrahi işlem ve uygun yükleme sağlandığında gerçekleştirilebilir (Lundgren ve Laurell 1986).

Ayrıca implantasyonu takiben, osseointegrasyonu sağlamak için implantın oral mukoza altında çiğneme kuvvetleri ve travmadan uzak tutulması gerektiği öne sürülmüştür (Adell ve ark 1985, Alberktsson ve ark 1986).

1.9.1. Yumuşak Doku Ara Yüzü

Doğal dişin aksine implantlarda periodontal ligament ve gingival sulkus bulunmamaktadır. Epitelin, dental plak yokken, inflamasyonun düşük düzeyde olması kaydıyla implantın boyun kısmıyla sıkıca adapte olduğu gözlenmiştir (Branemark 1985).

İmplant çevresindeki gingival sulkus epiteli keratinize epitel hücrelerinden oluşmaktadır. Bunlar apikale doğru gittikçe birleşim epiteline dönüşmektedir. Birleşim epiteli, dezmozomlarla bağlanan bazal hücrelerinden oluşan, bir bazal hücre katmanından oluşur. İmplantın ağız içine çıkan bölümü olan transmukozal uzantı ya da abutment yüzeyinde hemidezmozal bir birleşim gözlenmektedir (Erol 2006).

Osseointegre bir implantta boyun kısmını direkt olarak saran bir periost bulunur ve implant iyi farklılaşmış bir kemikle desteklenir. Eğer periimplant membranda bir yangı oluşursa, periost yangıya karşı bir bariyer görevi gördüğünden, bu yangı kemik yüzeyine yayılmaz (Erol 2006). Yapılan bir çalışmada implant çevresindeki gingivitis ve kemik rezorpsiyonu arasındaki ilişki araştırılmış ve "periost bariyer mekanizması" fikri ileri sürülmüştür. Araştırmacılar bu çalışmada cep derinliği ve kemik rezorpsiyonu arasında ve aynı zamanda cep derinliği ile periodontitis arasında hiçbir ilişki bulamamışlardır. Sonuçlar, plağın neden olduğu yangı göz önüne alındığında, osseointegre implantların çevresinde tümüyle farklı bir mekanizmanın varlığını ortaya koymuştur. Fakat osseointegre implantlardaki cep içinde biriken plak ve gingivitis arasında sıkı bir ilişki mevcuttur ve plak kontolü doğal dentisyonda olduğu gibi çok önemlidir (Lekholm ve Zarb 1985).

1.9.2. Kemik- İmplant Ara Yüzü

Kemik ve titanyum yüzey arasındaki etkileşim alanı sınırları kesin olmayan bir saha olarak tanımlanmaktadır ve bu saha, titanyumun yüzeyine yakın olan ve pek

çok hücre, proteinler ve moleküllerden oluşmuş kompozit bir bütünlük olduğu bildirilmiştir. Hücre seviyesinde, bir implantın çevre doku ile olan ilişkisi, titanyum implantın yüzeyinde oluşan pasif titanyum oksit tabakasıyla kollagen, osteoblastlar, fibroblastlar ve kan elemanları arasındaki etkileşimden büyük ölçüde etkilenir. Dolayısıyla osseoentegrasyon karmaşık bir süreç olup zamana bağımlıdır (Branemark 1985).

Konakçı kemikte oluşturduğu yanıtlar göz önüne alındığında implanta kemik desteği oluşumu sırasında başlıca dört bağlantı mekanizması gözlenir (Erol 2006):

1-) Çok iyi farklılaşmış bir fibröz doku aracılığıyla birleşim:

Bu tür bağlantı doğal dişlerde periodontal ligamentle sağlanır. İmplantolojide de kemik-implant bağlantısının bu şekilde olması istenmekteyse de, bu güne kadar implantolojide periodontal ligamentin işlevini karşılayacak bir bağlantı şekli bulunamamıştır.

2-) İyi farklılaşmamış fibröz doku aracılığıyla birleşim:

Bu birleşimde gerçekleşme olasılığı olan iki olay söz konusudur, bunlardan birincisi; akut ya da kronik bir yangısal yanıt ile doku reddi ve implantın erken dönemde kaybıdır. İkincisi ise, implant çevresinde değişen kalınlıklarda non-adherent bir fibröz doku oluşumudur. Osseointegrasyon kavramı tanımlanmadan önce implant-fibröz doku-kemik bağlantısı implantolojide hedeflenen sonuçtu.

3-) Yapay fikzatiflerin kullanılmasıyla sağlanan birleşim:

İmplant ve konakçı dokular arasındaki biyomekanik uyumsuzluk, periodontal ligamentin stres'in dağıtılması ve (diş-kemik arasındaki) birleştirme görevlerini taklit etmek üzere bir kemik simanı kullanılması fikrini gündeme getirmiştir. Siman-kemik arasındaki birleşim sahası iyi farklılaşmamış bir fibröz doku katmanından oluşur. Söz konusu bu bağlantı çiğneme sisteminin yüklerini taşımak için yeterli değildir.

4-) Canlı kemik içindeki direkt destek:

Osseointegre bir implant-kemik bütünleşmesinde amaç iyi farklılaşmamış fibröz doku birleşiminin aksine, zamanla daha güçlü bir implant bütünleşmesinin sağlanmasıdır.

Alberktsson ve ark (1982) titanyum yüzeyli plastik implantlarda TEM ve SEM ile:

- Temas yüzeyinden 1 ile 3 mm uzaklıkta kollagen demetleri
- Yüzeye yakınlaşan kollagenleri titanyumdan en az 200 angström kalınlığında proteoglikan tabakasının ayırdığını,
- Proteoglikan tabakasının kısmen kalsifiye olduğu ve bu kalsifiye dokuların titanyum yüzeyinde devamlılık gösterdiğini (rezolüsyon 30-50 angström),
- Osteoblast- osteosit ve uzantılarının titanyum yüzeyden proteoglikan tabakası ile ayrıldığını saptamışlardır.

1.9.3. Titanyum Oksit Tabakası

Ticari saf titanyum implantların atmosferle teması sonucunda yüzeyde metal oksit tabakası oluşmakadır ve bu implantların biyolojik dokularla olan etkileşimleri söz konusu titanyum oksit tabakası ile tanımlanır. Oluşan bu oksit tabakası stabil, korozyona dirençli ve değişken kalınlıklarda ayarlanabilir özelliktedir (Erol 2006). Sterilizasyon yöntemine de bağlı olarak, implantasyondan önce titanyum yüzeyde 2-6 nm kalınlığında bir oksit tabakası oluşmaktadır. İmplant yerleştirildikten sonra bu oksit tabakasının kalınlığının, kemik iliğinin, plazma sıvılarının, artan oksijen geriliminin, metabolik aktivitelerin ve süper oksitlerin etkisiyle 2-3 katına çıktığı düşünülmektedir (Davis 1991, Charles ve Weiss 2001).

1.9.4. Osseointegrasyondan Sorumlu Mekanizmalar

Bütün araştırmalara rağmen osseointegrasyonun kesin oluşum mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Histolojik incelemeler sonucunda iki hipotez ortaya atılmıştır. Bunlardan birincisi; implant yüzeyine bitişik amorf bir alanın ya da

granüler bir tabakanın oluşmasıdır. Bu ilk hipotez, kemik kökenli hücreler tarafından üretilen 1µm kalınlığında ve kalsifiye afibriler oluşumlardan oluşan granüler tabakayı açıklar. Bu tabaka kemik formasyonunda görülen sement çizgilerine benzetilir ve yüksek oranda kalsiyum, fosfor ve kükürt içerir. İkinci hipotez ise mineralizasyon sonucu ortaya çıkan başlangıç kollagen matriks formasyonunu tanımlar ve bu daha çok kabul gören hipotezdir (Erol 2006).

1.10. İmplant Yüzeyine Fibroblast Adezyonu (Fibroentegrasyon)

Adezyon; morfolojik değişim, fonksiyonel değişiklik ve proliferasyon gibi hücresel davranışlar büyük ölçüde hidrofilisite, pürüzlülük, doku ve morfoloji gibi yüzey özelliklerinden etkilenir. Oral implant yüzeylerine yumuşak doku yanıtlarının kapsamlı araştırmalarında, implant materyallerine yüzey işlemi uygulanmasının oral fibroblastlar yanında epitel hücrelerinin ataçmanını önemli ölçüde etkilediği gösterilmiştir (Inoue ve ark 1987, Brunette ve ark 1988, Hormia ve ark 1991, Könönen ve ark 1992, Mustafa ve ark 1998) Buna ek olarak, ağız boşluğuna ekspoze olmuş titanyum implantlara oral bakterilerin yapışmasını inhibe etmek için yüzey modifikasyonu gerekmektedir (Yoshinari ve ark 2000). Ayrıca bu modifiye yüzeyler fırçalama ve profesyonel temizleme gibi mekanik aşınmalara karşı dayanıklı olmalıdır (Fox ve ark 1990). Bu nedenle, fibroblast adezyonu farklı yüzey özelliklerinin rolünü ve farklı implant malzemelerinin biyolojik performanslarını sistematik olarak değerlendirebilmek için oldukça önemlidir (Kasemo ve ark 1988, Groessner-Schreiber ve ark 2003).

Okawachi ve ark (2012) kalsiyum ve magnezyumlu titanyum yüzeylerin epitel hücreleri ve fibroblastların adezyon aktivitesi üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak Ca^{+2} ve Mg^{+2} içeren solüsyonlarla titanyuma hidrotermal işlem uygulanmasının, implant çevresindeki yumuşak doku bariyeri gelişmesini kolaylaştıran yumuşak doku hücrelerinin materyale olan integrasyonunu arttırdığını bildirmişlerdir.

Guillem-Marti ve ark (2013) makinede mikro olarak hazırlanmış titanyum yüzeylere fibroblast adezyonu ve aktivasyonunu incelemişlerdir. Sonuç olarak, mikro oluklu yüzeylerin kullanılmasınıın polisajlı yüzeylere göre gingival bölgede implant

entegrasyonunu artırabileceği ve mikro oluklu yüzeylerin, biyolojik bir kapak oluşturulması için kritik olan ve sonuçta doku integrasyonunu geliştiren erken fibroblast adezyonunu ve aktivasyonunu arttırdığını bildirmişlerdir.

Hücre-biyomateryal adezyonu, membran proteinlerinin ektraselüler matrikse (ECM) spesifik bağlanması, hücre iskeleti oluşumu ve sinyal iletimi gibi bir çok karmaşık olay içermektedir (Akiyama 1996, Gumbiner 2000). Adezyonda merkezi rolü, Fokal Adezyon Kinaz (FAK) adı verilen hücre iskeletindeki ektrasellüler matrikse multi protein yapıda bağlanan bir enzim oynamaktadır (Burridge ve ark 1996, Schaller ve ark 1999, Hanks ve ark 2003, Thamilselvan ve ark 2007, Baltriukienė ve ark 2014).

Hücre yapışmasının kontrolü ve sonuçları, embriyonik gelişme, bağışıklık yanıtı, doku tamiri ve yara iyileşmesi gibi birçok işlemin temel faktörleridir. Bunlar implantların bağlanmasında özellikle önemli olan ve başarı veya başarısızlık kriterlerini belirleyici etkenler olarak kabul edilmektedir (Albrektsson ve ark 1981).

Fibroblastlar, gevşek bağ dokusunda baskın olarak bulunan hücrelerdir ve yara onarımı mekanizmalarındaki rolleri önemlidir. Fibroblastlar malzeme yerine komşu alt hücrelere yapışarak fibröz enkapsülasyona (kapsüllemeye) neden olurlar (Brunette ve ark 1999).

1.11. Osseointegre Dental İmplantlarda Başarı Kriterleri

Araştırmacılar tarafından her yıl literatürde implant tedavisinin başarısıyla alakalı pek çok rapor yayınlanmaktadır ve implantlar klinik ve radyolojik parametreler doğrultusunda "başarılı" veya "başarısız" terimleriyle nitelendirilmektedir. Fakat bu yayınlarda verilerin ifade edilme şekillerinde ve başarı kriterlerinde bir standart bulunmamaktadır. İmplant tedavilerinin başarısını değerlendirmek amacıyla, eskiden bu yana farklı araştırıcılar tarafından birçok başarı kriteri belirlenmiştir. Günümüzde en çok dikkate alınan başarı kriterleri Alberktsson ve ark'nın 1986'da önerdikleri implant mobilitesi ve implant etrafındaki kemik miktarını esas alan kriterlerdir (Çizelge 1.3) (Portmann ve ark 2006, Kürkçüoğlu ve ark 2010).

Çizelge 1.3. Alberktsson ve ark (1986) tarafından implant başarısını belirlemede kullanılmak üzere önerilen kriterler (Menzek 2012).

1. Subjektif Kriterler ➢ Yeterli fonksiyon, ➢ Rahatsızlık hissinin olmaması, ➢ Estetiğin daha iyi hale gelmesi, ➢ Duygusal ve psikolojik açıdan hastanın daha iyi duruma gelmesi.
2. Objektif Kriterler ➢ Kemik kaybının, vertikal boyutun 1/3'ünden daha fazla olmaması, ➢ Uygun okluzal denge ve vertikal boyut, ➢ Tedavi edilebilir gingival enflamasyon, ➢ İmplantın herhangi bir yöndeki mobilitesinin 1mm'den az olması, ➢ Enfeksiyon semptomlarının olmaması, ➢ Komşu dişlere zarar verilmemesi, ➢ Parestezi, anestezi gibi durumların veya mandibular kanal, maksiller sinüs veya burun tabanında herhangi bir komplikasyon durumunun olmaması, ➢ Kollagen dokuların sağlıklı olması.
3. 5 yılda %75 oranında fonksiyonel kullanım sağlanmalıdır. ➢ Klinik olarak test edildiğinde tek başına implantta hareketlilik olmamalıdır, ➢ Radyografik incelemede implant çevresinde herhangi bir radyolusent alan görülmemelidir, ➢ İmplantların yüklenmesinin 1. yılını takiben implant çevresindeki vertikal kemik kaybı 0.2 mm'den az olmalıdır (marjinal kemik kaybı yüklemenin yapıldığı ilk yıl 1.5 mm'den az olmalıdır), ➢ Geri dönüşü olmayan ağrı, enfeksiyon, nöropati, parestezi veya mandibular kanal perforasyonu gibi semptom ve belirtiler olmamalıdır, ➢ Bir implantın güvenilir olarak kabul edilebilmesi için yukarıdaki kriterleri 5 yıllık gözlem periyodu sonunda %85 ve 10 yıllık periyod sonunda %80 oranında yerine getirmelidir.

1.12. Periimplantitis

İmplant yüzeyleri üzerindeki bakteri varlığı peri-implant mukoza iltihabına neden olabilir ve bu iltihap tedavi edilmediği takdirde, periimplantitis adı verilen implantı çevreleyen, destekleyici alveolar kemiğin ilerleyici tahribatına yol açabilir. Bu nedenle, bakteriyel plak biyofilmin kaldırılması peri-implant enfeksiyonların tedavisi için bir ön koşuldur (Mombelli ve ark 1987, Mombelli ve Lang 1994, Schwarz ve Becker 2005) .

Pürüzlü yüzeylerin fibroblast yanıtlarını geliştirebiliyor olmasına rağmen, bu pürüzlülüğün bakteriyel biyofilm büyümesini ve organizasyonunu teşvik olasılığı nedeniyle bir dezavantaj olarak da kabul edilir. Sonuç olarak, yüzey pürüzlülüğü mukozit ve periimplantitis gibi periimplant doku enfeksiyonlarının oluşmasını kolaylaştırmaktadır (Rühling ve ark 2001, Shibli ve ark 2003).

Günümüzde implant çevresi yumuşak dokularıyla sınırlı kalan patolojik değişimler periimplant mukozitisi; implant çevresindeki yumuşak ve sert dokuların yıkımının gözlendiği, klinik ve radyolojik olarak izlenebilen patojik değişimler ise periimplantitis olarak tanımlanmaktadır (Özden 2008).

1.12.1. Etiyoloji

Periimplant mukozitisi ve periimplantitis arasındaki farklar çizelge 1.4' te gösterilmiştir.

Çizelge 1.4. Periimplant mukozitisi ve periimplantitis arasındaki temel farklar (Özden 2008)

Klinik Parametre	**Periimplant Mukozitisi**	**Periimplantitis**
Sondlamada Derinlik Artışı	+/-	+
Sondlamada Kanama	+	+
Süpürasyon	+/-	+
Mobilite	-	+/-
Radyografik Kemik Kaybı	-	+

1.12.2. Periimplant Enfeksiyonunun Nedenleri

Periimplantitisin patogenezi, geleneksel yolu izleyerek (önce yumuşak doku sonra kemiğe doğru), dental biyofilm oluşumuna ve bundan dolayı periimplant mukozitisinin oluşmasına ve en sonunda kemik kaybına doğru ilerler veya tam tersi bir sırayla (kemikteki aşırı baskı veya erken yükleme, yan kuvvetler ve ya okluzal faktörler sebebiyle oluşabilecek mikro kırıklar nedeniyle kemik kaybına yol açabilir (Özden 2008).

Diş çekimini takiben yerleştirilen implantlarda, uygun alveoler temizliğe rağmen malassez epitel artıklarıyla implant kontaminasyonu sonucu olarak da periimplantitis gelişebilir (Quirynen ve ark 2003, Shabahang ve ark 2004).

Çok fazla sigara içen ve alkol tüketen kişilerle diş sıkma alışkanlığı olan kişilerde peri implantitis ve alveoler kemikte erime daha sıklıkla görülür (http://www.ilericerrahi.com/makale/peri-implantitis-implant-cevresindeki-dokunun-iltihaplanmasi-216.html).

Mikrobiyal Dental Plak

Periimplantitisin ana sebebi mikrobiyal dental plaktır. Birçok çalışma ve benzer mikrobiyolojik gözlemlere göre periimplantitisin etiyolojik ana faktörü olarak bakteriyel biyofilm tabakası önemli bir rol oynamaktadır (Özden 2008).

Dental implantlar oral kavitede peri implant enflamasyonuna katkıda bulunan dental plakla da temas kurar (Meffert 1992). İmplant yüzeyine yumuşak doku hücrelerinin adezyonunu geliştirmek, peri-implant sahadaki yumuşak doku bozulmasını önlemede önemli bir yöntemdir (Werner ve ark 2009).

İmplant Tasarımı

Periimplantitisin ortaya çıkması ve gelişiminde implantın tasarımı önemli rol oynamaktadır. Makroskopik morfolojisi ve mikro yüzeyi farklı parçalarının dizilimleriyle kalitesi farklı olan çok çeşitli implantlar bulunmaktadır. İmplantların

üst yapı sertlikleri, yüzey ağız ortamına maruz kaldığında bakteriyel biyofilmin yapışmasını kolaylaştırmaktaysa da yüzey tipi ve bakteri türlerinin kolonizasyonu arasında bir ilişki bulunmamaktadır (Saadoun ve ark 1993, Bollen ve ark 1996).

Periimplantitisin bildirilen sebeplerinden biri de, soy olmayan bir metalin titanyum implant alaşımına ilavesidir. Bu tür durumlarda implantı çevreleyen dokuda yüksek miktarda makrofaj görülmekte; bu bulgu sahada aseptik kemik rezorpsiyonunun da meydana geldiği görüşünü desteklemektedir (Olmedo ve ark 2003).

Mekanik Baskı

Periimplantitis etyopatolojisini etkileyen faktörlerden biri de aşırı mekanik baskıdır. Bu mekanizmada implantın entegrasyonu yarım ya da tam olarak kaybedilir. Mekanik baskı sonucu osseoentegre implantın çevresindeki kemikte mikro çatlaklar görülmeye başlar ve bu durum implantın yük taşıma kapasitesini aşan aksiyal ya da lateral baskıların bir sonucudur. Bazı durumlarda bu kuvvetler herhangi bir kemik yüksekliği ya da osseoentegrasyon kaybı olmadan protezin bir kısmının (resin, seramik ya da transepiteliyal abutment vidası) ya da implantın kendisinin çatlamasına yol açabilirler. Bir implant doğal dişlerin dayanabildiği lateral baskılara dayanamaz, bunun sebeplerinden biri implantın bir dişin dayanıklılığının yarısına sahip olması (doğal dişlerde 100 μm, implantlarda 50 μm) ve implantların aynı derece propriyosepsiyona izin vermeleridir. Her durumda, bu faktör kemik kalitesinin düşük olduğu bölgelerde daha fazla görülür. Bu da çatlakların alt çeneden ziyade üst çenede daha sık görülmesini açıklamaktadır (Özden 2008).

Gelişmiş ülkelerde, dişhekimleri mekanik mühendisleriyle beraber çalışarak implantlar üzerine gelen yük ve stres faktörlerini ölçmektedir. Alınan değerler implant planlamasında temel unsur olarak kullanılmaktadır. Böylece bütün implantlara kuvvet ve stresin daha az gelmesi hedeflenmekte, implantların kullanım sürelerinin arttırılması amaçlanmaktadır (http://www.ilericerrahi.com/makale/peri-implantitis-implant-cevresindeki-dokunun iltihaplanmasi-216.html,2014).

1.13. Osseointegre Dental İmplantlarda Başarı Kriterlerinin Ölçümü

1.13.1. Yıkıcı Teknikler

Histoloji

Histoloji osseointegrasyon ve fibrointegrasyon varlığının gösterilebildiği tek yöntemdir. Literatürde, insanlar üzerinde yapılmış az sayıda çalışma bulunmaktadır ve ölüm sonrasında bu implantlar incelenmiştir. Her ne kadar bu çalışmalar değerli bilgiler verse de implantın klinik başarısının değerlendirilmesinde rutin olarak kullanılabilecek bir yöntem değildir (Dergin 2006).

Ters Yönlü- Tork Testi

İlk olarak Sullivan ve ark (1996) ters yönlü tork testinin uygulandığı invaziv bir metot geliştirmişlerdir. Bu teknikte, implanta saat yönünün tersi yönde kuvvet uygulayan bilgisayarlı bir tork sürücüsü kullanılır ve kuvvet (Ncm) implant dönmeye başlayıncaya kadar arttırılır. Bu yöntemin, osseointegrasyonun değerlendirilmesinde diagnostik bir yöntem olarak kullanılması önerilmiştir. Bu noktada, 10 Ncm'den 20 Ncm'ye kadar tork uygulanır ve bu testten geçemeyen implantların başarısızlığa uğramakta olduğu düşünülür. Bu teknikle, implant ile kemik ara yüzünün makaslama kuvvetlerine olan direnci değerlendirilmesi yanında implant ve çevre dokular arasındaki bağlanmanın kalitesi hakkında bilgi edinilebilir (Meredith ve ark 1998). Bu teknik hayvan çalışmalarında sıkça uygulanan bir tekniktir. Bu yöntemle araştırmacılar titanyum implantlar ile osseöz bağlanmayı kırmak için gereken minumum çıkarıcı tork değerlerini incelemişlerdir. İnsan çalışmalarında da, ters yönlü tork testinin osseointegrasyou doğrulamak için emniyetli ve güvenilir bir metot gibi göründüğünü iddaa etmişlerdir. Ancak Branemark (2001), implantlara tork yükleri uygulanmasının çok düşük seviyelerde bile geri dönüşümsüz plastik deformasyona yol açtığını bildirmiştir. Kemik- implant ara yüzü hakkında az miktarda bilgi sağlayan bu tekniğin agresif bir teknik olduğu düşünülebilir (Dergin 2006).

1.13.2. Yıkıcı Olmayan Teknikler

Perküsyon ve Mobilite Testleri

Osseointegrasyonu değerlendirmek için implanta ve abutmente metal bir aletle vurularak, duyulabilecek sesten rezonansın ve titreşimin belirlenebileceği düşünülmüştür (Branemark ve ark 1985). Perküsyonda oluşan az yoğun ses, yumuşak doku kapsülü oluşumunun ve başarısızlığın, berrak kristal sesi ise başarılı entegrasyonun göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Ancak kulağın, rezonans sıklığı ve oluşan tonun şiddetini birbirinden ayırt edecek kadar hassasiyette olmadığı bildirilmiştir. İmplant ve dayanağın tıklatılması gerçekte kompleks olan bir sistemin basite indirgenmesidir (Meredith ve ark 1996).

Sağlıklı bir implantın 75 μm'den daha az hareket ettiği gösterilmiştir. Gözler ve parmaklarla bir implantta hareket gözleniyorsa, implant- doku ara yüzeyinde bir bağ dokusu varlığı söz konusudur ve "başarısızlık" olarak değerlendirilir. Diğer taraftan klinik olarak hiçbir mobilite tespit edilmemesi ise implantın etrafında yumuşak doku bulunmadığı anlamına gelmemektedir; çünki vida etrafındaki kemik temasının yüzdesini perküsyon testiyle değerlendirmek mümkün değildir. İmplant-doku arasında ince bir fibröz tabakanın gelişmesi ihtimali her zaman vardır. Bu ince tabaka zamanla kalınlaşabilir ve implantın başarızlığına yol açabilir. Dolayısıyla perküsyon testinin yararlı bir test metodu olmadığı bildirilmiştir (Meredith ve ark 1998).

Radyografi

Radyografik inceleme, uygun kemiğin varlığını değerlendirmede kullanılan standart bir metotdur. İmplant sahasından panoramik ve periapikal radyografiler alınır. Radyografiler 3 boyutlu görüntüyü 2 boyutta gösterdiklerinden dolayı yanıltıcı olabilirler ve bazı kemik defektleri gözlenemeyebilir (Bragger 1998, Şener 2008) .

Periotest

Periotest, implant yüzeyi ve kemik arasındaki stabiliteyi değerlendiren invaziv olmayan bir tanı yöntemidir (Ersanlı ve ark 2005, Goransson ve ark 2005, Mesa ve ark 2008) .

Periotest cihazı mikrobilgisayarla elektronik olarak yönlendirilen bir perküsyon çubuğundan yararlanan alettir. Çubuk dişe veya implantta 4 saniye boyunca saniyede 4 defa çarpma yapar. Temas süresi ne kadar uzun ise, stabilite o kadar düşük demektir (Manz ve ark 1992, Şener 2008).

Periotest değeri ($\leq$-2 ve $\geq$ -2) erken implant kayıplarının prognozunda hassas bir tanı yöntemidir ve radyografik çalışmalarla karşılaştırıldığında, osseointegrasyon sırasındaki stabiliteyi değerlendirme kapasitesi daha yüksektir (Noguerol ve ark 2006, Mesa ve ark 2008).

Kesme Direnci

Johansson ve ark (1994) tarafından geliştirilen bu teknikte, cerrahi işlem sırasındaki kesme direncinden kemik kalitesi değerlendirilmektedir. Kesme torku, osteotomi esnasında elektrik motorunu besleyen akım yoluyla belirlenir. Bu teknik implantın yüklenmesi öncesi iyileşme dönemiyle ilgili değerlerli bilgiler verse de sonraki dönemlerde ölçümler alınamamaktadır.

Yapılan başka bir çalışmada ise kesme direnci metodu ile implant stabilitesi ve kemik-implant temasını değerlendirecek yeterli bilgi sağlanamamıştır (Friberg ve ark 1999).

İmplantı Yerleştirme Torku

Bu teknikle implantların kemiğe yerleştirilmesi esansında elektronik bir motor yardımıyla gereken tork miktarına göre implantın stabilitesi ve kemiğin kalitesi hakkında bilgi edinilebilir (Johansson ve ark 1994). Bu teknik hemen

yükleme çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır (Dergin 2006). Türkyılmaz (2006) yaptığı bir çalışmada kemik kalitesi yüksek olan hastalara yerleştirilen implantlarda yüksek tork değerleri bulmuştur.

Ottoni ve ark (2005) yerleştirme torku 32 Ncm'den yüksek olan implantlara hemen yükleme düşünülebileceğini belirtirken 20 Ncm'nin altında tork değerine sahip implantlarda ise başarısız olma ihtimalinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Rezonans Sıklığı Analizi

Meredith ve ark (1998) tarafından implant stabilitesini ölçmek için geliştirilen elektronik, invaziv olmayan bir tekniktir. Bu teknik ile primer implant stabilitesinin objektif olarak ölçülebileceği, implant cerrahisini takiben iyileşmenin değerlendirilebileceği implant stabilitesinin uzun dönem takip edilebileceği ve osseointegrasyonun in vivo olarak sayısal ölçümünün yapılabileceği bildirilmiştir. Rezonans sıklığı analizi (RFA) için ostell mentor cihazı geliştirilmiştir (Meredith ve ark 1997a, Meredith ve ark 1997b, Bischof ve ark 2004, Eğilmez ve Ergün 2007).

Bu metotla, implant stabilitesi kemik implant kompleksinin rezonans frekans analizini saptayarak ya da ostell aparatındaki implant stabilite kotası (ISQ: Implant Stability Quotient) değeri okunarak ölçülür (Şener 2008).

Ostell Cihazı

Ostell cihazı rezonans sıklığı analizini kullanarak makaslama, germe ve baskı kuvvetlerini içeren kompleks bir sistemi ölçen, kolay bir menüye sahip olan invaziv olmayan bir ölçüm aletidir (Dergin 2006, Şener 2008). Direkt olarak implant ya da transepitelyal abutmente 5-10 Ncm'lik bir güç ile vidalanan transdusere sahip cihaz portatiftir ve elde taşınabilir (Quesada-Garcia ve ark 2009).

1.14. Biyouyumluluk

Biyouyumluluk bir materyalin spesifik bir uygulama sonunda uygun konak cevabı gösterebilme yeteneğidir (Schmalz 1994).

Titanyum ve alaşımlarının tercih edilmelerinin en önemli nedeni biyolojik uyum göstermeleridir. Titanyum ve alaşımlarının biyouyum özellikleri, üstün korozyon direncinden kaynaklanmaktadır. Bu korozyon direnci ise materyalin yüzeyinde oluşan oksit tabakasının, materyali elektromanyetik ataklara karşı korumasıyla oluşur. Titanyumun kemikle osseointegrasyonunun mükemmel olması ve yüzeyinde hidroksiapatite benzer tarzda kalsiyum fosfattan zengin bir tabakanın şekillenmesine olanak tanıması, biyolojik uyumu belirleyen diğer kriterlerdendir (Lautenschlager ve Monaghan 1993, Mark ve ark 2007, Uzun ve Bayındır 2010).

ISO standartlarına göre (ISO 10993-1) bazı testler tanımlanmış olup bu testleri başarıyla geçen bir materyal biyouyumlu olarak tanımlanmaktadır. Bu testler; hayvan çalışmaları, genotoksisite ve karsinojenik etkiyi, gonotoksisiteyi, kanla etkileşim testlerini, in vitro sitotoksisite testlerini, sistemik toksisiteyi, materyallerin degredasyonunu, implantasyon sonrası lokal etkilerin ve sterilizasyon artıklarının saptanmasını, irritasyon ve sensiviteyi, örneklerin hazırlanmasını, degredasyon ürünlerinin saptanmasını ve miktarının tayinini içeren testlerdir (Brunette ve ark 2001).

Urban ve ark (2000) yaptıkları in vivo çalışmada kalça/diz protezi taşıyan hastalar üzerinde koroziv ürünlerin vücuda yaygın olarak dağılabildiğini ancak toksik etkiler oluşturmadığını göstermiştir. Yapılan in vitro çalışmalar titanyumun mutajenik ve diğer toksik etkilerinin olmadığını göstermektedir (Wang ve Li 1998, Bachle ve Kohal 2004, Koike ve ark 2007, Faria ve ark 2008).

Bir materyal, basitten komplike test metoduna doğru, in vitro'dan hayvan testlerine, insanlarda preklinik testten klinik teste doğru belirtilen sıraya uyularak 3 basamakta incelenmelidir. İlk seviyeyi başarıyla geçebilen materyaller 2. seviyede incelenmeli ve en sonunda bunların en iyisi 3. seviyede incelenmelidir. Bu kademeli incelemeye "tarama" adı verilir. Toksik materyaller testin ilk safhalarında elenip daha iyi olanlar testin daha pahalı, karmaşık ve zaman gerektiren daha ileri safhalarına geçebilmektedir (Schmaltz 1997).

Tarama testleri üç seviyede belirtilmektedir (Schmaltz 1997):

1- Genel toksisite (hücre kültürleri veya küçük laboratuar hayvanları ile),
2- Spesifik toksisite (uygulama testleri, ör; primatlarda),
3- İnsanlarda klinik testlerin uygulanması.

Genel toksisite testlerinde yer alan; hücreleri ve dokuları in vitro olarak kültüre etmede 3 temel yol vardır (Spangberg 1990,Yeniyol 2006):

1- Bir doku eksplantının kontrolsüz proliferasyonuna izin verilirse bu kültür tekniğine "doku kültürü" denilmektedir,

2- Bir monolayerdaki veya süspansiyon kültüründeki bireysel hücreler kullanılırsa bu teknik "hücre kültürü" olarak adlandırılmaktadıri,

3- Birden fazla tipte doku eksplantının kontrolsüz proliferasyonu sağlanırsa buna da "organ kültürü" denilmektedir.

ISO standartlarına göre (ISO 10993-5) tıbbi malzemelerin vücut dışı in vitro sitotoksisitesini belirleme deneylerinde kullanılan test metotları aşağıdaki gibi belirtilmektedir (Schmalz 1994) :

1. Ekstraktlarda test: Bu test; serumlu/serumsuz kültür medyumu, serum fizyolojik, saf su, bitkisel yağ ve dimetilsülfoksit (DMSO) gibi çözücülerde standart sıcaklık ve süre parametrelerinde bekletilen materyallerden elde edilen sıvı çözeltisi ile yapılmaktadır,

2. Direkt kontak ile test: Çeşitli şekilde, boyutta veya fiziksel halde olan materyaller sitotoksisite testlerinde modifiye edilmeden kullanılmaktadır,

3. İndirekt kontak ile test: Materyaller ve hücreler bir bariyeriyle ayrılmıştır. Agar difüzyon testi ve filtre difüzyon testinden yararlanılmaktadır.

İn vitro toksisite testleri, kontrollü deneysel koşullar, düşük maliyet, hızlı performans, etik problemlerin olmaması gibi avantajları içermektedir. Materyallerin hücre kültürü ile toksisite testlerindeki sınırlamaları genellikle in vivo durumun tam

anlamıyla yansıtılamaması ve elde edilen bulguların hastalarda öngörülememesidir (Schmalz 1994).

In vitro toksisite testlerinde kullanılan bu hücre soylarının kökenine göre osteoblast hücre kültürleri 4 gruba ayrılmaktadır (Yeniyol 2006);

1. Primer hücre kültürleri (ör; kemik iliği stroma hücreleri, intramembranöz kemik hücreleri, uzun trabeküler kemik hücreleri),
2. Transforme olmamış klonal hücre soyları (ör; MC3T3-E1),
3. Osteosarkoma hücre soyları (ör; MG63, HOS, Saos-2),
4. Kasten ölümsüzleştirilmiş hücre soyları (ör; RCT-1 veya HOBIT).

Dental implant araştırmalarında kullanılan hücre kültürlerinin bir takım avantajları mevcuttur. Bunlar; hücresel olayların belirlenmiş zamansal gelişimleri, osteoblastik sistemlerin izole ve homojen olmaları, çoklu kültürlerin yeniden üretilebilmeleri, daha ekonomik olmaları, hayvanların hastalanmasına veya ölümüne sebebiyet verilmemesi ve ayrıntılı biyokimyasal ve moleküler analizlere uygun olmalarıdır (Cooper ve ark 1998, Bachle ve Kohal 2004).

Hücre kültürlerinin yukarıda sayılan avantajlarının yanı sıra, dezavantajları da mevcuttur. Primer kültür ile başlandığında, birbirini izleyen pasajlarda hücreler farklılaşmakta ve her zaman bir miktar ölüm gerçekleşmektedir. Yani hücre kültürlerinde zamana bağlı bir kararsızlık söz konusudur. Hücre kültürlerinde hijyen çok önemli olduğundan, primer kültürlerin elde edildiği doku ve bunların bulunduğu koşullar hücre kültürlerini etkilemektedir. Deneyim çok önemli bir faktördür. İn vitro çalışmalarda sterilizasyon, kültürlerin hazırlanması ve mikroskobik inceleme uzmanlık gerektirmektedir. Hücre kültürleri, in vivo yöntemlere oranla daha ekonomik olmasına karşın, kullanılan hücre üretme vasatları ve diğer malzemeler son derece pahalıdırlar (Karabıyık 2011).

Hücreler ile maddelerin biyouyumluluk testleri 3 sınıfa ayrılmaktadır (Cooper ve ark 1998) :

1. Ortak fonksiyonlara yönelik bazal testler (hücre ataçmanı, canlılığı, proliferasyonu, protein sentezi),

2. Hücre tipinin spesifik fonksiyonlarına yönelik spesifik testler (ör; kemiğe özel gen aktivasyonu veya mineralizasyon),
3. Matriks bileşenlerinin substratlarla reaksiyonunu ölçen testler.

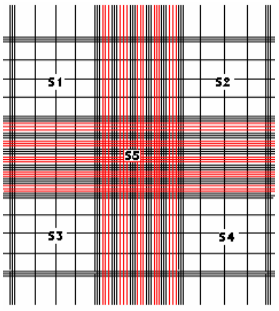
1.15. Toplam Hücre Sayısının ve Hücre Canlılık Oranının Saptanması

1.15.1. Tripan Mavisi Boyama Metodu

Bu metot çok küçük bir hacimdeki hücrelerin mikroskobik olarak sayılmasını hedeflemektedir. Hemositometrik lam, üzerinde yatay ve dikey olarak kesişen hatlar bulunan, üç bölümlü çizgilerle bölünen 9 büyük kare oluşturan bir mikroskop lamıdır (Resim 1.11). Her büyük karenin alanı 1 mm^2'dir. Sıvının slayt haznesindeki derinliği 0,1 mm olup sıvının her kare üzerindeki toplam hacmi aşağıdaki şekilde hesaplanır (Celis 1998) :

$$1 \times 1 \times 0{,}1 = 0{,}1\ mm^3 = 0{,}0001\ cm^3 = 0{,}0001\ ml \text{ veya } 10^{-4}\ ml$$

İnvert ışık mikroskobu altında bu lam üzerinde hücreler belli bir metoda göre sayılmaktadır. Ölü hücrelerde hücre zarının geçirgenlik kontrolü bozulduğu için ölü hücreler tripan mavisiyle maviye boyanmaktadır. Canlı hücreler ise parlak saydam olarak gözlenmektedirler. Böylece ölü hücrelerin canlı hücrelerden ayrımı ve sayımı ile hücre canlılık oranı saptanmaktadır (Celis 1998, Yeniyol 2006).



Resim 1.11. Hemositometrik kamara diyagramı (Celis 1998).

Hücre canlılık oranı şu formüle göre hesaplanmaktadır (Celis 1998):

Canlı Hücre Oranı = Canlı Hücre Sayısı/Toplam Hücre Sayısı x 100

1.15.2. MTT

MTT testi indirekt olarak hücre çoğalması ve/veya hücre ölümünü değerlendirmeyi amaçlayan, hücre kültürü esasına dayanan bir ilaç duyarlılığı testidir (Mossman 1983, Doğan 2004).

İlk olarak Mosmann tarafından tanımlanan ve daha sonra Alley ve ark tarafından geliştirilen 3-(4,5-dimetiltriazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid (MTT) yöntemi hücre canlılığının belirlenmesi için sıkça kullanılan kolorimetrik bir yöntemdir. Deneyin esası; MTT testi ile formazan oluşumuna bağlı olarak hücre yaşayabilirliğinin ölçülmesidir. MTT, sarı renkli olup hücrelere aktif olarak absorbe olur ve mitokondriyal redüktaz enzimi ile suda çözünmeyen mor renkli formazan'a indirgenir. Oluşan bu renkli çözeltinin miktarı, spektrofotometrede 500-600 nm dalga boylarında ölçüm yapılarak hesaplanır. Bu olay sadece canlı hücrelerde gerçekleşebileceği için sözkonusu test sonucu, hücre canlılığının ölçütü olarak alınır (Karakaya 2007).

1.15.3. XTT

Tetrazolyum tuzları, histokimyasal lokalizasyon çalışmaları ve hücre biyolojisi deneylerinde uzun yıllar saptama reaktifleri olarak kullanılmıştır. İkinci nesil tetrazolyum boyası, XTT, etkili bir şekilde hücre proliferasyonu, sitotoksisite ve apoptozis deneylerinde kullanılmaktadır. XTT karışık hücresel etkileyiciler tarafından, çözünür olan parlak turuncu renkli türevine indirgenir. Bir XTT deneyinin duyarlılığı, büyük ölçüde, bir ara elektron taşıyıcı madde olan PMS (N-metil dibenzopyrazine metil sülfat) kullanımı ile geliştirilir. PMS, XTT süresinin azalmasına ve formazan türevinin oluşumuna yardımcı olur (Altman 1976, Scudiero ve ark 1988, Marshall ve ark 1995, Berridge ve ark 2005).

XTT kullanımı, proliferasyon ölçüm prosedürünü büyük ölçüde basitleştirir ve bu nedenle radyoaktif izotoplar kullanmadan hücreleri ve bunların canlılığının (vitalite) ölçülmesi için mükemmel bir çözüm sunar (Scudiero ve ark 1988, Roehm ve ark 1991, Jost ve ark 1992).

1.15.4. Taramalı Elektron Mikroskobu ile Saptama

Yüzeylerden elde edilen mikrofotoğraflar bilgisayar yazılımında kare alanlara bölünerek materyal yüzeyindeki hücreler sayılmaktadır. Bu şekilde, belli bir alandaki hücre sayılarının saptanması ve karşılaştırılması ataçmanın değişik safhalarında hücre morfolojilerine göre yapılabilmektedir (Araujo ve ark 2001, Lumbikanonda ve Sammons 2001) .

1.15.5. Akridin Turuncusu Testi (Acridine Orange Test) (AOT)

Akridin turuncusunun asitli ortamda yeşilden kiremit kırmızısına dönüşmesi ile DNA denatürasyonunun floresan mikroskopta değerlendirmesi esasına dayanır. Yöntem basit ve ucuz bir yöntemdir. Ancak bulanık renkler, hızlı renk solması, heterojen boyanmalar ve preparatların çıplak gözle yorumlanmasındaki zorluklar bu testin negatif yönlerini oluşturmaktadır (Tejada ve ark 1984, Chohan ve ark 2006).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmanın deney aşamaları Selçuk Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (İLTEK) Biyoteknoloji Laboratuvarları Hücre Kültürü Bölümü'nde ve Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

Çalışmada, lazerle 3 farklı yüzey işlemi uygulanmış ve makinede hazırlanmış (machined) medikal grade 4 saf titanyum disklerde insan kaynaklı fibroblast öncülü hücre serisinin adezyon kuvveti ve proliferasyonunun in vitro koşullarda karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi amaçlandı.

2.1. Titanyum Disklerin Hazırlanması

16 mm çapındaki medikal grade 4 saf titanyum (VSMPO-AVISMA, Sertifika no:03533Y11) çubuk CNC torna tezgâhında (Hanwha XP16S, South Korea) 10000 devir/dak hızda işlenerek, 2 mm kalınlıkta ve 16 mm çapında toplam 28 adet saf titanyum disk elde edildi.

Daha sonra hazırlanan saf titanyum diskler yüzeylerindeki yağlardan ve diğer organik maddelerden arındırılmak üzere basınçlı buhar cihazında (Gazzella goldental steam cleaning robot 2035, Silter, Türkiye) distile su kullanılarak temizlendi (Resim 2.1).



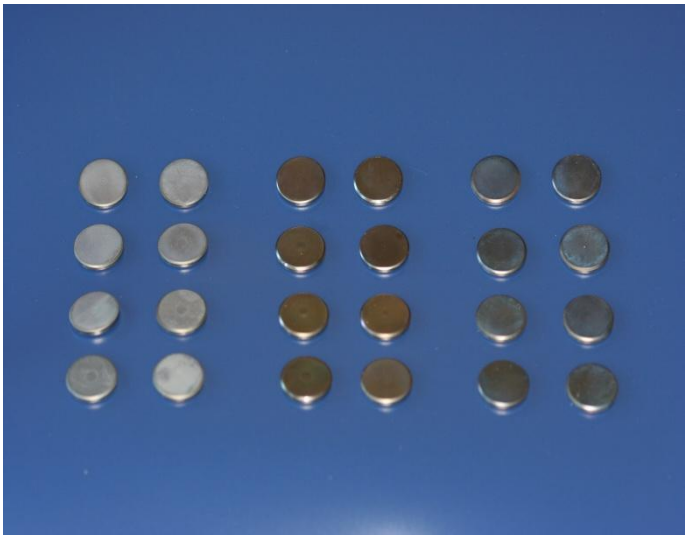
Resim 2.1. Gazella Golden Steam Basınçlı Buhar Cihazı.

2.2. Titanyum Disk Yüzeylerinin Modifikasyonu

Saf titanyum diskler her bir grupta 7 örnek olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Bu 4 gruptan 1 tanesi kontrol grubuydu ve bu kontrol grubundaki örneklerin yüzeyine herhangi bir yüzey işlemi uygulanmadı. Diğer üç gruba ise 0.1-0.5 mJ Pulsed Erbium Fiber Laser (IPG PHOTONICS, ELP Series: 0.1-0.5 mJ Pulsed Erbium Fiber Laser, U.S) (Resim 2.2) kullanılarak kesit tarama, tarama hızı ve frekans değiştirilerek 3 farklı yüzey topografisi oluşturuldu (Resim 2.3). Gruplar için uygulanan lazer parametreleri ve taramalar Çizelge 2.1 ve Resim 2.4'te gösterilmiştir.



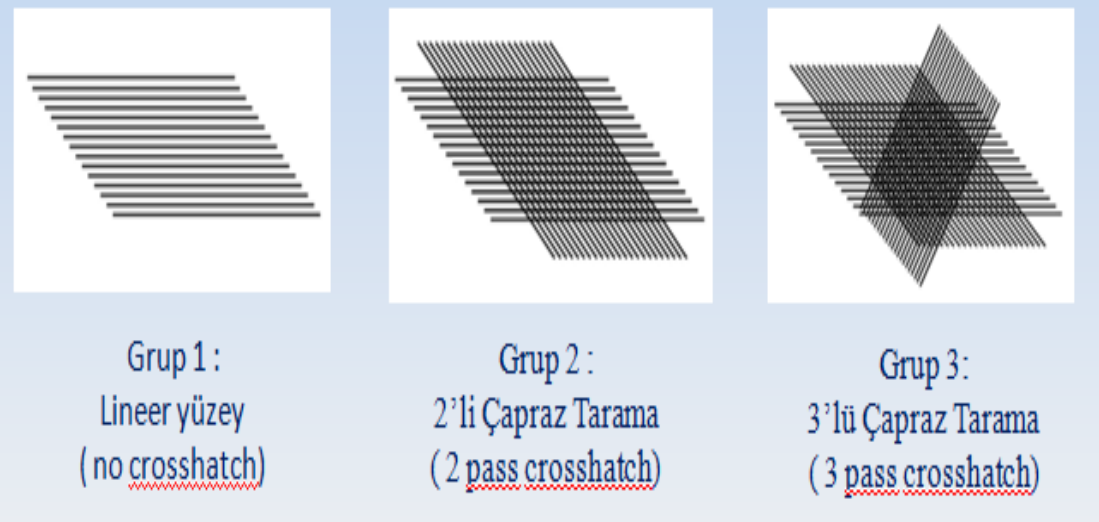
Resim 2.2. 0.1-0.5 mJ Pulsed Erbium Fiber Lazer.



Resim 2.3. Yüzeyine lazer uygulanmış örnekler.

Çizelge 2.1. Gruplara uygulanan lazer parametreleri.

	1. Grup	2. Grup	3. Grup
Örnek Sayısı	7 adet	7 adet	7 adet
Lazer Gücü	%98 (20 W)	%98 (20 W)	%98 (20 W)
Tarama Hızı	100 mm/s	1000 mm/s	520 mm/s
Wooblediameter	0,2 µm	0,2 µm	0,2 µm
Frekans	30.000 Hz	30.000 Hz	40.000 Hz
Çapraz tarama (Crosshatch)	-	2 pass	3 pass



Resim 2.4. Lazerle pürüzlendirme yapılan gruplara lineer ve çapraz taramalar uygulandı.

2.3. Hazırlanan Numuneler Üzerinde Yapılan Metalürjik YüzeyAnalizleri

2.3.1. SEM ile Fotomikroskopi

Dört grupta yedişer adet olarak hazırlanan farklı yüzey topografilerine sahip numunelerin birer tanesinin yüzeylerinden SEM (EVO LS10, Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) ile farklı büyütmelerde (X500, X2000, X5000 ve X10000) mikrofotoğraflar elde edildi.

2.3.2. Profilometre Cihazı ile Yüzey Pürüzlülüğü Ölçümleri

Yedişer adet hazırlanan, farklı yüzeylere sahip numunelerin 1'er tanesinin yüzey profilleri Surftest-402 Analyzer (Mitutoyo Corporation, Takatsu-ku213-0012 Kawasaki, Kanagawa, Japan) profilometre cihazı kullanılarak incelendı. Her numune yüzeyinde 4 mm ölçüm uzunluğunda (x aksı üzerinde) olmak üzere 0,8 mm/sn tarama hızında toplam 4 adet ölçüm yapılarak Ra, Rz ve Rmax değerleri elde edildı (Resim 2.5). Yüzey profillerinin ortalama Ra, Rz ve Rmax yüzey pürüzlülük değerleri; her üçü için de elde edilen 4 ölçümün aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanarak elde edildı.



Resim 2.5. Surftest-402 Analyzer profilometre cihazı.

2.4. Biyolojik Deneyler

2.4.1. HGF-1 Hücrelerinin Numune Yüzeylerine Tutunumu ve Hücre Morfolojilerinin Analizi

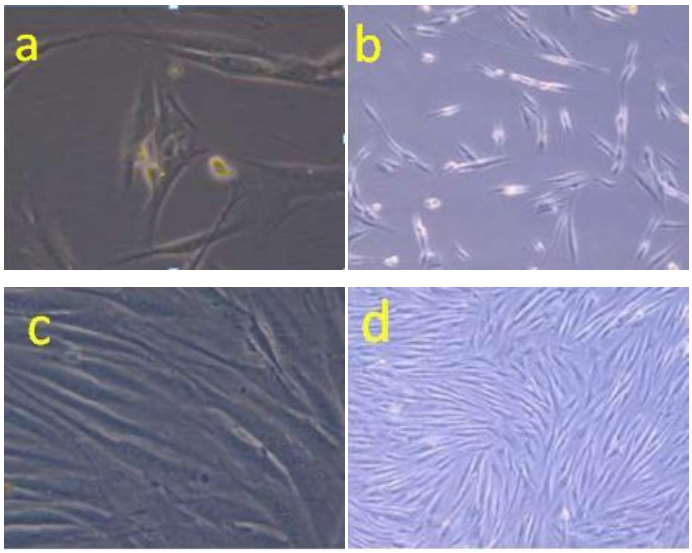
İnsan Gingival Fibroblastı (HGF-1) Kültürü Hazırlanması

Bu çalışmada hücre kültürü deney aşamaları ve SEM incelemeleri Selçuk Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (İLTEK) Biyoteknoloji Laboratuvarları Hücre Kültürü Bölümü'nde, Akridin Turuncusu incelemeleri Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji laboratuarında yapıldı. Grade 4 saf titanyum gruplara ait örnek yüzeyler üzerindeki fibroblast tutunumunun analizi için HGF-1 (ATCC, CRL46 2014, USA) hücre hattı model olarak kullanıldı. HGF-1 hücre hattı Selçuk Üniversitesi İLTEK (Dr. Pembegul UYAR).



Resim 2.6. Besiyeri içerisindeki HGF-1 hücre popülasyonu.

HGF-1 hücreleri Dulbecco's Modified Eagle's (DMEM) (4500 mg/l glucose, sodium pyruvate, and sodium bicarbonate içeren Sigma D6429) besiyeri içinde %10'luk ısı ile inactive edilmiş Fetal Dana Serumu, FBS (Biochrom S0115) ve 100 U/ml penisilin, 100 µg/ml streptomisin (Biochrom A2213) eklenerek T75 hücre kültür kaplarında hücre yoğunluğu mililitrede $1x10^6$ hücreye ulaşana kadar 37°C'de % 5 CO2'li, % 95 nemli etüv içerisinde inkübe edildı (Resim 2.6). Çözünen hücrelerin uygulanacak çalışmalardaki planlanan işlem ve protokollere uygunluğunu araştırmak için küçük gruplar halinde flasklara ekimleri yapılmış ve daha sonra bu hücreler inverted mikroskop altında görüntülendi (Resim 2.7).

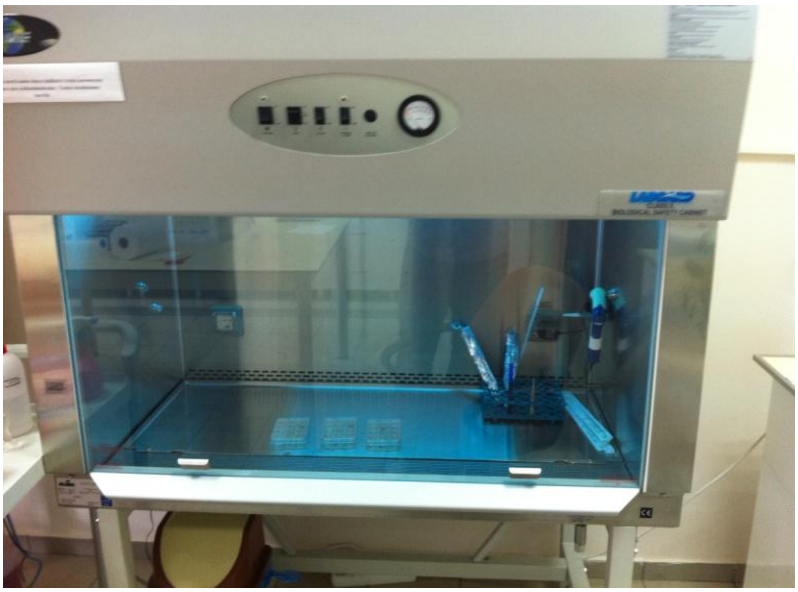


Resim 2.7. HGF hücrelerinin İnverted mikroskop görüntüleri: a) HGF-1 çözüldükten sonraki 2. gün 40X; b) 10X HGF-1 çözüldükten sonraki 2. gün; c) HGF-1 çözüldükten sonraki 4. gün 40X; d) 10X HGF-1 çözüldükten sonraki 4. gün (Leica DM IL LED).

Üreme aşamasında kullanılan hücrelerin suş numarası ve pasajlama sayısı düşük olduğundan herhangi bir sorunla karşılaşılmadı. Her deney için ihtiyaç duyulan hücre sayısına ve yoğunluğuna ulaşılana kadar hücreler pasajlanmış ve daha sonraki çalışmalar için tekrar dondurulup (<-150 °C sıvı azot buharında) saklandı.

Numune Sterilizasyonunun Sağlanması

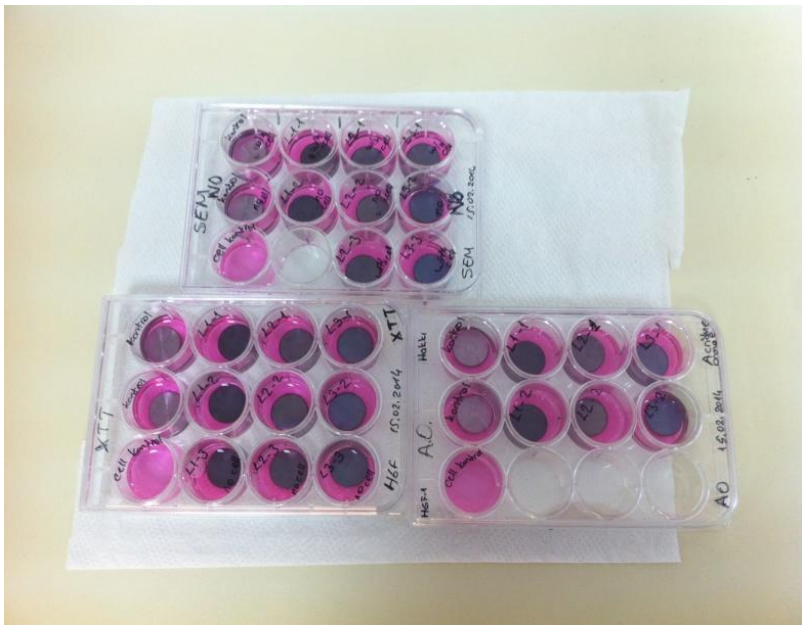
Grade 4 saf titanyum gruplara ait örnek yüzeyler üzerindeki HGF-1 hücrelerinin tutunma kapasitelerini kontrol edebilmek için öncelikle örneklerin sterilizasyonu sağlandı. Örnek yüzeylerine lazer işlemi uygulandıktan sonra örnekler bir kez daha basınçlı buhar cihazında (Gazzella goldental steam cleaning robot 2035, Silter, Türkiye) distile su kullanılarak temizlendi. Bu işlemlerden sonra tüm örnekler %90'lık etilalkol (ETOH) içinde UV ışığı altında 15 dakika süreyle bekletilmiştir (NuAire Class II, Type A2 Biological Safety Cabinets, NuAire, Inc. ,*USA*) (Resim 2.8). Daha sonra alkolü uzaklaştırabilmek amacıyla örnekler steril distile suyla 2 kez yıkandı. Örnekler, alkolün uzaklaştırılması sonrasında hücreler için uygun yüzey sağlanabilmesi için steril fosfat (PBS) tamponu **(**59321C,Sigma) ile 2 kez yıkandı.



Resim 2.8. NuAire Sınıf II, Steril kabin.

Yüzeylere HGF-1 Hücrelerinin Ekimi

Grade 4 saf titanyum numuneleri 1 ml besiyeri içinde 12 kuyucuklu plaklarda, mililitredeki hücre yoğunluğu $5x10^4$ olacak şekilde ekim yapıldı. Daha sonra plaklar 72 saatlik inkübasyona (%95 nem, %5 CO2 içeren 37 °C'deki doku kültürü etüvü) bırakıldı. SEM, XTT ve AOT analizi için hücre ekim işlemi aynen uygulandı (Resim 2.9).



Resim 2.9. 12 kuyucuklu plakalar içerisinde hücre ekimi yapılmış örnekler.

Biyolojik SEM

Örnekler, 72 saat inkübasyon sonrasında yeni 12 kuyucuklu plaklara aktarılmış ve 2 kez 0,1 M pH: 7,4 sodyum kakodilat tamponuyla yıkandı. Daha sonra yine 0,1 M'lik sodium kakodilat tamponunda hazırlanmış olan %2,5' luk glutaraldehit solüsyonunda 1 saat süre ile oda sıcaklığında karanlık bir ortamda bekletilerek tespit edildi. Süre sonunda kuyucuklar 2 kez 0,1 M sodium kakodilat tamponunda yıkanmışlardır. Tampon uzaklaştırıldıktan sonra 2 kez steril distile su ile yıkanmış ve daha sonra su da uzaklaştırılıp -80 °C'ye 1 gece bekletilmek üzere derin dondurucuya konulmuştur.

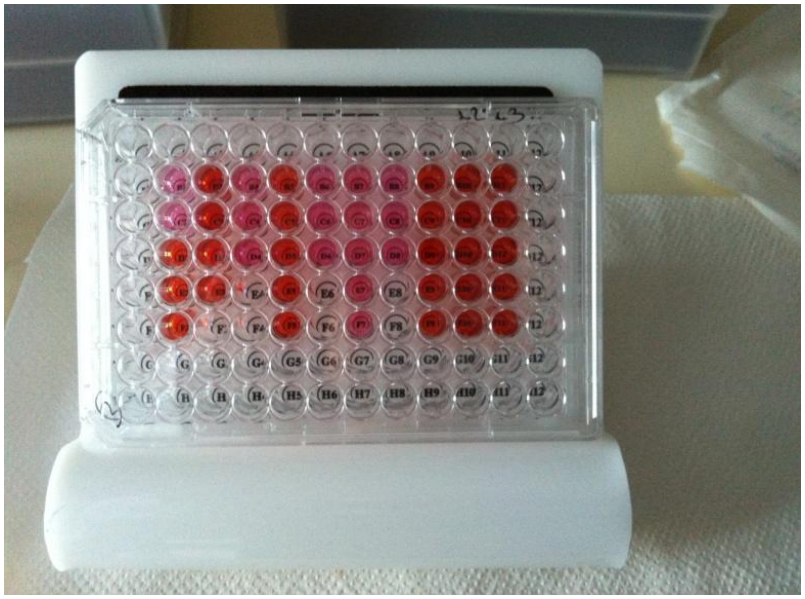
Ertesi gün -110 °C' ye kadar soğutan liyofilizatörde 1 gece boyunca dondurulup kurutulmuştur. Kurutulan numuneler üzerindeki hücreler SEM analizi öncesi numunenin 5 nm AuPd ile kaplanması sağlandı. Daha sonra SEM'de (Evo LS10, Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) incelenmişlerdir. Yüzeyde tutunup çoğalan hücreler, X500, X2000, X5000 ve X10000 büyütmelerde görüntülendi.

2.4.2. XTT

XTT, hücrelere aktif olarak abzorbe olan ve mitokondriyona bağlı bir reaksiyon ile renkli, suda çözünen formazana indirgenen bir maddedir. Hücrelerin XTT indirgeme özelliği hücre canlılığının bir ölçütü olarak dikkate alınır ve XTT analizi sonucunda elde edilen boya yoğunluğu canlı hücre sayısı ile pozitif korelasyon gösterir. Örnekler, 72 saat inkübasyon sonrasında yeni bir 12 kuyucuklu plakaya aktarılmış ve kuyucuklarda 600 µl serumsuz DMEM ve 300 µl XTT (2,3-Bis-(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulfophenyl)-2H-Tetrazolium-5-Carboxanilide)
(Biological Industries) olacak şekilde eklendi (Resim 2.10). Daha sonra hücreler XTT solüsyonu içerisinde 5 saatlik inkübasyona (%95 nem, %5 CO2 içeren 37 °C'daki doku kültürü etüvü) bırakıldı. Süre sonunda, plaklarda çözünmüş olan formazan kristallerini içeren solüsyondan 150'şer µl alıp 96 kuyucuklu plaklara aktarılmış (Resim 2.11) ve Epoch Biotek marka ELISA okuyucuda 460 ve 650 nm olmak üzere iki dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.



Resim 2.10. 72 saat inkübasyon sonrasında yeni 12 kuyucuklu plakaya aktarılmış örnekler.



Resim 2.11. 96 kuyucuklu plaklara aktarılan formazan kristallerini içeren solüsyon.

2.4.3. Akridin Turuncusu Testi (Acridine Orange Test)

Titanyum disklere yapılan fibrolast (HGF-1) ekiminden sonra gerçekleştirilen 72 saatlik kültürü takiben vasat dikkatlice mikro pipetle alındı ve kuyucuklara diskleri örtünceye kadar +4ºC'deki aseton ilave edilerek buzdolabında 10 dakika tespit edildi. Süre sonunda mikro pipetle kuyucuklardaki aseton alındı.

Fibroblastların boyanması için her kuyucuğa titanyum diskleri kaplayacak şekilde RPMI 1640 vasatıyla (Gibco BRL, Life Technologies, New York, USA) hazırlanan akridin turuncusu (Sigma-Aldrich) solüsyonu (14 mg acridine orange/100 ml RPMI 1640 vasatı) damlatıldı ve 10 dakika beklendi. Süre sonunda, boya solüsyonu dikkatlice mikro pipet yardımıyla kuyucuklardan boşaltıldı. Hazırlanan diskler Leitz Ortholux II model (Leica, Germany) araştırma mikroskobunda incelenerek, gerekli görülen bölgelerin dijital görüntüleri kaydedildi. Tüm görüntülerde fibroblast hücre sayımları her örnek için 786432 mikrometrekare alanda gerçekleştirildi ve elde edilen verilerle istatistiksel analiz yapıldı.

2.5. İstatistiksel Değerlendirme

Deney gruplarının XTT verilerinin, AOT verilerinin ve profilometrede ölçülen yüzey pürüzlülük değerlerinin istatistiksel analizi SPSS (SPSS/PC Version 20.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programında Krusskall Wallis testi ve Mann Whitney U testi uygulanarak yapıldı.

3. BULGULAR

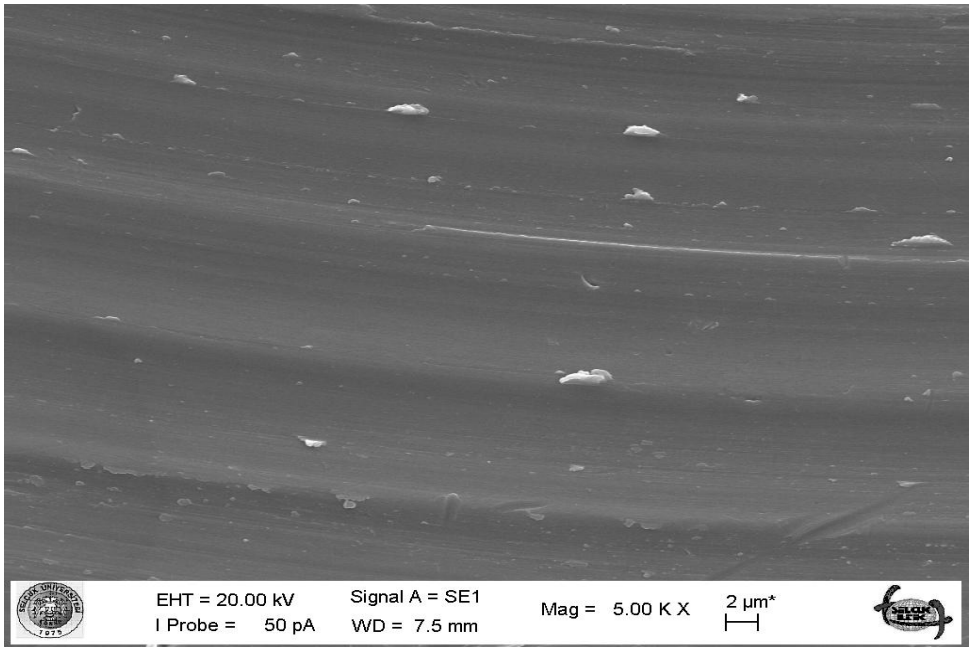
Çalışmada elde edilen, yüzey modifikasyonu gerçekleştirilen saf titanyum metal yüzeylerinin SEM bulguları, profilometre cihazıyla yapılan yüzey pürüzlülüğü ölçümleri bulguları, HGF-1 hücrelerinin numune yüzeylerine ekilmesini takiben 72 saat sonunda hücre adezyonu ve hücre morfolojisi analizi, XTT ve Akridin Turuncusu Testi (Acridine Orange Test) bulguları aşağıda verilmiştir.

3.1. Numuneler Üzerinde Yapılan Metalürjik Yüzey Analizi Bulguları

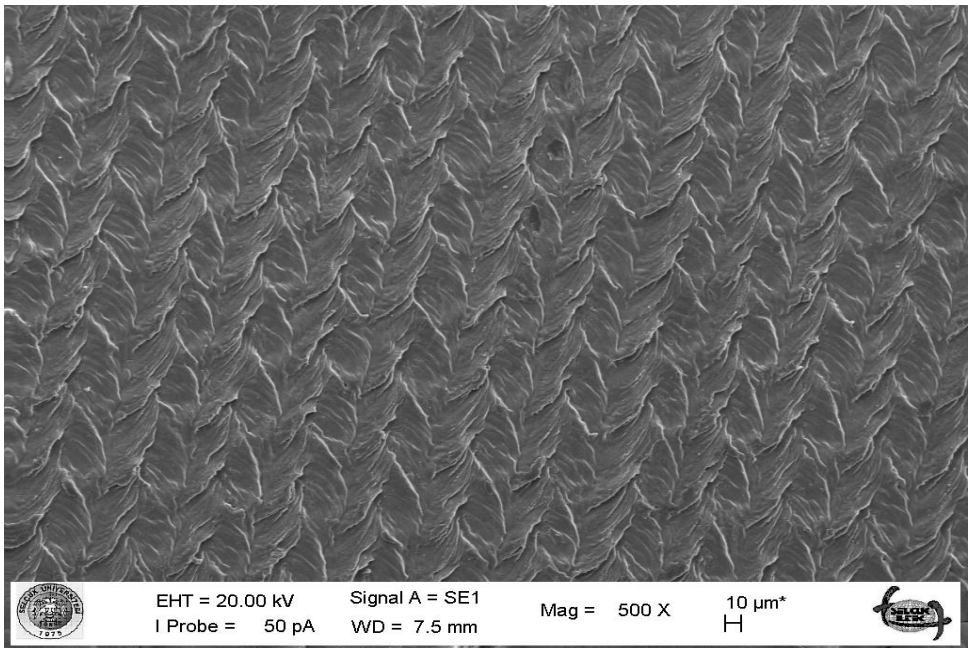
3.1.1. SEM ile Fotomikroskobi Bulguları

Yüzey topografyalarının değerlendirilmesi için her gruptan bir örnek X500, X2000, X5000 ve X10000 büyütmelerde SEM'de incelendi.

CNC torna cihazının metal üzerinde oluşturduğu görüntü X5000 büyütmede pürüzsüze yakın görülmektedir (Resim 3.1).

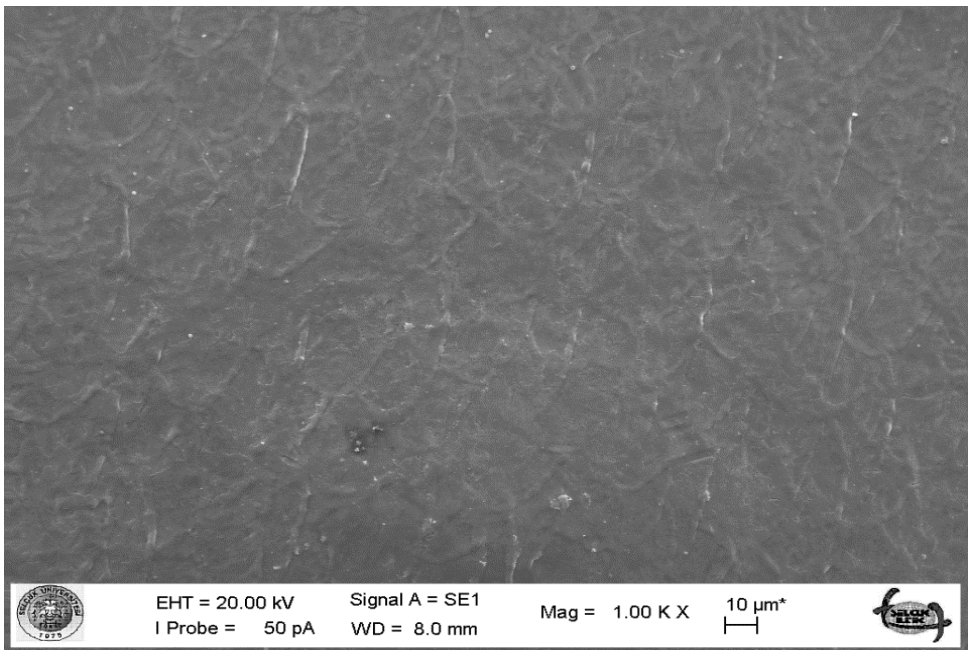


Resim 3.1. Kontrol grubu hücre ekilmemiş örneğin X5000 büyütmede SEM'deki yüzey görüntüsü. Büyütme çizgisi: 2 µm.



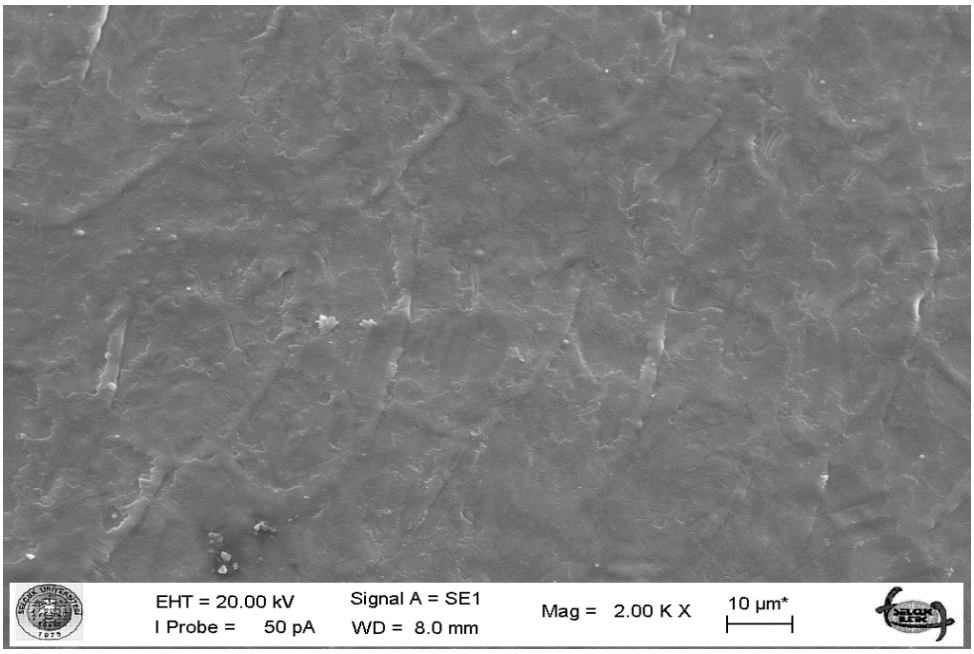
Resim 3.2. Grup 1 hücre ekilmemiş örneğin X500 büyütmede SEM'deki yüzey görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10 µm.

Grup 1 örnek yüzeyinde lazer uygulamasıyla şekillenmiş düzenli pürüzlülük görülmektedir. Standart biçimdeki yüzey mikrostrüktürü dikkati çekmektedir (Resim 3.2).



Resim 3.3. Grup 2 hücre ekilmemiş örneğin yüzeyinin X1000 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10 µm.

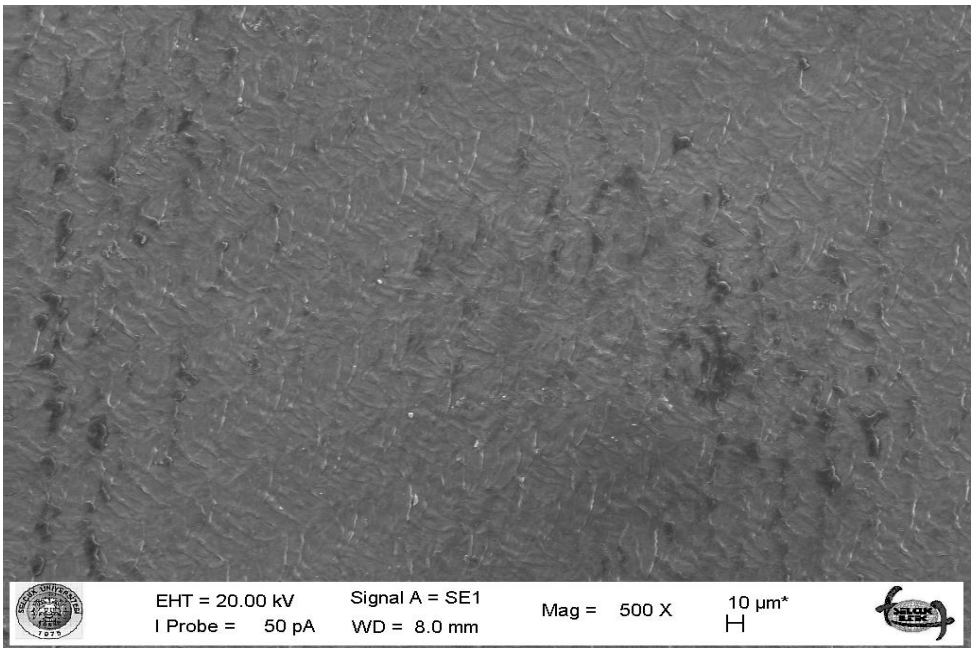
Grup 2'de lazerin tarama hızının yüksek olmasına bağlı olarak örnek yüzeyinde daha az pürüzlü ve daha yüzeysel mikrostrüktürel yapı oluşmuştur. Çapraz tarama yapılmasından dolayı da oluşan pürüzlülüğün düzensizliği dikkati çekmektedir (Resim 3.3).



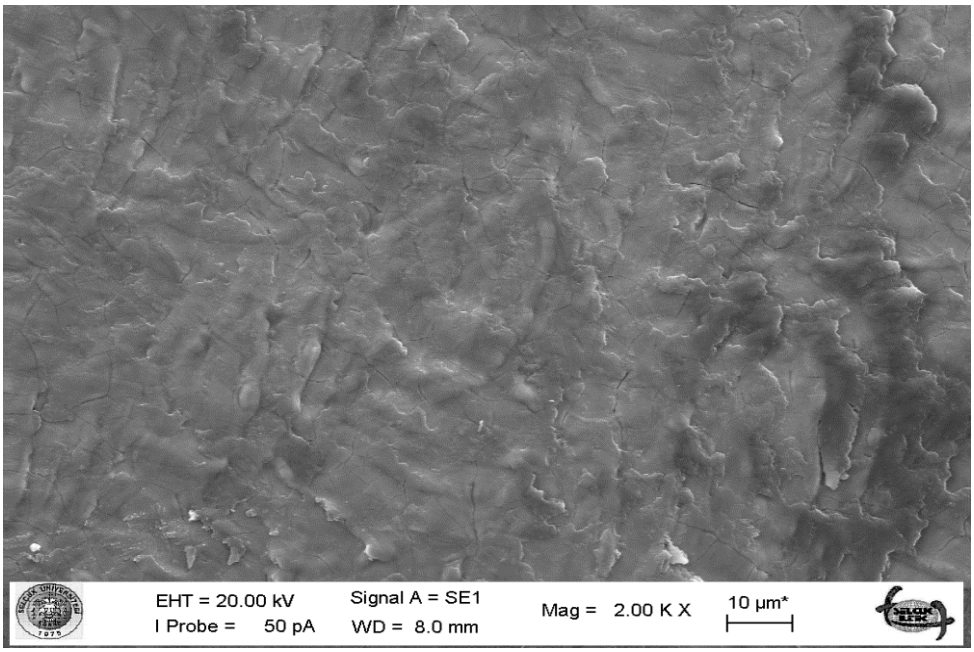
Resim 3.4. Grup 2 hücre ekilmemiş örneğin yüzeyinin X2000 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10 µm.

Grup 2 örneğin X2000 büyütmede de SEM görüntüsünde yüzey mikrostrüktürünün daha az pürüzlü olduğu görülmektedir (Resim 3.4).

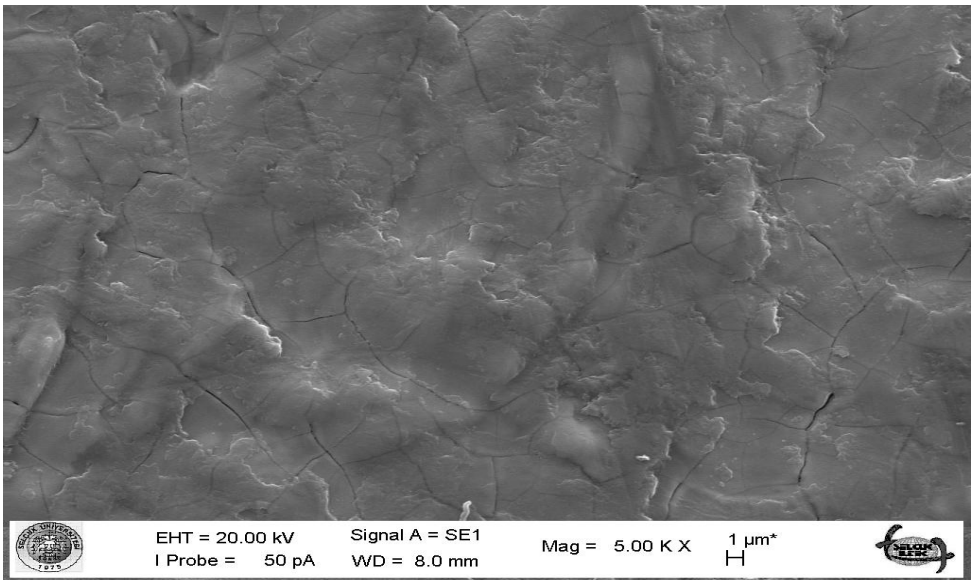
Grup 3 örneğin SEM incelemesinde X500 büyütmede düzenli pürüzlülük görülürken X2000 büyütmede lazerle üçlü çaparaz tarama yapıldığından dolayı X500 büyütmeye göre daha düzensiz bir görüntü vardır. X5000 büyütmede yüzeyde düzensiz pürüzlülükle beraber mikro çatlaklar görülmektedir (Resim 3.5-3.7).



Resim 3.5. Grup 3 hücre ekilmemiş örneğin yüzeyinin X500 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10 µm.



Resim 3.6. Grup 3 hücre ekilmemiş örneğin yüzeyinin X2000 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10 µm.



Resim 3.7. Grup 3 hücre ekilmemiş örneğin yüzeyinin X5000 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 1 µm.

3.1.2. Profilometre Cihazı ile Elde Edilen Yüzey Pürüzlülüğü Ölçümleri Bulguları

Profilometre cihazı ile elde edilen yüzey pürüzlülüğü ölçüm sonuçları Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Yüzey pürüzlülük ölçüm bulguları.

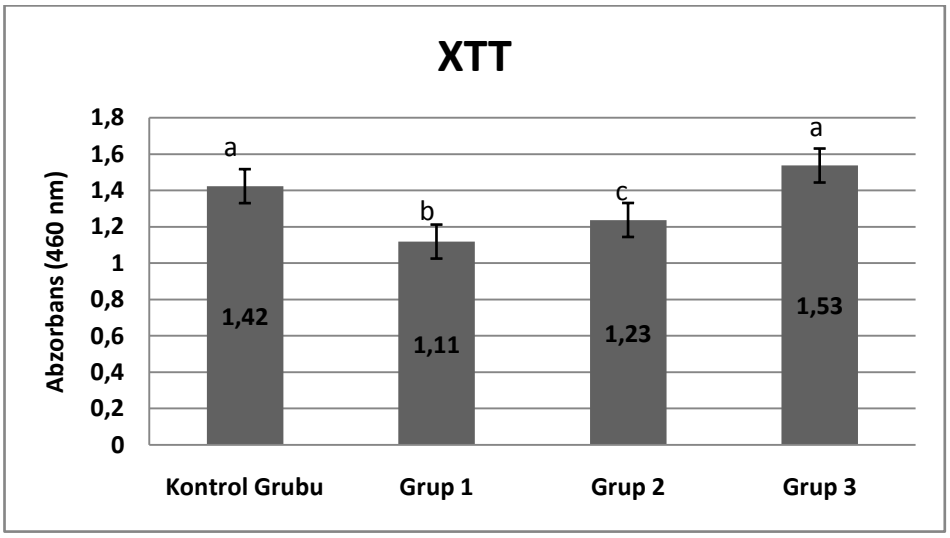
GRUPLAR		Birinci ölçüm	İkinci ölçüm	Üçüncü ölçüm	Dördüncü ölçüm	Ortalama değerler
Kontrol grubu	Ra	0,17	0,20	0,20	0,20	$0,19^{a}$
	Rz	1,2	1,2	1,4	1,3	$1,27^{¥}$
	Rmax	1,4	1,6	1,8	1,7	$1,62^{\Delta}$
Grup 1	Ra	1,15	1,12	1,10	1,15	$1,13^{b}$
	Rz	7,7	6,7	7,5	7,4	$7,32^{£}$
	Rmax	9,6	7,6	7,9	8,8	$8,47^{□}$
Grup 2	Ra	0,27	0,25	0,32	0,22	$0,26^{c}$
	Rz	1,7	1,8	2,2	1,16	$1,71^{\&}$
	Rmax	2,2	2,0	2,9	1,19	$2,07^{\lozenge}$
Grup 3	Ra	0,42	0,40	0,40	0,32	$0,38^{d}$
	Rz	2,6	2,9	3,0	2,3	$2,7^{\alpha}$
	Rmax	3,6	3,4	3,4	2,6	$3,25^{\circ}$

Grup 1 de ortalama pürüzlülük değeri (Ra) 1,13 olurken diğer gruplarda ortalama pürüzlülük değerleri 0,5'in altındadır. Ra, Rz, Rmax değerleri arasında yapılan Kruskall Wallis testinde gruplar arasında fark bulunmuştur ve istatistiksel farklılıkları göstermek için Ra değerlerinde ^{a,b,c,d} harfleri, Rz değerlerinde $^{¥, £, \&, \alpha}$ simgeleri, Rmax değerleri için $^{\Delta, \square, \Diamond, \circ}$ geometrik şekilleri kullanıldı.

3.2. HGF-1 Hücrelerinin Numune Yüzeylerine Tutunumu ve Hücre Morfolojilerinin Analizi Bulguları

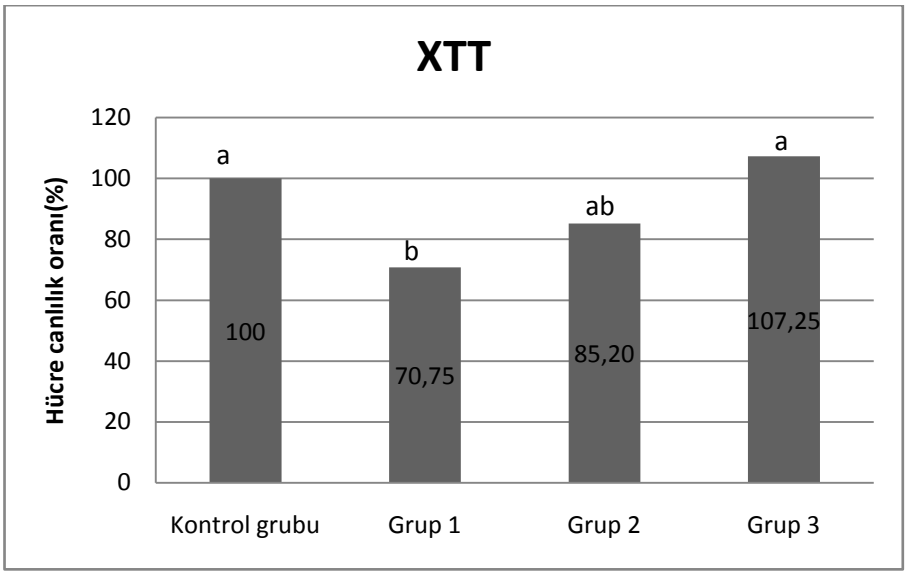
3.2.1. XTT Bulguları

XTT analizinin absorbans değerleri incelendiğinde, istatistiksel olarak kontrol grubu ile grup 3 arasında fark bulunmazken, grup 1 ve grup 2'nin abzorbans değerleri daha düşük bulunmuştur (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. XTT' de tespit edilen absorbans değerleri.

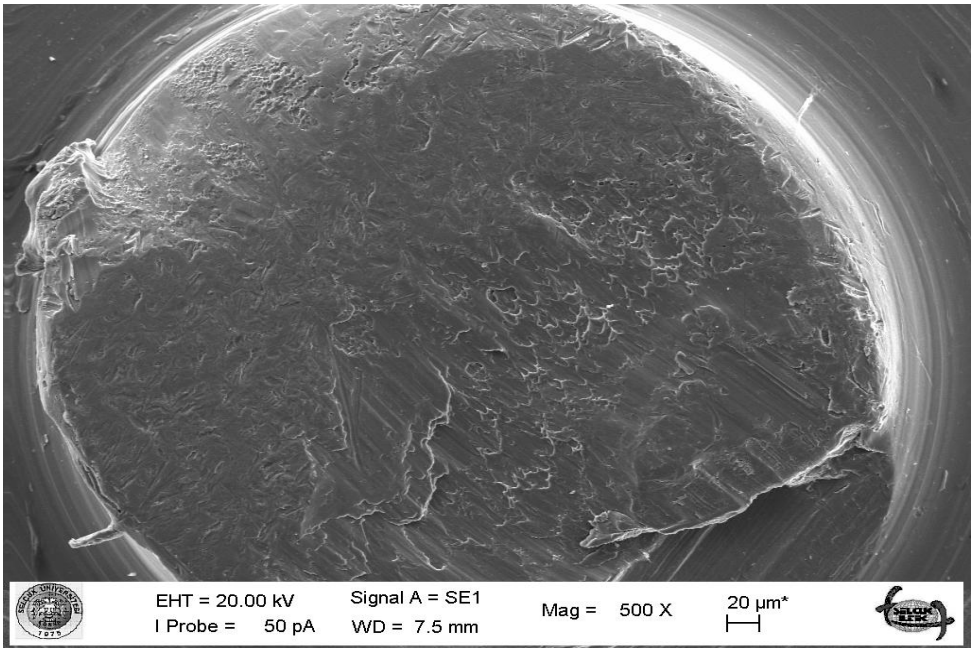
XTT sonuçlarına göre hücre canlılık oranları incelendiğinde Grup 1'in canlılık oranları, kontrol grubundan daha düşük bulunmuştur (Şekil 3.2). Hücre canlılık oranı değerlendirilmesinde kontrol grubunun hücre canlılık oranı %100 olarak değerlendirildi ve diğer grupların hücre canlılık oranı bu referansa göre hesaplandı. Kontrol gruba göre daha başarılı gruplarda değer 100'den büyük, başarısız gruplarda 100'den küçüktür.



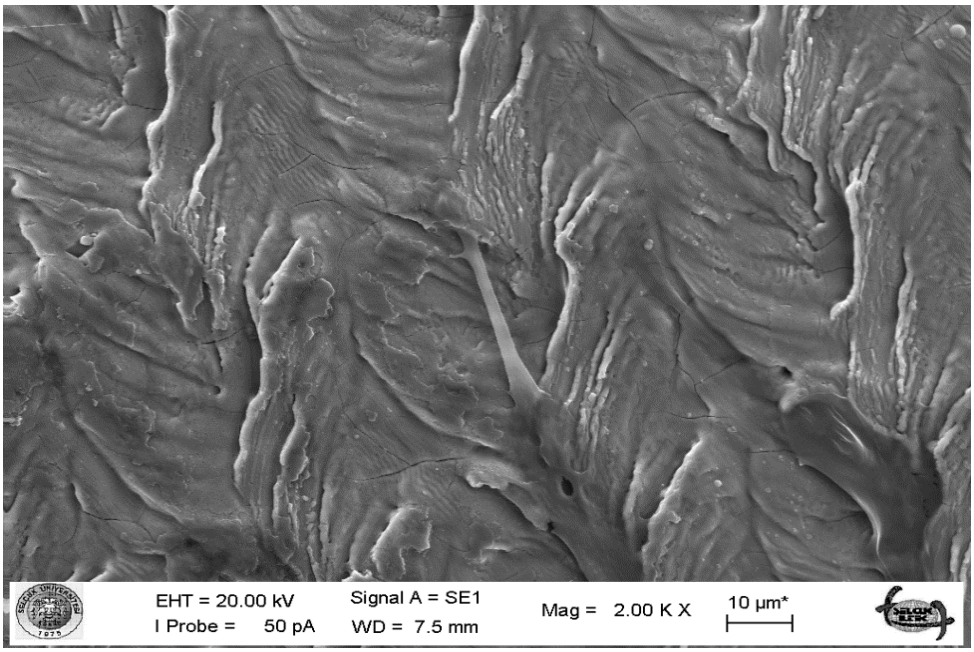
Şekil 3.2. Hücre canlılık oranı değerleri.

3.2.2. Biyolojik SEM Bulguları

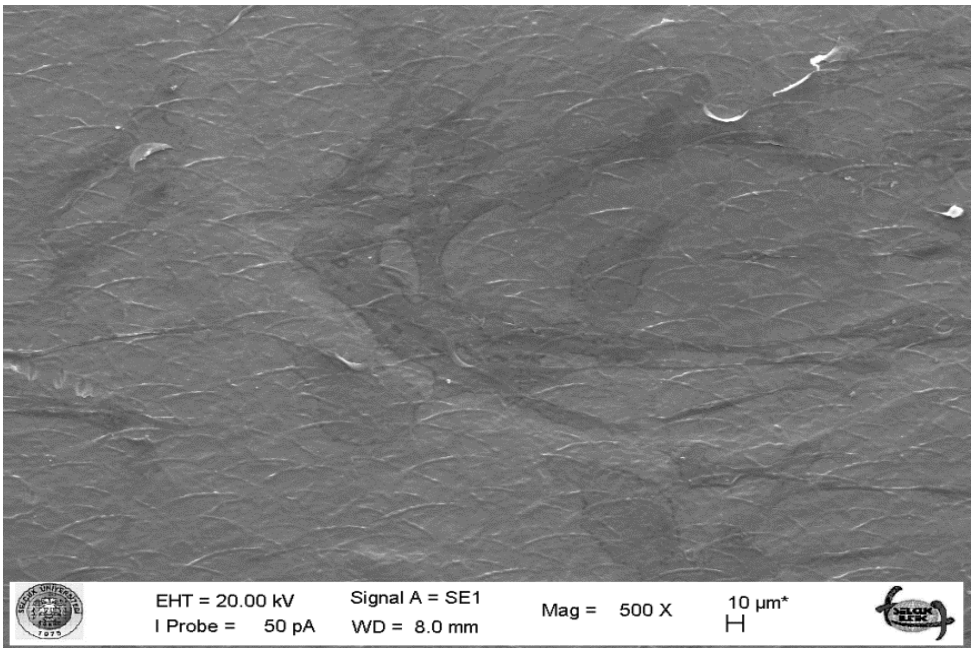
Bütün gruplar için hücre ekimini takiben 72 saatlik enkübasyon sonrasında elde edilen SEM görüntüleri aşağıdadır (Resim 3.8-3.15).



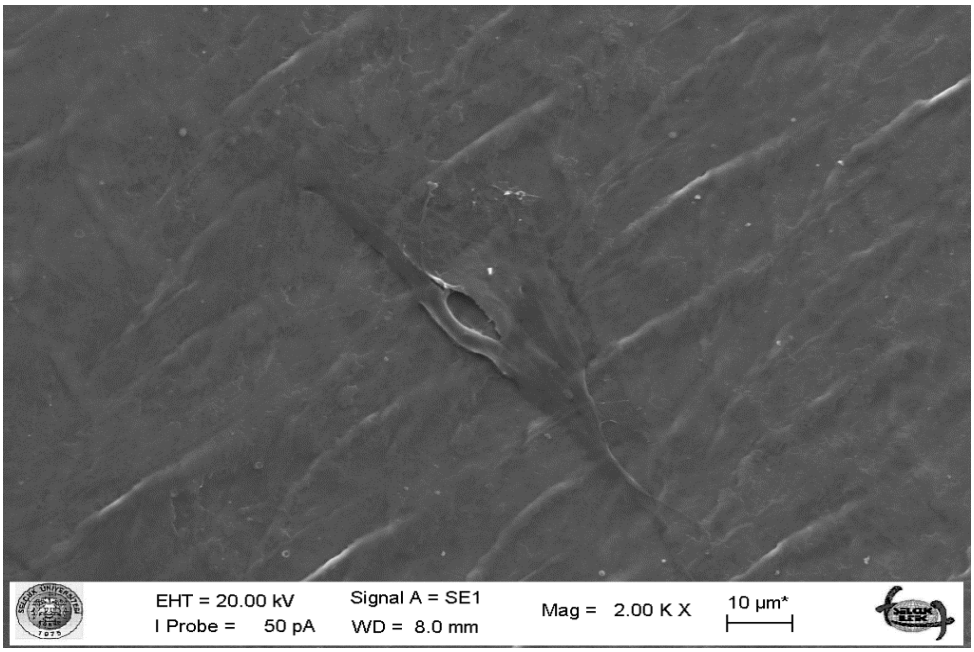
Resim 3.8. Kontrol grubu numune yüzeyinin X500 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 20 µm.



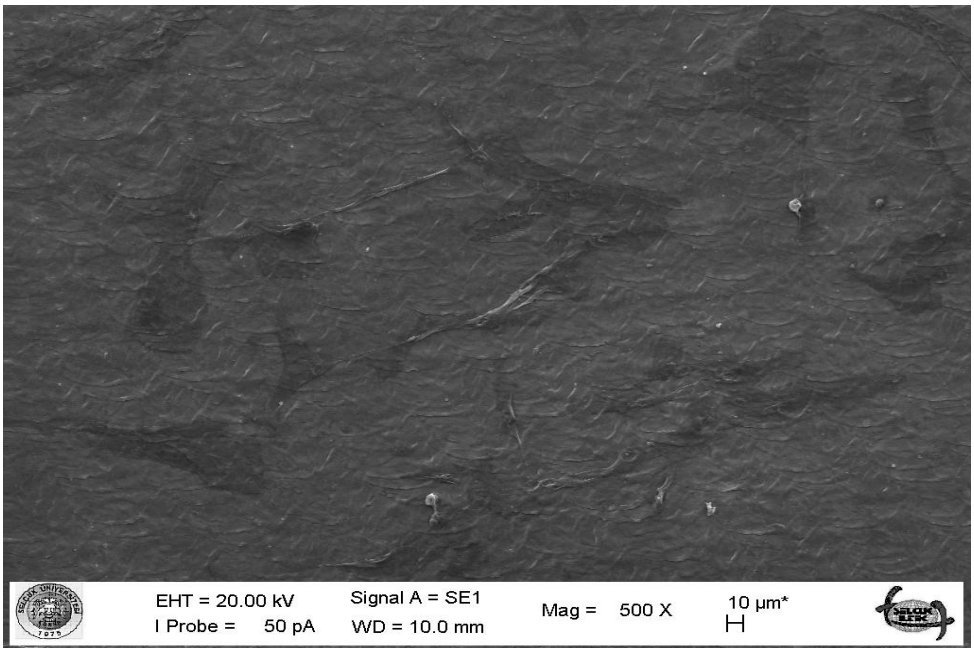
Resim 3.9. Grup 1'den bir numunenin yüzeyinin X2000 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10 µm.



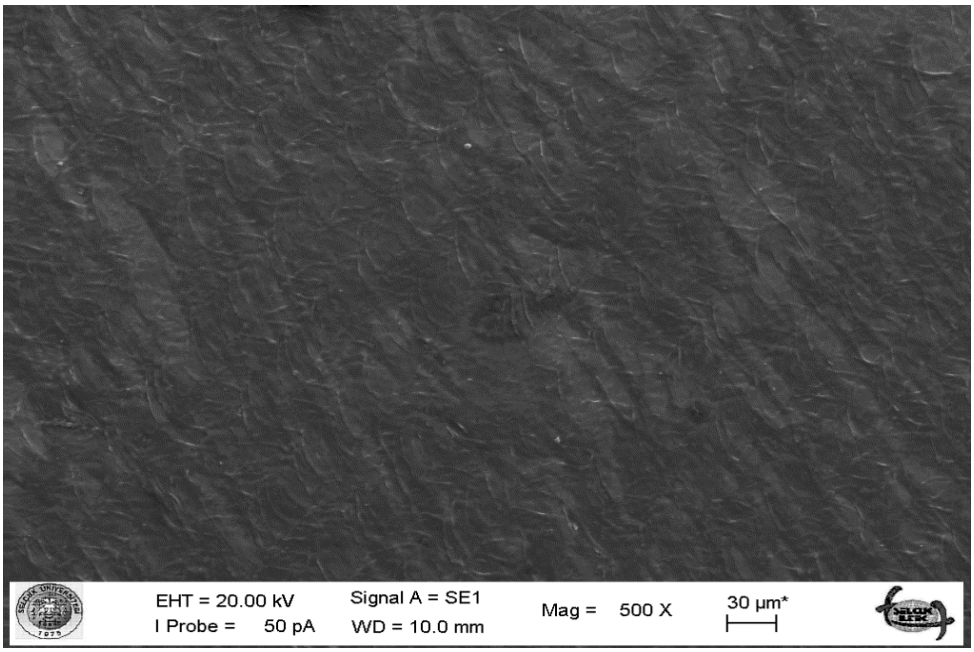
Resim 3.10. Grup 2'den bir numune yüzeyinin X500 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10 µm.



Resim 3.11. Grup 2'den bir numune yüzeyinin X2000 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10 µm.

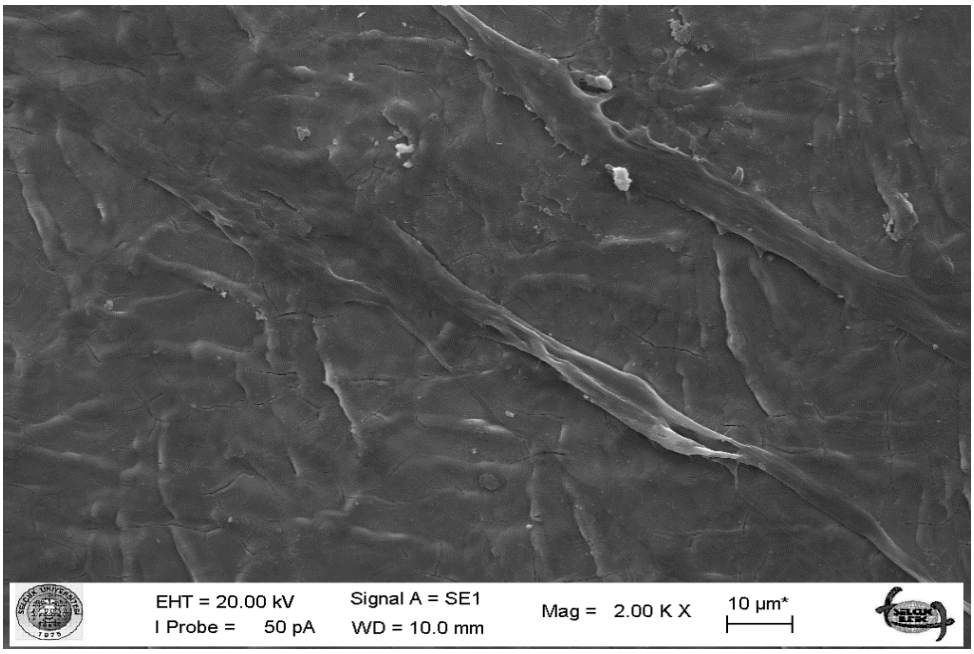


Resim 3.12. Grup 3'ten bir numune yüzeyinin X500 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10 µm.

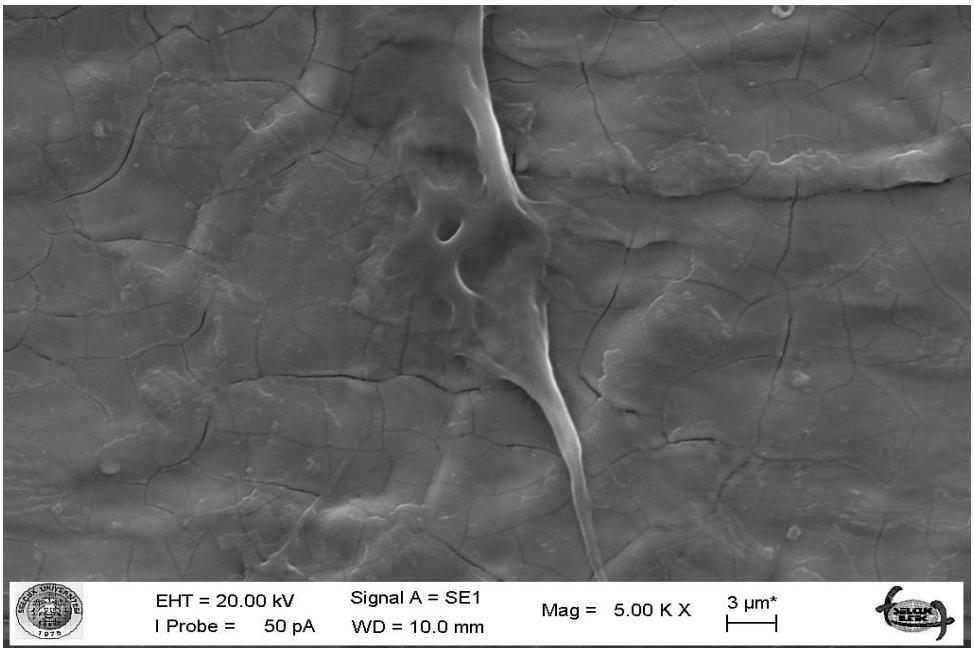


Resim 3.13. Grup 3'ten bir numune yüzeyinin X500 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 30 µm.

Grup 3'te fibroblast hücrelerinin materyal yüzeyini büyük bir oranda kapladığı görülmektedir (Resim 3.13).



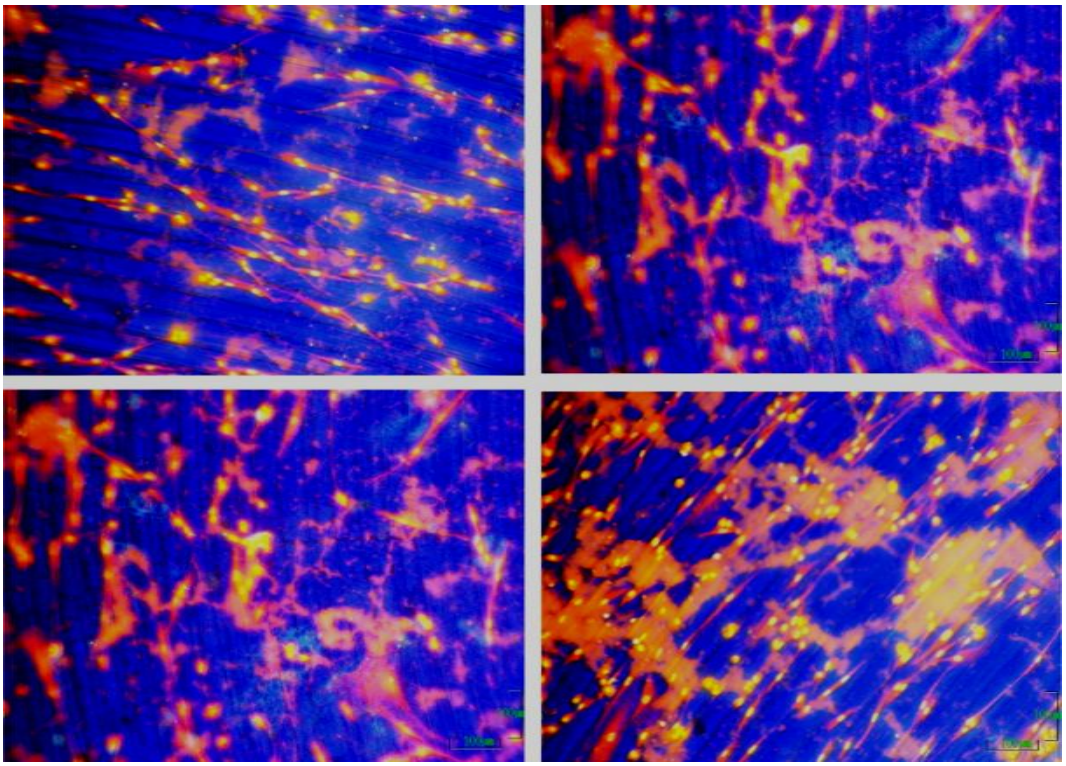
Resim 3.14. Grup 3'ten bir numune yüzeyinin X2000 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 10 µm.



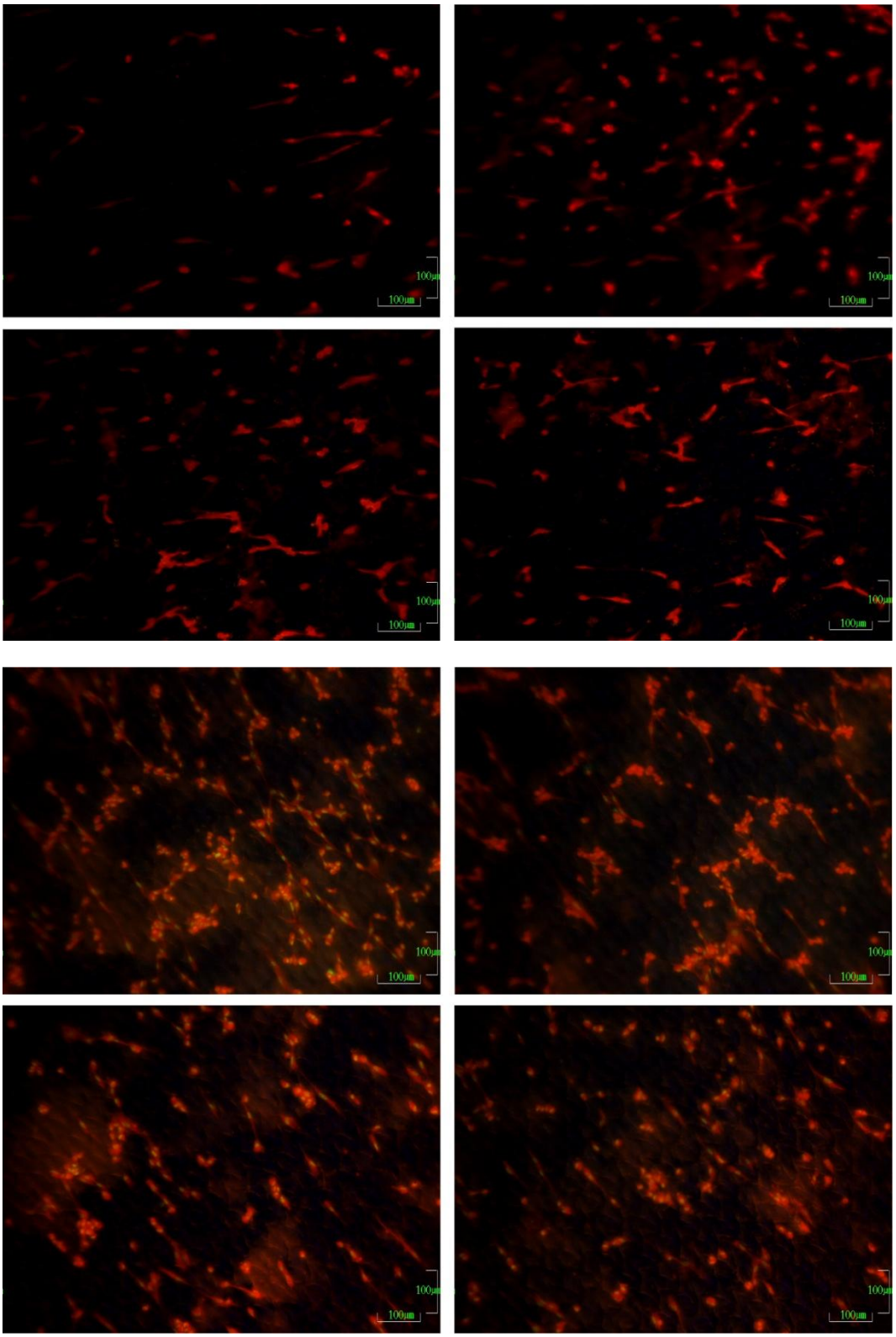
Resim 3.15. Grup 3'ten bir numune yüzeyinin X5000 büyütmede SEM görüntüsü. Büyütme çizgisi: 3 µm.

3.2.3. Akridin Turuncusu Testi (Acridine Orange Test) Bulguları

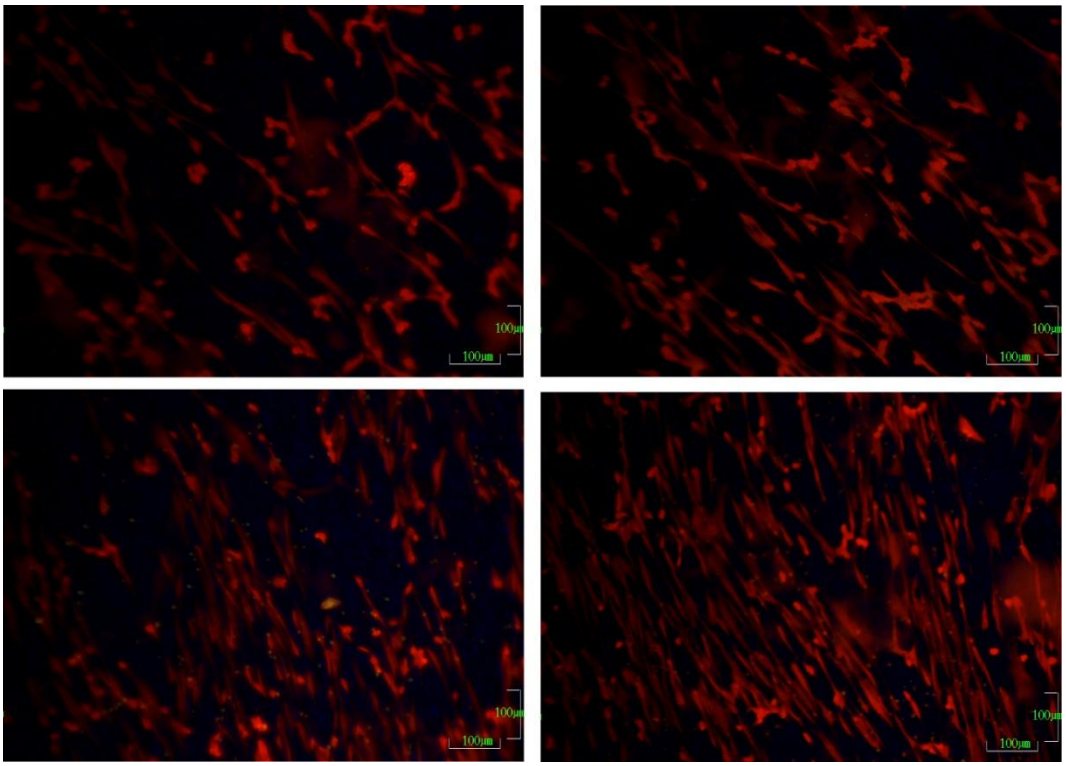
Akridin turuncusu testi ile elde edilen görüntülerde örneklerin yüzeyindeki hücrelerin sayısı ve kümelendikleri bölgeler kolaylıkla gözlenmektedir. Kontrol grubundan kaydedilen görüntüler incelendiğinde, hücre çekirdeği sayısı en fazla ve dağılımı en dengeli görülmektedir (Resim 3.16). Grup 1 de XTT ve SEM sonuçlarıyla paralel olarak daha az hücre görülmekte ve hücrelerin materyal yüzeyini tam kaplamadığı dikkati çekmektedir (Resim 3.17). Grup 2'de hücre sayısı ve dağılımı kontrol grubuna benzerdir ve hücre sayısı kontrol grubundan nispeten daha azdır (Resim 3.18). Grup 3'ten elde edilen görüntüler değerlendirildiğinde, yüzeyin bazı bölgelerinde hücre kümelenmeleri dikkati çekmektedir (3.19).



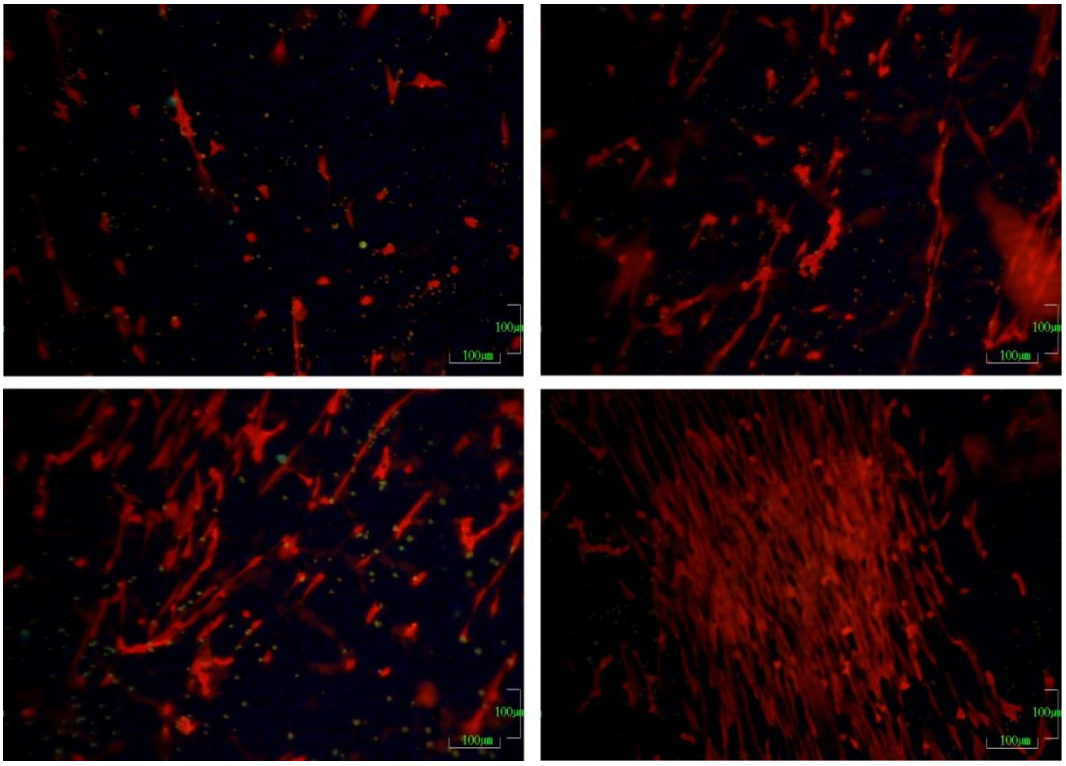
Resim 3.16. Kontrol grubuna ait floresan mikroskop görüntüsü. Akridin turuncusu boyası, Büyütme çizgisi: 100µm.



Resim 3.17. Grup 1'e ait floresan mikroskop görüntüsü. Akridin turuncusu boyası, Büyütme çizgisi: 100µm.

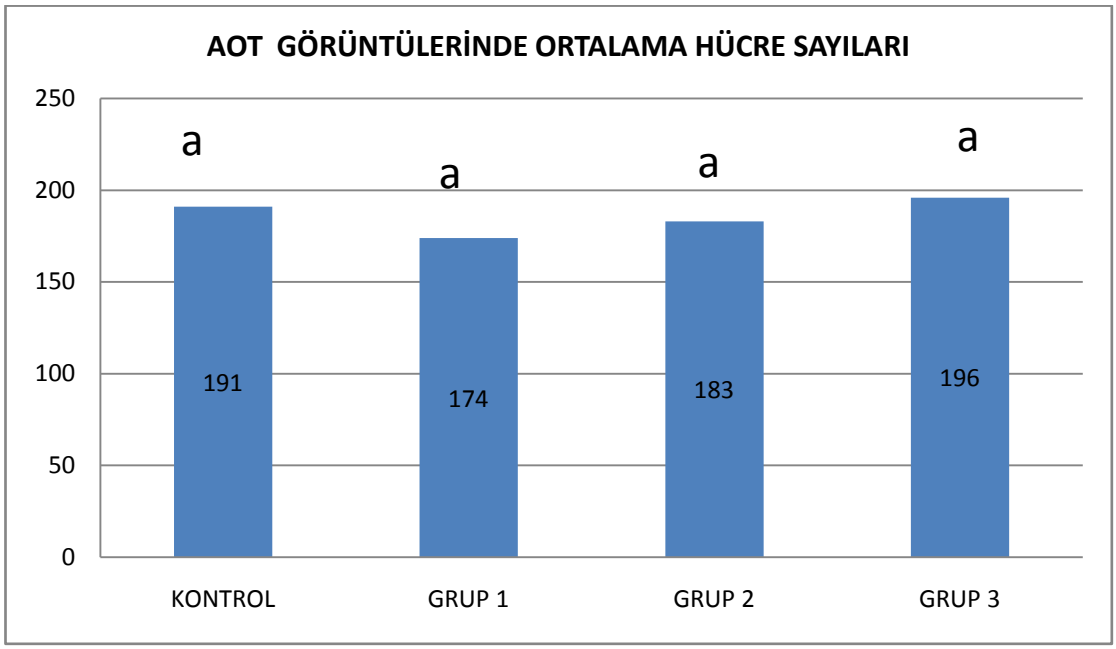


Resim 3.18. Grup 2'ye ait floresan mikroskop görüntüsü. Akridin turuncusu boyası, Büyütme çizgisi: 100µm.



Resim 3.19. Grup 3'e ait floresan mikroskop görüntüsü. Akridin turuncusu boyası, Büyütme çizgisi: 100µm.

Çizelge 3.2. Akridin Turuncusu Test'inde elde dilen görüntülerde ölçülen alanda ortalama hücre sayıları.



Krusskall Wallis testine göre floresan mikroskop görüntülerinde hücre sayımlarından elde edilen sonuçlara göre gruplar arasında fark yoktur (p=0.867) (Çizelge 3.2)

4.TARTIŞMA

Çalışmamız Selçuk Üniversitesi İLTEK Biyoteknoloji Laboratuarı Hücre Kültürü Bölümü'nde ve Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Bu çalışmada, fibrointegrasyon için gerekli olan optimum yüzey özelliklerini araştırmak için HGF-1 (ATCC, CRL46 2014,USA) insan kaynaklı fibroblast hücrelerinin lazerle oluşturulmuş implant yüzeylerinde adezyon ve proliferasyon özellikleri laboratuar şartlarında kontrol grubuyla karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Titanyumun dental implant maddesi olarak en önemli avantajı biyolojik olarak uyumlu olmasıdır. Bunun yanında elastisite modülünün kemiğe yakın olması (10-30GPa) titanyum ve alaşımlarını diğer materyal alternatiflerine göre daha avantajlı kılmaktadır. Saf titanyum ve Ti-6Al-4V, diş hekimliğinde en çok kullanılan implant materyalleridir (Lautenschlager ve ark 1993, Leyens ve Peters 2003, Uzun ve ark 2010).

Dental implant uygulamaları için titanyum alaşımları Grade 1-5 arasında isimlendirilir. İlk 4 tip alaşım içermeyen saf titanyumdur. 5. tip ise (Ti-6Al-4V) %6 alüminyum ve %4 vanadyum içermektedir (Elias ve ark 2008).

Liliane ve ark (2007) yapmış oldukları bir çalışmada implantın iyileşmesi sırasında vanadyum iyonunun serbest salınımına bakmışlardır. Titanyum alaşımından yapılan implantları tavşan tibialarına yerleştirmişler ve 1. ,4. ve 12. haftanın sonunda çıkarma tork değerlerine bakmışlardır. Ayrıca tavşanların böbrek, karaciğer ve akciğerlerini çıkartıp atomik absorpsiyon spektrometresi ile analiz etmişlerdir. Kontrol değerleriyle karşılaştırıldığında serbest vanadyum iyonunun 1. haftanın sonunda çok az bir artış, 4. haftanın sonunda önemli derecede bir artış ve 12. haftanın sonunda çok az bir azalma gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Açıklandığı gibi, Ti-6Al-4V ile yapılan bazı diş implantları lokal ve sistemik olarak dokulara serbest iyonları bırakabilir. İmplant dayanımını arttırmak için titanyum alaşımları saf titanyumlara göre bazen tercih edilmektedir. Ancak birçok çalışmada medikal saf titanyum ile Ti-6Al-4V implantlar karşılaştırılmış medikal saf

Ti implantların, Ti alaşımlı implantlara göre önemli ölçüde daha yüksek çıkarma tork değerlerine ve kemik temaslarına sahip oldukları rapor edilmiştir (Johansson ve ark 1998). Yüksek mukavemetli titanyum alaşımları üretmek için katılan alüminyum, vanadyum gibi alaşım elementlerinin vücut ile biyouyumluluğunun iyi olmadığı ve toksik etkilere neden olduğu bilinmektedir (Wang 1996, Pürçek ve ark 2012). Bu sebepten bizde çalışmamızda ticari olarak üretilmiş medikal grade 4 saf titanyum çubuktan oluşturulan diskleri kullanmayı tercih ettik.

İmplantların yüzey yapısı ve pürüzlülüğü, hücrelerin başlangıç ataçmanı, proliferasyonu ve mineralize doku proteinlerinin sentezlenmesini etkilemektedir. Titanyum disklerin kullanıldığı çalışmalarda titanyum alaşımın, demineralize kök kesitleri kadar fibroblastların başlangıç ataçmanını da sağlayabildiği gösterilmiştir. (Ronold ve Ellingsen 2002, Şener ve ark 2006).

Lazerle mikro-oluk oluşturulmuş yüzeylerin bağ dokusu ataçmanı için etkili olduğu ve bu ataçmanın etkin biçimde peri-implant kemik erimesini önlediği rapor edilmiştir (Nevins ve ark 2010). Yüzey işlemine maruz kalmış yüzeyler ile epitel hücre veya fibroblast adezyonu arasındaki ilişki ile ilgili bazı raporlar olmasına rağmen, topografik yüzey modifikasyonu prosedürlerini tanımlamak ve pürüzlü yüzeylerle inferior yumuşak doku hücre ataçmanı oluşturulması konusunda daha fazla çalışma yapılması rapor edilmiştir (Könönen ve ark 1992, Baharloo ve ark 2005, Furuhashi ve ark 2012, Okawachi ve ark 2012). Bizde yaptığımız çalışmada daha önceden diğer yöntemlere göre başarısı kanıtlanan lazerle implant yüzeyi hazırlama tekniğini optimize etmeye çalıştık. Bunun için lazer uygulanırken parametreler değiştirilerek farklı yüzey topografileri oluşturulmuş, uygun görülen 3 tanesi üzerinde denemeler yapılmıştır.

Biyomateryal yüzeyinde yapılan pürüzlülük ve morfolojik değişiklikler doku ve hücrelerin implanta olan cevabında etkilidir. Araştırmalar implant yüzey özelliklerinin kemiğin ve gingival dokuların iyileşme cevabı üzerinde rol oynadığını göstermektedir. Yüzey hazırlama yöntemleri arasında fiziksel-kimyasal metotlardan çok, morfolojik yöntemlerin daha belirgin etkileri görülmüştür. Pürüzlü yüzeylerin bu cevabı olumlu olarak etkilediği ortaya konmuştur (Uzun ve Keyf 2007).

Dunn ve Brown (1986) fibroblastların hem oluklarda hem de sırtlarda aktin fiber sonlarını oluşturduğunu ve fibroblastlar tarafından üretilen kollagenin kaba yüzeylerde daha iyi bir mekanik kilitleme yaptığını rapor etmişlerdir.

Farklı yüzey yapısına sahip titanyum üzerindeki insan diş eti fibroblastları ve epitel hücrelerinin ataçmanı ve büyümesi üzerine karşılaştırmalı deneyler yapılmıştır (Brunette 1988, Brunette ve Chehroudi 1999). Bu çalışmalar epitel hücrelerin pürüzlü yüzeylere daha yoğun göç ettiğini göstermiştir. Ancak, gingival fibroblastların da diğer yazarlar tarafından gözenekli yüzeyler üzerinde belirgin ve odaklı bir gelişim gösterdiği gözlenmiştir (Pitaru ve ark 1984, Inoue ve ark 1987, Shibli 2003).

Teng ve ark (2012) dental implant titanyum topografilerinde epitel hücrelerin, fibroblastların ve osteoblastların bağlanma ve çoğalma yeteneklerini karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak pürüzsüz yüzeylerde epitelyal hücre adezyonu niteliklerinin pürüzlü yüzeylere göre daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. Fakat bu durumun fibroblast hücrelerinde pürüzlü yüzeylerde tersine olduğu ve osteoblast hücrelerinin çoğalma yeteneğinde ise istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmediğini rapor etmişlerdir.

Oates ve ark'nın (2005) titanyum yüzeylerdeki gingival fibroblastların integrin ekspresyonunu inceledikleri ve titanyum yüzey pürüzlülüğünün integrin ekspresyonu ve hücre morfolojisi üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada; fibroblast morfolojisinin, osteoblastik davranışı ile tutarlı olarak, titanyum yüzey pürüzlülüğü özelliklerinden etkilendiğini bildirmişlerdir.

İmplant materyallerinin yüzey özellikleri bu materyallere karşı gelişen hücrelerin biyolojik cevabında etkin rol oynamaktadır. İmplantlarla ilgili temel güncel problem, implant-doku ara yüzünün özelliğidir. Yüzey özelliklerini belirleyen parametreler ise kimyasal özellikler, kristalizasyon, heterojenite, pürüzlülük ve ıslanabilirliktir. Her bir parametre biyolojik cevap üzerinde önem taşımaktadır. Titanyum implantların yüzey özelliklerinin iyileştirilmesi için hidroksiapatit kaplaması, lazer ve plazma uygulaması, iyon implantasyonu gibi işlemler uygulanmaktadır (Hakkı ve Ertuğrul 2009, Uzun ve Bayındır 2010). Yüzey

topoğrafyası değişikliğinin yanı sıra, lazer tedavisinin yüzey ıslanabilirliği, titanyum oksidasyon durumu ve benzeri durumları içeren yüzeyin kimyasal ve fiziksel özellikleri üzerine etkileri olabilir. Bu özellikler yüzey topografisiyle birlikte malzemenin biyouyumluluğunu etkileyebilir (Khosroshahi ve ark 2009, Dahotre ve ark 2010). Bizde çalışmamızda titanyum disklere değişik parametrelerde lazer uygulayarak farklı yüzey pürüzlülükleri oluşturup fibrointegrasyon için ideal pürüzlülük derecesini belirlemeye çalıştık.

Baltriukienė ve ark (2014) lazer uygulanmış titanyum yüzeylerin insan gingival fibroblast (HGF) canlılığı, çoğalması ve adezyonu üzerindeki etkilerini değerlendirdikleri çalışmada titanyum disklere dört farklı desen darbe lazer ile ablasyon yapmışlardır. Cilalı (parlatılmış) ve kumlanmış titanyum diskleri de kontrol grubu olarak kullanılmışlardır. Sonuç olarak lazer uygulanmış yüzeylerde HGF adezyonunu daha başarılı bulmuşlardır. Farklı lazer uygulanmış gruplar arasında anlamlı farklılık olmadığını rapor etmişlerdir.

Benzer bir şekilde Heinrich ve ark (2008) yaptıkları çalışmada lazer tarafından oluşturulan farklı yüzey topografilerinin fibroblast hücre adezyonunu arttırdığını rapor etmişlerdir.

Berardi ve ark (2011) yaptıkları in vivo çalışmada, düzensiz çaplarda derinlik ve alan oluşturmak için değişik dalga boylarında diode pompalı katı lazer kullanmışlardır. Bu şekilde oluşturulan yedi farklı lazer tedavi implant yüzeyini analiz etmişlerdir. Ortalama kemik-implant temas değerlerini test edilen tüm yüzeyler için yaklaşık % 50 bulmuşlardır. Fakat gruplar arasında farklılıklar bulmuşlar ve lazer ışının gücü ve açısı değiştirilerek farklı yüzey pürüzlülüklerinin histolojik cevabı etkilediğini rapor etmişlerdir.

İmplantın boyun bölgesinde fibroblastların yüzeye tutunmasıyla biyolojik bir kapama oluşturulup bakterilerin implant yüzeyine ulaşması engellenmelidir. Yüzey pürüzlülüğünün arttırmanın daha önceki çalışmalarda fibroblast tutunumunu arttıracağı düşünülsede bu durum peri implant bölgede oral bakterilerin tutunması içinde elverişli bir bölge oluşturur ve uzun dönemde rezorbsiyonu arttıracaktır. Kontrol grubunda pürüzlülük oluşturulmamış, yüzey makinede hazırlanmıştır. Hücre

tutunumu ve yüzeyin fibroblast hücrelerle kapanması açısından kontrol grubu diğer gruplardan daha iyi sonuçlar vermiştir. Düz yüzeylere bakteri tutunmasınında daha daha az olacağı düşünüldüğünde uzun dönemde periimplantitis açısından implantın boyun bölgesinde düz yüzeyler avantaj sağlayacaktır.

Işınlama mesafesi, süresi, sıklığı ve gücü yüzey pürüzlülüğünü etkileyen en önemli faktörlerdir. Bu dalga boyu, çıkış gücü, enerji, dozu ve süresi gibi parametreler ışınlama sırasında dikkate alınmalıdır (Ercan ve ark 2013).

Lazerde oluşturulan çukurcukların derinliği lazerin gücüyle kontrol edilebilmektedir ve istenilen yüzey pürüzlülük değerleri kolayca implant yüzeyinde oluşturulabilir. Diğer çalışmalardan farklı olarak biz çalışmamızda lazerin gücünü değiştirmedik. Yaptığımız denemelerde literatüre uygun pürüzlülük oluşturabileceğimiz (Grup 1) lazerin güç değeri seçilmiş ve gruplara uygulanan güç parametresi değiştirilmemiştir. Farklı implant yüzey gruplarını oluştururken güçten başka parametreler değiştirilerek Grup 2 ve Grup 3 oluşturulmuştur. Bizde çalışmamızda yeni geliştirilmiş güncel bir lazer türü olan fiber lazer kullanarak 3 farklı yüzey oluşturup yüzeyde tututan canlı hücre sayısını değerlendirdik. Daha önce literatürde karşılaşmadığımız üçlü çapraz tarama ve ikili çapraz tarama ile oluşturulan yüzey topografilerinin Grup 1 de uygulanan çizgisel (lineer) taramadan elde edilen topografiye göre fibroblast hücreleri için daha uygun yüzeyler olduğunu bulduk. Bunların yanında tüm testler birlikte değerlendirildiğinde kontrol grubu başarılı çıkmıştır. Grade 4 medikal titanyum materyal uygun koşullarda temizlenip steril edildiğinde fibroblast hücreleri için biyouyumluluğu yüksek bir materyaldir.

Lazer ışını açısından, metal üzerinde farklı kalınlıklarda ince filmler oluşturulması sürecine etki eden birçok parametre vardır. Bu parametreleri ortalama güç, tekrar frekansı, atım uzunluğu, tarama hızı, tarama sıklığı, odak çapı olarak sıralayabiliriz. Bu parametreleri hassas bir şekilde ayarlayarak, işlem yapılan bölgenin yüzey sıcaklığını sabit tutmak, homojen ince oksit film oluşturmak ve birim alana aktarılan enerjiyi ayarlayarak ince film kalınlığını kontrol etmek, tekrarlanabilir sonuçlar elde etmek için önemlidir. Bu nedenlerle lazer sisteminin atım uzunluğu ve güç miktarı gibi parametrelerinin hem kısa dönem (<1 s) hem de uzun dönem (>1 s) kararlılığı, sırasıyla, işleme anında etkileşim mekanizmasının

sabit tutulması ve işlenen geniş bir yüzeyde tekdüzeliğin sağlanması için önemlidir (Yağcı ve ark 2013a).

Uygulama yapılacak malzemeye, istenilen tarama hızına göre kullanılacak olan lazer türü seçimi değişmektedir. Yüzey uygulamaları için birçok lazer türü bulunup genellikle tercih edilen lazer türü atımlı lazerlerdir. Atımlı lazerlerde devreye giren tekrar frekansı sayesinde birim zamandaki lazerin malzeme üzerine etkisi artmaktadır, bu etki aynı zamanda atımın uzunluğu ile de optimize edilmektedir. Tüm bu özelliklerin yanı sıra tarama uygulaması yapılacak malzemenin absorbe edebildiği dalga boyunun seçimi de kritik önem taşımaktadır. Örneğin demir içeren (ferrous) ve paslanmaz (non-ferrous) malzemelerin iyi bir şekilde taranabilmesi tercih edilen lazer dalga boyu 1064 nm seviyelerindeyken, plastik ve cam gibi malzemelerde daha yüksek dalga boyları tercih edilmektedir (Aydın ve Eken 2013).

Tarama uygulamalarındaki bir diğer kritik parametre ise ışın kalitesi olup, bu parametre malzemenin üzerine düşürülen lazer ışığının çapının ne kadar olacağı konusunda kullanıcıya fikir vermektedir. Işın kalitesinin küçük olması düşük atım uzunluğu ve tekrar frekansı ile birleştiğinde, yüksek tepe güçlü ve taramanın yanısıra kazıma yapabilme avantajını içeren, temiz ve küçük karakterleri başarılı bir şekilde tarayabilen bir sistemin kullanımını sağlamaktadır (Aydın ve Eken 2013).

Oluşturulan yüzey topografisinde çukurcukların merkezleri arası mesafe ve çukurcukların geometrik desen ve geometri yapısı (yatay, dikey ve oblik desenler), çukurcuk içi mikro porözite değerleri değiştirilebilir. Bu değerler diğer yüzey işleme teknikleriyle kontrol edilemez. Ortalama yüzey pürüzlülüğünden farklı olarak bu değerlerin de kontrolü implant yüzeyi hazırlamada önemlidir. Lazer seçiminde bir diğer önemli faktörde ışın çapı ve dolayısıyla materyal üzerinde oluşturacağı çukurcuğun çapı ve derinliğidir. Kullandığımız lazer 0,2 mikrometre çapında ışın oluşturmaktadır. Bu değerle elde edilen yüzey yapılarına da başarılı hücre adezyonu çalışmamızda gözlenmiştir. Farklı lazerlerde ışın çapı ve çukurcuk çapı değerleri farklı olacağından her lazer için farklı parametrelerle çalışılarak optimizasyon sağlanabilir. Bizde çalışmamızda bu parametrelerin sonucu nasıl değiştirdiğini inceledik. Sadece Ra değeri üzerinde yapılan çalışmaların aksine bilinçli bir

topografi oluşturmanın önemli olduğunu gördük. Lazerin gücü yerine diğer parametreleri değiştirerek sonucu yorumladık.

Farklı lazer tipleri ve farklı lazer cihazlarıyla bu parametreler değiştirilebilir. Bu çalışmada kullandığımız sistem ve parametrelerle başarılı sonuçlar elde ettik. Bizim çalışmamızda çapraz taramaların yapıldığı gruplar çizgisel taramaya göre daha başarılı çıkmıştır. Lazerin uygulanmasında parametreleri değiştirerek daha da başarılı sonuçlar elde edilebilir. Lazerle yüzey hazırlama değiştirilebilen parametrelerin fazlalığı ve kontrolünün kolay olmasıyla implantlar için yüzey hazırlamada etkin bir yöntemdir.

Lazerin hızlı oluşu, çevreye zararsız oluşu ve mükemmel hassasiyeti sayesinde lazerle materyal yüzeyi hazırlanırken tribolojik ve biyomekanik özellikleri kontrol etmek mümkündür (Etsion 2005).

Fiber lazerler, üstün pratik özellikleriyle son yıllarda en çok dikkat çeken, en hızlı gelişmelerin yaşandığı lazer olarak ön plana çıkmaktadır. Fiber lazerlerde yaşanan gelişmeler yoğun olarak son 15 yıla ait olup, teknolojik gelişmelere paralel olarak endüstriyel alanlar başta olmak üzere savunma sanayii, medikal ve bilimsel alanlarda hızla kullanımı yaygınlaşmaktadır. Bu gelişmedeki en önemli pay, Yb-katkılı çift kaplı (doublecladd DC) fiberler ve yüksek güçlü uyarım diyotlarına (pumpdiodes) aittir. Fiber lazerlerin diğer lazerlerden daha fazla ön plana çıkmasının ana sebepleri arasında yüksek ışın kalitesi, yüksek alan/hacim oranı, yüksek kazanım ve verimlilik, hassas hizalama gerektirmeyen optik yapı ve soğutma ile ilgili gereklerinin daha kolay olması sayılabilir (Yağcı ve ark 2013b).

Metal yüzeylerinin temizliğinde el aletleri ile temizleme, alkali ile temizleme, püskürtme ile temizleme, asitle temizleme, buhar ya da su jeti ile temizleme, çözücü ile temizleme gibi farklı yüzey temizleme yöntemleri kullanılmaktadır. Metal yüzeyler üzerine gevşek yapışmış durumda bulunan toz, kir, eski boya artıklarını temizlemek için yüzeye yüksek basınçta buhar veya su püskürtülerek yüzey temizleme işlemi yapılabilir. Metal yüzeyine yüksek sıcaklıkta ve basınçta buhar püskürtülerek yüzeyde bulunan toprak, toz, yağ ve gres sökülerek uzaklaştırılabilir. Bu yöntem çözücü ile temizlemeye göre daha basit ve çevre temizliği açısından daha uygundur. Diğer yöntemlerin aksine temizlemede kullanılan materyali temizlemeye

yönelik ikinci bir işlem gerektirmemesi ve materyalin yüzey özelliklerinde de bir değişikliğe neden olmaması önemli avantajıdır. Bizde çalışmamızda medikal grade 4 titanyum çubuktan kesilerek hazırlanan titanyum disklerin yüzeylerini basınçlı buhar makinesiyle temizledik. Sterilizasyonda hazırlanan yüzeyde hiçbir değişime neden olmayan, etkin ve kolay uygulanabilen UV sterilizasyon yöntemi seçilmiştir.

Yaygın ticari uygulanan mekanik (machined, kumlama) ve kimyasal (asitleme, oksidasyon) tekniklerde implant yüzeyi pürüzlendirme işlemleri yüzey kirliliğine ve çevresel sorunlara sebep olurlar. Son zamanlarda geliştirilen lazer tekniği diğer tekniklere alternatif bir tekniktir. Lazerin doğrudan temas olmadan yüzey işlemeyi ve implantın mikrotopografisi üzerinde daha iyi bir kontrol sağladığı bildirilmiştir. Ayrıca mekanik özellikleri muhafaza etme ve düşük kontaminasyon riski oluşturma gibi potansiyel avantajları da vardır (Gaggl ve ark 2000,Shigematsu ve ark 2000, Cho ve Jung 2003, Vorobyev ve Guo 2006, Alla ve ark 2011).

Klinik çalışmalar lazer uygulanmış yüzeyli implantlar etrafında daha fazla kemik oluşumu göstermiştir. Bunun sebebinin ise lazer işleminin implant yüzeyinde biyouyumluluğu geliştirmesinin olabileceği rapor edilmiştir (Alla ve ark 2011).

Joob-Fancsalyve ark (2000) yaptıkları çalışmada makinede hazırlanmış (machined) yüzey, kumlanmış yüzey, düşük enerjili lazer yüzey, yüksek enerjili lazer yüzey ve titanyum oksit yüzeyi çıkarma tork testi ve histolojik olarak incelemişler ve en iyi sonuçları yüksek enerjili lazer yüzeyde bulmuşlardır. Bunun sebebi olarak da yüzeyde oluşan özel mikro morfoloji ve yüzeyin temizliğini göstermişlerdir.

Gaggl ve ark (2000) makinede hazırlanmış (machined) yüzey, titanyum sprey kaplama, alüminyum oksitle yüzey işlemi ve lazerle yüzey işlemi uygulanmış 4 farklı yüzeye sahip implantları SEM analiziyle karşılaştırmışlar. Optimum yüzey özelliği bakımından titanyum plazma spreyi lazer kadar iyi bulmuşlar. En az yüzey kontaminasyonunu da lazer yüzey ve makinede hazırlanmış yüzeyde bulmuşlardır.

Bizde temizlik ve topografi oluşturmadaki üstünlüklerinden dolayı implant yüzeylerini lazerle oluşturduk. Sonuç olarak yüzey topografisini etkileyen

parametreleri değiştirerek farklı yüzeyler elde ettik ve bu yüzeyleri hücre kültürü çalışmasıyla kıyasladık.

Hücre kültürüyle belirli bir hücre hattından çoğaltılan hücrelerde çeşitli çalışmalar yapılarak canlı ortamında (*in vivo*) yapılamayan denemeler yapılabilir ve burdan yola çıkılarak sonuçlara ulaşılabilir. Invitro deneyler, invivo deneylerin aksine, deney faktörlerinin kontrol edilebilir olması avantajına sahiptirler (Freshney 1986).

Hücre kültürlerinin ekonomik olmaları, hızlı sonuç vermeleri, tekrarlanabilmeleri, hayvanların hastalanmasına veya ölümüne sebebiyet verilmemesi hücre kültürlerinin çoğu in vitro yöntemle kıyaslandığında uygulanabilirliğini arttırmaktadır (Yliheikkila ve ark 1995, Schmalz 1997). Biz de çalışmamızda in vivo yöntemlere göre daha avantajlı olduğu için hücre kültürü testini tercih ettik.

Khadra ve ark (2005) standartlaştırılmış, tekrarlanabilir in vitro modelde hücre ataçmanı ve çoğalmasında düşük seviye lazer terapinin tek veya çoklu doz etkisini araştırdıkları çalışmada insan fibroblast hücresi kullanmışlardır.

Oates ve ark (2005) yapmış oldukları çalışmada titanyum yüzeylerdeki fibroblastların integrin ekspresyonunu inceledikleri ve titanyum yüzey pürüzlülüğünün integrin eksperyonu ve hücre morfolojisi üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada insan gingival fibroblast hücresi kullanmışlardır.

Baltriukienė ve ark (2014) lazer uygulanmış titanyum yüzeylerin hücre canlılığı, çoğalması ve adezyonu üzerindeki etkilerini değerlendirdikleri çalışmada insan gingival fibroblast hücreleri (HGF) kullanmışlardır. Bizde benzer şekilde çalışmamızda insan gingival fibroblast hücresi HGF-1 (ATCC, CRL46 2014, USA) kullandık.

Yeni bir materyal seçiminde, mekanik ve fiziksel özelliklerin yanında biyolojik özelliklerde büyük bir öneme sahiptir. İn vitro testler araştırıcılara materyalin istenmeyen özellikleri hakkında önemli bilgiler vermektedir. Hücre kültürü içerisindeki hücrelerin birkaç gün sonraki sayımı materyalin çeşitli bileşenlerinin hücre proliferasyonuna etkisinin belirlenmesinde kullanılır (Kim ve ark 2005, Tuncer ve ark 2011).

Lazerle yüzeyi işlenmiş titanyumlarda yapılan önceki çalışmalarda erken dönem HGF adezyonunda (30, 60, 120 dakika) önemli bir fark gözlenmemiştir (Baltriukienė ve ark 2014). Kullandığımız grade 4 medikal saf titanyum materyal fibroblast adezyonu ve proliferasyonu için biyouyumluluğu yüksektir. Deney süresinin uzun tutulmasıyla materyalin üstün biyouyumluluk özelliğinden dolayı tüm deny gruplarında yüzeyin kaplanacağı ve hücrelerin üst üste büyüme yaptığı ön çalışmalarımızda görülmüştür. Ön çalışmalarımız ışığında çalışmamızda lazerle işlenmiş Ti yüzeylerde istatistiksel olarak ve kontrol grubuyla karşılaştırma yapılabilmesi için 72 saat beklemenin daha iyi olacağı düşünülmüştür. 72 saat sonunda tüm gruplarda yüzey fibroblast hücreleriyle kaplanmadığından karşılaştırma yapmak mümkün olmuştur.

SEM bulgularında kontrol grubunun hücresiz görüntülerinde CNC tornada materyal yüzeyinin düz hazırlandığı görülmektedir. Kontrol grubunun yüzey pürüzlülüğü değerleri ve bu değerlerin standart sapmalarıda bu bulguyu doğrulamaktadır. Grup 1 de SEM görüntülerinde düzenli bir yapı dikkati çekmektedir. Ölçülen pürüzlülük değerlerinde Ra değeri ortalaması literatürde belirtilen 1-1,5 değerleri arasında ve 1,13 bulunmuştur. Standart sapmada düşüktür. Bunun sebebi crosshatch yapmadan parelel taramalar yapılarak yüzey topografisinin olşturulmasıdır. Lazer yüzeyde her nokta için bir kere işlem yapmıştır.

Grup 2 de SEM görüntülerinde Grup 1 deki kadar düzenli bir görüntü yoktur. Bunun sebebi ilerleme hızının yüksek olması dolayısıyla yüzeye yüksek enerji uygulanamaması ve çapraz tarama yapılmasıdır. Yüzey pürüzlülüğü değerleri kontrol grubuna en yakın gruptur.

Grup 3 te SEM görüntüleri Grup 2 den daha düzenli görülmektedir. Tarama hızı grup 2 den daha yavaştır, fakat 3'lü çapraz tarama uygulanmıştır. Ortalama pürüzlülük değerleride Grup 2'den daha fazla bulunmuştur.

Hücre ekiminden ve inkübasyonundan sonra numunelerin SEM'le alınan yüzey görüntüleri değerlendirildiğinde, tüm yüzeylere fibroblast hücrelerinin kolaylıkla tutunduğu ve çoğaldığı görülmektedir. Yüzeyin ençok hücreyle kaplandığı gruplar kontrol grubu ve Grup 3 tür. Yalnız Grup 3 te bazı bölgelerde hücrelerin

yaygınlığı görülürken bazı bölgelerde fibroblast hücreleri yüzeyi kapatamamıştır. Kontrol grubunda hücrelerin dağılımı daha dengeli ve standarttır. Grup 1 ve Grup 2 de fibroblast hücreleri yüzeye rahatlıkla bağlanmaktadır fakat yüzeyi kontrol grubu ve Grup 3 teki kadar kapatamamaktadır.

Hücre canlılığı ve proliferasyonu deneyleri büyüme faktörleri çalışmaları, sitokinler ve sitotoksik ajanlar için ilaç keşfinde yaygın bir şekilde kullanılır. MTT, XTT, WST-1 vb gibi tetrazolyum tuzu kullanılan kolorimetrik hücre canlılığı tahlilleri, çok renkli formazan bileşikler halindeki tetrazolyum tuzunun canlı hücrelerin azalmasına dayalı geliştirilmiştir. XTT deneyi radyoaktif malzemeler, hücre fiksasyonu veya hücre geçirgenliği gerektirmez. Bu nedenle, alternatif hücresel analiz deneylerin aksine, XTT anazli hücre incelemelerinde güvenilerek ve kolaylıkla kullanılabilir (Scudiero ve ark 1988, Roehm ve ark 1991).

XTT redoks potansiyelinin bir fonksiyonu olarak, hücre canlılığını değerlendirmek için kullanılır. Aktif solunum yapan hücreler suda çözünen XTT yi suda çözünen turuncu renkli formazan ürüne dönüştürür. MTT ‘nin aksine, XTT ölçümden önce çözünürleştirme gerektirmez, böylece birçok canlılık deney protokünün deney süresini azaltır. Ayrıca XTT indirgeme tahlilinin duyarlılığının, MTT indirgeme tahliliğinin duyarlılığına benzer ya da daha iyi olduğu rapor edilmiştir (http://www.lifetechnologies.com/order/catalog/product/X6493,2014). Bizde XTT’nin MTT’ye göre daha avantajlı olduğunu düşündüğümüzden 72 saatlik enkübasyon sonucunda hücre canlılığını analiz etmek için XTT uyguladık.

Yaptığımız XTT değerlendirmesinde hücre canlılığı oranı ve spektrofotometride yapılan 460 nm’de absorbans ölçümlerinde benzer sonuçlar elde edilmiştir. Her iki testtede kontrol grubuyla Grup 3’teki değerler Grup 1 ve Grup 2’deki değerlerden yüksek bulunmuştur. XTT değerlendirme sonuçlarına göre lazerle yüzeyin hazırlanmasıyla kontrol grubuna göre daha yüksek başarı sağlanamamıştır. Lazerle hazırlanan yüzeyler incelendiğinde 3. grupta oluşturulan 3’lü çapraz tarama ile elde edilen yüzey topografisi 2’li çapraz tarama ve tek yönlü taramaya göre istatistiksel olarakta daha başarılı çıkmıştır. 3 yönlü çapraz tarama fibroblasların bağlantısını diğer lazerle oluşturulan gruplara göre attırmıştır.

Baltriukienė ve ark (2014) lazer uygulanmış titanyum yüzeyin insan gingival fibroblast davranışı üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada hücre yaşayabilirliği testi için florosan mikroskobu eşliğinde akridin turuncusu ile ethidyum bromid boyası kullanarak hücre ölümü modu analizini yapmışlardır. Kromatin yoğunlaşmasını ve segmentasyonunu karakterize etmek için akridin turuncusu testi uygulamışlardır.

Akridin turuncusu, bakterilerin nükleik asitlerine ve diğer hücrelere bağlanan florokromatik bir boyadır. UV ışığı altında, akridin turuncusu RNA ve tek şeritli DNA turuncusunu boyar; çift şeritli DNA yeşil görünür. pH 3,5 – 4,0'da tamponlandığında, akridin turuncusu, mikroorganizmaları sellüler maddelerden ayıracak şekilde boyar. Bakteri ve mantar parlak turuncu boyanırken, insan epitelyal ve inflamatuvar hücreleri ile arkaplan debrisi uçuk yeşil ila sarı boyanır. Aktif lökositlerin çekirdekleri, aktivasyondan kaynaklanan artan RNA üretimi nedeniyle sarı, turuncu veya kırmızı boyanır. Eritrositler ya boyanmaz ya da hafif yeşil görünür. Bu farklı boyama özellikleri nedeniyle, klinik maddelerden hazırlanmış akridin turuncusuyla boyalı smearlar, mikroorganizma varlığının tespiti amacıyla 100X ila 400X büyütmeyle, arkaplan, siyah ila sarı-yeşil görünür. İnsan epitelyal ve inflamatuvar hücreleri ve doku debrisi, uçuk yeşil ila sarı boyanır. Aktif lökositler, aktivasyon seviyesine ve üretilen RNA miktarına bağlı olarak sarı, turuncu veya kırmızı boyanacaktır, eritrositler ise ya boyanmaz ya da uçuk yeşile boyanır (https://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/US/8820211%280604%29_TR.pdf 2014).

Bizde çalışmamızda akridin turuncusu boyası kullanarak hücre nükleuslarını boyayarak yüzeydeki fibroblast hücrelerinin sayısını ve dağılımını florasan ışık mikroskobunda değerlendirdik. Yöntemle SEM incelemelerine parelel olarak örneklerin yüzeyindeki hücrelerin sayısı, kümelendikleri bölgeler örnek yüzeylerinin hücreler tarafından ne oranda kapatıldığı kolaylıkla belirlenebilmiştir

Çalışmamızda floresan mikroskopla yaptığımız akridin turuncusu değerlendirilmesinde kontrol grubunda hücre çekirdeği sayısı fazla ve dağılımı dengeli görülmektedir. Grup 3 te elde edilen fotoğraflar değerlendirildiğinde lokalizasyona göre bazı bölgelerde hücre sayısının fazla dağılımın yaygın olduğu görülürken bazı bölgelerde de hücre sayısı azdır. Dengeli bir dağılım

görülmemektedir. Grup 2 de hücre sayısı ve dağılımı kontrol grubuna yakın görülmektedir. Grup 1 de XTT ve SEM değerlendirmelerine paralel olarak az hücre sayısı görülmektedir.

Ercan ve ark (2013) Er,Cr:YSGG lazer ışınlamanın titanyum disklerin yüzey karakterizasyonu üzerine etkisini araştırdıkları bir çalışmada, titanyum disklere R1 ile R9 arasında lazer parametreleri uygulamışlardır. R1, R2, R4, R7 ve R9 parametrelerinde küçük çatlaklar ve yivler gözlenmiştir. Eritme, düzleştirme ve derin çatlak oluşumu gibi büyük değişiklikler, R6 (W 2, 30 Hz, 2 mm. Mesafe, 30 s) ve R8 (3 W, 25 Hz, 2 mm. Mesafe, 45 s) parametrelerine maruz kalan örneklerde gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak yüzey değişikliklerinin yüksek güç ve enerji yoğunluğundan meydana gelmiş olabileceğini rapor etmişlerdir.

Titanyum implantlarda lazer ışının neden olduğu değişikliklerle ilgili sınırlı bilgi mevcuttur. Ayrıca güç, frekans, mesafe ve uygulama süresi gibi lazer parametreleri dahil titanyum yüzeylerin ışınlanmasıyla ilgili net bir protokol bulunmamaktadır (Ercan ve ark 2013).

Park ve ark (2012) dalga boyu, çıkış gücü, enerji, dozu ve süresi gibi parametrelerin ışınlama sırasında dikkate alınması gerektiğini bildirmişlerdir.

Zieliński ve ark (2008) lazer tedavi sonucu Ti-6Al-4V alaşımında oluşan yüzey çatlaklarını incelemişler ve çatlağın derinliğinin tüm değişkenlere ve çevre şartlarına bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Genellikle, daha yüksek güç girişi ve düşük tarama hızının, uzun çatlaklara neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca aynı araştırmacılar çatlakların iki olası kaynağının olabileceğini bildirmişlerdir. İlki hava ve su eşliğinde hızlı soğumayı takiben mekanik streslerin oluşturduğu martensitik dönüşümdür. Martenzitik dönüşüm metallerde sertleşmeyi sağlayan bir mekanizmadır. Öte yandan, martensitik dönüşüm sırasında çatlama bu alaşım için rapor edilmemiştir. Başka bir olası kaynağının ise bu çok sert ve kırılgan alaşımın katılaşması sırasında ortaya çıkan yüksek kesme streslerinin çatlak oluşumu ile sonuçlandığını rapor etmişledir.

Bizim çalışmamızda da buna benzer olarak bütün lazer gruplarının X10000 SEM görüntülerinde titanyum yüzeyinde mikrostrüktür yapı ve mikro çatlaklar gözlendi. Mikron seviyesinde sadece SEM görüntülerinde görülen mikroçatlakların materyalin fiziksel özelliklerinde ve hücrelerin tutunmasıyla ilgili biyolojik özelliklerini değiştirmediği görülmüştür.

Grup 1 de hücreler tarama yönüyle paralel uzamıştır ve tarama yönüne dik uzanan tümseklikleri aşan hücreler görülmemiştir. Diğer guplarda hücrelerin uzama yönlerinin her yöne oldukları görülmektedir. Bu durumda çapraz taramalı lazer uygulamalarıyla oluşturulan topografilerin fibroblastların yayılımı ve yüzeyi kaplamaları için daha avantajlı olduğunu göstermektedir. Ortalama yüzey pürüzlülüğünden bağımsız olarak fibroblast hücreleri tepeleri aşamamaktadır. Yalnız önemli olan hücrelerin uzaması veya hücre sayının artmasından çok hücrelerin yüzeyi tam olarak kapamasıdır.

Bizim çalışmamızda tüm gruplar arasında en fazla yüzey pürüzlülüğü lazer 1 grubunda gözlemlenmiştir. XTT sonuçlarına göre en az hücre adezyonunun ise lazer 1 grubunda olduğu görülmüştür. Yüzey pürüzlülüğünün artmış olması fibroblast adezyonunu arttırmamıştır, Osteoblastlar için durum farklı olabilir. Çapraz taramalarla oluşturulan yüzeyler daha başarılı görülmektedir. Çapraz taramalarda parametreleri değiştirerek daha çok çalışmak başarıyı arttırabilir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Lazer uygulama parametreleri titanyum materyalde yüzey topografisini değiştirmektedir.
2. Titanyum yüzeye lazer uygulamada çapraz taramalarla oluşturulan yüzeyler çizgisel taramalarla oluşturulan yüzeylerden fibroblast hücre tutunması açısından daha başarılıdır.
3. Yavaş ve çizgisel tarama ile lazerle yüzey oluşturmada Ra, Rz ve Rmax yüzey pürüzlülüğü değerleri arttırılabilir. Çapraz taramalar Ra, Rz ve Rmax yüzey pürüzlülüğü değerlerini düşürerek fibroblastların her yöne uzamasını sağlayabilir.
4. Yüzey pürüzlülüğünün artmış olması fibroblast adezyonunu arttırmaz.
5. Düz yüzeylere bakteri tutunmasınında daha daha az olacağı düşünüldüğünde uzun dönemde periimplantitis açısında implantın boyun bölgesinde düz yüzeyler avantaj sağlayacaktır.

6.ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İmplant Yüzeyi Hazırlamada Lazer Kullanımı

Hakkı ÇELEBİ

Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ/ KONYA-2014

Bu çalışmanın amacı lazerle 3 farklı yüzey işlemi uygulanmış ve makinede hazırlanmış medikal grade 4 saf titanyum disklerde insan kaynaklı fibroblast hücrelerin adezyon ve proliferasyon etkilerini in vitro koşullarda karşılaştırmalı olarak değerlendirmektir.

Çalışmamızda 2mm kalınlığında ve 16 mm çapında toplam 28 adet Grade 4 saf titanyum disk örneği kullanılmıştır. Titanyum diskler her grupta 7 örnek olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. İlk 3 gruba Erbium Fiber Lazer kullanılarak kesit tarama, tarama hızı ve frekans değiştirilerek 3 farklı yüzey topografisi oluşturuldu. Grup 1 (tarama hızı 100mm/s, frekans 30000 Hz, çapraz tarama yok) Grup 2 (tarama hızı 1000mm/s, frekans 30000 Hz, 2 li çapraz tarama), Grup 3 (tarama hızı 520 mm/s, frekans 40000 Hz, 3'lü çapraz tarama). Grup 4 kontrol (makinede hazırlanmış yüzey) grubuydu. Yüzey işlemi uygulanan saf titanyum örneklerin yüzey pürüzlülüğü SEM ve mekanik profilometre cihazı ile değerlendiridi. Tüm örnek yüzeyler üzerindeki fibroblast tutunumunun analizi için insan gingival fibroblast (HGF-1) hücresi kullanıldı. 72 saatlik enkübasyon sonucunda HGF-1 hücrelerinin numune yüzeylerine tutunumu ve hücre morfolojilerinin analizinin değerlendirilmesi taramalı elektron mikroskobu (SEM), XTT ve Akridin Turuncusu Testi ile yapıldı. Deney gruplarının XTT verilerinin ve profilometrede ölçülen yüzey pürüzlülük değerlerinin istatistiksel analizi için Krusskall Wallis testi uygulandı.

Grup 1 ortalama yüzey pürüzlülüğü (Ra) 1.13, Grup 2 için 0.26, Grup 3 için 0.38 ve kontrol grubu için 0,19 bulunmuştur. İstatistiksel olarak bütün gruplarda ortalama yüzey pürüzlülüğü birbirinden farklıdır ($p<0.05$). XTT sonuçlarına göre Grup 3 ve kontrol grubu grup 1 ve grup 2'den daha başarılıdır. SEM incelemelerinde X500 büyütmede lazerle oluşturulmuş yüzeylerde düzenli topografiler görülmektedir.

Hücreli SEM görüntüleri ve Akridin turuncusu testi değerlendirildiğinde tüm yüzeylere fibroblast hücrelerinin kolaylıkla tutunduğu ve çoğaldığı görülmektedir. Yüzeyin en çok hücreyle

kaplandığı gruplar sırasıyla kontrol grubu, grup 3 ve grup 2'dir. Grup 1 ve grup 2 de fibroblast hücreleri yüzeye rahatlıkla tutunmaktadır fakat yüzeyi kontrol grubu ve grup 3'teki kadar kapatamamaktadır. Kontrol grubu ve lazerle pürüzlendirilmiş yüzeylerden çapraz taramalarla oluşturulanlar çizgisel tarama ile oluşturulandan daha başarılıdır.

Makineyle oluşturulan ve pürüzlendirilmeyen kontrol grubu ve üçlü çapraz taramanın yapıldığı grup 3 fibroblast tutunumu için başarılıdır.

Anahtar Sözcükler: Akridin Turuncusu Testi, HGF-1, Lazer, SEM, Titanyum, XTT.

7. SUMMARY

Laser usage in implant surface preparation

The aim of this in vitro study was to evaluate comparatively the adhesion and proliferation effect of human gingival fibroblastic cells on Grade 4 pure titanium discs prepared with three different surface-treatment with a laser and machined surfaces.

In our study, 28 samples of Grade 4 pure titanium discs in 2 mm thickness and 16 mm diameter were used. Titanium discs were divided into 4 groups and each having 7 specimens. The surface of discs in three groups were treated with Erbium Fiber laser and three different surface topographies were created by changing the crosshatch, scan speed and frequency of the laser. Group 1 (scan speed 100 mm/s, frequency 30000 Hz, no crosshatch), Group 2 (scan speed 1000 mm/s, frequency 30000 Hz, 2 crosshatch), Group 3 (scan speed 520 mm/s, frequency 40000 Hz, 3 lines of crosshatch). Group 4 (machined surface) was determined as the control group. After the surface treatments, surface roughness of pure titanium samples were investigated with SEM and measured with mechanic surface profilometer. HGF-1cell line was used to analyze the adhesion of fibroblasts on the sample surfaces. The adhesion of HGF-1 onto specimen surfaces and morphology of the cells after incubation for 72 hours were determined with SEM, XTT and Acridine Orange Test. XTT results and surface roughness values for all of the specimens were statistically analyzed using Krusskall Wallis test.

Average surface roughness values (Ra) for Group 1 was 1.13, Group 2 was 0.26, Group 3 was 0.38 and control group was 0.19. Average surface roughness values of the groups were significantly different. According to the XTT results, group 3 and control groups were more succesfull than groups 1 and 2. Regular surface topographies were seen in the SEM images with X500 magnification.

When the SEM images of the surfaces with cells and Acridine Orange Test results of the all surfaces, it was observed that fibroblasts easily attached and proliferated on these surfaces. Most of the surfaces were coated with the cell groups in the control group, group 3 and group 2. The fibroblastic cells of group 1 and group 2 attached easily on the specimen surface, but the surface was not coated with fibroblastic cellsas in the control group and group 3. Crosshatch formed groups of laser roughened surfaces and control group were more successful than the linear formed surface.

Machined surface and not roughened control group and performed triplicate crosshatch group 3 are successful for fibroblasts adhesion.

Key Words: Acridine Orange Test, HGF-1, Laser, SEM, Titanium, XTT.

8. KAYNAKLAR

1. Abrahamsson I, Albouy JP, Berglundh T. Healing at fluoride-modified implants placed in wide marginal defects: an experimental study in dogs. Clin Oral Imp Res, 2008;19:153-9.
2. Abrahamsson I, Berglundh T, Glantz PO, Lindhe J. The mucosal attachment at different abutments. An experimental study in dogs. J Clin Periodontol, 1998;25:721–7.
3. Abrahamsson I, Berglundh T, Wennström J, Lindhe J. The peri-implant hard and soft tissues at different implant systems. A comparative study in the dog. Clin Oral Implants Res, 1996;7:212-9.
4. Adell R, Lekholm U, Branemark P-I: Surgical procedures. In: Branemark P-I, Zarb G, Albrektsson T(eds); Tissue-Integrated Prostheses. First Edition. Chicago, Quintessence Pub Co Inc, 1985. p. 211-32.
5. Akın N. Lazer (Uyarılmış Radyasyon Salınımlarıyla Işığın Kuvvetlendirilmesi). Gazi Üniversitesi, Doktora Tezi, 2011;1-29.
6. Akiyama SK. Integrins in cell adhesion and signaling. Hum Cell, 1996;9:181–6.
7. Aksulu M, Ganioğlu O, Yandayan T. Yüzey pürüzlülüğü ölçümleri ve yüzey pürüzlülüğü parametreleri. TMMOB Makine Mühendisleri Odası IV. Ulusal Ölçüm bilim Kongresi: 25-6, Ekim 2001, Eskişehir-Türkiye.
8. Alberktsson T, Sennerby L, Kalebo P, Thomsen P. Ultrastructural analysis of the interface zone of titanium and gold implants. Adv Biomater, 1982;4:167-77.
9. Alberktsson T, Dahl E, Enbom L, Engvall S, Engquist B, Eriksson RA, Feldman G, Freiberg N, Glantz P-O, Kjellman P, Kristersson L, Kvint S, Kondell P-A, Palmquist J, Werndahl L, Astrand P. Osseointegrated oral implants. A Swedish multicenter study of 8139 consecutively inserted Nobelpharma implants. J Periodontol, 1986;59:287-96.
10. Albrektsson T, Brånemark P-I, Hansson HA, Lindström J Osseointegrated titanium implants. Acta Orthop Scand, 1981;52:155-70.
11. Albrektsson T, Wennerberg A. Oral implant surfaces: Part 1-Review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them. Int J Prosthodont, 2004;17:536-43.
12. Alla RK, Ginjupalli K, Upadhya N, Shammas M, Ravi RK, Sekhar R. Surface Roughness of Implants: A Review. Trends Biomater Artif Organs, 2011;25:112-8.
13. Altman FP. Tetrazolium salts and formazans. Prog Histochem Cytochem, 1976;9:1-56.
14. Ameen AP, Short RD, Jhons R, Schwach G. The surface analysis of implant materials. 1. The surface composition of a titanium dental implant material. Clin Oral Impl Res, 1993;4:144-50.
15. Araujo NS, Jaeger RG, Todescan FF, Jaeger MMM, Groll W. Cell culture test for assessing attachment and proliferation on titanium dental implants with modified surfaces. RPG Rev Pós Grad, 2001;8:103-9.
16. Aydın YO, Eken K. Yenilikçi yönleri ve uygulamalarıyla "Fiber Lazer Markalama". FiberLAST, Temmuz 2013. Available from URL: http://www.fiberlast.com.tr/fiber-lazer-markalama-uygulamalari/.
17. Bachle M, Kohal RJ. A systematic review of the influence of different titanium surfaces on proliferation, differentiation and protein synthesis of osteoblast-like MG63 cells. Clin Oral Implants Res, 2004;15:683-92.
18. Baharloo B, Textor M, Brunette DM. Substratum roughness alters the growth, area, and focal adhesions of epithelial cells, and their proximity to titanium surfaces. J Biomed Mater Res A, 2005;74:12-22.
19. Bakaeen L, Quinlan P, Schoolfield J, Lang NP, Cochran DL. The biologic width around titanium implants: Histometric analysis of the implantogingival junction around immediately and early loaded implants. Int J Periodontics Restorative Dent, 2009;29:297–305.
20. Balkın B. Implant Dentistry: historical overview with current perspective. J Dent Educ, 1988;52:683-5.
21. Baltriukienė D, Sabaliauskas V, Balčiūnas E, Melninkaitis A, Liutkevičius E, Bukelskienė V, Rutkūnas V. The effect of laser-treated titanium surface on human gingival fibroblast behavior. J Biomed Mater Res A, 2014;102:713-20.
22. Baxter GD. Therapeutic lasers; theory and practice. First Eddition. London, Churcill Livingstone, 1994; 1-250.
23. Baxter LC, Frauchiger V, Textor M, Gwynn I, Richards RG. Fibroblast and osteoblast adhesion and morphology on calcium phosphate surfaces. Eur Cell Mater, 2002;30:1-17.

24. Becton Dickinson and Company, Acridine Orange Stain, 2004; Available from, https://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/US/8820211%280604%29_TR.pdf
25. Berardi D, de Benedittis S, Scoccia A, Perfetti G, Conti P. New laser-treated implant surfaces: A histologic and histomorphometric pilot study in rabbits. Clin Invest Med, 2011;34:202-10.
26. Berglundh T, Abrahamsson I, Albouy J, Lindhe J. Bone healing at implant with a fluoride modified surface: an experimental study in dogs. Clin. Oral. Imp Res, 2007;18:147-52.
27. Berglundh T, Lindhe J, Ericsson I, Marinello CP, Liljenberg B. Soft tissue reactions tode novoplaque formation at implants and teeth. An experimental study in the dog. Clin Oral Implants Res, 1992;3:1-8.
28. Berridge MV, Herst PM, Tan AS. Tetrazolium dyes as tools in cell biology: New insights into their cellular reduction. Biotechnology Annual Review, 2005;11:127-52.
29. Bischof M, Nedir R, Szmukler-Moncler S, Bernard J-P, Samson J. Implant stability measurement of delayed and immediately loaded implants during healing. A clinical RFA study with SLA ITI implants. Clin Oral Impl Res, 2004;15:529-39.
30. Bişkin T. Osseointegreprotezler. Oral Dergisi, 1986;3:20-30.
31. Bollen CML, Papaioannou W, Van Eldere J, Schepers E, Quirynen M, Van Steeberghe D. The influence of abutment surface roughness on plaque accumulation and periimplant mucositis. Clin Oral Impl Res, 1996;7:201-11.
32. Bornstein MM, Hart CN, Halbritter SA, Morton D, Buser D. Early loading of nonsubmerged titanium implants with a chemically modified sand-blasted and acid-etched surface: 6-month results of a prospective case series study in the posterior mandible focusing on peri-implant crestal bone changes and implant stability quotient (ISQ) values. Clin Implant Dent Relat Res, 2009;11:338-47.
33. Bragger Urs. Use of radiographs in evaluating success, stability and failure in implant dentistry. Periodontol, 1998;17:77-88.
34. Branemark PI, Zarb GA, Albrektsson T. Tissue-integrated prostheses. Osseointegration in clinical dentistry. First Edition. Chicago, Quintessence Publ Co Inc, 1985;117-28.
35. Brenemark R, Brenemark P-I, Rydevik B, Myers RR. Osseointegration in skeletal reconstruction and rehabilitation. J Rehabil Res Dev, 2001;38:1-2.
36. Brunette DM, Chehroudi B. The effects of the surface topography of micromachined titanium substrata on cell behavior in vitro and in vivo. J Biomech Eng, 1999;121:49–57.
37. Brunette DM, Tengvall P, Textor M, Thomsen P. Tiyanium in medicine; Material Science, Surface Science, Engineering, Biological Responses and Medical Applications. First Edition. Germany, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2001;171–230.
38. Brunette DM. Fibroblasts on micromachined substrata orient hierarchially to grooves of different dimensions. Exp Cell Res, 1986;164:11-26.
39. Brunette DM. The effect of implant surface topography of the behavior of cells. Int J Oral Maxillofac Implants, 1988; 3:231–246.
40. Brunski JB, David AP, Nanci A. Biomaterials and biomechanics of oral and maxillofacial implants: current status and future developments. Int J Oral Maxillofac Implants, 2000;15:15-46.
41. Bulut M, Karakurt L. Seramikler. TOTBİD Dergisi, 2011;10:87-95.
42. Burridge K, Chrzanowska-Wodnicka M. Focal adhesions contractility and signaling. Annu Rev Cell Dev Biol, 1996;12:463–518.
43. Buser D, Nydegger T, Hirt HP, Cochran DL, Nolte L-P. Removal torque values of titanium implants in the maxilla of miniature pigs. Int J Oral Maxillofac Implants, 1998;13:611-19.
44. Buser D, Schenk RK, Steinemann S, Fiorellini JP, Fox CH, Stich H. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. J Biomed Mater Res, 1991;25:889-902.
45. Buser D, von Arx T, Ten Bruggentake C. Basic surgical principles with ITI implants. Clin Oral Impl Res, 2000;11:59-68.
46. Buser D, Weber HP, Donath K, Fiorellini JP, Paquette DW, Williams RC. Soft tissue reactions to non-submerged unloaded titanium implants in beagle dogs. J Periodontol, 1992;63:225–35.
47. Carlsson L, Röstlund T, Albrektsson B, Albrektsson T. Removal torques for polished and rough titanium implants. Int J Oral Maxillofac Implants, 1988;3:21-4.
48. Celis JE. Cell Biology: A Laboratory Handbook. Third Edition. California, Academic Press, 1998;429-37.
49. Charles M, Weiss AW. Principles and practice of implant dentistry. First edition. New York, Mosby, 2001; 67-88.

50. Cho SA, Jung SK. A removal torque of the laser-treated titanium implants in rabbit tibia. Biomaterials, 2003;24:4859-63.
51. Chohan KR, Griffin JT, Lafromboise M, De Jonge CJ, Carrell DT. Comparison of chromatin assays for DNA fragmentation evaluation in human sperm. J Androl, 2006;27:53-9.
52. Clayman L, Kuo P. Lasers in Maxillofacial Surgery and Dentistry. First edition. New York, Theime Medical Publisher, 1997;19-20.
53. Coluzzi DJ. An overview of laser wavelengths used in dentistry. Dent Clin North Am, 2000; 44:753-65.
54. Coluzzi DJ. Fundamentals of dental lasers: science and instruments. Review. Dent Clin North Am, 2004;48:751-70.
55. Convissar RA. The biologic rationale for the use of lasers in dentistry. Dent Clin North Am, 2004;48:771-94.
56. Cook S, Salkeld S, Gaisser D, Wagner W. The effect of surface macrotexture on the mechanical and histologic characteristics of hydroxyapatite-coated dental implants. J Oral Implantol, 1993;19:288-94.
57. Cook SD, Kay JF, Thomas KA, Jarcho M. Interface mechanics and histology of titanium and hydroxylapatite-coated titanium for dental implant applications. Int J Oral Maxillofac Implants, 1987;2:15-22.
58. Cooper LF, Masuda T, Yliheikkila PK, Felton DA. Generalizations regarding the process and phenomenon of osseointegration. Part II. In vitro studies. Biomaterials, 1998; 13:163-74.
59. Cooper LF, Zhou Y, Takebe J, Guo J, Abron A, Holmen A, Ellingsen JE. Fluoride modification effects on osteoblast behavior and bone formation at TiO2 grit-blasted cp titanium endosseous implants. Biomaterials, 2006;27:926-36.
60. Cordioli G, Majzoub Z, Piatelli A, Scarano A. Removal torque and histomorphometric investigation of 4 different titanium surfaces: an experimental study in the rabbit tibia. Int J Oral Maxillofac Implants, 2000;15:668-74.
61. Çolpan MH. Lazer Gücünün Fonksiyonu Olarak Lazer Yüzey İşleme Üzerine Bir Çalışma. Konya, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 2008;36-51.
62. Dahotre NB, Paital SR, Samant AN, Claus D. Wetting behaviour of laser synthetic surface microtextures on Ti-6Al-4V for bioapplication. Phil Trans R Soc A, 2010;368:1863–89.
63. David A, Eitenmuller J, Muhr G, Pommer A, Bar HF, Ostermann PA, Schildhauer TA. Mechanical and histological evaluation of hydroxyapatite-coated, titanium-coated and grit-blasted surfaces under weight-bearing conditions. Arch Orthop Trauma Surg, 1995;114:112-8.
64. Davis JE. Bone Engineering. First Edition. Toronto, Em Squared Inc, 1999;20:1177-85.
65. Davis JE. The bone biomaterial interface. First edition. Toronto, University of Toronto Press, 1991;183–9.
66. Dayangaç B. İmplant materyali olarak titanyum. HÜ Dişhek Fak Dergisi, 1988;12:241-3.
67. de Groot K, Wolke JGC, Jansen JA. State of the art: hydroxyapatite coatings for dental implants. J Oral Imp, 1994;20:232-4.
68. Dederich DN. Laser/tissue interaction: what happens to laser light when it strikes tissue? J Am Dent Assoc, 1993;124:57-61.
69. Denissen HW, Kalk W, deNieuport HM, Maltha JC, van de Hoof A. Mandibular bone response to plasma-sprayed coatings of hydroxyapatite. Int J Prosthodont, 1990;3:53-8.
70. Denissen HW, Kalk W, Veldhuis AA, van den Hooff A. Eleven-year study of hydroxyapatite implants. J Prosthet Dent, 1989;61:706-12.
71. Dergin C. ITI Dental İmplant Sisteminde Hemen Yüklemenin Marjinal Kemik Kaybına ve İmplantın Stabilitesine olan etkisinin değerlendirilmesi. İstanbul, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 2006;18-33.
72. Doğan A. Hidroksiürenin Lökositlerin Mikrobisid Fonksiyonlarına Etkileri. Turk J Biochem, 2004;29:232-236.
73. Dunn GA, Brown AF. Alignment of fibroblasts on grooved surfaces described by a simple geometric transformation. J Cell Sci, 1986;83:313-40.
74. Eğilmez F, Ergün G. Dental implantların değerlendirilmesinde rezonans frekans analizi yönteminin klinil önemi ve geçerliliği. Klinik bilimler dergisi, 2007;1:50-8.
75. El Askary AS, Meffert RM, Griffin T. Why do dental implants fail? Part II. Implant Dentistry, 1999;8:265–77.
76. Eldeniz A, ErCr:YSGG lazerinin endodontik dezenfeksiyonda ve kök kanal duvarının hazırlanmasında etkinliğinin incelenmesi. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya, 2003.

77. Elias CN, Lima JHC, Valiev R, Meyers MA. Biomedical Applications of Titanium and its Alloys. Biological Materials Science, 2008;60:46-9.
78. Ellingsen JE, Johansson CB, Wennerberg A, Holmen A. Improved retention and bone-to implant contact with fluoride-modified titanium implants. Int J Oral Maxillofac Implants, 2004;19: 659-66.
79. Ellingsen JE. On the Properties of Surface-modified Titanium. In:.Davies JE. Bone Engineering. First Edition. Toronto, Sqared Inc, 2000a; 183–189.
80. Ellingsen JE. Surface configurations of dental implants. Periodontology, 2000b;17:36-46.
81. Ercan E, Arin T, Kara L, Candirli C, Uysal C. Effects of ErCr:YSGG laser irradiation on the surface characteristics of titanium discs: An in vitro study. Lasers Med Sci, 2013;9.
82. Erol B. Kemik İçine Yerleştirilen Vidalı İmplantlarda Osseointegrasyon. İzmir, Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Hastalıkları Cerrahisi Anabilim Dalı Bitirme Tezi, 2006;2-22.
83. Ersanlı S, Karabuda C, Beck F, Leblebicioğlu B. Resonance frequency analysis of one stage dental implant stability during the osseointegration period. Journal of Periodontology, 2005;76:1066-71.
84. Etsion I. State of the art in laser surface texturing. J Tribol, 2005;1:127-248.
85. Faria ACL, Rosa AL, Rodrigues RCS, Riberio R. In Vitro Cytotoxicity of Dental Alloys and cpTi Obtained by Casting. J Biomed Mater Res Part B:Appl Biomater, 2008;85:504-8.
86. Flegler SL, Heckman JW, Klomparens KL. Scanning and Transmission Electron Microscopy. First Edition. Oxford, UK, Oxford Univ Press, 1993;751-9.
87. Fox SC, Moriarty JD, Kusy RP. The effects of scaling on titanium implant surface with metal and plastic instruments: An in vitro study. J Periodontol, 1990;61:485-90.
88. Freshney RI. Animal cell culture:A Practical approach. Oxford, UK, IRL Pres Limited, 1986;1-15.
89. Friberg B, Sennerby L, Grondahl K, Bergstrom C, Back T, Lekholm U. On cutting torque measurements during implant placement. A 3-year clinical prospective study. Clin Implant Dent Relat Res, 1999;1:75-83.
90. Furuhashi A, Ayukawa Y, Atsuta I, Okawachi H, Koyano K. The difference of fibroblast behavior on titanium substrata with different surface characteristics. Odontology, 2012;100:199-205.
91. Gaggl A, Schultes G, Muller WD, Karcher H. Scanning electron microscopical analysis of laser-treated titanium implant surfaces–A comparative study. Biomaterials, 2000;21:1067-73.
92. Garlini G, Bianchi C, Chierichetti V, Sigurta D, Maiorana C, Santoro F. Retrospective clinical study of Osseotite implants: zero- to 5-year results. Int J Oral Maxillofac Implants, 2003;18:589-93.
93. Glauser R, Lundgren AK, Gottlow J. Immediate occlusal loading of Branemark TiUnite implants placed in bone quality type 4. App Osseointegration Res, 2000;1:15-17.
94. Gomez-Roman G, Schulte W, d'Hoedt B, Axman-Krcmar D. The Frialit-2 implant system: five-year clinical experience in single-tooth and immediately postextraction applications. Int J Oral Maxillofac Implants, 1997;12:299-309.
95. Gomez-Roman G, Kruppenbacher M, Weber H, Schulte W. Immediate postextraction implant placement with root-analog stepped implants: surgical procedure and statistical outcome after 6 years. Int J Oral Maxillofac Implants, 2001;16:503-13.
96. Goransson A, Wennerberg A. Bone formation at titanium implants prepared with iso-and antiisotropic surfaces of similar roughness : an in vivo study. Clin Oral Implants Res, 2005;7:17-23.
97. Gottlander M, Johansson CB, Albrektsson T. Short- and long-term animal studies with a plasma-sprayed calcium phosphate-coated implant. Clin Oral Impl Res, 1997;8:345-51.
98. Groessner-Schreiber B, Neubert A, Müller WD, Hopp M, Griepentrog M, Lange KP. Fibroblast growth on surface-modified dental implants: an in vitro study. J Biomed Mater Res A, 2003;64:591-9.
99. Gross KA, Berndt CC, Herman H. The amorfous phase formation in plasma sprayed hydroxyapatite coatings. J Biomater Res, 1998c;39:407-14.
100. Gross KA, Berndt CC, Iacono V. Variability of hydroxyapatite-coated dental implants. Int J Oral Maxillofac Implants, 1998a;13:601-10.
101. Gross KA, Gross V, Berndt CC. Thermal analysis of the amorfous phase in plasma sprayed hydroxyapatite coatings. J Am Ceram Soc, 1998b;81:106-12.
102. Guehennec L Le, Soueidan A, Layrolle P, Amouriq Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. Dental Materials, 2007;7:844-54.

103. Guillem-Marti J, Delgado L, Godoy-Gallardo M, Pegueroles M, Herrero M, Gil FJ. Fibroblast adhesion and activation onto micro-machined titanium surfaces. Clin Oral Implants Res, 2013;24:770-80.
104. Gumbiner BM. Regulation of cadherin adhesive activity. J Cell Biol, 2000;148:399-404.
105. Gustavo M, Daniela BS, Francisco YL. Advancing dental implant surface teknology from micron to nanotopograpy. Biomaterials, 2008;29;3822-35.
106. Gürsoy B. İmplant Üst Yapıları. İzmir, Ege Üniversitesi Diş Hek Fak Bitirme Tezi, 2008;1-26.
107. Hakkı SS, Ertuğrul AS. Dental implantların yüzey özellikleri ve osseointegrasyondaki önemi. SÜ Dişhek Fak Derg, 2009;18:336-41.
108. Hallgren C, Reimers H, Chakarov D, Gold J, Wennerberg A. An in vivo study of bone response to implants topographically modified by laser micromachining. Biomaterials, 2003;24:701-10.
109. Hamamoto N, Hamamoto Y, Nakajima T, Ozawa H. Histological, histochemical and ultrastructural study on the eflects of surface charge on bone formation in the rabbit mandible. Arch Oral Biol, 1995;40:97-106.
110. Hanks SK, Ryzhova L, Shin NY, Brabek J. Focal adhesion kinase signaling activities and their implications in the control of cell survival and motility. Front Bio Sci, 2003;8:982-96.
111. Harris DM, Pick RM. Laser Physics. In: Miserendino L, Pick RM. Lasers in Dentistry. 1st edition. Chicago, Quintessence, 1995; 27-38.
112. Heinrich A, Dengler K, Koerner T, Haczek C, Deppe H, Stritzker B. Laser-modified titanium implants for improved cell adhesion. Lasers Med Sci, 2008;23:55-8.
113. Hobo S, Ichida E, Garcia L. Osseointegration and Occlusal Rehabilitation. Third Edition. Tokyo, Quintessence Publishing Company, 1989;204-13.
114. Hormia M, Ko¨no¨ nen M, Kivilahti J, Virtanen I. Immunolocalization of proteins specific for adhaerens junctions in human gingival epithelial cells grown on differently processed titanium surfaces. J Periodont Res, 1991;26:491-97.
115. Inoue I, Cox JE, Pilliar RM. Effect of the geometry of smooth and porous coated titanium alloy on the orientation of fibroblasts in vitro. J Biomed Mater Res,1987;21:107-26.
116. İleri Cerrahi Periodontoloji Uygulamamları. Peri implantitis; implant çevresindeki dokunun iltihaplanması 2014; Available from www.ilericerrahi.com/makale/peri-implantitis-implant-cevresindeki-dokunun-iltihaplanmasi-216.html,2014.
117. İnan H, Tamam E, Bağış B. Tam protezlerde kullanılan farklı kaide materyallerinin yüzey pürüzlülüğü yönünden in vitro incelenmesi. SÜ Dişhek Fak Der, 2008;17:171-6.
118. Jansen JA, Wolke JGC, Swann S, van der Waerden JPCM, de Groot K. Application of magnetron sputtering for producing ceramic coatings on implant materials. Clin Oral Impl Res, 1993;4:28-34.
119. Johansson CB, Albrektsson T. Integration of screw implants in the rabbit: A 1-year follow-up of removal torque of titanium implants. Int J Oral Maxillofac Implants, 1987;2:69-75.
120. Johansson CB, Han CH, Wennenberg A, Albrektsson T. A quantitative comparison of machined commercially pure titanium and titanium-aluminum-vanadium implants in rabbit bone. Int J Oral Maxillofac Implants, 1998;13:315-21.
121. Johansson P, Strid KG. Assesment of Bone Quality From Placement Resistance During Implant Surgery. Int J Oral Maxillofac Implants, 1994;9:279-88.
122. Joob-Fancsaly A, Divinyi T, Fazekas A, Peto G, Karacs A. Surface treatment of dental implants with high-energy laser beam. Fogorv Sz, 2000;93:169-80.
123. Jost LM, Kirkwood JM, Whiteside TL. Improved short- and long-term XTT-based colorimetric cellular cytotoxicity assay for melanoma and other tumor cells. J Immunol Methods, 1992;4:153-65.
124. Kamacı M. İmplant Yapımında Kullanılan Materyaller ve Yüzey Özellikleri. Konya, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Semineri, 2009;1-36.
125. Karabıyık A. Ankaferd ve Defibrotid'in Endotel hücre modelinde Endotelyal Protein C Reseptörü (EPCR), plazminojen Aktivatör İnhibitör-1 (PAI-1) ve Trombin Reseptörü (PAR-1) Gen Ekspresyonları Üzerindeki Etkisinin Araştırılması. Ankara, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Doktora Tezi, 2011; 1-28.
126. Karakaya A. AB Direktiflerine Göre Kozmetik Ürün ve Bileşenleri için Öngörülen Toksisite Testleri. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi F.Toksikoloji AD, Kozmetik Ürünlerin Güvenliliği, TTD, 4 Mayıs 2007;1-18.
127. Karu T. The science of low power laser therapy. First edition. Amsterdam, The Netherlands, Overseas Publishers Association, 1998;53–83.

128. Kasemo B, Lausmaa J. Biomaterial and implant surfaces: A surface science approach. Int J Oral Maxillofac Implants, 1988;3:247-59.
129. Kawahara H, Kawahara D, Hashimoto K, Takashima Y, Ong JL. Morphologic studies on the biologic seal of titanium dental implants. Report I. In vitro study on the epithelialization mechanism around the dental implant. Int J Oral Maxillofac Implants, 1998;13:457-64.
130. Kawahara H, Kawahara D, Mimura Y, Takashima Y and Ong JL. Morphologic studies on the biologic seal of titanium dental implants. Report II. In vivo study on the defending mechanism of epithelial adhesions/attachment against invasive factors. Int J Oral Maxillofac Implants, 1998;13:465-73.
131. Kearns VR, Williams RL, Mirvakily F, Doherty PJ, Martin N. Guided gingival fibroblast attachment to titanium surfaces: an in vitro study. J Clin Periodontol, 2013;40:99-108.
132. Keyf F, Anıl N, Saraç Ş. Temperature rise at the external surface of the root during post-space preparation with various reamer systems. J Marmara University Dental Faculty, 1998;3:744-9.
133. Khadra M, Lyngstadaas SP, Haanaes HR, Mustafa K. Determining optimal dose of laser therapy for attachment and proliferation of human oral fibroblasts cultured on titanium implant material. J Biomed Mater Res A, 2005;73:55-62.
134. Khang W, Feldman S, Hawley CE, Gunsolley J. A multi-center study comparing dual acid-etched and machined-surfaced implants in various bone qualities. J Periodontol, 2001;72:1384-90.
135. Khosroshahi ME, Mohmoodi M, Saeedinasab H. In vitro and in vivo studies of osteoblast cell response to a titanium-6 aluminium-4 vanadium surface modified by neodymium: Yttrium-aluminium-garnet laser and silicon carbide paper. Lasers Med Sci, 2009;24:925-39.
136. Kılınç Y, Erkmen E. Dental İmplant Yüzey Teknolojisinde Yeni Yaklaşımlar. Süleyman Demirel Üniv Diş Hek Fak Derg, 2011;3:9-18.
137. Kim HJ, Kim SH, Kim MS, Lee EJ, Oh HG, Oh WM. Varying Ti-6Al-4V surface roughness induces different early morphologic and molecular responses in MG63 osteoblast-like cells. J Biomed Mater Res A, 2005;74:366-73.
138. Klokkevold PR, Johnson P, Dadgostari S, Caputo A, Davies JE, Nishimura RD. Early endosseous integration enchanced by dual acid etching of titanium: a torque removal study in rabbit. Clin Oral Implants Res, 2001;12:350-7.
139. Klokkevold PR, Nishimura RD, Adachi M, Caputo A. Osseointegration enhanced by chemical etching of titanium surface: atorque removal study in the rabbit. Clin Oral Impl Res, 1997;8:442-7.
140. Koeneman J, Lemons J, Ducheyne P, Lacefield W, Magee F, Calahan T, Kay J. Workshop on characterization of calcium phosphate materials. Journal of Applied Biomaterials, 1990;1:79-90.
141. Kohles SS, Clark MB, Brown CA, Kenealy JN. Direct assessment of profilometric roughness variability from typical implant surface types. Int J Oral Maxillofac Implants, 2004;19:510-6.
142. Koike M, Lockwood PE, JC W, Okabe T. Initial Cytotoxicity of Novel Titanium Alloys. J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater, 2007;83:327-31.
143. Könönen M, Hormia M, Kivilahti J, Hautaniemi J, Thesleff I. Effect of surface processing on the attachment, orientation, and proliferation of human gingival fibroblasts on titanium. J Biomed Mater Res, 1992;26:1325-41.
144. Krennmair G, Schmidinger S, Waldenberger O. Single-tooth replacement with the Frialit-2 system: a retrospective clinical analysis of 146 implants. Int J Oral Maxillofac Implants, 2002;17:78-85.
145. Kürkçüoğlu I, Köroğlu A, Özkır E. The Criteria and The Evaluation Methods for Success of Dental Implants. Atatürk Üniv Dis Hek Fak Derg, 2010,20:221-9.
146. Lacefield WR. Hydroxyapatite coatings. Annals of the New York Academy of Sciences, 1988;523:72-80.
147. Lautenschlager EP, Monaghan P. Titanium and titanium alloys as dental materials. Int Dent J, 1993;43:245-53.
148. Le Guehennec L, Soueidan A, Layrolle P, Amouriq Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. Dent Mater, 2007;23:844-54.
149. Ledermann PD. Die neue Ledermannschraube. Die Quintessenz, 1988;5:1-17.
150. Leize EM, Hemmerle J, Leize M. Characterization, at the bone crystal level, of the titanium-coating/bone interfacial zone. Clin Oral Impl Res, 2000;11:279-88.

151. Lekholm U, Zarb GA. Patient selection and preparation. In: Branemark P.I, Zarb G, Albrektsson T: Tissue- Integrated Prosthesis: Osseointegration in Clinical Dentistry. First Edition. Chicago, Quintessence Publ Co Inc, 1985;199-209.
152. Leyens C, Peters M. Titanium and titanium alloy. First Edition. Germany, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co KGaA, 2003;17-22.
153. Li D, Ferguson SJ, Beutler T, Cochran DL, Sittig C, Hirt HP, Buser D. Biomechanical comparison of the sandblasted and acid-etched and the machined and acid-etched titanium surface for dental implants. J Biomed Mater Res, 2002;60:325-32.
154. Lifetechnologies. XTT (2,3-Bis-(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulfophenyl)-2H-Tetrazolium-5 Carboxanilide) (Molecular Probes®)2014; Available from www.lifetechnologies.com/order/catalog/product/X6493.
155. Morais LS, Serra GG, Muller CA, Andrade LR, Palermo EF, Elias CN, Meyers M. Titanium alloy mini-implants for orthodontic anchorage: immediate loading and metal ion release. Acta Biomater, 2007;3:331-9.
156. Lindhe J, Karring T, Lang PN. Clinical periodontology and implant dentistry. 5 Th edition. UK, Blackwell Munksgaard Oxford, 2000;823-843.
157. Listgarten MA, Lang NP, Schroeder HE, Schroeder A. Periodontal tissues and their counterparts around endosseous implants. Clin Oral Implants Res, 1991;2:1–19.
158. Listgarten MA. Soft and hard tissue response to endosseous dental implants. Anat Rec, 1996;245:410-25.
159. Lozada JL, James RA, Boskovic M. HA coated implants: warranted or not? Compend Contin Educ Dent, 1993;14:539-43.
160. Lumbikanonda N, Sammons R. Bone cell attachment to dental implantsof different surface characteristics. Int J Oral Maxillofac Implants, 2001;16:627-36.
161. Lundgren D, Laurell L. Occlusal force pattern during chewing and biting in dentitions restored with fixed bridges of cross-arch extension. II. Unilateral posterior two-unit cantilevers. J Oral Rehabil, 1986;13:191-203.
162. Lüthy H, Strub JR, Schärer P. Analysis of plasma flame-sprayed coatings on endosseous oral titanium implants exfoliated in man: preliminary results. Int J Oral Maxillofac Implants, 1987;2:197-202.
163. Machnee CH, Wagner WC, Jaarda MJ, Lang BR. Identification of oxide layers of commercially pure titanium in response to cleaning procedures. Int J Oral Maxillofac Implants, 1993;8:529-533.
164. Maiorana C, Santoro F. Maxillary and mandibular bone reconstruction with hip grafts and implants using Frialit-2 implants. Int J Periodontics Restorative Dent, 2002;22:221-9.
165. Manz MC, Moms HF, Ochi S. An evaluation of the Peritest system. Part I: Examiner reliability and repeatability of readings. Dental Implant Clinical Group (Planning Commitee), Implant Dent, 1992;1:142-6.
166. Mark JJ, Wagar A. Surface Engineered Surgical Tools and Medical Devices. First Edition. New York, Springer, 2007:533-76.
167. Marshall NJ, Goodwin CJ, Holt SJ. A critical assessment of the use of microculture tetrazolium assays to measure cell growth and function. Growth Regul, 1995;5:69-84.
168. Martin JY, Schwartz Z, Hummert TW, Schraub DM, Simpson J, Lankford J Jr, Dean DD, Cochran DL, Boyan BD. Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation, and protein synthesis of human osteoblast-like cells (MG63). J Biomed Mater Res, 1995;29:389-401.
169. Meffert RM. Treatment of failing dental implants. Curr Opin Dent, 1992;2:109-14.
170. Menzek A. Kısa İmplantlar. İzmir, Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Hastalıkları Cerrahisi Anabilim Dalı Bitirme Tezi, 2012;2-17.
171. Meredith N, Friberg B, Sennerby L. Relationship between contact time measurements and PTV values when using the Periotest to measure implant stability. Int J Prosthodont, 1998;11:269-75.
172. Meredith N, Alleyne D, Cawley P. Quantitative determination of the stability of the implant-tissue interface using resonance frequency analysis. Clin Oral Impl Res, 1996;7:261-7.
173. Meredith N, Book K, Friberg B, Jemt T, Sennerby L. Resonance Frequency measurements of implant stability in vivo. A cross sectional and longitudinal studyof resonance frequency measurements on implants in the edentulous and partially dentate maxilla. Clin Oral Impl Res, 1997a;8:226-333.

174. Meredith N, Shagaldi F, Alleyne D, Sennerby L, Cawley P. The application of resonance frequency measurements to study the stability of titanium implants during healing in the rabbit tibia. Clin Oral Impl Res, 1997b,8:234-43.
175. Mesa F, Munoz R, Noguerol B, Luna JD, Galindo P, O'valle F. Multivariate study of factors influencing primary dental implnat stability. Clin Oral Impl Res, 2008;19:196-200.
176. Mombelli A, Lang NP. Microbial aspects of implant dentistry. Periodontology, 1994;4:74–80.
177. Mombelli A, van Oosten MA, Schurch Jr E, Land NP. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. Oral Microbiol Immunol, 1987;2:145–51.
178. Morton D, Bornstein MM, Wittneben JG, Martin WC, Ruskin JD, Hart CN, Buser D. Early loading after 21 days of healing of nonsubmerged titanium implants with a chemically modified sandblasted and acid-etched surface: two-year results of a prospective two-center study. Clin Implant Dent Relat Res, 2010;12:9-17.
179. Mossman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay. J Immunol Method, 1983;65:55-63.
180. Mouhyi J, Sennerby L, Pireaux JJ, Dourov N, Nammour S, Van Reck J. An XPS and SEM evaluation of six chemical and physical techniques for cleaning of contaminated titanium implants. Clin Oral Impl Res, 1998;9:185-94.
181. Mustafa K, Lopez SB, Hultenby K, Wennerberg A, Arvidson K. Attachment and proliferation of human oral fibroblasts to titanium surfaces blasted with TiO2 particles. A scanning electron microscopic and histomorphometric analysis. Clin Oral Impl Res, 1998;9:195–207.
182. Mustafa K, Wroblewski J, Hultenby K, Silva Lopez B, Arvidson K. Effects of titanium surfaces blasted with TiO 2 particles on the initial attachment of cells derived from human mandibular bone. A scanning electron microscopic and histomorphometric analysis. Clin Oral Impl Res, 2000;11:116-28.
183. Neville B, Damm D, Allen C, Bouquot JE. Third Edition. Oral and maxillofacial pathology. Philadelphia, WB Saunders, 1995:259-321.
184. Nevins M, Kim DM, Jun SH, Guze K, Schupbach P, Nevins ML. Histologic evidence of a connective tissue attachment to laser microgrooved abutments: a canine study. Int J Periodontics Restorative Dent, 2010;30:245-55.
185. Nevins M, Nevins ML, Camelo M, Boyesen JL, Kim DM. Human histologic evidence of a connective tissue attachment to a dental implant. Int J Periodontics Restorative Dent, 2008;28:111-21.
186. Niinomi M. Mechanical properties of biomedical titanium alloys. Mater Sci Eng A, 1998;243: 231-36.
187. Niinomi M. Metallic biomaterials. J Artif Organs, 2008;11:105-10.
188. Noguerol B, Munoz R, Mesa F, de Dios Luna J, O'Valle F. Early implant failure. Prognostic capacity of periotest: retrospective study of a large sample. Clin Oral Impl Res, 2006;17: 459-64.
189. Oates TW, Maller SC, West J, Steffensen B. Human gingival fibroblast integrin subunit expression on titanium implant surfaces. J Periodontol, 2005;76:1743-50.
190. Okawachi H, Ayukawa Y, Atsuta I, Furuhashi A, Sakaguchi M, Yamane K, Koyano K. Effect of titanium surface calcium and magnesium on adhesive activity of epithelial-like cells and fibroblasts. Biointerphases, 2012;7:27.
191. Olmedo D, Fernández MM, Guglielmotti MB, Cabrini RL. Macrophages related to dental implant failure. Implant Dent, 2003;12:75-9.
192. Ottoni JM, Oliveira ZF, Mansini R, Cabral AM. Correlation between placement torque and survival of single-tooth implants. Int J Oral Maxillofac Implants, 2005;20:769-76.
193. Önal B. Diş sert dokularında lazer kullanımı. Dişhek K Derg, 1993;2:61-4.
194. Özden C. Periimplantitis ve tedavi yöntemleri. İzmir, Ege üniversitesi Diş Hek Fak Periodontoloji Anabilim Dalı Bitirme Tezi, 2008;6-21.
195. Quirynen M, Gijbels F, Jacobs R. An infected jawbone site compromising successful osseointegration. Periodontol, 2003;33:129-44.
196. Panoramix3d Görüntü arşiv bankası. Dental İmplantoloji 2014; Available from www.panoramix3d.com/content/dental-implantoloji.
197. Park JH, Heo SJ, Koak JY, Kim SK, Han CH, Lee JH. Effects of laser irradiation on machined and anodized titanium disks. The International journal of oral & maxillofacial implants, 2012;27:265-72.
198. Parr GR, Gardner LK, Toth RW. Titanium: The mistery metal of implant dentistry, Dental material aspects. J Prosthet Dent, 1985;54:410-4.

199. Peterson LJ, Inresano AT, Marciani RD, Roser SM. Principles of oral and maxillofacial surgery. 6th Edition. London, Lippincott-Raven Publishers, 1997;168-72.
200. Pitaru S, Gray A, Aubin JE, Melcher AH. The influence of the morphological and chemical nature of dental surfaces on the migration, attachment, and orientation of human gingival fibroblasts in vitro. J Periodontal Res, 1984;19:408-18.
201. Portmann M, Glauser R. Report of a case receiving full-arch rehabilitation in both jaws using immediate implant loading protocols: a 1-year resonance frequency analysis follow-up. Clin Implant Dent Relat Res, 2006;8:25-31.
202. Pürçek G, Saray O, Hacısalihoğlu İ, Karaman İ, Alsaran A. "Yüksek Dayanımlı ve Biyouyumlu İmplant Üretiminde Yeni Bir Yaklaşım: Aşırı Plastik Deformasyon ve Yüzey İşlemleri," TMMOB MMO Mühendis ve Makina Dergisi, 2012;53:50-60.
203. Quesada-Garcia P, Prados-Sanchez E, Olmedo-Gaya V, Munoz-Sato E, Gonzalez-Rodriguez P, Vallecillo-Capilla M. Measurement of dental implant stability by resonance frequency analysis : A review of the literatüre. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2009;14:538-46.
204. Roehm NW, Rodgers GH, Hatfield SM, Glasebrook AL. An improved colorimetric assay for cell proliferation and viability utilizing the tetrazolium salt XTT. J Immunol Methods, 1991;142:257-65.
205. Rolant M, Langer B. Dental Implant Review. J Periodontol, 1992;63:859-70.
206. Ronold HJ, Ellingsen JE. Effect of micro-roughness produced by TiO_2 blasting tensile testing of bone attachment by using coin-shaped implants. Biomaterials, 2002;23:4211-19.
207. Rupp F, Scheideler L, Rehbein D, Axmann D, Geis- Gerstorfer J. Roughness induced dynamic changes of wettability of acid etched titanium implant modifications. Biomaterials, 2004; 25:1429-38.
208. Rupp F, Scheideler L, Olshanska N, de Wild M, Wieland M, Geis-Gerstorfer J. Enhancing surface free energy and hydrophilicity through chemical modification of microstructured titanium implant surfaces. J Biomed Mater Res, 2006;76:323-34.
209. Rühling A, Hellweg A, Kocher T, Plagmann HC. Removal of HA and TPS implant coatings and fibroblast attachment on exposed surfaces. Clin Oral Implants Res, 2001;12:301-8.
210. Saadoun AP, Le Gall M, Kricheck M. Microbial infections an occlusal overload: causes of failure in osseointegrated implants. Pract Periodont Aesthet Dent, 1993;5:11-20.
211. Savaş S. Oral İmplantojide Başarısızlıklar ve Çözümleri. İzmir, Ege Üniversitesi Ağız Diş ve Çene Hastalıkları Cerrahisi Anabilim Dalı Bitirme Tezi, 2007;2-15.
212. Schaller MD, Hildebrand JD, Parsons JT. Complex formation with focal adhesion kinase: A mechanism to regulate activity and subcellular localization of Src kinases. Mol Biol Cell, 1999;10:3489-505.
213. Schmalz G. Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. Clin Oral Invest, 1997;1:154-62.
214. Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials-advantages and limitations. J Dent, 1994;22:6-11.
215. Schroeder A, Pohler O, Sutter F. Gewebereaktion auf ein Titan-Hohlzylinderimplantat mit Titan-Spritzschichtober-flüche. Schweiz Monatsschr Zahnheilk, 1976;86:713-27.
216. Schwartz-Arad D, Levin L, Ashkenazi M. Treatment options of untreatable traumatized anterior maxillary teeth for future use of dental implantation. Implant Dent, 2004;13:11-9.
217. Schwarz F, Wieland M, Schwartz Z, Zhao G, Rupp F, Geis-Gerstorfer J, Schedle A, Broggini N, Bornstein MM, Buser D, Ferguson SJ, Becker J, Boyan BD, Cochran DL. Potential of chemically modified hydrophilic surface characteristics to support tissue integration of titanium dental implants. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2009;88:544-57.
218. Schwarz F, Becker J. Treatment of periodontitisand peri-implantitiswith an Er:YAGlaser: Experimental and clinical studies. Medical Laser Application, 2005,20:47-59.
219. Scudiero DA, Shoemaker RH, Paull KD, Monks A, Tierney S, Nofziger TH, Currens MJ, Seniff D, Boyd MR. Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. Cancer Res, 1988 1;48:4827-33.
220. Sennerby L, Thomsen P, Ericson LE. A morphometric and biomechanic comparison of titanium implants inserted in rabbit cortical and cancellous bone. Int J Oral Maxillofac Implants, 1992;7:62-71.
221. Shabahang S, Bohsali K, Boyne PJ, Caplanis N, Lozada J, Torabinejad M. Effect of teeth with periradicular lesions on adjacent dental implants. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod 2004;96:321-6.

222. Shibli JA, Silverio KG, Martins MC, Marcantoniojúnior E, Rossajúnior C. Effect of air-powder system on titanium surface on fibroblast adhesion and morphology. Implant Dent, 2003;12:81-6.
223. Shigematsu I, Nakamura M, Saitou N, Shimojima K. Surface hardening treatment of pure titanium by carbondioxide laser. J Mater SciLett, 2000;19:967-70.
224. Sisti KE, de Rossi R, Antoniolli AM, Aydos RD, Guastaldi AC, Queiroz TP, Garcia IR Jr, Piattelli A, Tavares HS. Surface and biomechanical study of titanium implants modified by laser with and without hydroxyapatite coating, in rabbits. J Oral Implantol, 2012;38:231-7.
225. Smith DC. Dental implants: materials and design considerations. Int J Prosthodont, 1993;6:106-17.
226. Sonugelen M, Güngör MA, Günbay T. Hidroksilapatit Kaplı Bir İmplantın Osseointegrasyon Potansiyelinin Taramalı Elektron Mikroskobu İle Değerlendirilmesi. EÜ Diş Hek Fak Derg, 2002, 23:67-71.
227. Spangberg LSW. Experimental Endodontics. First Edition. Florida, CPC Press, 1990; 173–210.
228. Stabholz A, Zeltster R, Sela M, Peretz B, Moshonov J, Ziskind D. Yhe use of lasers in dentistry : principles of operation and clinical aplications. Compend contin educ Dent, 2003; 24:935-48.
229. Steinemann SG. Titanium- the material of choice? Peridontology, 2000;17:7-21.
230. Sul YT, Johansson CB, Jeong Y, Wennerberg A, Albrektsson T. Resonance frequency and removal torque analysis of implants with turned and anodized surface oxides. Clin Oral Implants Res, 2002a;13:252-9.
231. Sul YT, Johansson CB, Röser K, Albrektsson T. Qualitative and quantitative observations of bone tissue reactions to anodised implants. Biomaterials, 2002b;23:1809-17.
232. Sullivan DY, Sherwood RL, Porter SS. Long-term performance of Osseotite implants: a 6-year clinical follow-up. Compend Contin Educ Dent, 2001;22:326-8.
233. Sullivan DY, Sherwood RL, Collins TA, Krogh PH. The reverse-torque test; a clinical report. Int J Oral Maxillofac Implant, 1996;11:179-85.
234. Sut YT, Jeong Y, Johansson C, Albrektsson T. Oxidized, bioactive implants are rapidly and strongly integrated in bone. Part I-experimental implants. Clin Oral Imp Res, 2006;17: 521-26.
235. Şener C, Göktay Ö, Arslan A. Dentlal İmplantlarda Yüzey Kaplamaları. Ondokuz Mayıs Üniv Diş Hek Fak Derg, 2006;7;139-46.
236. Şener HH. Dental İmplantların Uzun Dönem Takibinde Başarıyı Etkileyen Klinik ve Radyolojik Parametrelerin Değerlendirilmesi. İstanbul, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 2008;14-9.
237. Tancan U, İmplantlar ve Ortodonti. Cuhuriyet Üniversitesi Diş Hek Fak Derg, 2005,8:146-55.
238. Tejada RI, Mitchell JC, Norman A, Marik JJ, Friedman S. A test for the practical evaluation of male fertility by acridine orange (AO) fluorescence. Fertil Steril, 1984;42:87-91.
239. Temür Ö. Dental İmplant Estetiğinde Platform Switching'in Önemi. İzmir, Ege Üniversitesi Diş Hek Fak Ağız Diş ve Çene Hastalıkları Cerrahisi Anabilim Dalı Bitirme tezi , 2010;1-19.
240. Teng FY, Ko CL, Kuo HN, Hu JJ, Lin JH, Lou CW, Hung CC, Wang YL, Cheng CY, Chen WC. A comparison of epithelial cells, fibroblasts, and osteoblasts in dental implant titanium topographies. Bioinorg Chem Appl, 2012;2012:687291.
241. Thamilselvan V, Craig DH, Basson MD. FAK association with multiple signal proteins mediates pressure-induced colon cancer cell adhesion via a Src-dependent PI3K/Akt pathway. FASEB J, 2007;21:1730-41.
242. Tunalı B. Oral İmplantoloji. 2. Baskı. İstanbul, Nobel Kitapevleri, 2000;1:9-17.
243. Tuncer S, Demirci M. Dental materyallerde biyouyumluluk değerlendirmeleri. Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg, 2011;21:141-9.
244. Tuner J, Hode L. Laser therapy, clinical practice and scientific background. Second Edition. Sweden, Prima Books, 2002;1-570.
245. Turkyılmaz I. A comparison between insertion torque and resonance frequency in the assessment of torque capacity and primary stability of Branemark system imolants. J Oral Rehabil, 2006;1:365-76.
246. Urban RM, Jacobs JJ, Tomlinson MJ, Gavrilovic J, Black J, Peoc'h M. Dissemination of wear particles to the liver, spleen, and abdominal lymph nodes of patients with hip or knee replacement. J Bone Joint Surg Am, 2000;82:457-76.
247. Uzun G, Keyf F. İmplantların yüzey özellikleri ve osseointegrasyon. Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg, 2007;2:43-50.
248. Uzun İH, Bayındır F. Dental Uygulamalarda Titanyum ve Özellikleri. Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg, 2010;2:213-20.

249. Ünal L. İmplant Yüzey Özellikleri ve Kaplama Materyalleri. İzmir, Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Bitirme Tezi, 2001;2-8.
250. Van Noort R. Introduction To Dental Materials. Fourth Edition. Edinburgh ; New York, Mosby, 2002;221-230.
251. Vargas E, Baier RE, Meyer AE. Reduced corrosion of CP Ti and Ti-6A1-4V alloy endosseous dental implants after Glow-Discharge treatment: A preliminary report. Int J Oral Maxillofac Implants, 1992;7:338-44.
252. Vorobyev AY, Guo C. "Femto second laser nano structuring of metals," Opt Express, 2006;14: 2164.
253. Wall I, Donos N, Carlqvist K, Jones F, Brett P. Modified titanium surfaces promote accelerated osteogenic differentiation of mesenchymal stromal cells in vitro. Bone, 2009;45:17-26.
254. Wang RR, Li Y. In vitro evaluation of biocompatibilty of experimental titanium alloys for dental restorations. J Prosthet Dent, 1998;80:495-500.
255. Wang K. "Theuse of Titanium For Medical Applications in the USA," Materials Science and Engineering A, 1996;213:134-7.
256. Weinlander M. Surface preparation of endosseous implants. in Watzek G. Endosseous implants: Scientific and clinical aspects. Quintessence Pub Inc Co, 1996;101–129.
257. Wennerberg A, Alberktsson T. Suggested guidelines for the topographic evaluation of implant surfaces. Int J Oral Maxillofac Implants, 2000;15:331-44.
258. Wennerberg A, Albrektsson T, Andersson B, Kroll JJ. A histomorphometric and removal torque study of screw-shaped titanium implants with three different surface topographies. Clin Oral Impl Res, 1995;6:24-30.
259. Werner S, Huck O, Frisch B, Vautier D, Elkaim R, Voegel JC, Brunel G, Tenenbaum H. The effect of microstructured surfaces and laminin-derived peptide coatings on soft tissue interactions with titanium dental implants. Biomaterials, 2009;30:2291-301.
260. Wheeler S. Use of the Frialit-2 Implant System in private practice: a clinical report. Int J Oral Maxillofac Implants, 2003;18:552-5.
261. Wieland M, Textor M, Spencer ND, Brunette DM. Wavelength-dependent roughness: a quantitative approach to characterizing the topography of rough titanium surfaces. Int J Oral Maxillofac Implants, 2001;16:163-81.
262. Williams RL, Mirvakily F, Doherty PJ, Martin N. Guided gingival fibroblast attachment to titanium surfaces: an in vitro study. J Clin Periodontol, 2013;40:99-108.
263. Wintner E, Strassl M. Basic Information on Lasers. Berlin, Quintessenz Verlags- GmbH, 2006;100-125.
264. Yağcı E, Öktem B, Aydın YO, Eken K, İlday FÖ. Nanosaniye Atımlı Fiber Lazerle Renkli Markalama. FiberLAST 2013a, Available from URL: http://www.fiberlast.com.tr/fiber-lazerle-renkli-markalama/.
265. Yağcı ME, Aydın YO, Salman HS, Eken K, İlday FÖ. 200W Sürekli Dalga (CW) Yb-Katkılı Tümleşik Fiber Lazer. Ankara, 15. Ulusal Optik, Elektro-Optik ve Fotonik Çalışma Toplantısı, Fotonik, 6 Eylül 2013b;1-26.
266. Yenen Z. İkinci sınıf kompozit kavite preparasyonu ve pürüzlendirme işlemlerinde er,cr:ysgg lazer kullanımının mine ve dentinin yüzey morfolojisi ve kenar sızıntısı üzerine etkilerinin in vitro olarak incelenmesi. Ankara, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi 2008;12-32.
267. Yeniyol S. Saf Titanyum İmplant Yüzeylerinin Değişik Yöntemlerle Modifikasyonu ve Karakterizasyonu-İn Vitro Çalışma. İstanbul, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi 2006;1-25.
268. Yliheikkila PK, Felton DA, Whitson SW, Ambrose WW, Uoshima K, Cooper LF. Correlative microscopic investigation of the interface between titanium alloy and the osteoblast-osteoblast matrix using mineralizing cultures of primary fetal bovine mandibular osteoblasts. Int J Oral Maxillo fac Implants, 1995;10:655-65.
269. Yoshinari M, Oda Y, Kato T, Okuda K, Hirayama A. Influence of surface modifications to titanium on oral bacterial adhesion in vitro. J Biomed Mater Res, 2000;52:388-94.
270. Yücetaş Ş, Türker M, Ağız Diş Çene ve Hastalıkları Cerrahisi. 3.baskı. Ankara, Atlas Yayıncılık, 2005;1:454-65.
271. Zarb GA. Osseointegration: A Requiem for the Periodontal Ligament? Int J Oral Maxillofac Implant, 1991;11:88–91.
272. Zieliński A, Dziadoń A, Serbiński W, Jażdżewska M. Surface cracking of laser melted Ti-6Al-4V alloy. Advances ın Materials Science, 2008;2:94-102.

273. Zinger O, Anselme K, Denzer A, Habersetzer P, Wieland M, Jeanfils J. Time-dependent morphology and adhesion of osteoblastic cells on titanium model surfaces featuring scale-resolved topography. Biomaterials, 2004;25:2695-711.

10. ÖZGEÇMİŞ

1984 tarihinde Konya, Karapınar'da dogdu. İlköğrenimini Elazığ'da, Ortaöğrenimini Bergama'da tamamladıktan sonra, 1999 yılında Bergama Akif Ersezgin Anadolu Lisesi'ni kazandı. Buradaki öğrenimini tamamladıktan sonra 2002 yılında Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ne başlama hakkı kazandı. 2008 yılında Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ni bitirerek diş hekimi ünvanını aldı. 2009 yılında Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başladı. 2010 yılında Erasmus programı ile Polonya'da 5 ay doktora eğitimi gördü. 2011 yılında T.C. Sağlık Bakanlığı Konya Ağız ve Diş Sağlığı Merkezine Diş Tabibi olarak atandı. Yabancı dili İngilizcedir.