T. C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TAVŞAN KAFATASLARINA UYGULANAN SENTETİK KEMİK GREFTİNİN İYİLEŞMESİNDE KANAMA DURDURUCU PREPARATIN (ANKAFERD) VE TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİNİN ETKİLERİNİN HİSTOLOJİK VE RADYOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ

Mustafa ÇAKIR

DOKTORA TEZİ

AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Abdullah KALAYCI

KONYA-2015

T. C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TAVŞAN KAFATASLARINA UYGULANAN SENTETİK KEMİK GREFTİNİN İYİLEŞMESİNDE KANAMA DURDURUCU PREPARATIN (ANKAFERD) VE TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİNİN ETKİLERİNİN HİSTOLOJİK VE RADYOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ

Mustafa ÇAKIR

DOKTORA TEZİ

AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Abdullah KALAYCI

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 10102035 proje numarası ile desteklenmiştir

KONYA-2015

ÖNSÖZ

Ağız diş ve çene cerrahisi doktora ve klinik eğitimimde ve tezimin hazırlanmasında değerli bilgilerini, tecrübelerini, zamanını ve desteğini benden esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız diş ve çene cerrahisi anabilimdalı öğretim üyesi Doç. Dr. Abdullah KALAYCI'ya,

İstatistiksel yöntem ve analizlerin belirlenmesinde değerli katkılarından dolayı Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti anabilim dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Zehra İLERİ'ye,

Histolojik incelemelerimde bana yardımcı olan Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim dalından başta Prof. Dr. Ender ERDOĞAN ve Uzm. Dr. Nejat ÜNLÜKAL olmak üzere bütün çalışanlarına,

Radyolojik incelemelerimde bana yardımcı olan Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim dalından başta Prof. Dr. Yahya PAKSOY olmak üzere bütün çalışanlarına,

Selçuk üniversitesi deneysel araştırma merkezinden başta veteriner hekim Mehmet Öz ve Mehmet Bey olmak üzere bütün çalışanlarına

Ağız diş ve çene cerrahisi eğitimim süresince pratik ve teorik olarak katkıda bulunan tecrübe ve deneyimlerini benimle paylaşan Anabilim Dalımızda görev yapmış olan ve görev yapmakta olan değerli tüm öğretim üyelerine, birlikte çalıştığım arkadaşlarıma ve bölümümüz personellerine ayrı ayrı,

Tüm eğitim yaşamım boyunca maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen ve benim bu günlere gelmemi sağlayan kıymetli aileme ve akrabalarıma

Her zaman yanımda olan sevgili eşim Havva Sevil ECE ÇAKIR'a

sonsuz teşekkürlerimi sunarım…

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR..... vi

1. GİRİŞ 1

1.1. Kemik Dokusu 2

1.1.1. Kemik Dokusunun Makroskobik Özellikleri..... 2

1.1.2. Kemik Dokusunun Mikroskobik Özellikleri 4

1.1.3. Kemik Dokusunun Kimyasal Özellikleri 6

1.2. Kemik Tipleri..... 8

1.3. Kemik Hücreleri..... 9

1.3.1. Osteprogenitör Hücreler 9

1.3.2. Osteoblastlar 9

1.3.3. Osteositler 10

1.3.4. Osteoklastlar 11

1.4. Kemik Oluşumu (Osteogenezis) 11

1.4.1. İntramembranöz Kemik Oluşumu.....12

1.4.2. Endokondral Kemik Oluşumu 12

1.5. Kalsifikasyon Mekanizmasi.....13

1.6. Kemiğin Büyümesi ve Yeniden Şekillenmesi 13

1.7. Kemiğin Yeniden Şekillenmesindeki Düzenleyiciler 13

1.7.1. Lokal Düzenleyiciler 13

1.7.2. Sistemik Düzenleyiciler.....14

1.8. Kırık İyileşmesi.....14

1.8.1. Primer Kırık İyileşmesi 14

1.8.2. Sekonder Kırık İyileşmesi 15

1.9. Kemik İyileşmesini Etkileyen Faktörler.....22

1.9.1. Genel Faktörler 22

1.9.2. Yerel Faktörler 24
1.10. Kemik Greftleri 25
1.10.1. Otogreftler 27
1.10.2. Allogreftler 28
1.10.3. Ksenogreftler 30
1.10.4. Sentetik Greftler 30
1.11. Kemik Greftlerinin Patofizyolojisi 39
1.12. Ankaferd Kanama Durdurucu (Ankaferd BloodStopper® ABS) 41
1.12.1. ABS'nin Bileşimi 41
1.12.2. ABS Çalışma Mekanizması 43
1.12.3. ABS Etki Mekanizması 44
1.13. Trombositten Zengin Fibrin (TZF): Platelet-Rich Fibrin (PRF) 45
1.13.1. TZF'in İyileşme Mekanizmasına Etkisi 45
1.13.2. TZF'in Avantajları ve Dezavantajları 46
1.13.3. TZF'in Hazırlanması 47
1.13.4. TZF'in Kullanım Alanları 48
1.13.5. Fibrin Yapısı 50
1.13.6. Trombositlerin Yapısı ve İçerikleri 54
1.13.7. Sitokinlerin Yavaş Salınımında Lökositlerin Rolü 59
2. GEREÇ VE YÖNTEM 63
2.1. Deney Hayvanları 63
2.2. Gruplar 63
2.3. Cerrahi İşlem 64
2.4. Postoperatif Bakım 67
2.5. Hayvanların Sakrifikasyonu ve Kemik Örneği Elde Edilmesi 67
2.6. Histolojik Kesitlerin Hazırlanması 68
2.7. Görüntü Analizi 74

2.8. Radyolojik İnceleme 76
2.9. İstatistiksel Yöntem.....77
3. BULGULAR 78
3.1. Grup İçi Bulguların Değerlendirilmesi.....78
3.1.1. Yeni Kemik Oluşumunun Değerlendirilmesi 78
3.1.2. Greft Organizasyonunun Değerlendirilmesi.....78
3.1.3. Fibröz Doku Oluşumunun Değerlendirilmesi.....79
3.1.4. Doku Boşluklarının Değerlendirilmesi 80
3.1.5. Kemik İliği ve Yağ Dokusunun Değerlendirilmesi 81
3.1.6. Damarlanmanın Değerlendirilmesi 82
3.1.7. Kemik Köprü Oluşumunun Değerlendirilmesi.....83
3.1.8. Kemik Oluşumunun Histolojik Değerlendirilmesi 84
3.1.9. Kollagen Oluşumunun Değerlendirilmesi.....85
3.1.10. Enflamasyonun Değerlendirilmesi.....86
3.1.11. Kemik Dansitometrik İncelemesinin Değerlendirilmesi.....87
3.1.12. Radyolojik İyileşme Skorunun Değerlendirilmesi.....88
3.2. Gruplar Arası Bulguların Değerlendirilmesi 90
3.2.1. A Grubunun Değerlendirilmesi.....90
3.2.2. B Grubunun Değerlendirilmesi.....90
3.2.3. C Grubunun Değerlendirilmesi.....90
3.2.4. D Grubunun Değerlendirilmesi.....90
4. TARTIŞMA 92
5. SONUÇ ve ÖNERİLER 101
6. KAYNAKLAR.....103
7. EKLER.....113
EK-A. Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurul Kararı.....113

8. ÖZGEÇMİŞ.....114

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABS : Ankaferd Kanama Durdurucu Ankaferd BloodStopper

ADP : Adenozin Di Fostat

ALP : Alkalen fosfataz

ATP : Adenozin Tri Fostat

BDGF : Kemikten Türetilmiş Büyüme Faktörü

βTCP : Beta Tri Kalsiyum Fosfat

bFGF : Bazik fibroblast büyüme faktörü

BMP : Kemik Morfojenik Proteini

cAMP : Siklik Adenozin Monofosfat

DKKG : Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Grefti

EDTA : Etilen Di Amin Tetra Asetik Asit

EGF : Epidermal Büyüme Faktörü

FGF : Fibroblast Büyüme Faktörü

HA : Hidroksiapatit

H&E : Hematoksilen ve Eosin

IGF : İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü

IL-1 : İnterlökin-1

IL-1β : İnterlökin-1 Beta

IL-4 : İnterlökin-4

IL-6 : İnterlökin-6

KKH : Kırmızı Kan Hücreleri

MT : Modifiye Mallory Trikrom

MGKS : Medikal Grade Kalsiyum Sülfat Hemihidrat

PDGF : Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü

PGF : Polipeptit Büyüme Faktörleri

PG-E2 : Prostoglandin-E2

PRF : Platelet Rich Fibrin

PRGF : Trombositten Zengin Büyüme Faktörü

PRP : Platelet Rich Plazma

PTH : Parat Hormon

TFP : Trombositten Fakir Plazma

TGF-p : Dönüştürücü Büyüme Faktörü

TGF-α : Dönüştürcü Büyüme Faktörü-Alfa

TGF-β : Dönüştürcü Büyüme Faktörü-Beta

TNF-α : Tümör Nekroz Faktör-Alfa

TZF : Trombositten Zengin Fibrin

TZP : Trombositten Zengin Plazma

VEGF : Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

ÖZET

T. C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Tavşan Kafataslarına Uygulanan Sentetik Kemik Greftinin İyileşmesinde Kanama Durdurucu Preparatın (Ankaferd) ve Trombositten Zengin Fibrinin Etkilerinin Histolojik ve Radyolojik Olarak İncelenmesi

Mustafa ÇAKIR
Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2015

Son yıllarda kemik iyileşme sürelerini kısaltmak için çok çeşitli araştırmalar yapılmaktadır. Bunlar içinde aslen kanama durdurucu olan ve kemik ve yara iyileşmesini artıdığını gösteren öncül çalışmaları bulunan ABS ve son dönemde oldukça fazla kullanılan ve otojen olarak elde edilen çeşitli büyüme faktörleri içeren TZF bulunmaktadır. Yaptığımız literatür taramasında ABS'nin β-TCP ile birlikte kullanıldığını gösteren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı, tavşan kafataslarında oluşturan defektlere yerleştirilen ABS+ β-TCP, TZF+ β-TCP ve sadece β-TCP'nin farklı zaman aralıklarında kemik iyileşmesi üzerine olan etkilerini araştırmaktır.

Çalışmamızda 21 adet iskeletsel gelişimi tamamlanmış Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Hayvanlar rastgele 3 gruba ayrıldı. Her hayvanın kafatasına 9 mm'lik defektler oluşturuldu. Defektlere yalnız β-TCP, TZF ile birlikte β-TCP ve ABS ile birlikte β-TCP uygulandı, bir defekt ise kontrol amaçlı boş bırakıldı. Deney hayvanları 30., 90.,180. günlerde sakrifiye edildi. Hayvanlardan elde edilen örnekler histolojik ve radyolojik olarak incelendi. Verilerin istatistiksel analizleri yapıldı.

Analizler sonucunda, hem ABS'nin hem TZF'nin erken dönemde kemik iyileşmesini hızlandırdığı ancak yöntemler arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlendi.

Bu çalışmanın sonuçları, TZF ve ABS'nin erken dönem yeni kemik oluşum miktarını artırarak kemik iyileşmesine olumlu etki ettiğini göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Ankaferd; Beta trikalsiyum fosfat (β-TCP); Kemik grefti; Tavşan kafatası; Trombositten zengin fibrin (TZF).

SUMMARY

REPUBLIC of TURKEY
SELÇUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

Histological and radiological evaluation of the effectiveness of Blood Stopper Agent (Ankaferd) and Platelet-rich fibrin (PRF) on the healing of the synthetic bone graft which used in rabbit calvaria

Mustafa ÇAKIR
Department of Oral and Maxillofacial Surgery

PhD THESIS / KONYA-2015

In recent years, a variety of research is being done to shorten the bone healing period. These are ABS which has preliminary studies that showing increase in bone and wound healing and PRF which is derives autogenously and contains growth factors. In experimental studies, we haven't find any controlled experimental study in literature about ABS and β-TCP combination in different time intervals. The aim of this study is to evaluate the efficiency of ABS+ β-TCP, TZF+ β-TCP and only β-TCP that placed in rabbit calvarial defects on bone healing in different time intervals.

In this study 21 mature New Zealand rabbits were used. Animals were divided into three groups. 9 mm four bone defects were created on the rabbit calvaria for each. β-TCP only, combination of ABS+ β-TCP and combination of PRF+ β-TCP was performed to defects. One defect was left empty as a control group. The animals in first group were sacrified after 30 days, second group were sacrified after 90 days, third group were sacrified after 180 days. Histological, radiological and statistical analysis were performed.

Analyzes showed that either PRF or ABS accelerate the healing of bone defects in early period, but no significantly difference between groups.

The results of this study verified that PRF and ABS increase new bone formation and has a positive effect on early bone healing.

Key Words: Ankaferd; Beta tricalcium phosphate (β-TCP); Bone graft; Platelet-rich fibrin (PRF), Rabbit calvarium

1. GİRİŞ

Oral ve maxillofasiyal cerrahinin çalışma alanlarından biri olan yapısal ve fonksiyonel rekontrüksiyon problemleri henüz tam olarak çözülememiştir. Oluşan kemik defektlerinin iyileşmesi için çeşitli kemik greftleri veya kemik yerine geçen biyomateryaller üzerine çok sayıda araştırma yapılmaktadır.

Kemik iyileşmesindeki temel amaç hızlı ve kayıpsız iyileşmenin sağlanmasıdır. Kemik defektinin oluştuğu bölgeye çeşitli greft materyalleri ile onarım yapmak mümkündür. Greft çeşitleri otogrefler, alloplastlar ve allojenik greftler olarak sıralanabilir.

Kemik defektlerinin tedavisinin altın standart olarak tanımlanan otojen greftler ile mümkün olabileceği düşünülmüş ancak donör saha morbiditesi, sınırlı miktarda elde edilebilmesi gibi nedenlerle araştırmacılar alternatif yöntemler aramaya yönelmiştir.

Kemik içi defektlerin tedavisinde, kemik rejenerasyon hızını arttırabilmek için farklı cerrahi teknikler, yeni greft materyalleri, biyouyarıcı sistemler, sistemik olarak uygulanan vitamin, hormon ve mineral destekleri, elektriksel uyarıcılar ve büyüme faktörleri gibi anabolik ajanlara başvurulduğu bilinmektedir. Bu çalışmalarda defektin, çevresindeki kemikle aynı yoğunlukta ve sağlıklı yeni kemikle en kısa zamanda doldurulması amaçlanmıştır.

Kemik iyileşme süresini hızlandırmaya komplikasyonlarını azaltmaya yönelik tekniklerden birisi de trombositten zengin fibrin (TZF) uygulamasıdır.

TZF'nin yüksek oranda PDGF (trombosit kaynaklı büyüme faktörü) ve TGF-β (dönüştürücü büyüme faktörü β) içermesi ve bu büyüme faktörleri salınımının anjiogenezin pik yaptığı, kemik yapımının başladığı 7-28 gün boyunca devam etmesi, iyileşmenin ilerleyen safhalarında makrofajların aktivasyonunu ve kemotaksisini sağlaması ve yara iyileşmesinde en önemli kriter olarak düşünülen pıhtının stabilizasyonunu sağlaması yara iyileşmesindeki önemini göstermektedir (Dohan ve ark 2006b, 2006c).

Kanama durdurucu bitki ekstresinin Ankaferd Blood Stopper® (ABS), (Ankaferd İlaç Kozmetik A.Ş., İstanbul, Türkiye) kanama durdurucu amaçla

kullanımı T.C. Sağlık Bakanlığı onaylıdır ve birçok çalışma bu etkisini desteklemektedir. Ayrıca ABS'nin deneysel olarak sekonder yara iyileşmesini hızlandırdığını gösteren çalışma da mevcuttur (Yeşilada ve ark 2008). Bunun yanında ABS'nin erken dönem kemik dokusu iyileşmesi üzerine etkilerini değerlendiren sadece bir adet öncül deneysel bir çalışma mevcuttur (Demircan ve ark 2008).

Çalışmamızda deneysel olarak oluşturulan kemik defektlerine β TCP'nin ABS ve TZF ile birlikte uygulanmasının kemik iyileşmesi üzerine olan etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.

1.1. Kemik Dokusu

Kemik dokusu dayanıklılığına ve sertliğine karşın, bireyin ömrü boyunca yıkılıp yeniden yapılan, canlı ve dinamik bir dokudur. Bütün bu özelliklere sahip olan kemik, cerrahi müdahalerle şekli değiştirilebilen tek dokudur. Endokrin, metabolik ve beslenmeye bağlı olarak belirgin bir şekilde etkilenir (Akay 1975, Erkoçak 1975, Tekelioğlu 1989, Soydan 1992).

Kemik, hücreler arası madde üzerine inorganik tuzların çökelmiş olduğu; bu şekilde sağlamlık, esneklik gibi fiziksel özellikler kazanmış bir bağ dokusu çeşididir. İskelet oluşturma ve iskelet kaslarına destek sağlama gibi mekanik görevi yanında birçok metabolizma olayına girmesiyle önem taşır. Kas ve tendonların yapışma yeri olan kemikler, hareket etmeye yardımcı olur. Kendilerine iletilen kuvveti emerek dağıtır. İç organlarının, baş ve göğüs boşluğundaki organların ve kemik iliğindeki hemopoietik hücrelerinin korunmasından sorumludur. Bu mekanik işlevlerinden başka, organizmanın kalsiyum ve fosfor deposu olarak metabolizmada önemli rol oynar (Erkoçak 1975, Soydan 1992).

1.1.1. Kemik Dokusunun Makroskobik Özellikleri

Uzun, kısa, yassı ve düzensiz şekillerde olabilen kemiklerde çıplak gözle veya mercek kullanılarak yapılan incelemelerde süngerimsi kemik (spongiyöz kemik) ve sert kemik (kompakt kemik) olmak üzere iki tip kemik ayırdedilebilir (Akay 1975, Erkoçak 1975, Tekelioğlu 1989, Soydan 1992).

Süngerimsi kemik birbiriyle ağızlaşan kemik trabeküllerinden oluşmuştur. Trabeküllerin aralarında, içleri kemik iliğiyle dolu labirent gibi birbirleriyle ilişkili, düzensiz boşluklar vardır. Bu görünümü ile süngere benzer. Sert kemikte ise benzeri boşluklar yoktur. Ancak mikroskopla görülebilen ve kan damarlarını taşıyan kanallar bulunur. Bu kanallar lakünlerden çıkan kanaliküli adı verilen ince kanalcıklardan çok daha kalındır. Bu iki tip kemik birinden diğerine keskin bir hatla ayrılmadan geçiş yapar (Erkoçak 1975, Soydan 1992).

Periosteum ve Endosteum

Birkaç istisna dışında, kemikler periosteum denen osteojenik potansiyele sahip, özel bir bağ dokusu tabakasıyla örtülüdür. Bu tabakanın kemik oluşturma özelliği vardır (Akay 1975, Erkoçak 1975, Tekelioğlu 1989, Soydan 1992).

Periosteumun bulunmadığı yerlerde, kemik yüzeyiyle ilişkili bağ dokusu osteojenik potansiyelini yitirir ve kemik kırıklarının iyileşmesinde de katkıda bulunmaz. Periosteumda lenf damarları ve duyu sinirlerinden oluşan yoğun bir ağ bulunur (Erkoçak 1975, Soydan 1992).

Lenf damarları, kan damarlarının kemiğin içerisine girdiği kanallar aracılığıyla osteonlara kadar gider. İçinde bulunduğu bu kanallardan lenfi toplar. Duyu sinirleri de kemiği besleyen atardamarlarla birlikte kemiğin içine girerek endosteumu, ilik boşluğunu ve epifiz bölgelerini sinirlendirir. Kemiğin duyu sinirleriyle zengin bir yapıya sahip olması, vurma, çarpma, kırılma vb. durumlarda söz konusu bölgede çok yoğun bir ağrı oluşmasına yol açar. Diafizin ilik boşluğu ve süngerimsi kemiğin boşlukları endosteum denen ince hücresel tabaka ile örtülüdür. Endosteum da periosteum gibi osteojenik özelliğe sahiptir (Erkoçak 1975, Soydan 1992).

Kafatasının yassı kemikleri süngerimsi kemikten oluşmuştur. Diploe denilen ve kalınlığı değişebilen süngerimsi kemik, alt (iç) ve üst (dış) tarafta sert kemik tabakalarıyla örtülüdür. Kafatasının dış yüzeyindeki periosteuma perikraniyum denilirken; iç yüzey duramater ile örtülüdür. Yassı kemiklerin bağ dokusu örtülerine çeşitli terimler verilmesine karşın yapıları ve uzun kemiklerin periosteum ve endosteumlarından osteojenik potansiyelleri açısından bir farklılıkları yoktur (Erkoçak 1975, Soydan 1992).

1.1.2. Kemik Dokusunun Mikroskobik Özellikleri

Mikroskobik incelemelerde kemiğin, primer (nonlamellar, immature veya woven) kemik ve sekonder (lamellar veya matur) kemik olmak üzere iki farklı kemik türü olduğu görülmektedir (Bozyaka 2005). Eğer uzun bir kemiğin gövde kısmından alınan bir kesit mikroskop altında incelenirse, kemik hücrelerinin, toplam kemik kütlesine göre oldukça az olduğu görülür. Sert kemik fazla miktarda kemik matriksinden oluşmuştur. Diğer destek dokularında zemin maddesi (matriks) sadece organik öğelerden meydana geldiği halde, kemikte hem organik hem de inorganik maddeler bulunur. İnorganik maddeler mineral tuzları halinde kemik matriksinde birikirler. Matriks üzerinde kemik hücrelerinin (osteositler) yer aldığı lakün denilen boşluklar vardır. Lakünler birbirleriyle kanaliküli adı verilen ince kanalcıklarla ilişki kurarlar. Kanalikülüler, aramadde içine girip komşu lakünlerin kanalikülileriyle anastamoz yaparlar. Böylece birbirlerinden ayrı şekilde yer alan lakünler bu küçük kanalcıkların oluşturduğu ağ ile sürekli ilişki halinde bulunurlar. Bu dar geçitler kemik hücrelerinin beslenmesi için işlev görmektedir. Halbuki, kıkırdakta besin maddeleri matrikste difüzyonla hücrelere ulaşır. Kemiğin zemin maddesinde kalsiyum tuzlarının birikimi böyle bir yayılmayı olanaksız kılar. Ancak, birbiriyle ilişkili kanaliküli sisteminin bulunması hücreler ile en yakın damar etrafı alan arasındaki metabolik ve besin alışverişini olanaklı kılar (Akay 1975, Erkoçak 1975, Tekelioğlu 1989, Soydan 1992).

Sert kemikte kemik lamelleri üç ayrı şekilde yerleşmiştir.

a.) Bunların büyük çoğunluğu uzunlamasına duran damar kanalları (Havers kanalları) etrafında iç içe yerleşmiş halkalar şeklindedir. Kemiğin içindeki silindirik birimlerin oluşturduğu bu yapıya havers sistemi veya osteon denir.

b.) Havers sistemleri aralarında değişik büyüklükte, düzensiz şekilli ve köşeli lamelli kemik alanları vardır. Bu alanlara ara lamel sistemi (intersistiyal sistem) adı verilir. Havers sistemi ve ara lamel sisteminin sınırları yapıştırıcı çizgi denilen keskin bir hat ile birbirinden ayrılır.

c.) Sert kemiklerin dış (periosteumun hemen altı) ve iç (endosteumun hemen altı) yüzleri üçüncü tür lamellerle çevrilidir. Bu lameller kemiğin gövdesinin dışında

ve içinde iç içe daireler şeklinde uzanır. Bu lamellere dış ve iç çembersel lameller adı verilir (Erkoçak 1975, Soydan 1992).

Sert kemikte iki türlü damar kanalı vardır. Bunlar Havers kanalı ve Volkmann kanalıdır. Havers kanalı, havers sisteminin merkezinde uzunlamasına yer alan kanaldır (Erkoçak 1975, Soydan 1992).

Ayrıca Havers kanallarına dikey veya eğri yönde seyreden Volkmann kanalları denilen kanallar aracılığıyla birbirleriyle sürekli ilişki kurarlar. Volkmann kanalları kemiğin periosteumundan endosteumuna kadar uzanır. Çok ender olarak da kapalı uçlarla sonlanır. Periosteum ve endosteumundan gelen kan damarları Volkmann kanalları aracılığıyla Havers sistemindekilerle ilişki kurar (Erkoçak 1975, Soydan 1992).

Süngerimsi kemik dokusuda lamellerden oluşmuştur. Ancak, bu lameller sert kemik dokusunda olduğu gibi düzenli yapı göstermez. Süngerimsi kemik ince trabeküllerden oluştuğundan bunların içinde Havers ve Volkmann kanalları, dolayısıyla da damarlar hemen hemen hiç bulunmaz. Bunlardaki kemik hücreleri besin maddelerini kanalikülliler aracılığıyla endosteumdan temin ederler (Erkoçak 1975, Soydan 1992).

Periosteumun mikroskobik yapısı işlevsel durumuna göre oldukça değişiklik gösterir. Embriyonik ve doğum sonrası gelişimde, periosteumda osteoblast denen kemik oluşturan hücrelerden meydana gelmiş bir iç tabaka vardır. Bunlar kemik ile doğrudan ilişkilidir. Erişkinlerde, osteoblastlar dinlenme halindeki hücrelere dönüşürler. Bu hücrelere osteoprogenitör hücreler denir. Bu hücrelerin, bağ dokusunun iğ şeklindeki diğer hücrelerinden ayırt edilmesi mümkün değildir. Kemikte bir yaralanma olursa, o zaman bu hücrelerin kemik oluşturma potansiyeli uyarılır; tipik olarak osteoblast görünümüne sahip olarak yeni kemik yapılışına katılırlar. Periosteumun dış tabakası ise nispeten hücresiz bir sıkı bağ dokusundan oluşmuştur ve kan damarları içerir. Bu damarların kolları kemik içinde daha derin tabakalara kadar girer. Volkmann kanalları aracılığıyla da Havers kanallarında bulunan damarlarla ilişki kurarlar. Periosteumdan Volkmann kanallarına giren çok sayıda küçük damar, alttaki kemik dokusu ile ilişkinin sürdürülmesine yardımcı olur (Erkoçak 1975, Soydan 1992).

Periosteumun dış tabakasından çıkan kalın kollajen fibril demetleri, içeride kemiğin dış çembersel lamellerine ve ara lamel sistemine kadar girerler. Bu fibrillere Sharpey fibrilleri veya delici fibriller adı verilir. Sharpey fibrilleri, yeni kemik lamellerinin subperiostal (periosteumun altında) oluşumu sırasında yapılan kemik matriksinde biriktirilen kalın kollajen fibril demetlerinin şekillenmesiyle oluşur. Yeni oluşmaları sırasında bu fibrillerin üzerinde kalsiyum tuzları birikmez. Bu yüzden daha rahat bir şekilde kemiğin içine girerler. Düzensiz birçok kanalı işgal eden bu fibriller kemik lamellerine dikey ve yatay seyrederek ulaşırlar. Kalsifikasyon (kireçlenme) olduğunda, bunlar kemik yüzeyinde düzensiz ışınsal çizgiler şeklinde görülür. Periosteumun, alttaki kemiğe tutunmasını sağlar. Sayıları vücudun farklı bölgelerinde değişiklik gösterir. Kafatasının bazı kemiklerinde, uzun kemiklerin periosteumuna kas ve tendonların tutunma bölgelerinde oldukça fazla miktarda bulunur. Kemikte, Sharpey fibrillerine ek olarak çok az sayıda elastik fibril de vardır. Bunlar da Sharpey fibrilleri gibi periosteumdan kemiğin içine doğru girerler. Bazen kollajen fibrillerle birlikte bazen de tek başlarına bulunurlar (Erkoçak 1975, Soydan 1992).

Endosteum, içinde kemik iliğini bulunduran kemik boşluklarının duvarlarını döşeyen yassı osteojenik hücrelerin oluşturduğu ince bir tabakadır. Kemik iliği stromasının periferal (dış yüzey veya kenar) tabakası olup, osteojenik potansiyel açısından periosteumu andırır; ancak ondan biraz daha incedir. Tek kat oluşturan hücreleri genellikle bağ dokusu fibrilleriyle ilişkili değildir. Kemikte bulunan tüm boşluklar, Havers kanalları, Volkmann kanalları ve süngerimsi kemiğin ilik boşlukları tamamen endosteum ile örtülüdür (Erkoçak 1975, Tekelioğlu 1989, Soydan 1992).

1.1.3. Kemik Dokusunun Kimyasal Özellikleri

Kemiğin kimyasal düzeni, vücüdumuzda büyük oranda aynıdır. Ağırlığa nispeten vücudumuzun %30'u organik madde, %45'i inorganik madde ve %25'i sudan yapılmıştır (Dietz ve ark 1998).

Kemik matriksi iki bölümde incelenir. Bunlar: organik matriks ve inorganik matrikslerdir. Organik matriksi kollagen ve esas (ana) madde yapar. Mineral matriks

ise kalsiyum, fosfor ve diğer bazı elementlerden oluşur. Matrisin her iki bölümü de kemiğin fiziksel özelliklerinde önem taşır (Soydan 1992).

Organik Matriks

Kemigin organik matrisine osteoid madde denir. Osteoid madde erişkinlerde kemik ağırlığının % 25'ini, hacim olarak da % 38'ini oluşturur. Organik maddelerin %95'i kollajen, proteoglikanlar ve glikoproteinlerden oluşur. Organik maddeler arasında en çok osteokalsin bulunmaktadır. Bu protein (kollajen) kemiğin lifsel çatısını oluşturur. Kemik dokusu kollajeni, üzerine mineral matriks çökeldiğinden, diğer kollajenler arasında özgün bir yer tutar ve osteokollajen adını alır (Soydan 1992, Dietz ve ark 1998).

Kollajen; dokularda mekanik stabiliteyi sağlayan lifli bir proteindir. Transkripsiyondan (kopyalama) sonra, kollajen molekülleri çeşitli intra ve ekstrasellüler işlemlerden geçer, bu da onun özgün yapısını ve stabilitesini sağlar (Dietz ve ark 1998). Kemik kollajeni diğer kollajenlerden farklılık gösterir, %90 tip I kollajenden oluşur (Şatan ve ark 1998).

Kemiğin organik yapısını büyük oranda oluşturan kollajen liflerin sentezi mezenkimal orjinli osteoblastlarda meydana gelir. Osteoblastlar bir süre sonra, kendi olusturdukları kemik matriksi tarafından sarılarak osteosit adını alırlar. Bu hücreler, artık devamlı kemik olusturma yeteneklerini kaybetmişlerdir. Kemikte bulunan diğer büyük tip hücreler, çok çekirdekli osteoklastlardır. Bu hücreler, kemiğin sürekli şekil degiştirme (remodelling) isleminin bir parçası olan, kemik rezorpsiyonu ile ilgilidirler. Kollajen lifleri arasında bulunan kemiğin esas maddesi çeşitli glikozaminoglikanlar, gliko ve mukoproteinlerden oluşmuştur. Ayrıca, bağ dokusunun hücre dışı ve liflerarası komponentlerini kapsar (Güven 1988).

Kollagen lifçiklerin arasını esas madde doldurur. Esas madde daha çok osteosit boşlukları ve kanalcıklar çevresinde yoğunlaşır. Kimyasal yapısı değişik proteinkarbonhidrat bileşimi olan moleküllerdir. Esas maddenin kemikteki proteoglikan fraksiyonuna osteomükoid de denir (Soydan 1992).

İnorganik Matriks

İnorganik maddeler, kemiğin kuru ağırlığının %65'ini oluşturmaktadır. İçeriğinde özellikle kalsiyum ve fosfat oranı yüksektir. Ayrıca bikarbonat, sitrat, mangnezyum, potasyum ve sodyum da bulunur. Röntgen ışını difraksiyon yöntemi ile yapılan çalışmalarda; kalsiyum ve fosforun, Ca_{10} $(PO4)_6$ $(OH)_2$ kompozisyonunda birleşerek hidroksiapatit kristallerini meydana getirdiği görülmüştür (Junngeria ve ark 1998).

Kemik inorganik fazın, organik matrikse göre olan oranı kemiğin cinsine ve yaşına bağlıdır. Mineral matriks oluşumu organik matriks oluşumundan kısa bir süre sonra %90 oranında gerçekleşir. Kalan %10'u dokunun iyonlara geçirgenliğinin azalması nedeniyle yavaş çökelir. Yaşlanmaya bağlı olarak mineral matriksin bileşimi değişir; kalsiyum ve karbonat oranı artar, fosfat, megnezyum ve su oranı azalır. Fosfat yerine karbonat tutulması nedeniyle Ca/P oranı giderek yükselir. Mineral matriksin organik matrikse oranı ve bileşimi bazı patolojik nedenlere bağlı olarak da değişir. Raşitizm veya osteomalaside mineral matriks oranı %35'e iner; kalsiyum oranı düşer, magnezyum oranı yükselir (Soydan 1992).

Kemik, minerallerin statik bir deposu değildir. Osteoblastik ve osteoklastik bir aktivite ile kemik bileşiminin sabitliği, dinamik bir denge halinde sürdürülür. Kemiğin bu sürekli yeniden sentezlenmesi ve rezorpsiyonu hayat boyunca devam eder. Kemiğin büyümesi kesildikten sonra da uzun süre devam eder. Bu durum kemiğin yeniden şekillenmesi (remodelling) olarak adlandırılır. Normal durumlarda kemik oluşumu ve rezorpsiyonu sıkı bir şekilde bağlantılıdır (Güven 1988).

1.2. Kemik Tipleri

Kollagen liflerin doku içindeki dağılımı yönünden farklı iki kemik dokusu çeşidi vardır: bunlar primer kemik (olgunlaşmamış ya da kaba lifli kemik) ve sekonder kemik (olgun ya da lameller kemik) dokularıdır. Bu iki kemik doku çeşidi aynı yapı taşlarından oluşur; ancak liflerinin farklı konumu nedeniyle histolojik ayrıcalık göstermektedir (Soydan 1992, Junngeria ve ark 1998).

Primer kemik embriyolojik gelişim sürecinde kırık ve diğer nedenlerle ilişkili onarım işlemlerinde ilk ortaya çıkan kemik türüdür. Sekonder kemiğin lameller

halinde organize olmuş kollajen lif dağılımının aksine, primer kemik rastgele ve değişik yönlere dağılmış ince kollajen lifleri ile özellik kazanmaktadır (Junngeria ve ark 1998).

1.3. Kemik Hücreleri

1.3.1. Osteprogenitör Hücreler

Bu hücreler sekonder (ikincil) kemiklerin dış ve iç yüzeylerini örten periosteum ve endosteum zarlarında, bu kemiklerin içerdikleri Havers ve Volkmann kanallarının örtüsünde ve büyüyen kemiklerin metafizindeki kıkırdak matriksinin trabeküllerinde bulunurlar. İnaktif şekillerinin morfolojik yönden tanımlanması güçtür. Bunlar kemik hücresi olma yönünde koşullanmış mezenşim hücrelerdir. Ancak herhangi bir nedenle kemik yapımı uyarıldığında (kemik onarımında olduğu gibi), hem sayıca artmaları hem kemik yapıcı hücrelere dönüşmeleriyle ayırt edilirler (Soydan 1992).

Osteoprogenitör hücreler kemiklerin normal büyümesi sırasında aktiftirler. Erişkinlerde de yukarıda söz edilen bölgelerde inaktif (hareketsiz) dururken; kemikte yaralanma ve kırıkların iyileşme bölgelerinde ve kemiğin içten yeniden düzenlenmesi sırasında aktive edilerek mitozla bölünüp çoğalırlar. Çoğalan bu hücrelerin bir bölümü kemiği oluşturan osteoblastlara dönüşür. Osteogenez (kemik yapımı) durduğunda osteoblastlar da osteoprogenitor hücrelere dönüşebilirler (Erkoçak 1975, Soydan 1992).

1.3.2. Osteoblastlar

Osteoblastlar kemik oluşumundan sorumlu hücrelerdir. Osteoblastlar osteoit maddeyi salgılarlar. Kalsifikasyonla da ilişkileri olduğu sanılmaktadır. Morfolojik görünümleri sentez durumunda olup olmamalarına bağlıdır. Kemikleşme bölgelerinde, gelişmekte olan kemiklerin periosteumunun kemiğe temas eden derin bölgelerinde diziler halinde bulunurlar (Erkoçak 1975, Soydan 1992).

Osteoblastlar yüksek seviyede alkalen fosfataz aktivitesi gösterirler. Bu da kemik matriksinde kalsiyum depolanmasını osteoblastların düzenlediğini gösterir. Osteoblastlar PAS pozitif granüller bakımından zengindir. Kemiğin yapımı sırasında bu granüller kemik matriksinin öncüleri olarak kabul edilir ve mikroskopta pembe

renkli küçük sitoplazmik vakuoller şeklinde görülür. Bu hücreler kemik matriksinin organik kısmını yani kollajen fibrilleri, proteoglikanları, glikozaminoglikan ve glikoproteinleri salgılarlar. Henüz kireçleşmemiş olan bu tür organik maddeye osteoit denir. Osteoblastlar salgıladıkları osteoit içinde gömülü kalır. Yeni aktif kemik oluşumu durduğunda, osteoblastların aktiviteleri önce yavaşlar sonra durur. Şekilleri de yavaş yavaş değişmeye başlar. Osteoblastlar iğ veya mekik şeklindeki hücrelere dönüşür. PAS pozitif granülleri stoplazmalarından yavaş yavaş kaybolur. Hücrelerin fosfataz tepkimesi de hızlı bir şekilde düşer. Sonunda osteosit haline geçerler (Erkoçak 1975, Soydan 1992).

Kemik yapımı sırasında, şekillenmekte olan kemik trabekül ve lamellerinin yüzeylerinde devamlı olarak bir osteoblast sırası bulunur. Bunlar osteoprogenitor hücrelerden farklılaşır. Osteoblastlar bölünmezler (Erkoçak 1975, Soydan 1992).

1.3.3. Osteositler

Kalsiyum tuzlarının birikmesiyle kireçleşmiş kemik matriksi içinde hapsolan osteoblastlara osteosit denir. Dolayısıyla osteositler, tamamen oluşmuş kemikte esas hücrelerdir. Osteositin hücre gövdesi, içinde bulunduğu lakün adı verilen boşluğun şekline uyar. Bu hücreler ince sitoplazmik uzantılara sahiptir. Bu uzantılar kanaliküli denilen küçük kemik kanalcıkları içinden komşu osteositlerinkiyle ilişki kurar (Erkoçak 1975, Soydan 1992).

Bu durum, kemik hücrelerinin lakünleri içinde tek başlarına hapsolmadıklarını, hücre-hücre bağlantı özellikleriyle birbirleriyle ilişki halinde olduklarını gösterir (Erkoçak 1975).

Bu bulgu, kemiğin kalsifiye olmuş matriksi içinde gömülü bulunan osteositlerin kan yoluyla gelen hormonlarla nasıl uyarıldığını ve bunlara hücrelerin nasıl yanıt verdiğini izah edebilmektedir (Erkoçak 1975).

Osteositlerin kemiğin diğer hücre tiplerine dönüşebilme özelliği vardır. Öyle ki, kemik yıkımı sırasında içinde bulundukları lakünlerden dışarı çıkınca hemen dinlenme halindeki osteoprogenitor hücrelere, bunlarda osteoblastlara dönüşebilir (Erkoçak 1975).

Osteosit, kendi gelişimi sırasında kemik matriksiyle çevrili bir osteoblasttan başka bir şey değildir. Bulunduğu lakün içinde yavaş yavaş sitolojik değişime uğrarken, aktivitesini de devam ettirir. Osteosit, kendi etrafındaki kemik matriksi üzerine önemli derecede etkide bulunur (Erkoçak 1975).

Osteoliz olayı aktif fizyolojik bir olay olup, osteosit etrafındaki kemik matriksinin değişime uğratılması ve kemik tuzlarının geri emilmesidir (Erkoçak 1975).

1.3.4. Osteoklastlar

Kemik sürekli olarak yıkılan, yapısal gerilim ve vücudun kalsiyum gereksinimi gibi etkenlerle yeniden yapılanan dinamik bir dokudur. Kemik trabekülleri yüzeyinde ve çoğunlukla 'Howship' denen boşluklar içinde gözlenir. Osteoklastlar, osteoblastlarla birlikte mekanik streslere bağlı olarak kemiğin şekillenmesine, plastik etkinliğini en iyi şekilde yapabilmesine olanak verirler (Erkoçak 1975, Soydan 1992).

Kemiğin yeniden biçimlenme süresince çözünüp çevre dokularca emilmesinden sorumlu çok çekirdekli hücreler olan osteoklastlar, kalsiyumun kemik dokusundan kana salınmasında aktif rol oynayarak, vücut sıvılarında kalsiyum derişiminin homeostatik düzenlemesinde çok önemli rol oynarlar. Özellikle kemik yıkımının olduğu bölgelere yakın bulunan, 20-100 μm çapında ve 50'ye yakın çekirdeği olabilen dev hücrelerdir (Erkoçak 1975, Soydan 1992).

Kandaki kalsiyum seviyesinin düzenlenmesi, kemikte birbirine zıt çalışan iki hormonla kontrol edilir. Bunlar paratiroit bezinden salgılanan paratiroit hormonu ve tiroit bezinden salgılanan kalsitonindir. Paratiroit hormonu kemik yıkımını uyararak kalsiyumun kemikten kana geçmesine neden olurken, kalsitonin kalsiyumun kemikten ayrılmasını baskılar (Erkoçak 1975).

1.4. Kemik Oluşumu (Osteogenezis)

Kemik iki şekilde gelişir: Osteoblastların salgılandıkları matriksin doğrudan doğruya mineralizasyonu (intramembranöz kemikleşme) ya da daha önce var olan kıkırdak matriks üzerine kemik matriksinin çökmesi ile gelişir (endokondral kemikleşme). İlk kemikleşme mezenkim içinde gelişir. Endokondral kemikleşme ise

bir hyalin kıkırdak modelin yerinde meydana gelir. Her iki yolla da ilk ortaya çıkan kemik dokusu primer ya da olgunlaşmamış (immatür) kemik dokusudur. Primer kemik dokusu geçicidir ve kısa bir süre sonra yerini sekonder kemik dokusu (lamelli kemik) almaktadır. (Soydan 1992, Junngeria ve ark 1998)

1.4.1. İntramembranöz Kemik Oluşumu

Frontal ve pariyetal kemiklerin tamamı ile oksipital ve temporal kemikler, mandibula ve maksillanın bazı kısımları intramembranöz kemikleşme ile meydana gelir. İntramembranöz kemikleşmenin kısa kemiklerin büyümesinde ve uzun kemiklerin kalınlaşmasında da rolü vardır. Mezenkim yoğunlaşması içinde kemikleşmenin başladığı ilk noktaya primer kemikleşme merkezi denir. Birçok kemikleşme merkezinin birbirleriyle birleşmesi ile spongiöz kemik oluşur. Trabeküller fazla bir kalınlaşma göstermez. Aradaki bağ dokusu giderek kan yapıcı dokuya dönüşür. Kompakt kemik, önce spongiöz kemik geliştikten sonra gelişmeye devam eder (Paker 1993, Junngeria ve ark 1998).

1.4.2. Endokondral Kemik Oluşumu

Temel olarak endokondral kemikleşme iki aşamadan ibarettir. İlk aşama kemik modelindeki kondrositlerin hipertrofisi ve harabiyetidir. İkinci aşama ise, indiferent mezenkim hücrelerinin kıkırdağı rezorbe etmeleri ve osteoblastların oluşmasıdır (Junngeria ve ark 1998).

Endokondral kemikleşmede öncekinden farklı olarak önce mezenkim doku kemiğin yetişkin şeklinin küçük bir hiyalin kıkırdak modelini oluşturur ve kemikleşme bu kıkırdak model içinde başlar. Kemiğin kıkırdak model içinde gelişmesi için önce bu kıkırdak dokunun yıkılması gerekir. Kıkırdak yıkımı ve kemik yapımının yan yana seyretmesi nedeniyle endokondral kemik oluşumu daha karmaşık seyreder. Kıkırdak modellerin kemikleşmesi, diafiz kıkırdağı orta yerinden çepeçevre saracak biçimde kuşatan, bir periostal kemik halkası oluşumu ile başlar. Periostal kemik halkası perikondral ve endomembranöz bir kemikleşmeyle oluşur (Soydan 1992).

1.5. Kalsifikasyon Mekanizmasi

Henüz; kalsiyum fosfatın kemik matriksi üzerine çöküsünü açıklayabilen, genel olarak kabul edilmiş bir hipotez yoktur. Kalsifikasyonun, kalsiyum tuzlarının kollajen fibriller üzerine çökmesi ile başladıgı bilinmektedir. Sitoplazma içi veziküller içinde kalsiyum tuzlarının çökmesi belki de osteoblastların yardımı ile hızlandırılıp yoğunlaştırılır ve gerektiğinde hücre dışı aralığa salgılanır. Kemikleşme yüzeylerinde bulunan osteoblastların ürettikleri alkali fosfataz henüz bilinmeyen bir yolla kalsifikasyona yardım etmektedir. Osteoid maddenin oluşumunu 4-8 gün sonra kalsifikasyon izler. Bu bölgeye kalsifikasyon çizgisi denir (Soydan 1992, Junngeria ve ark 1998).

1.6. Kemiğin Büyümesi ve Yeniden Şekillenmesi

Kemiğin büyümesi, daha önce oluşmuş dokunun bir bölümü yıkılırken aynı anda başka bir bölümünün yapımı ile gerçekleşir (kemik yapım hızı kemik kaybından daha fazladır). Böylece kemik büyürken şekli de korunmaktadır (Junngeria ve ark 1998).

Osteogenezis sürecinde kemiklerin dış sekillerinin aynı kalması periostun bir yerinde apozisyon ve buna karşıt biçimde bir başka yerde rezorpsiyonu birlikte kapsamaktadır (Soydan 1992).

Kemik karsılaştığı değişik kuvvetlerin etkisiyle iç yapısını yeniden şekillendirebilir. Örneğin, ortodontik apareyler aracılığı ile dişler ve çene kemiğine uygulanan kuvvetler bozuk pozisyonlu dişlerin düzeltilmesini sağlar. Kuvvetin çektiği yerlerde kemik yapımı ve ittiği yerlerde de rezorpsiyon olur. Böylece çene kemiğinin yeniden şekillenmesi ile dişlerin pozisyonları gerektiği gibi değiştirilebilir. Bu yeniden şekil alma yeteneği tüm kemikler için geçerlidir. Kemik şekillenmesi bütün yaşam boyu devam etmektedir (Soydan 1992, Junngeria ve ark 1998).

1.7. Kemiğin Yeniden Şekillenmesindeki Düzenleyiciler

1.7.1. Lokal Düzenleyiciler

a. Polipeptit yapıdakiler: Hücre proliferasyonunu arttıranlar.

- Ekstrasellüler (EGF, TGFα, TGF β, FGF, PDGF, insulin, vb.)

• İntrasellüler (lenfosit, makrofaj, osteoblast kökenli olabilirler)

b. Nonpolipeptit yapıdakiler:

• Prostoglandinler (rezorbsiyonda aktif mediyatörler),

• Florid kemikte hidroksil iyonları ile yer değiştirerek florohidroksiapatit kristalleri oluşturur; kalsiyum çözünürlüğünü azaltır),

• Bifosfonat (kemik rezorbsiyonunu inhibe ederek matriks oluşumunu artırırlar)

• Adenozinler,

• Fosfat,

• Pirofosfat;

1.7.2. Sistemik Düzenleyiciler

Çeşitli hormon ve bileşikler, reseptörler aracılığıyla hedef hücrelere etki ederler. Bunlar: parathormon, kalsitonin (osteoklast rezorbsiyonunu inhibe eder), vitamin D, glukokortikoidler, cinsiyet hormonları (östrojen, androjen ve progesteron), tiroid hormonları, vitamin A ve vitamin K gibi maddelerdir (Şatan ve ark 1998).

1.8. Kırık İyileşmesi

Dıştan veya içten gelen zorlamalarla kemiğin anatomik bütünlüğünün bozulmasına kırık denir. Fizyolojik reaksiyonlar, bozulan kemik bütünlüğünün yeniden sağlanmasına yöneliktir. Kemik, skar dokusu oluşturmaz ve yeniden yapılanmayla iyileşir. Kırık iyileşmesi, kırık oluştuğu andan itibaren başlar, düzenli kemik doku ile kırık uçları birleşinceye kadar devam eder (Kılıçoğlu 2002). Bugüne kadar tam olarak aydınlatılamamış iki şekilde incelenir:

a-Primer Kırık İyileşmesi

b-Sekonder Kırık İyileşmesi

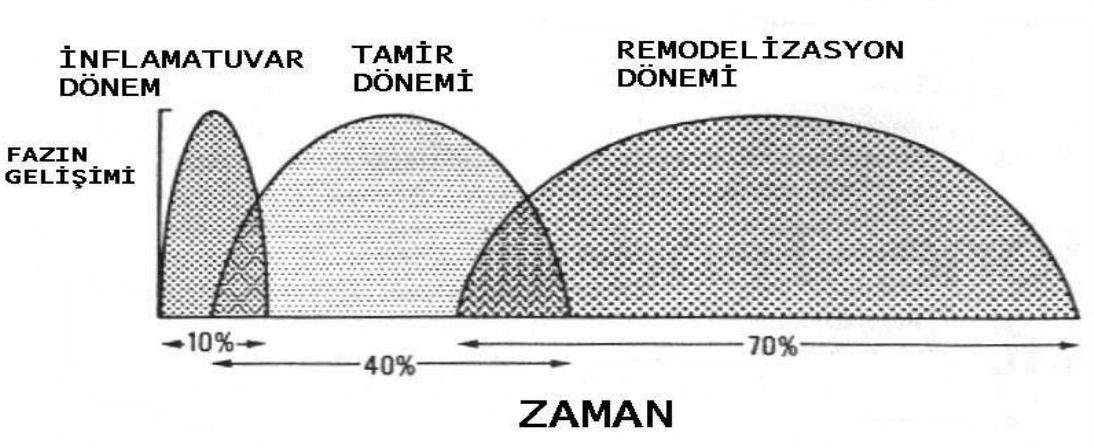
1.8.1. Primer Kırık İyileşmesi

Genellikle ayrılmamış ve rijit osteosentez uygulanan kırıklarda görülür. Belirli bir dış kallus oluşmadan, sadece iç kallusla devam eden temas iyileşmesi şeklinde tarif edilebilir. Radyolojik olarak kallus görülmez. Kırık uçlarında bulunan nekrozu, osteoklastlar rezorbe eder. Peşinden osteoblastlar yeni kemik yapısını

oluşturur. Kıkırdak süreç yoktur. Bu nedenle intramembranöz kemikleşmeye benzetilir.

1.8.2. Sekonder Kırık İyileşmesi

Tabi iyileşme şekli budur. Radyolojik olarak kallus görülür. Sekonder kırık iyileşmesi, daha sık rastlanan, kırığın rijit internal fiksasyon olmaksızın tedavi edilmesiyle meydana gelir. Radyolojik ve histolojik olarak üç dönemde incelenir. Bu dönemler inflamatuar dönem, tamir dönemi ve remodelizasyon dönemi olarak isimlendirilirler. Histolojik olarak iyileşme süresindeki evreler birbirinden zaman olarak kesin sınırlarla ayrılamaz. Her evre daima kendinden bir önceki veya bir sonraki evre içinde bulunur. Histolojik görünüme göre yapılan sınıflamalarda ufak farklılıklar hariç, genel olarak aynı bulgular kabul edilip benzer sıralamalar yapılmıştır (Brond ve Rubin 1990). En uzun süren dönem, remodelizasyon dönemidir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Kırık iyileşmesi dönemleri

İnflamatuar (Hematom, Yangı) Dönem (1–4 gün):

Tüm doku travmalarında, dolayısıyla kırıklarda, ilk verilen yanıt "inflamasyon" yani "yangı"dır. Bu dönem ilk 3–4 günlük süreyi kapsar. Travmanın şiddetine bağlı olarak, kemik kırıldığında kırık uçları, periost ve çevre yumuşak dokular ve damarlar yaralanır. Kırık kemik uçları arasına ve kırık uçların etrafına kan ve lenf sıvısı toplanır. Bu birikintiye kırık hematomu denir. Bu sıvı birikerek periostu kaldırır. Trombosit ve trombotik faktörler kanamanın durmasını ve pıhtılaşmayı sağlamak için bu bölgeye toplanırlar. Pıhtılaşma ile birlikte kırık uçları arasında,

periost altında ve periost yırtılmışsa bunun etrafında hematom oluşur. Hematom sağlam yumuşak dokular tarafından sarılır. Hematomun basıncı kırık uçlarının bir arada tutulmasına yardım eder. Kırık hematomu sekonder kırık iyileşmesi için çok önemlidir. Kırık hematomunun boşalması bazı sorunlara neden olabilir. Açık kırıklarda kırık hematomunun dışarıya boşalması nedeniyle kırık iyileşmesi gecikir veya hiç olmaz. Deneysel olarak hematom organize olduktan sonra çıkarıldığında osteojenik uyarının büyük bir kısmının yok olduğu öne sürülmüştür (Kılıçoğlu 2002). Muhtemelen, kırık hematomu onarım hücrelerinin aktivitelerini kolaylaştıracak fibrinden yapılmış bir iskelet rolü oynamaktadır. Ayrıca kırık hematomu ortamında bulunan trombositler ve ortamdaki diğer hücreler büyüme faktörü ile birlikte diğer başka proteinleri [Epidermal büyüme faktörü (EGF), Fibroblast büyüme faktörü (FGF), Trombositten üretilmiş büyüme faktörü (PDGF), Dönüştürcü büyüme faktörü- β (TGF-β), Kemikten türetilmiş büyüme faktörü (BDGF), İnterlökin–1 (IL–1)] salarlar (Brond ve Rubin 1990). Bu faktör ve proteinler, kırık iyileşmesinde önemli olan hücre göçü, periosteal hücre çoğalması ve onarım dokusu matriksinin sentezi için gereklidirler (Brond ve Rubin 1990, Khan 2000). Yani kırık hematomunda prostaglandinler, büyüme faktörleri [İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF), TGF–β, Kemik morfojenik proteini (BMP)], sitokinler (IL–1, IL–6), kemik yapım ve yıkımı arasında kenetleyici faktörler bulunmaktadır (Us 2005).

Kırık oluştuktan hemen sonra vazokonstrüksiyon izlenir. Bunu takiben arteriol ve venüllerin vazodilatasyonu görülür. Mast hücrelerinin kırık bölgesine histamin salgılaması, bu bölgede vazodilatasyona sebep olur. Ayrıca kılcal damar permeabilitesi de artar. Vazodilatasyon ve beraberinde plazma eksudasyonu nedeniyle, kırık bölgesinde ilk 24 saat içinde ödem oluşur. Bu bölgeye polimorf nüveli lökositler, monosit ve lenfositler başta olmak üzere akut yangı hücreleri göç ederler.

Komşu Haversiyen sistemler arasında fazla anastomoz bulunmadığı için, kırık uçları arasında iki tarafta da belirli bir mesafeye kadar olan alandaki dolaşım durur. Buradaki osteositler lizise uğrayarak yerlerini boş lakunalar alır. Sonuçta kırık alanında, kemik dokuda daha geniş olmak üzere nekroz bölgesi meydana gelir. Kırık uçlarda 1–5 mm arasında nekroz gelişir. Kırık uçları ve çevre dokulardan prostoglandinlerin salınımı yanında ortamdaki nekrotik materyalin varlığı akut

inflamasyonun başlatılmasında önemli rol almaktadır (Brond ve Rubin 1990). Kırık bölgesindeki hematom 48 saat içinde organize olup fibrinden bir yapı oluşturur. Fibrinojen eklenen lizin, fenilalanin, gamaglobulin ve albuminle fibrine dönüşür. Polimorf nüveli lökositler ve makrofajların damar dışına göç etmeleri ile fibrin matriks oluşur. Ayrıca makrofaj, histiosit ve fibroblastların yaptığı kollajen de fibrin matriksi oluşumuna etkilidir. Fibrin ağından da kemik yapımı için gerekli olan hücre çoğalması başlar. Bu dönemde fibrin matriksi içindeki öncü hücreler, lokal biyolojik etkilerle değişik dokuları oluşturmak için farklılaşmaya hazırdır. Kırık bölgesinde ortamın pH'sı asitken, daha sonra yavaş yavaş nötrale döner ve sonra hafif alkali seviyede kalır. Büyük kırıklarda makrofaj monositler, bütün vücudu etkileyen bir sitokin olan IL–1 salgılar. IL–1 yaralanma bölgesinde lenfositlerin göçü ile kemik geri emilimini (rezorbsiyon) sağlar ve orta beyin aracılığıyla ateş meydana getirir. IL–1 ayrıca kaslardan Prostoglandin-E2 (PG-E2) oluşumunu arttırır (Khan 2000).

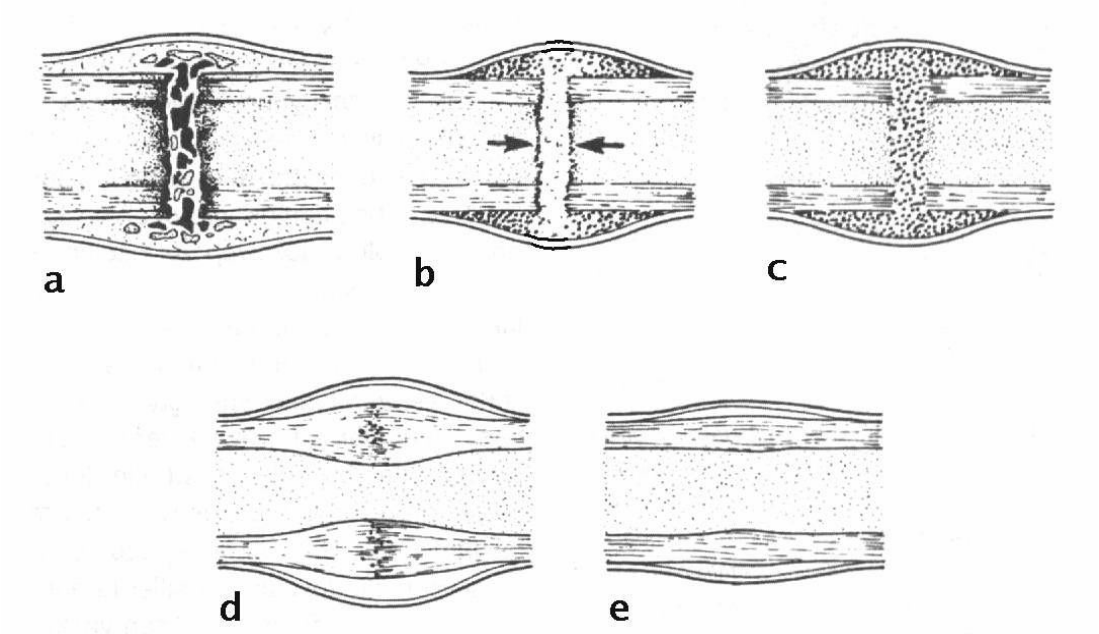
Onarım (Reperasyon) Dönemi (2- 40 gün):

Onarım evresi kırık iyileşmesinde en önemli kısımdır. İnflamatuar hücreler nekrotik dokuları rezorbe ederken, fibroblastlar bölgeye gelerek tamir dönemini başlatırlar. İlk basamak hematomun organize olmasıdır. Tamir döneminde ilk 48 saat içinde periost, endosteum ve kırığa yakın yerlerdeki Havers kanallarının tabakalarından hücre proliferasyonu başlar; kırık hattı boyunca rezorbsiyon devam eder. Hücre proliferasyonu sonucu kırık uçlarındaki boşluklar hücrelerle dolar. Kırık hattına dolan hücreler kemiğin hücresel devamlılığının onarımına yardım eder. Lokal aracılı mekanizmalarla öncü hücreler, yeni damar, fibroblast, hücreler arası madde, destek hücreleri ve diğer hücreleri oluşturmak üzere farklılaşmaya başlarlar. Kırık hattındaki hücresel aktivitenin başlaması için gerekli uyarım karmaşıktır. Kimyasal, elektriksel ve mekanik faktörler söz konusudur. Tamir için gerekli hücre çoğalmasının oluşumu, muhtemelen travma bölgesindeki elektriksel akımla başlamaktadır. Bu akım, kırık sonrası en yüksektir ve daha sonraki 2–3 hafta içinde yavaş yavaş azalır. Onarım evresi, kırık oluşumundan sonraki saatlerde başlasa da yapısal olarak tipik hale gelmesi 7–12 gün sürer. Onarım olayında rol oynayan hücreler mezanşimal kökenli, çok yönlü gelişim gücüne sahip olan (pluripotent) hücrelerdir. Bu hücreler çoğunlukla kırık bölgesindeki granülasyon dokusunun içinden, ayrıca periosteumun osteojenik tabakasından ve daha az oranda da

endosteumdan köken alırlar. Bu hücreler farklılaşmaya başladığında, ilk değişikliğe uğrayan hücreler, kılcal damarlarla hematom içine giren fibroblastlardır. Üçüncü günde karşı kırık uçlarında, yoğun olarak mezanşimal hücreler bulunur. Bu hücreler kırık parçaları arasında yumuşak bir granülasyon dokusu oluştururlar. Periosteal ve endosteal osteojenik hücrelerle, fibrin matriksteki fibroblastların çoğalıp farklılaşmasıyla, bir granülasyon dokusu gelişir. Fibroblastlar kollajen sentezlerken, kondroblastlar kollajen ve glikozaminoglikan, osteoblastlar ise osteoidi salgılarlar. İyileşen kemiğin gerilmeye karşı dayanıklılığı, içerdiği kollajen miktarıyla yakın ilişkilidir. Oluşan kallusun boyutu kırığın hareket derecesiyle doğru orantılıdır. İleri yaşlarda bu hücrelerin farklılaşma kapasiteleri giderek azalır. Periosteumun hasar görmesi ya da ortamdan uzaklaştırılması da kırık iyileşmesini yavaşlatmaktadır (Miller 1996).

Kırık bölgesinde mezanşimal hücre çoğalması ilk olarak 5. saatte saptanmıştır ve bu çoğalma, kırık sonrası 32 saatte en üst düzeye çıkmaktadır (Brond ve Rubin 1990, Miller 1996, Gartner ve Hiatt 1997). Oluşmaya başlayan kan damarları 2–3 günde ışık mikroskobik düzeyde görünür hale gelirler ve birinci haftada belirginleşirler. Kırık iyileşmesinin ilk dönemlerinde periosteal damarlar, geç dönemde ise besleyici (nutrisyen) damarlar, kılcal damarların tomurcuklanmasına yardımcı olur. Fakat kılcal damar gelişimi osteojenik hücre çoğalması kadar hızlı olmadığından, beslenmenin daha iyi olduğu kemiğe yakın seviyedeki hücreler, osteoblastlara dönüşür. Kemiğe yakın olmayan, yakalığın orta kısmındaki hücreler dolaşım yönünden fakirdir. Bu bölgedeki kılcal damarların gelişim hızı, hücre çoğalmasının hızına uyum gösteremediğinden, hücreler kondroblast ve kondrosite farklılaşarak kıkırdak dokuyu oluşturur. Osteoblast haline gelen kanlanmanın yeterli olduğu bölgelerdeki hücreler ise trabekülleri oluşturur. Böylece en dış tabakada kıkırdak dokunun üstünü örten periostun derin tabakasından çoğalan osteojenik hücreler, orta tabakada kıkırdak doku, daha derinde ise kemik trabekülleri bulunur. Zamanla her iki kırık parçasının ucunda oluşan yakalık tarzındaki kitle birleşerek, kırığa bütünlük sağlayan dış kallusu oluşturur. Dış kallusun devam eden gelişimi esas olarak kemik hücrelerinin çoğalmasına ve kıkırdak dokudaki (orta tabakada) interstisiyel büyümeye bağlıdır. Aynı şekilde medüller kanalda da aynı olaylar birbirini takip eder. Endosteum ve iliğin osteojenik hücresinden gelişen trabeküllerle, iliğin köprülenmesi oluşur ve iç kallus meydana gelir. İlk 7- 12 günün sonrasında

yumuşak kallus kitlesi, fibröz doku ve kıkırdaktan oluşmuştur ve kıkırdak sahasını çevreler (Miller 1996, Gartner ve Hiatt 1997). Özet olarak tamir döneminde (Şekil - 1.2) hematom içine yayılan makrofajlar ve osteoklastlar ölü kemiğin ortadan kaldırılmasını ve osteoblastlar kemik oluşumunu sağlar. Kırık hematomu 48 saat içinde organize olur. Hematomun çevresindeki damarlardan hematom içine fibroblast infiltrasyonu gelişerek, geç vaskülarize granülasyon dokusunu oluşturur. Bu döneme fibröz kallus dönemi denir. Bu dönem ilk yedi günlük süreyi içerir.



Şekil 1.2. Tamir dönemi

Daha sonra, kıkırdak yapı ortama hâkim olur. Bu döneme kıkırdak kallus dönemi denir. Damar yenilenmesi, mevcut kan damarlarında tomurcuklanmayla olur ve kanla beslenme yeterli olursa, osteoblastlar kallus içinde normal kemik gelişimine elverişli matriksi sağlamış olurlar. Hücre düzeyinde yapılan çalışmalara göre; damar endoteli sialik aside bağlı olarak, kıkırdak doku ise proteoglikanlardan zengin olduğu için negatif yüklüdür (Cruess 1984, Brond ve Rubin 1990, Gartner ve Hiatt 1997). Yani damarlanmayla kıkırdak doku arasında bir itme kuvveti mevcuttur, bu da damarlanmayı engellenmektedir. Ca^{+2} ise bu negatif yükü pozitife çevirerek, yeni damarların kıkırdak dokuya yönelimini sağlamaktadır. Dolayısıyla sert kallus (kemik kallus) dokusu gelişimi için damarlanma, bunun sağlanabilmesi için de osteoidin mineralizasyonu şarttır (Cruess 1984, Gartner ve Hiatt 1997).

Mineralizasyon (kalsifikasyon) olayında ortak teori; osteoiddeki matriks vezikülleri varlığına dayanır. Bu veziküller, yüksek konsantrasyonda Ca^{+2} ve PO_4 iyonları, siklik adenozin monofosfat (cAMP), adenozin trifosfat (ATP), adenozintrifosfataz, ALP, pirofosfataz, Ca^{+2} bağlayan protein ve fosfoserin içerirler. Matriks vezikül membranı, Ca^{+2} iyonlarını veziküle taşıyan çok sayıda Ca^{+2} pompasına sahiptir. Vezikül içindeki iyon konsantrasyonu arttığında, kristalizasyon oluşur ve büyüyen kalsiyum hidroksiapatit kristal parçaları membranı delip matriks vezikülünü patlatarak içeriğini salar. Pirofosfataz enzimi, kalsifikasyonu önleyen pirofosfatları parçalar. ALP ise fosfat esterlerinden PO_4 iyonunu serbestleştirerek kalsiyumun çökmesini sağlar. Matriks veziküllerinden salınan kalsiyum hidroksiapatit kristalleri kristalizasyon kaynağı olarak hareket eder. Kristalizasyonun çevresindeki iyonların yüksek konsantrasyonu, kalsifikasyon faktörlerinin varlığı ve Ca^{+2} bağlayan proteinler, matriks kalsifikasyonunu teşvik ederler (Cruess 1984, Gartner ve Hiatt 1997).

Osteoidin mineralizasyonu, sert kallusun oluşumu ve yapısal stabilite için gereklidir. Bu süreç, osteoblastlar tarafından tropokollojen oluşturulmasıyla başlar. Tropokollojen, kollajen tellere polimerize olur. Kollajen teller kendilerine has bir iç düzenlemelerine sahiptir ve tellerin arasında boşluklar vardır. Değişebilen Ca^{+2} ve PO_4 eriyikleri ile boşluk içindeki aminoasit zincirlerinin birbirini etkilemesi ile kırık bölgesinde minerallerin görülmeye başlamasının sonucu olarak, kalsiyum hidroksiapatit kristalleri dizili tellerin içinde veya etrafında kümelenir. Kalsifikasyon kemiğin telcikleri üzerine kalsiyum fosfat biriktiği zaman başlar. Bu olayın proteoglikanlar ve Ca^{+2} bağlayan glikoprotein olan osteonektinle uyarıldığı bilinmektedir (Khan 2000). Onarımın bu döneminde kırık uçları arasında kemik miktarı artarak fuziform bir kallus (kemik kallus) kitlesi ile kırık aralığı örtülür. Kallus oluşumu hem subperiosteal hem de endosteal gelişim gösterir.

Kıkırdak dokuda, kondrositler hipertrofiye kondrositlere dönüştüğü zaman ALP salgılanır. Ayrıca kondrositlerden kıkırdak matriks vezikülleri de atılmaya başlar. Kıkırdak matriks kalsifiye olur. Kalsifiye doku içinde kalan kondrositler sadece difüzyonla beslenebildikleri için artık beslenemezler ve ölürler. Bulundukları yerde lakunalar meydana gelir. Kondroklastik faaliyet başlar, geri emilim artar ve lakunalar genişler. Bu süreç devam ederken, lakunar boşluklara kılcal damarlar ve

kemik hücreleri girmeye başlar. Zira kalsifikasyon olmaksızın damarlanma ilerleyemez. En sonunda oluşan trabeküler kemik içindeki trabeküller arasında kalsifiye kıkırdak artıkları görülebilir. Kıkırdak dokusundan kemik gelişiminde, FGF'nin de rolü olduğu söylenmektedir (Khan 2000).

Nekrotik kırık uçları dolaşımdan yoksundur ve ortamdan kaldırılmaları gerekmektedir. Kırık iyileşmesinde gerekli olan bu fonksiyonun nasıl başladığı kesin bilinmemektedir. Fakat kırık bölgesinde önemli miktarda tespit edilen prostoglandinlerin, yeni osteoklastlar oluşturmasıyla mevcut osteoklast aktivitesinde artışa neden olduğu ve böylelikle etki gösterdiği düşünülür. Osteoklastlarla meydana gelen geri emilim boşluklarını osteoblastlar sararak canlı kemik gelişmesini sağlarlar. Neticede nekrotik bölgenin tümü canlı kemikle yer değiştirir.

Kırık kemik uçları, iç ve dış kallus gelişimiyle çok sağlam bir yapıya kavuşur. Kallus oluşumu, yetişkinlerde çocuklardan, kompakt kemikte ise trabeküler kemikten daha yavaş meydana gelir. Yaralanmadan sonra kallus oluşması ve mineralizasyon süresi 4–5 hafta kadardır. Bu dönemde kırık uçları arasında sert bir köprü (sert kallus) oluşur ki bu mekanik zorlamalara oldukça dayanıklıdır. Kallus oluşumuyla beraber kaynamanın oluştuğu söylenebilir. Bununla beraber, kaynama henüz son noktasına ulaşmış değildir, onarım evresinin ortasında, kallusun gereksiz ve etkisiz kısımlarının geri emilimi ve trabeküler kemiğin stres çizgileri boyunca uzanması ile yeniden şekillenme evresi (remodeling) başlar.

Kemiğin Yeniden Şekillenme (Remodeling) Dönemi:

Kemiğin yeniden şekillenmesi en uzun evre olup, aylar yıllar sürebilir. Bu evre güçlü ama düzensiz sert kallusun, normal veya normale yakın güçteki daha düzenli lameller kemiğe dönüşümü olarak tarif edilebilir. Bu evrede kırık çevresindeki fazla kemik dokusu rezorbe olur, medüller kanallar açılır yani normal kemik yapısı kazanılır. Yani bir taraftan osteoklastik faaliyetle rezorbsiyon, diğer taraftan osteoblastik faaliyetle yeni kemikleşme olur. Onarım evresinin ortasında başlayıp, normalde insanlarda 4–5 hafta kadar sürerken, yıllar boyunca da devam edebilir. Yeniden şekillenme evresinde dört olay gerçekleşir:

a. Kalsifiye kıkırdak, osteoid dokuyla değişerek bir çeşit birincil trabeküler doku oluşur.

b. Lameller kemik bu dokunun yerini alır.

c. Kompakt kemik uçlarındaki kallus, lameller kemikten yapılmış ikincil osteonlara değişir. Lameller kemik, kas kuvveti ve mekanik streslere paralel olarak düzenlenmiş osteonlardan oluşur.

d. İlik kanalı dereceli olarak yeniden şekillenir. Kanal içindeki kallus, osteoklastlar tarafından geri emilir ve boşluklar yeniden düzenlenir.

Remodelizasyon Wolff kanunlarına göre olur. 1892'de Wolff, iskelet sistemi yapısının, bu sistemin mekanik ihtiyacına uygunluk gösterdiğini, daha sonra kendi adıyla anılan kanun ile tanımlamıştır (Cruess 1984, Brond ve Rubin 1990, Miller 1996). Wolff kanunu, kemiğin remodalizasyon döneminde normal şeklini sağlamasını açıklar. Wolff'a göre kemiğin işlevsel durumundaki değişiklik, dokuda yapısal değişikliklere yol açmaktadır. Bu kanun günümüzde de kemiğin yeniden şekillenmesinde temel bir kural olarak kabul edilmektedir. Mekanik strese maruz kalan kemiğin konveks yüzü pozitif, konkav yüzü ise negatif elektrikle yüklendiğinden, osteoklastik aktivitenin hâkim olduğu konveks yüzde geri emilim ve osteoblastik aktivitenin hâkim olduğu konkav yüzde ise yeni kemik yapımı olmaktadır. Yani, kırığın konkav tarafında kemikleşme, konveks tarafında geri emilim olur (Cruess 1984, Brond ve Rubin 1990, Miller 1996). Genel olarak iyi remodele olan bölgeler fizise yakın bölgedeki ve metafizer bölgedeki açılanmalar, eklemin hareket düzlemindeki açılanmalar; humerus proksimali, femur distali ve radius distalindaki açılanmalardır. Remodalizasyon kapasitesi, yani kusurlu kaynamanın zamanla düzelme miktarı, yaş ile ters orantılıdır. Ekleme yakın kırıklarda, eklemin yaptığı major hareketlerin istikametine aykırı kırıklarda düzelme daha zordur. Kemiğin tıraşlanıp yeniden eski haline döndüğü yeniden şekillenme evresi 1–2 yıl sürer. Fakat bu süre 6–9 yıla kadar uzayabilir.

1.9. Kemik İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Yerel ve genel faktörler olarak iki grup halinde incelenir

1.9.1. Genel Faktörler

Yaş: Azalan yaşla orantılı olarak mezenşimal hücre farklılaşması, yeni kemik dokusu gelişmesi ve kırığın yeniden şekillenmesi hızlanır (Schenk 2003, Wilkins 2005, Brinker ve ark 2006).

Genel durum: Diyabet, anemi, tüberküloz, raşitizm gibi hastalıklar ve beslenme bozuklukları kırık iyileşmesini geciktirir. İltihabi olaylar (tüberküloz, kronik hastalıklar), hiperemi nedeniyle Ca^{+2} tuzlarının çözünmesini etkiler. Artan lökositlerin proteolitik enzimleri, matriksin bozulmasına neden olur ve osteoid oluşumunu engeller (Us 2005).

Hormonlar: PTH, osteoklast sayısını artırıcı, kemiğin yeniden şekillenmesini uyarıcı ve osteositleri uyararak osteolizi hızlandırıcı etkileri vardır. Osteoblastların üzerine dolaylı etkisi olsa da, net sonuç kemik kaybı ve kırık iyileşmesinin yavaşlamasıdır (Brond ve Rubin 1990, Jungeria ve ark 1995, Gartner ve Hiatt 1997, Brinker ve ark 2006). Kalsitonin PTH'nun antagonistidir. Hem kompakt, hem de trabeküler kemik yapımını artırır. Kalsitonin dozu ve yeni kemik oluşumu arasında doğru orantı vardır, fakat iyileşmeyi olumlu yönde etkileme mekanizması henüz açıklanamamıştır. İnsülin ve büyüme hormonu gibi anabolizan hormonlar kırık iyileşmesini hızlandırmaktadır. Büyüme hormonu ve diğer anabolizan hormonlar, proteine bağlı Ca^{+2} artışını etkileyerek kırık iyileşmesine yardımcı olur. Büyüme hormonu, kallus hacminde artışa sebep olur. Tiroid hormonu da PTH gibi kemiğin yeniden şekillenmesine yardım eder. Kırık iyileşmesine yardım ettiği ileri sürülmüştür (Kılıçoğlu 2002, Brinker ve ark 2006). Kortizon kırık iyileşmesini yavaşlatır. Mezanşimal hücrelerden osteoblast gelişimi ve matriks oluşumu için gerekli yapı taşlarının sentezini yavaşlattığından, kırık iyileşmesini geciktirir. Kortizon, aynı zamanda kallus oluşumunu azaltır. FGF, EGF ve PDGF üzerine antagonist etki yaparak kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkiler (Kılıçoğlu 2002).

Vitaminler: A vitamini normal dozda mezanşimal hücre farklılaşmasını uyararak kırık iyileşmesine yardım eder. Eksikliğinde osteoblast düzenlenmesinde ve osteoklast aktivitesinde bozulma olur ve kemik oluşumu engellenir (Cruess 1984, Miller 1996, Khan 2000). A vitamini fazlalığında ise hücre çoğalmasının olmamasıyla birlikte kıkırdak kolonlarında erozyon meydana gelir. Osteoklastlara dönüşüm fazla uyarılır ve kırık iyileşmesi gecikir (Kılıçoğlu 2002). C Vitamini, dolaylı yoldan kemik iyileşmesini olumlu etkiler (Yılmaz ve ark 2001). D Vitamini, normal dozlarda kırık iyileşmesini hızlandırır. D Vitamini eksikliğinde Ca^{+2} düzeyi düşer ve kemik kalsifikasyonu zayıflar. Kalsiyumun kemikten kana geçişi yanında, kemik hücrelerinde sitrat üretimini arttırır. Ayrıca kemiğin yeniden şekillenme

evresinde rol oynar. Sonuç olarak; D Vitamini normal dozda kırık iyileşmesini hızlandırırken, toksik dozda olumsuz etki eder (Kılıçoğlu 2002). B6 Vitamini eksikliği ve K Vitamini antagonistleri kırık iyileşmesine olumsuz etki ederler (Cruess 1984, Gartner ve Hiatt 1997, Kılıçoğlu 2002).

İlaçlar: Kondroitin sülfat, hiyalüronidaz ve dikumaral kırık iyileşmesine yardım eder. Deneysel çalışmalarda L-Dopa ve klonidinin büyüme hormonunu arttırarak kırık iyileşmesini olumlu etkilendiği gösterilmiştir (Kılıçoğlu 2002, Brinker ve ark 2006). İndometazinin yüksek dozlarda kırık iyileşmesini durdurduğu bilinmektedir (Kılıçoğlu 2002, Us 2005). Lazer tedavisinin deneysel kırık iyileşmesi üzerine olumlu etkisi gösterilmiştir (Kılıçoğlu 2002, Us 2005).

Hiperbarik oksijen: Günde 2 saat kadar 2–3 atmosfer basıncında uygulanan oksijen uygulanmasının kırık iyileşmesine yardım ettiği gözlenirken, 6 saat/gün dozda uygulamaların kırık iyileşmesini geciktirdiği izlenmiştir (Kılıçoğlu 2002).

Kırık bölgesi egzersiz ve stresleri: İyi redükte ve tespit edilmiş kırık kemiklere erkenden fonksiyon ve kontrollü yük verilir veya yürütülürse kemik gelişimi uyarılarak iyi sonuç alınmaktadır (Brond ve Rubin 1990, Jungeria ve ark 1995, Kılıçoğlu 2002, Schenk 2003, Brinker ve ark 2006). Bunun nedeni PGE–2 miktarının artması ve bu bölge dolaşımına olumlu bir etkisi olmasıdır.

Elektriksel uyarım ve ultrason: Gecikmiş kaynama ve kaynamama tedavisinde elektromanyetik uyarı 1970'li yılların başından beri kullanılmakta ve %64 ile %85 arasında değişen başarı oranları bildirilmektedir, ancak hala taze kırıkların tedavisinde etkili olduğu ispatlanamamıştır (Wood 2003).

1.9.2. Yerel Faktörler

A. Travmanın derece ve etkisi (Schenk 2003, Brinker ve ark 2006)

B. Kırık uçlarının birbirine göre konumu (Schenk 2003)

C. Kırık yerinin dolaşımı (Brond ve Rubin 1990, Miller 1996, Khan 2000)

D. Eklem içi kırıklar (Kılıçoğlu 2002, Schenk 2003, Us 2005, Brinker ve ark 2006)

E. Kırılan kemiğin türü (Kılıçoğlu 2002)

F. Kırık çizgisinin özelliği (Schenk 2003)

G. Cilt ve yumuşak doku yaralanması (Schenk 2003, Brinker ve ark 2006)

H. Yerel bir enfeksiyon varlığı (Brinker ve ark 2006)

I. Yerel patolojik koşullar (Jungeria ve ark 1995, Kılıçoğlu 2002)

İ. Kırığın açık kırık olup kırık hematomunun dışarı akması (Jungeria ve ark 1995, Ozaki 2000, Schenk 2003, Wilkins 2005, Brinker ve ark 2006)

J. Elektrik akımı (Miller 1996, Us 2005)

K. Kırık bölgesinde denervasyon olması (Kılıçoğlu 2002, Schenk 2003)

L. Yeterli tespit yapılmaması veya tespit süresinin kısa tutulması (Brond ve Rubin 1990, Schenk 2003, Us 2005, Wilkins 2005, Brinker ve ark 2006)

1.10. Kemik Greftleri

Kemik greft materyalleri temel olarak, şu sekilde sınıfladırılır (Constantino ve Freidman 1994):

A. Otogreftler
B. Allogreftler
C. Ksenogreftler
D. Kemik esaslı olmayan sentetik biyomateryaller (alloplastlar).

Yapılan daha detaylı bir sınıflama ise şöyledir (Constantino ve Freidman 1994, Bauer ve Muschler 2000):

A-Otogreftler (otojen kemik grefti)
- a. Kortikal kemik
- b. Kansellöz kemik
- c. Kortiko-kansellöz kemik

B-Allogreftler
- a. Taze dondurulmuş kemik
- b. Dondurulmuş kurutulmuş kemik
- c. Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik

C-İzogreft: Taze kansellöz kemik iliği

D-Ksenogreftler (Heterojen kemik grefti)
- a. Demineralize edilmiş kemik
- b. Proteini çıkarılmış kemik

E- Biyomateryaller (alloplastlar) (Constantino ve Freidman 1994, Bauer ve Muschler 2000)

a. Doku kaynaklılar

- Dentin
- Sement
- Kıkırdak
- Sklera
- Duramater vs.

b. Metaller

c. Jelatin film

d. Polimerler

- Polimetilmetakrilat
- Proplast
- Polyalioxanone
- Poliamide Metch
- Polyglactin 910
- Sert doku replasmanı
- Polietilenler
- Polipropilen
- Silikonlar
- Politetrafluoroetilen (Teflon)

e. Kalsiyum Sülfat

f. Kalsiyum Karbonat

g. Kalsiyum Fosfatlar

- Rezorbe olanlar
- Rezorbe olmayanlar

Bu sınıflamayla birlikte defektlerin doldurulmasında kullanılan implant ve greft materyallerinde istenilen özellikler ise (Chalmes ve ark 1975, Boyne 1986);

• Antijenik özelliğinin olmaması,

• Osteoindüktif özelliğin olması,

• Osteokondüktif özelliğin olması,

• Osteogenezisi kolaylaştırması,

• Tek aşamalı cerrahi işlemle yerleştirilebilmeli,
• İstenilen miktarda elde edilebilmeli,
• Revaskülarize olmalı,
• Kolay şekil almalı,
• Termal olarak non-kondüktif olmalı,
• Radyolusent bir görünüm vermeli,
• Uzun süre saklanabilmeli ve
• Defekte stabilite ve destek sağlayabilmelidir.

Bu özelliklerdeki kemik greftlerinin kullanılması ile oluşan yeni kemik, 4 temel mekanizma ile şekillenir.

Osteointegrasyon: Osteointegrasyon, kemik grefti ile kemik yüzeyi arasında fibrotik bir tabaka olmadan kimyasal bir bağın meydana gelmesidir. Arada oluşan fibrotik doku, enkapsülasyon cevabını başlatıp greftin başarısını düşürmektedir.

Osteokondüksiyon: Greft materyali rezorbe olarak, yeni kemik oluşumunda çatı görevi üstlenmesi ve bu rezorbsiyon aşamasında defekt kenarında yeni kemiğin şekillenmesidir. Yani greft materyali defekte fiziksel destek sağlarken, aynı zamanda tamir sürecini yönlendiren bir matriks oluşturmaktadır.

Osteoindüksiyon: Greft materyalinin uyarısı ile çevre dokulardaki kök hücrelerin değişerek, osteogenezisi başlatmasıdır. Osteoindüktif etki sadece kök hücrelerini etkilemeyip, bununla beraber kemik yenilenmesinin ve onarımının değişik aşamalarını stimüle eden faktörleri de içermektedir.

Osteogenezis: Greft materyali içinde var olan osteoblastik hücreler ile yeni kemiğin şekillenmesidir. Greftin içinde hazır olarak bulunan osteoblast ve diğer kemik hücrelerinin yeni kemik yapımına katılmasıdır. Sıklıkla otogreftlerde bulunan bir özelliktir (Glowacki ve Mulliken 1985, Constantino ve Freidman 1994, Cypher ve Grossman 1996, Moore ve ark 2001).

1.10.1. Otogreftler

Otogreft, greftin aynı bireyden alınıp yine aynı bireyde kullanılması durumudur. Diğer bir deyişle hem alıcının hem de donörun aynı kişi olmasıdır (Bauer ve Muschler 2000). Greft tipleri arasında sadece otogreftler, yukarıda

bahsedilen dört temel özelliği taşımaktadırlar. Otojen kemik greftinde transplantasyon sonrası az miktarda canlı matür osteoblast kalmasına karşın, yeterli sayıdaki kök hücrelerinden matür osteoblastlar gelişebilmektedir (Cypher ve Grossman 1996, Triffitt 1996). Otogreftin diğer bir avantajı, herhangi bir yabancı cisim reaksiyonu oluşturmamasıdır. Aynı şekilde enfeksiyona gösterilen direnç ve hastalık transferinin söz konusu olmaması da diğer greftlerle karşılaştırıldığında üstün bir özellik olarak göze çarpmaktadır (Moore ve ark 2001).İnsanda otojen greft kaynağı olarak, en sık iliak kemik, fibula, kalvarial kemik ve kostalar kullanılmaktadır. Bu kaynakların yanısıra mandibulanın korpus ve simfizisi, maksillanın tüberi sınırlı miktarda da olsa kullanılabilmektedir (Solheim ve ark 1992, Rabie ve ark 2000, Betz 2002).

Otojen kemik grefti, intramembranöz orjinli (kalvarial kemik, mandibula) veya endokondral orjinli (iliak, kostalar) olabilir. İntramembranöz tipteki kemik grefti ile defekt direkt olarak kemikle iyileşir. Endokondral tipteki kemik greftinde ise, defekt kartilajın formasyon fazı aracılığıyla iyileşir (Rabie ve ark 2000). İntramembranöz kemik endokondral kemikten daha önce revaskülarize olur, rezorbsiyonu ise daha yavaştır (Rabie ve ark 2000, Seiler ve Johnson 2000).

İliak kemikten elde edilen kansellöz kemik, birçok çalısmada kullanılmış olup başarılı bulunmuştur. Bu tipteki greft materyali yapısal bir bütünlük göstermese de, bölgede bulunan kemik dokusu ile osteointegre olur ve hızlı bir iyileşme gösterir (Gazdag ve ark 1995, Stevenson 1998).

Otojen kemik greftleri bu avantajlara karşın bazı dezavantajları da içermektedir. Greftin sınırlı miktarda elde edilmesi, donör alan morbiditesi, ağrı, operasyon süresinin ve dolayısıyla anestezi süresinin artması, intraoperatif kan kaybına neden olması, rezorbe olmaları, ikinci bir cerrahi operasyon gerektirmesi gibi dezavantajlarından dolayı alternatif greft materyallerine ihtiyaç duyulmuştur (Bernard 1991, Gazdag ve ark 1995, Gunzburg ve Szpalski 2002).

1.10.2. Allogreftler

Otojen kemiğe alternatif olarak düşünülen allogreftler, aynı tür içinde bir bireyden alınıp diğer bir bireye greftin implante edilmesi anlamını taşır (Gülsün ve ark 1997, Bauer ve Muschler 2000, Betz 2002). Allogreft, osteojenik hücre

içermemesi dışında otogreftler ile aynı özellikleri taşımaktadır. Osteoindüktif özellikleri ise, demineralizasyon işlemleri sonucu oldukça azalmaktadır (Gülsün ve ark 1997, Moore ve ark 2001, Betz 2002).

Allogreftlerin avantajları arasında; donör alan cerrahisi ve morbiditesinin olmayışı, geniş kemik defektindeki başarı oranının % 60-90 arasında olması, intraoperatif kan kaybının ve postoperatif ağrının olmaması sayılabilir (Gülsün ve ark 1997, Moore ve ark 2001, Betz 2002).

Bununla birlikte allogreftlerin dezavantajları da bulunmaktadır. Bakteriyel enfeksiyon, viral hastalıkların taşınması (hepatitler, HIV), donörden donöre değişen kemik kalitesi, ucuz olmaması, yabancı cisim reaksiyon potansiyeli dezavantajlarından bazılarıdır. Postoperatif dönemde ise allogreftte kırılma, kaynaşma olmaması ve enfeksiyon gibi komplikasyonlar rapor edilmiştir (Simonds ve ark 1992, Betz 2002).

Allogreftteki bu dezavantajları azaltmak ve yabancı cisim reaksiyonunu indirgemek için canlı hücreler uzaklaştırılır. Bu prosedür ile allogreftlerde canlı hücre olmamasından dolayı osteojenik özellikler de zayıflar. Osteojenik özelliklerin durumu, greftin işlenme metodu ile direkt ilişkilidir (Bauer ve Muschler 2000). Taze dondurulmuş kemik sadece dondurma işleminden geçmekte ve osteoindüktif proteinleri yapısında bulundurmaktadır (Erkoçak 1975). Dondurulmuş kurutulmuş greftler ise, greftin önce dondurma sonra vakum içinde mevcut buzun direkt olarak buharlaştırılmasıyla elde edilir. Bu işlem ile greft içindeki hücreler öldürülüp immün reaksiyon riski azaltılmaktadır. Demineralize dondurulmuş kurutulmuş greftte ise, greft önce kuvvetli asit banyosundan geçirilir. Sonra etanol ve kloroform uygulanır ve yağlar eritilir. Bu işlemler ile proteinlerin % 90'ı yok edilir. Yoğun bir şekilde yıkandıktan sonra dondurulup kurutulur. Bu işlem sonunda kemikte kalan proteinlerden biri, kemik şekillendirici proteindir (BMP) (Amler 1987). Klinik uygulamalarda değişen düzeylerde başarı elde edilmesi, demineralizasyon ve sterilizasyon işlemlerinde osteoindüktif proteinlerin korunması ile ilişkilidir (Erkoçak 1975).

Bazı araştırıcılar, allogreftin zayıflayan osteojenik özelliğini arttırabilmek için otojen greftler ile karıştırmayı önermişlerdir (Gazdag ve ark 1995). Hastalık transfer

riski ve zayıflayan osteojenik özellikten dolayı allogreftlere de alternatif greftler aranmıştır.

1.10.3. Ksenogreftler

Bir türden elde edilmiş greftin farklı bir türe implante edilmesidir. Ksenogreftler, antijenlerinin insan türünden farklı olmasından dolayı yabancı cisim reaksiyonuna neden olurlar. Bu reaksiyonu azaltmak için uygulanan agresif yöntemlerden dolayı, osteojenik kapasiteleri de düşük seviyelerde kalmaktadır. Bu nedenlerden dolayı kullanımı oldukça kısıtlıdır (Bauer ve Muschler 2000).

1.10.4. Sentetik Greftler

Otogreftlerin sınırlı miktarda elde edilmesi, allogreft ve ksenogreftlerin hastalık transfer riski gibi istenmeyen özelliklerinden dolayı, günümüzde arastırmacılar sentetik yolla üretilmiş greft materyallerine yönlenmişler ve birçok sentetik materyal kemik defektlerinde kullanılmak üzere üretilmiştir. Bu konuda birçok materyalin bulunması, bu materyallerin iyi bir şekilde araştırılmasını zorunlu kılar. Alloplastlar, son yıllarda maksillofasiyal iskeletin onarımında kullanılan gerekli bir materyal haline gelmiştir (Sanan ve Haines 1997, Tuksan ve Yaltırık 2002).

İdeal bir alloplast şu özellikleri taşımalıdır:

- Sitotoksik, karsinojen, irritan olmamalı, alerji yapmamalı, spesifik ve non-spesifik immün sistem mekanizmalarını harekete geçirmemeli
- Mekanik basınçlarla fiziksel değişikliklere uğramamalı, kırılma ve bükülmeye karşı dirençli olmalı
- Değişik sistemlerle bozulmadan steril edilebilmeli
- Uygulandıktan sonra özelliklerinde ve yapısında herhangi bir değişiklik olmamalı
- Kullanımı ve depolanması kolay olmalı
- Enfeksiyona dirençli olmalı
- Ucuz ve elde edilmesi kolay olmalı
- Osteokondüktif ve osteoindüktif özellikte olmalı
- Minimal düzeyde fibrotik reaksiyon göstermeli

- Kolayca şekillendirilmeli
- Hidrofilik yapıda olmalı ve
- İmplante edildiği dokuya fiziksel olarak benzemelidir (Türker ve Yücetaş 1997, Moore ve ark 2001, Szpalski ve Gunzburg 2003).

Otojen kemik greftleriyle karşılaştırıldığında, alloplastik implantların bazı avantajları göze çarpmaktadır. En göze çarpan avantajı, donör sahaya ihtiyaç duyulmamasıdır. Ek bir operasyon alanı ve ilave anestezi süresi oluşmaz. Ayrıca istenilen miktarda ve büyüklükte elde edilebilmektedirler (Ellis 1998, Bloomquıst ve Turvey 2000, Khan ve ark 2000).

Alloplastların çoğu sadece osteointegrasyon ve osteoindüksiyon özelliklerini taşımaktadır. Bazen yabancı cisim ve enflamasyon reaksiyonuna da neden olabilmektedirler. Enflamasyon alanında greftin rezorbe olması ihtimali, dezavantajlarındandır (Bloomquıst ve Turvey 2000).

Alloplastik materyallerin başarı veya başarısızlığı birçok etkene bağlıdır. Örneğin; kimyasal birleşimi, biostabilitesi, fiziksel formu, mekanik özellikleri, implant yapılacak olan saha gibi. Vücutta genel olarak bulunan maddelerin, alloplastların kimyasal yapısında bulunması implantın başarı oranını arttırır. İskelet sistemi primer olarak kalsiyum, yumuşak dokularda da hidrokarbondan oluşur. Genelde alloplastlar bu iki yapının temel taşı olan karbon ve kalsiyumdan elde edilmişlerdir (Bloomquıst ve Turvey 2000).

Periyodik tabloda karbonun atom numarası 6'dır. Çevresindeki kimyasal ve fiziksel özellikleri bakımından en uygun madde ise silisyum (silikon)dur. Atom numarası 14 ve periyodik tabloda karbonun tam altında yer alır ve yumuşak doku augmentasyonunda implantın uygun manüplasyonuna izin verir. Kalsiyumun atom numarası 20 olup, çevresindeki en uygun element ise hemen altındaki atom numarası 22 olan titanyumdur. İskelet sistemi titanyumun implant olarak kullanımına izin verir. Bu iki elementin karbon ve kalsiyum ile benzerliğinden dolayı yabancı cisim reaksiyonu gerçekleşmemektedir. Buna göre biyouyumlu implant olarak en sık kullanılan maddelerin, silikon ve titanyumdan oluşması gerekmektedir. Genel olarak alloplast materyallerin elemental özellikleri kalsiyum ve karbona yaklastıkça, uzun dönem başarısı artmaktadır (Bloomquıst ve Turvey 2000).

İmplantın fiziksel özellikleri değerlendirildiginde, iki özelliği çok önemlidir. Birincisi porozitedir. Eğer porlar 50µm'den daha küçükse porların arasına doğru istenilen doku büyümesi gerçekleşmez. Eğer porun boyutları 1µm'dan daha genişse porlar arasına rahatlıkla bakteriler yerleşir ve bakteriyel migrasyondan bahsedilir. Porların büyüklüğü aynı zamanda dokunun içten büyümesini de arttırmalıdır (Bloomquıst ve Turvey 2000, Hinz ve ark 2002).

Eğer implantın porları 50µm ise ve bakterilerle kontamine olmuşsa fagositik hücreler bölgeye göç edebilir. 50µm'den daha küçük porlara doğru fagositik hücreler göç edemez ve bakterilerden de temizleyemezler, bölgede enfeksiyon gelişir. Porun boyutları 50µm'den daha büyük olduklarında doku içine büyümesi ve makrofaj permeabilitesi de artar. Dolayısıyla 50µm'den büyük porlu implantlarda enfeksiyon riski azalır. Bununla birlikte uygun lokal koşullar mevcutsa, herhangi bir implantta por büyüklüğüne bağlı kalmaksızın kronik enfeksiyon da gelişebilir (Bloomquıst ve Turvey 2000).

Greftin başarısı için önemli olan diğer özellik, fiziksel formudur. Bu nitelik, maddenin biyouyumunu etkiler. Partiküllerin taşıdığı riskin minimal olduğu biyomateryallerin seçimi, çok önemlidir. Doku makrofajları, partiküllerinin çapı 60µm'dan daha büyük olan materyallerin fagositozunu yapamaz. Partikül büyüklüğü 20-60µm arasında olan partiküllerin fagosite edilmesi, makrofajların ölümüne ve intrasellüler enzim salınımına neden olur. Bu sitokin salınımına, lokal enflamatuar cevaba ve diğer makrofajların bölgeye kemotaksisine neden olur. Ayrıca, alloplast partiküllerinin de içinde olduğu debridleri fagosite eder. Bu döngü, kronik enflamatuar yanıt artana kadar devam eder (Bloomquıst ve Turvey 2000).

Greft bölgesindeki mekanik çevre ve revaskülarizasyonda hücre farklılaşmasında büyük bir öneme sahiptir. Eğer kemik grefti yeterli mekanik stabiliteyi sağlayamazsa, greft ve alıcı arasında granülasyon dokusu ve fibrozis gelişecektir (Bauer ve Muschler 2000).

Greft ile alıcı bölge arasındaki kaynaşma miktarı ve seviyesi alıcının doku kalitesi ile de yakından ilişkilidir. Greft bölgesinin vaskülarizasyonu ve bu bölgeye kök ve endotel hücrelerinin migrasyonu da başarı için önemlidir. Bir defekt bölgesindeki yoğun miktarda skar, kötü vaskülarizasyon, defektin geniş olması,

öncesinde geçirilmiş veya devam eden enfeksiyon, suprese immün sistem ve bölgeye uygulanmış radyoterapi gibi faktörler kök hücre sayısının azalmasına neden olur, bu da dolayısıyla başarıyı olumsuz yönde etkiler (Bauer ve Muschler 2000).

Bu bilgiler ışığında yukarıda sayılan tüm özellikleri taşıyan sentetik bir materyal bulunmamaktadır.

Oral ve maksillofasiyal bölgede kullanılan metaller genelde titanyum, titanyum-alüminyum-vanadyum alaşımını içermektedir. Saf titanyum, hava veya sıvı dokular ile temas ettiğinde minimal korozyon ve düşük yoğunlukta da yüksek dayanıklılık gösterir. Alüminyum materyalin dayanıklılığını arttırırken, vanadyum korozyonu önler. Son yıllarda titanyum yüzeyi çeşitli maddelerle kaplanarak yüzey alanı genişletilmeye çalışılmış ve bu şekilde daha iyi bir iyileşme sağlanmak istenmiştir. Bu amaçla titanyum, titanyum plazma sprey, hidroksiapatit, lazer ve asit kullanılmıştır (Türker ve Yücetaş 1997). Metaller tamamen biyouyumlu ve osteointegrasyona hazır olmalarına karşın, intraoperatif şekillendirme zorluğu ve belirli anatomik ihtiyaçlara göre fabrikasyon üretilmesi kullanımını kısıtlamıştır (Ellis 1998, Bloomquıst ve Turvey 2000, Tuksan ve Yaltırık 2002).

Başka bir sentetik materyal grubu olan polimerler grubuna; polimetilmetakrilat, polietilen, polisülfon gibi materyaller girmektedir. Önceleri polimerler yük taşıyan metalik implantlarda, güç absorbe etme özelliğinden dolayı kullanılmıştır. Bununla birlikte kret augmentasyonunda klinik araştırmalarına konu olmuşlardır. Yapılan çalısmalarda polimerler, iyileşme ve kemik gelişmesini motive edebilen potansiyel ortaya koydukları ileri sürmüşlerdir (Anne ve ark 1991).

Ancak son araştırmalarda polimerlerin çiğneme kuvvetini istenilen düzeyde karşılayamadıkları, bu nedenle preprotetik cerrahide kullanımının kontrendike olduğu, plastik ve rekonstrüktif cerrahide ise kuvvetin gelmediği non-fonksiyonel alanlarda sınırlı kullanılması gerektiği rapor edilmiştir (Ortolani ve ark 1991).

Bu gruptaki diğer sentetik materyal ise, kalsiyum sülfatlardır. Kalsiyum sülfat alçıtası mineralinden elde edilmekte olup, ilk kez 10. yüzyılda Araplarda kırık tedavisinde kullanılmıştır (Mirzayan ve ark 2001). Peltier ve arkadaşları çalısmalarında, kalsiyum sülfatın ilk kez 1852' de alçı ile birlikte bandajlanabilir bir formda kullanıldığını ve daha sonra 1892' de % 5'lik fenol solüsyonu ile birlikte

osteomyelit tedavisinde kemik içi defeklere uygulandığını bildirmişlerdir (Peltier ve Bickel 1957). Kalsiyum sülfat, osteokondüktif bir etki göstererek defektin içinden vasküler yapıların ve bunlarla ilişkili olan fibrojenik ve osteojenik hücrelerin büyümesine olanak sağlar. Bu özelliğin gerçekleşebilmesi için önemli nokta ise, kalsiyum sülfatın periosteum veya endosteum ile örtülü olmasıdır (Coetzee 1980). Kalsiyum sülfatın hızlı bir şekilde rezorbsiyona uğraması osteomyelit tedavisinde bir avantaj olabilmektedir. Aynı zamanda kalsiyum sülfat içine antibiyotik eklenmesi, özellikle osteomyelit tedavisinde ikinci bir operasyon ihtiyacını azaltmaktadır. Günümüzde tobramisin ile karıştırılmış medikal grade kalsiyum sülfat ticari olarak mevcuttur (Osteoset: Wright Medical Technology, Arlington, TN, USA). Kalsiyum sülfat sıkıştırıcı kuvvetlere karsı spongioz kemikten daha fazla direnç gösterirken, gerilme kuvvetlerine karsı da spongioz kemiğe benzer oranlarda az bir direnç göstermektedir. Bununla birlikte kalsiyum sülfat defekte yerleştirilirken mutlak kuru bir ortamda hazırlanıp implante edilmelidir, aksi takdirde kırılmaya eğilim gösterir (Moore ve ark 2001).

Ortopedide ve maksillofasiyal cerrahide, yaklaşık 30 yıldır kullanılmakta olan kalsiyum sülfat, osteokondüktif bir ajandır. Defekte yerleştirildiginde kemik boşluklarını doldurarak fibröz doku oluşmasını engeller ve iyileşmeyi hızlandırır. Kalsiyum sülfat rezorbe olduğu zaman fibrovasküler dokular yerini alır ve neovaskülarizasyona izin verir (Tay ve ark 1999). Kalsiyum sülfatın osteokondüktif olarak bilinmesine karşın, araştırmacılar osteoindüktif özelliğini de rapor etmişlerdir. Kalsiyum sülfat, ortam pH'ının düşmesi durumunda demineralize olmaktadır. Bu demineralizasyon ise, iyileşme sürecini stimule eden osteoindüktif moleküllerin salınımına izin vermektedir (Walsh ve ark 1995).

Sentetik greftlerden biri medikal grade kalsiyum sülfat hemihidrattı. (MGKS) (SurgiplasterR). Kalsiyum sülfat 110 yılı aşkın zamandır kemik rejenerasyonu amaçlı, birçok deneysel ve klinik çalışmalarında kullanılmaktadır. Medikal grade kalsiyum sülfat hemihidrat vücuda implante edildiğinde tamamen rezorbe olur ve arkasında kemik rejenerasyonunu gerçekleştiren bir çatı bırakır. Bu materyal; osteojenik olmayan hücreleri inhibe ederek tümüyle rezorbe olur ve osteokondüktifdir. Şekillendirmesi ve yerleştirmesi kolaydır, pahalı değildir. Kalsiyum sülfat hemihidratın kullanılabileceği durumlar şunlardır. Oral cerrahide diş

çekimi sonrası uygulanarak alveoler kemiğin formunu koruması sağlanır. Yine intraossöz defektlerde, apikal rezeksiyonda, kök perforasyonunda ve implantolojide (sinüs kaldırılmasında, dehisens ve fenestrasyonlarda) kullanılması endikedir. Kalsiyum sülfat oral cerrahinin yanısıra; kraniofasiyal cerrahide, distal radiusta, uzun kemik defektlerinde, spinal füzyonda, osteokondral defektlerde ve benign kemik lezyonlarında da uygulanabilmektedir (Walsh ve ark 1995).

İmplante edilen materyal kadar kemik defektinin büyüklüğü, şekli, konumu da greftin başarısını etkilemektedir. Murashima ve arkadaşları, yaptıkları deneysel çalışmada köpeklerin mandibular molar dişlerine açtıkları değişik tip defektlere kalsiyum sülfat yerleştirmişler ve kalsiyum sülfatı bukkal duvardan lingual duvara kadar hazırladıkları kemik defektinde daha başarılı bulurken, gingival sulkus ile ilişkili defektlerde başarısının düştüğünü saptamışlardır (Murashima ve ark 2002).

Araştırmacılar greftin başarısını arttırmak için, çoğu zaman bir başka greftle veya büyümeyi indükleyen maddelerle kombine ederek kullanmışlardır. Bu amaçla Cortellini ve arkadaşları, defektin içine fibrotik doku büyümesini engellemek için kalsiyum sülfatı kollojen membran ile kombine ederek kullanmışlardır. Bariyer yerleştirmedikleri gruba göre daha başarılı sonuçlar elde etmişlerdir (Cortellini ve ark 1993-Cortellini ve ark 1994). Başka çalısmalarda da muhtelif araştırmacılar; bu grefti antibiyotikler, büyüme faktörleri ve kemik morfogenetik faktörleri (Bone Morphogenetic Factors- BMP) ile kombine etmişlerdir (Walsh ve ark 1995).

İmplantolojide, sinüsün kaldırılması veya oral cerrahide sinüsplasti operasyonu bazen klinisyenleri zorlamaktadır. Defektin büyüklügü, sinüsün alveoler krete yaklaşması ve sinüzitis bu tabloyu daha dramatik hale getirebilir ve greft kullanılması kaçınılmaz hale gelebilir. Pecora ve arkadasları, sinüs augmentasyonunda kalsiyum sülfatı kullanmışlar ve greft materyali olarak kalsiyum sülfatın sinüs augmentasyonunda kullanılabilir bir madde olduğunu rapor etmişlerdir (Pecora ve ark 1998). Bu konuda yapılmış başka bir çalısma ise, Leonardis ve arkadaşlarının sinüs augmentasyonunda kalsiyum sülfatı kullandıkları araştırma olup, bu çalışma sonunda kalsiyum sülfatı efektif bulduklarını rapor etmişlerdir. Ayrıca kalsiyum sülfatın diğer greft materyalleri ile veya antibiyotiklerle kombine kullanılabilirliğini ve daha çok araştırma yapılmasını da önermislerdir (De Leonardis ve Pecora 1999).

Kalsiyum fosfat ailesi, sentetik kemik greftleri içinde hem osteointegrasyon hem de osteokondüksiyon özelliği olan sentetik bir materyal grubudur. Osteointegrasyon, kemik greftinin implantasyonundan hemen sonra oluşmaya başlayan hidroksiapatit (HA) tabakasının formasyonu ile oluşur. HA tabakasının oluşması için, implanttan ve defektin etrafındaki kemikten kaynaklanan Ca^{+2}ve PO_4^{-2} iyonlarına gereksinim vardır. Bu greft materyali biyouyumlulukta mükemmeldir. Rapor edilmiş hiçbir sistemik toksisite veya yabancı cisim reaksiyonu bulunmamaktadır (Hollinger ve Battistone 1986). Kalsiyum fosfat seramikler, biyouyumluluk özelliklerine göre sınıflandırılmıştır. β-trikalsiyum fosfat (βTCP) ve HA kemik dokusunun inorganik komponentine benzeyen ve çeşitli nedenlerle yok olmuş kemiğin telafisine yeni bir boyut getiren kristal yapıdaki biyomateryallerdir (Ylien ve ark 2002).

βTCP, kemik grefti olarak bilinen en eski kalsiyum fosfat içeriğidir. 1920 yılında Albee ve Morrison, segmental kemik defektine βTCP enjekte edildiğinde, kemik oranının arttığını rapor etmişlerdir (Albee ve Morrison 1920). βTCP granüler veya blok tarzında, solid veya porlu yapıda hazırlanmıştır. Yapısal olarak porlu βTCP' ın sıkıştırma ve gerilme kuvvetlerine direnci spongioz kemik ile hemen hemen aynıdır (Jarho 1981). Diğer kalsiyum fosfat preparatları gibi βTCP da kırılgan olup gerilme ve kopmaya karşı zayıfken, sıkıştıran kuvvetlere karşı dirençlidir (Geesink ve Degroot 1988). Genelde βTCP 'ın granüler formu kullanılmaktadır. Poröz granüler formun, erken dönemde fibrovasküler yapıların greftin içine doğru büyümesiyle stabilizasyon sağlanır. Bu özellik nedeniyle poröz form solid granüler forma nazaran daha az oranda migrasyona uğramaktadır (Byrd ve Hobar 1993). βTCP 6-18 ay sürecinde çözülme yoluyla rezorbe olmaktadır. Ancak βTCP ile kemiğin yer değiştirmesi, aynı süreç içinde gerçekleşmez. Dolayısıyla defekt bölgesinde daima rezorbe olan βTCP miktarından daha az miktarda kemik bulunmaktadır. Bu sebeple, βTCP' ın klinik kullanım sıklığı, diğer rezorbe olan kemik greftleriyle benzer sayılır (Hollinger ve Brekke 1996).

βTCP'ın porlu yapısı spongioz kemiğin trabeküler yapısını taklit etmektedir. Bu greftin yapısındaki küçük porlar; kemik şekillendiren hücrelerin, besinlerin, büyüme faktörlerinin, kapiller damarların ve resorbsiyon yapan fagositik hücrelerin araya girmesine izin verir. Daha büyük porlar vaskülarizasyonu ve içten büyümeyi

teşvik eder. βTCP, osteokondüksiyon için optimum büyüklükte porları (150-500μm) içermektedir ve partikülleri, remodeling fazında (yeniden şekillenme) osteoklastların içeri girebilmesi için ortalama 100 nm çapında üretilmiştir. Aynı zamanda bu seramik yapı, intraoperatif dönemde rahatlıkla şekillendirilebilmeye olanak verir. Tüm seramik yapıdaki materyaller gibi βTCP'da osteoindüktif özellik göstermemektedir (Gazdag ve ark 1995, Erbe 2000, Turner ve ark 2003).

1970'lerde üretilen diğer bir kalsiyum fosfat preparatı ise, Hidroksiapatit (HA)'dir. Kemiğin temel elementi olan HA, C_{10} $(PO_4)_6$ $(OH)_2$ formülasyonundadır. Sentetik HA seramik veya non-seramik formda, porlu veya solid tarzda, blok veya granül şeklinde bulunur. Granül formu periodontal kemik defektlerinde, blok formu ise alveoler kret augmentasyonunda kullanılmaktadır (Ylien ve ark 2002). HA, kristal forma girmesi için 700-1300 ^oC arasında ısıtılmaktadır. Seramik HA preparatları, invivo ortamlarda rezorbsiyona oldukça dirençli olup, yılda ortalama kütlesinin % 1-2'si rezorbe olmaktadır (Constantino ve Freidman 1994). Buna karşın, seramik olmayan HA invivo ortamda kolayca rezorbsiyona uğramaktadır. Sentetik HA sıkıştırıcı kuvvetlere karşı dirençliyken, gerilme ve kopmaya karşı dirençsizdir ve HA kırılgan olup, ani kuvvette fraktür gelişme riski artmaktadır. Sentetik HA' in solid blok formunu şekillendirmek oldukça zordur. Fibroossöz büyümeye izin vermezken, elastisite modülü kemikten daha yüksektir. Metal implantların osteointegrasyonunu arttırmak için, yüzeyleri sentetik HA ile kaplanmaktadır (Havelin ve ark 2000, Stmad ve ark 2000). HA' in porlu granüler yapısı, kemik defektlerini doldurmak için tek başına kullanılabildiği gibi, diğer kemik greftleri ile beraber de kullanılabilmektedir (Oonishi ve ark 1997).

HA çoğu klinik kullanımlarda başarılı sonuçlar vermiş olmasına karşın, rezorbsiyon hızının yeni kemik oluşum hızı ile kıyaslandığında daha yavaş olduğu rapor edilmiştir. Rezorbsiyonu yavaş olduğu için de invivo ortamda çok uzun süre kalmaktadır. Bu da bazı komplikasyonlara yol açabilmektedir (Ylien ve ark 2002).

Son yıllarda HA' in fonksiyonunu ve rezorbsiyon oranını arttırmak için, diğer maddelerle kombinasyonu veya modifikasyonu gündeme gelmiştir (Bauer ve Muschler 2000). Bu amaçla HA ile TCP kombine edilmiş ve bifazik kalsiyum fosfat elde edilmiştir.

Bifazik kalsiyum fosfat olan βTCP/HA (CamceramR) materyalinin % 60'ı HA içerirken, % 40'ı da βTCP' den oluşmaktadır. İçeriğinde bulunan HA %100 kristal yapıda iken, TCP ise tamamıyla beta trikalsiyumdan oluşmaktaydı. βTCP/HA osteokondüktif özelliktedir ve yapısındaki 100-500 μm çapındaki porlar ile kemik büyümesini teşvik etmektedir. βTCP/HA biyolojik olarak rezorbe olup, kemiğin optimal büyüme ve şekillenmesini gerçekleştirir. Bu içerik doğal kemiğe yakın özellikte olduğu için, biyouyumluluğu iyi derecededir. Greft materyali tek başına kullanılabileceği gibi, otogreftlerle veya kemik iliği ile kombine şekilde de kullanılabilir.

βTCP/HA ile yapılmış bir çalışmada, skolyozlu 12 pediatrik hastaya βTCP/HA ve otogreft ile birlikte internal fiksasyon ve füzyon uygulanmıştır. Hem βTCP/HA uygulanan grupta hem de otogreft ile kombine edilen grupta 15 aylık takiplerin sonunda başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Borelli ve ark 2003). Bucholz tarafından yapılan başka bir araştırmada ise, metafizal defekti olan 40 hastaya interporözlü HA ve otogreft uygulanmış olup, çalışma sonunda iki grup arasında hiçbir radyolojik ve klinik farklılığın olmadığı rapor edilmiştir (Buccholz ve ark 1989).

Daculsi ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir araştırmada, bu greft materyali insanlardaki ve köpeklerdeki uzun kemik defektlerine yerleştirilmiş ve 2., 4., 8. ve 18. haftalarda kontrol edilmiştir. Sonuç olarak βTCP/HA'ın yeni kemik formasyonuna neden olduğu bulunmuştur (Daculsi ve ark 1990).

Heise ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; skolyozlu, soliter kemik kistli, tümörlü hastalardan 3 grup oluşturulmuş ve 1.gruba bifazik kalsiyum fosfat, 2. gruba otogreft ile kombinasyonu ve 3. gruba ise sadece otogreft yerleştirilmiştir. Çalısmalarında, kalsiyum fosfat grubunun greft gerektiren hastalarda tek başına güvenle kullanılabileceğini rapor etmişlerdir (Heise ve ark 1990).

Muschik ve arkadaşları dorsal spinal füzyonda oluşan skolyozlu hastalara βTCP ve otogreft uygulamışlar ve βTCP'ın bu olgular için oldukça iyi bir kemik grefti olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca klinik ve radyolojik bulguların ışığında, βTCP ve otogreftin birbirine yakın oranda füzyon gerçekleştirdiğini saptamışlardır (Muschik ve ark 2001).

1.11. Kemik Greftlerinin Patofizyolojisi

Kemik birçok spesifik hücre içeren kompleks bir dokudur. Osteoblastlar kemik formasyonundan, osteoklastlar kemik rezorpsiyonundan sorumludur. Hücresel olmayan bağ dokusu inorganik ve organik matriks içerir. Kemiğin zengin dolaşım ağı 3 kaynaktan beslenir. Bunlar periostal, endostal ve çevre yumuşak doku damarlarıdır. Kemikte kırık veya herhangi bir nedenle bütünlük bozulursa, ayrılan parçanın dolaşımı da bozulur.

Greft uygulanan bölgede operasyondan hemen sonra dakikalar içinde o alanda trombosit agregasyonu oluşur. Trombositler fibroblast büyüme faktörü (FGF), insülin büyüme faktörü (IGF) gibi büyüme faktörlerini salgılarlar. 1-18 saat içinde polimorf nüveli lokosit kemotaksisi ve akümülasyonu oluşur. Bunu 1-3. gün içinde mezenkim hücreleri göçü ve çoğalması takip eder. 5-9. günlerde kondrosit farklılaşımı, 10-12. günlerde osteoblast farklılaşımı ve primer kemik doku oluşumu, 12-18. günlerde artmış osteoblastik aktivite ile kemik remodellingi oluşur. 21'inci günden sonra kemik iliği oluşumu başlar. Canlı kemik greft hücrelerinden erken kemik oluşumu (kallus formasyonu) cerrahi sonrasında 4-8. gün arasında olur. Kansellöz kemik greftinin, yeni kemik oluşum potansiyeli (yüzey alanı fazlalığına ve osteoblast göçüne bağlı olarak) kortikal greftten çok daha fazladır. Kemik remodeling sürecinde, osteoklastik aktiviteyi osteoblastik aktivite izler. Bütün primer kemik dokunun yerini sekonder kemik doku alır ve bu işlem ömür boyu sürer.

Kemik greftlerinde 5 evre sonunda şekillenmiş kemik oluşur. Bunlar inflamasyon, osteogenezis, revaskülarizasyon, remodeling ve şekillenmiş kemik evreleridir. Kansellöz kemik greftleri genellikle tamamen rezorbe edilip alıcının kemik dokusu ile yer değiştirirken; kortikal kemik greftleri tamamen rezorbe edilemezler. Kansellöz kemikte 2. günden itibaren revaskülarizasyon başlarken, osteoklastlar vasıtası ile greftin rezorpsiyonu da başlamış olur. Revaskülarizasyon greft çevresinde başladığından, kansellöz kemik greftin orta kısmında nekrotik bir saha oluşabilir ve bu da radyolojik olarak dansite artışıyla izlenebilir. İnflamasyon, revaskülarizasyon ve osteoindüksiyon çok erken başlayan ve genellikle dinamik bir süreç iken, remodeling ve osteokondüksiyon aylar süren bir süreçtir. Kemik grefti iyilesmesinde 3 temel elemente ihtiyaç vardır:

- Hücre komponenti: Osteoblastik ve osteoprogenitör hücrelerin kemotaksisi ile revaskülarizasyon ve rejenerasyon başlar.
- Büyüme ve farklılaşma faktörleri: En önemli büyüme faktörleri polipeptit büyüme faktörleri (PGF), FGF, PDGF ve IGF'dir. Farklılaşma faktörlerinden özellikle kemik morfogenik proteini (BMP-2 ve 7) greft iyileşmesinde çok önemlidir.
- Kemik iskele matriksi: Bu iskele matriksi hem osteoindüktif hem de osteokondüktif özelliğe sahiptir.

Kemik greftinin iki ana fonksiyonu, osteogenezise kaynaklık yapmak ve mekanik destek sağlamaktır. Travma, kemik tümörü operasyonu gibi kemik kayıplarında yük taşımayan alanlarda kemik defektini doldurmada kansellöz kemik grefti tercih edilirken, yük tasıyan alanda kemik defektini doldurmada kortikal veya kortiko-kansellöz kemik greftleri kullanılır (Kekilli ve ark 2005).

Kemik grefti iyileşmesinde en önemli etken bölgenin kanlanmasıdır. Kemik matriksi, sitokinler, hormonlar ve alınan gıdalar iyileşmedeki diğer etkenler arasında sayılabilir. Radyasyona uğramış kemikte revaskülarizasyon ve rejenerasyon kabiliyeti önemli ölçüde azalmıştır. Bu kemiklere greft uygulanmasında iyileşme problemi bu nedenle daha sıktır. Greftler iyi sabitlenmezse genellikle kaynama problemi görülür. Bu nedenle greftler internal fiksasyon ile sabitlenirler (Kekilli ve ark 2005).

Progenitör hücrelerin biyosentetik kemik greftlerine eklenmesi mutlaka gerekli olsa da, bu hücrelerin tek başlarına kullanımı kemik doku mühendisliği için yeterli değildir. Kemik üretiminin en önemli ve mutlaka gerekli parametrelerinden biri, osteogenez sırasında progenitör hücrelerin yerleşeceği osteokondüktif bir iletim ortamıdır. Osteokondüktif matriksler greftleme alanında kemiğin iyileşmesini başlatacak olan hücrelerin yapışması, migrasyonu ve dağılımı için gerekli uygun ortamı sağlar. Yapısal iskeleti ve uygun ortamı sağlayan bu materyallerin aynı zamanda biyolojik olarak çözünebilir olması gereklidir (Tomin ve ark 2002).

Genellikle taşıyıcı matriksler osteoprogenitör hücreleri kendilerine çekme, migrasyonlarını kolaylaştırma ve neovaskülerizasyonu başlatma özelliğindedir. Son aşamada yeni kemik oluşumu başladıktan sonra taşıyıcının işlevi tamamlanır ve zararlı artıklar bırakmadan emilmesi beklenir (Tomin ve ark 2002).

Greft materyalinin osteoblastların kolayca tutunabilecegi, defekt bölgesinde anjiogenezisin rahatlıkla oluşabileceği ve materyalin içinde fibröz doku proliferasyonu ile birlikte yeni kemik oluşumunun gerçekleşebileceği şeklinde bir yapısal özellik göstermesi ancak porözite ile mümkündür (Yukna ve ark 1989).

Leonetti ve ark (Leonetti ve ark 2000)'ları, alloplastik maddelerin fiziksel özellikleri kadar kimyasal yapılarının da önemli olduğunu belirtmişlerdir. Aynı zamanda partikül yoğunluğu, kristal hacmi, porözite ve hazırlama tekniğinin de klinik başarıda etkili olduğunu bildirmişlerdir.

De Groot, (De Groot 1983) mikroporozitenin ve makroporozitenin sert dokuda reaksiyon oluşturma konusunun önemini vurgulayarak, partiküller arası mikroporozitenin rezorbsiyonu, makroporozitenin ise damarlanma ve yeni kemik oluşumunu etkilediğini göstermiştir. Mikroporozite 1-5μm ve makroporozite 100-200μm olarak rapor edilmiştir.

1.12. Ankaferd Kanama Durdurucu (Ankaferd BloodStopper® ABS)

Ankaferd BloodStopper® (ABS), hemostaz düzenleyicisi olarak fonksiyon gören, vücut dışı yaralanmalar, travmatik kesikler, diş operasyonları, spontan ya da cerrahi girişimler sonrası oluşan minör ve majör kanamaların kontrolünde kullanılan ve uygulamada süratle, hemostatik etki elde edilen, standart bitkisel içerikte, stabil ve streril tıbbi bir üründür.

Ankaferd BloodStopper folklorik olarak geleneksel Türk hekimliğinde hemostatik ajan olarak kullanılmış bir bitkisel ekstrakttır. ABS, Thymus vulgaris, Glycyrrhiza glabra, Vitis vinifera, Alpinia officinarum ve Urtica dioica bitkilerinin standardize karışımından oluşmaktadır. Bu bitkilerin tümü tek başına endotel, kan hücreleri, damar oluşumu (angiogenesis), hücresel üreme, vasküler dinamikler ve mediyatörler üzerinde etkilidir.

1.12.1. ABS'nin Bileşimi

ABS formülünde 100 mllik ürün içerisinde; Urtica dioica (kurutulmuş kök ekstresi) 6 mg, Vitis vinifera (kurutulmuş yaprak ekstresi) 8 mg, Glycrrhiza glabra (kurutulmuş yaprak ekstresi) 9 mg, Alpinia officinarum (kurutulmuş yaprak ekstresi)

7 mg, Thymus vulgaris (kurutulmuş ot ektresi) 5 mg bulunmaktadır (http://www.ankaferd.com/abs-formul.php Erişim tarihi: 14 Mart 2015).

Urtica Dioica (Isırgan Otu)

Isırgan otunun taze veya kurutulmuş çiçek açmış bitki ve kökleri tıbbi olarak kullanılmaktadır. Taze ısırgan otunun içeriğinde; histamin, serotonin, asetilkolin, formik asit, lökotrienler, flavanoidler, silisik asit, uçucu yağlar, potasyum iyonları, nitratlar kök kısmında ise steroid, lektin, polisakkaridler, hidroksikumarinler bulunmaktadır (Gruenwalkd ve ark 2007).

Isırgan otu antik çağlardan bu yana tedavi edici bir bitki olarak kullanılmaktadır. Yunan bilgin Dioskorides ve Galen ısırgan otunun idrar söktürücü ve ishal yapıcı etkilerinden ve astma, plörezi ve karaciğer kökenli hastalıkların tedavisinde kullanımından bahsetmişlerdir. Yine Romalı tabiat bilgini Pliny hemostatik özelliklerini rapor etmiştir. Geleneksel Afrika tıbbında burun kanamalarında, menstrurasyon ve iç kanamaların tedavisinde, yanıklarda kullanılmıştır. Hindistanda uterin kanamalarda, cilt döküntülerinde, egzemalarda ve burun kanamalarında kullanılmaktadır. Kuzey Amerika yerlileri antiromatizmal ve doğumda yardımcı olarak kullanmışlardır. Isırgan otu ile yapılan çalışmalarda antifungal, antioksidan, antienflamatuar, antiülser ve analjezik etkinliği olduğu gösterilmiştir (Gülçin ve ark 2003, Göker ve Özmen 2009).

Vitis Vinifera (Üzüm)

Üzümün yaprak kısımları, meyve ve suları tıbbi olarak kullanılmaktadır. Üzüm (Vitis) yeryüzünde kültürü yapılan en eski meyve türlerinden birisidir. Dünyanın değişik bölgelerinde bulunmakla birlikte anavatanı Anadolu, Kafkasya'yı da kapsayan bölgedir ayrıca güney Avrupa'da sıklıkla bulunur (Gruenwalkd ve ark 2007). Üzümün içeriğinde flavoidler, tanin, meyve asitleri, fenilakrilik asit bulunmaktadır. Üzümün periferal venöz yetmezliğe karşı, ayrıca antiaterosklerotik etkinliği, antikarsinojenik ve antitümöral etkinliği, antioksidan etkinliği, sitotoksik etkinliği, vaskuler etkinliği gibi birçok alanda pozitif etkinliği vardır (Ye ve ark 1999).

Glycyrrhiza Glabra (Meyan)

Meyan kökü daha çok tıbbi olarak kullanılmaktadır (Gruenwalkd ve ark 2007). Meyan kökünün içeriğinde tripene saponin, flavoidler, gliserol, ısoflavoidler, steroid uçucu yağlar bulunmaktadır. Üst solunum yolları ve bronşit için mukolitik etkili ekspektorandır. Saponinleri özellikle glisirinizik asit bakteriostatik ve antiviral aktiviteye sahiptir. Gastrit ve mide ülserlerinde, peptik ülser profilaksisinde ve tedavisinde antifloj istik ve spazmolitiktir. Glisirizinik asit ve aglikonu gliseretik asit antiflojistik aktiviteye sahiptir, prostaglandin sentezini engellemez. Her iki madde de drogun mineralokortikoit etkilerinden sorumludur. Spazmolitik etki flavonoitlerden ileri gelmektedir. Yoğun tatlı lezzeti nedeniyle ilaç, şekerleme ve bazı gıda ürünlerine lezzet zenginleştirici olarak konur. Yapılan çalışmalarda antibakteriyel, antifungal, antiviral, antikanser, antioksidan, antiinflamatuar etkileri gösterilmiştir. (Heck ve ark 2000, Gruenwalkd ve ark 2007) .

Alphina Officinarum (Havlıcan)

Bir çenekliler sınıfının zencefilgiller familyasından güzel çiçekli, ıtırlı, çok yıllık, otsu bitkidir. Havlıcanın kök kısımları tıbbi olarak kullanılmaktadır (Gruenwalkd ve ark 2007). Havlıcanın içeriğinde flavoidler, tanin, gingerol, uçucu yağlar bulunmaktadır. Antispazmotik ve antibakteriyel özellikleri vardır (Gruenwalkd ve ark 2007).

Thymus Vulgaris (Kekik)

Kekiğin taze kekik yağı, kuru ve taze yaprakları, çiçek kısımları tıbbi olarak kullanılmaktadır (Gruenwalkd ve ark 2007). Kekiğin içeriğinde uçucu yağ, flavoidlerden luteolin, salvigenin, kafeik asit, ursolik asit gibi birçok bileşik bulunmaktadır. Kekiğin; bronşlarda antispazmodik, balgam sökücü, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiprotozoan ve antioksidan etkileri vardır (Benli ve Yiğit 2005, Gruenwalkd ve ark 2007).

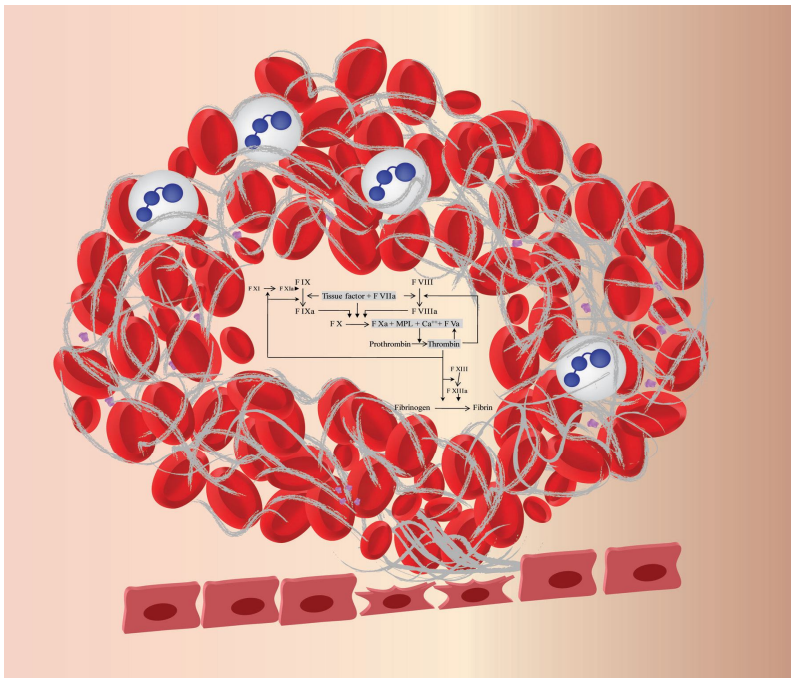
1.12.2. ABS Çalışma Mekanizması

Ankaferd Blood Stopper, klasik koagülasyon kaskad sisteminden bağımsız olarak ‘Protein network’ ortamında vital fizyolojik eritrosit aggregasyonu yoluyla hemostatik etki göstermektedir. Bu süreç in vitro ortamda saliseler, in vivo ortamda

saniyeler düzeyinde gerçekleşmektedir. (http://www.ankaferd.com/abs-formul.php Erişim tarihi: 14 Mart 2015).

1.12.3. ABS Etki Mekanizması

Ankaferd Blood Stopper Kanamayı durdurucu preparatlar; plazma ve serum içinde saliseler düzeyinde kısa sürede bir yapı ağı (network) oluşturur. Yapılan genel hemostatik ve biyokimyasal testler sonucu bu yapı ağının Ankaferd BloodStopper'in kan içindeki proteinler ve asıl olarak da fibrinogenle kurduğu karşılıklı etkileşim ile birlikte oluştuğu ve kırmızı kürelerin vital aggregasyonunu sağladığı ortaya çıkmıştır. Bu süreçte doku onarımına izin verecek düzeyde kan durdurulması işlemi temel olarak protein eritrosit etkileşimi ile bağlantılıdır. Kan hücreleri de bu ağa eşlik ederler. Ankaferd BloodStopper ağında fizyolojik hemostatik işlem doku faktörü-bağlantılı kan pıhtılaşımı yapısından bağımsız olarak, bu sistemi bozmadan gelişir. Bu nedenle Ankaferd BloodStopper hem normal hemostatik değerlere sahip bireylerde hem de birincil ya da ikincil hemostazı defektif olan bireylerde etkilidir. 'Ankaferd BloodStopper' klinik kullanım için yardımcı ürün olarak mukoza çatlakları dahil yoğun dış kanamaları durdurmakta da güvenle kullanılabilir. Ankaferd BloodStopper damar içine ya da kan dolaşım sistemine yerleştirilmemelidir (http://www.ankaferd.com/abs-formul.php Erişim tarihi: 14 Mart 2015) (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. ABS'nin etki mekanizması

1.13. Trombositten Zengin Fibrin (TZF), Platelet-Rich Fibrin (PRF)

Yara iyileşmesini güçlendirmek ve hızlandırmak amacıyla kan kaynaklı ürünlerin kullanımı 40 yıl öncesine, yoğun halde bulunan fibrinojen içeren fibrin yapıştırıcıların kullanımına dayanır (Gibble ve Ness 1990). Tekniklerin ve kullanılan ekipmanların hızlı bir şekilde gelişmesiyle fibrin yapıştırıcıdan daha yüksek konsantrasyonda trombosit ve fibrinojen içeren TZP (Trombositten Zengin Plazma) kullanıma sunulmuştur. Whitman ve arkadaşları tarafından ilk defa 1997 yılında elde edilen bu gelişmiş fibrin yapıştırıcı, yıllardır hemostatik bir ajan ve cerrahi adeziv olarak kullanılmaktadır.

Choukroun'un trombositten zengin fibrini (TZF) ise kan kaynaklı ürünlerin son geliştirilen tipidir. Bu yöntemle kan herhangi bir antikuagülana (sığır trombini, heparin, kalsiyum klorid, EDTA) ihtiyaç duyulmadan alınır ve hemen sonrasında santrifüj edilir. Choukroun'un TZF'sinde doğal pıhtılaşma süreci oluşur ve kanın herhangi bir biyokimyasal modifikasyonuna ihtiyaç duyulmadan lökositten ve trombositten zengin fibrin pıhtının kolay bir şekilde elde edilmesine izin verilir (Dohan ve ark 2006a).

TZF, iyileşme ve immünite için gereken tüm kan elemanlarını içeren ve tek bir fibrin yapıda toplayan, otolog, sikatrisyel bir matrikstir. Bu matriks trombositler, lökositler, sitokinler ve dolaşımda bulunan kök hücrelerin konsantre halde bulunduğu, kompleks, güçlü, üç boyutlu mimaride fibrin yapıdan oluşur. Alınan kanın içerisindeki trombositlerin %97'sinin, lökositlerin ise %50'den fazlasının bu üç boyutlu fibrin yapısı ile TZF pıhtı içerisinde bulunduğu belirtilmiştir (Dohan ve ark 2011)

1.13.1. TZF'in İyileşme Mekanizmasına Etkisi

TZF'in yavaş polimerizasyon süreci, trombosit sitokinlerinin ve glikanik asit zincirlerinin fibrin ağ içerisinde birleşmesine izin verir. Uygulamadan sonra hemen çözülmez; güçlü fibrin yapı doğal kan pıhtısına benzer şekilde remodelasyona uğrar. Bu şekilde lökositler ve trombositler bir araya toplanırlar. Büyüme faktörleri ve trombositlerin yaklaşık %95'i fibrin matriks içinde kalır (Dohan ve ark 2006a). Trombosit sitokinleri, fibrin matriksin fizyolojik rezorbsiyonu esnasında düzenli olarak salınır ve matriks glikoproteinleri TZF'in fibrin mimarisi içerisinde hızlı hücre

göçünü ve hücre çoğalmasını sağlar. Sitokinlerin düzenli salınımı yaralanan doku içerisindeki enflamatuar olaylarda düzenleyici rol oynamaktadır. Fibrin matriks ve içeriğindeki büyüme faktörleri sinerjistik etkileşim ile sert ve yumuşak dokuların doğal yolla ve daha hızlı iyileşmesine olanak tanır. Bu sitokinler ve büyüme faktörleri yara iyileşmesi, hasar görmüş dokuların yerine konması ve vasküler bütünlüğün sağlanmasında rol oynar (Dohan ve ark 2006a).

TZF'in doku iyileşmesini hızlandırmasında, etkili neovaskülarizasyon özelliği, hızlı sikatrisyel doku iyileşmesi ve enfeksiyöz olayların hemen hemen hiç oluşmaması gibi faktörler etkilidir (Dohan ve ark 2011).

TZF, tetra moleküler yapısı ile endotelyal hücreler ve fibroblastlar için matriks oluşturur. Hızlı anjiogenez ve fibrinin kolay remodelasyonunu sağlar. TZF sadece basit bir fibrin yapı değil aynı zamanda iyileşmeyi sağlayan tüm molekülleri ve hücresel elemanları içeriğinde bulunduran bir matrikstir (Choukroun ve ark 2006a). Erken dönemde yara bölgesini korur ve yumuşak dokunun primer kapanmasına yardımcı olur (Del Corso ve ark 2009a).

Fibrin, kollajen sentezi ve biyomekanik yara direncinin sağlanmasında önemlidir, ayrıca fibrin ağ yapısı büyüme faktörlerinin proteolitik degradasyonlarını önleyerek TZF'in etkili olmasını sağlar (Lundquist ve ark 2008).

1.13.2. TZF'in Avantajları ve Dezavantajları

Günümüze kadar geliştirilen kan kaynaklı ürünler arasında kolay uygulanabilir, otojen kaynaklı ve ekonomik bir yöntem olarak dikkati çekmektedir.

TZF'in doğal ve yavaş polimerize olarak herhangi bir otoimmün reaksiyona yol açmaması, alıcı ya da verici sahada enfeksiyon riski oluşturmaması, 28 gün boyunca büyüme faktörü salınımı yaparak kemik mezenşimal kök hücre çoğalmasında ve farklılaşmasında etkili olması avantajları arasında belirtilmiştir (Dohan ve ark 2009a). Bireyin kendisinden elde edildiği için az miktarda ürün elde edilmesi ve sadece verici kişiye spesifik olmasından dolayı doku bankalarının kullanımına izin vermemesi gibi dezavantajları da belirtilmiştir (Dohan ve ark 2011).

1.13.3. TZF'in Hazırlanması

Choukroun'un TZF'si alınan venöz kanın 10 ml'lik kuru cam tüplere veya cam kaplı plastik tüplere toplanarak 3000 rpm devirde 10 dakika boyunca santrifüj (Process Protocol, Nice, France) edilmesiyle elde edilir. Trombosit aktivasyonu ve fibrin polimerizasyonunu sağlamak için sığır trombini, heparin, kalsiyum klorid ve EDTA gibi antikoagülan kullanımına gerek yoktur. Antikoagülanların yokluğunda birkaç dakika içerisinde tüpe komşu trombositlerde, trombosit aktivasyonu ve fibrin polimerizasyonu uyarılır ve koagülasyon süreci başlar (Dohan ve ark 2006a).

Santrifüj sonunda tüp içerisinde 3 katman oluşmaktadır. Tüpün en üstteki kısmında trombositten fakir plazma ortada TZF pıhtı, en alt tabakada ise kırmızı kan hücreleri (KKH) birikmektedir (Dohan ve ark 2006a) (Şekil 1.4).

TZF, steril bir penset yardımıyla tüpün uç kısmına doğru çekilir ve KKH tabakasından ayrıldıktan sonra steril bir metal kabın içerisine aktarılır (Dohan ve ark 2006a).

Çıplak gözle bakıldığında, TZF'in ana gövdesinin sarı bir fibrin pıhtı tabakasından oluştuğu görülür. Pıhtının uç kısmındaki KKH'lerinden oluşan kırmızı bölge ile sarı fibrin pıhtı arasında "buffy coaf olarak adlandırılan beyaz renkli bir tabaka bulunur (Şekil 1.4.). Bu bölge geniş ve yoğun kümeler halinde bulunan fibrin ve trombositlerden oluşur. Fibrin yapı histolojik olarak incelendiğinde ise dağılmış hücresel elemanların, fibrin ağın çok kalın paralel lifler halinde bulunması nedeniyle ayırt edilemediği belirtilmiştir (Dohan ve ark 2006b).

Fibrin pıhtı ve KKH tabakası birleşiminin ilk 2 mm'lik kısmında pıhtı boyunca trombosit ve lökosit dağılımı homojen dağılım gösterirken pıhtı içerisindeki trombosit ve lökosit dağılımı eşit değildir. Trombosit ve lökositler, fibrin pıhtı ve KKH tabakası arasındaki tabakada yoğunlaşmaktadır. Bu nedenle TZF pıhtının uç kısmında bir miktar KKH tabakası bırakılarak daha çok sayıda trombosit ve lökosit toplanabilir. Bu da TZF'in kırmızı renkli kısmının da klinik uygulamalarda etkili olabileceğini göstermektedir (Dohan ve ark 2011).

Bu tekniğin başarısı kanın toplanma ve santrifüje aktarılma hızma bağlıdır. Yavaş ve yetersiz kan alma işlemi, toplanan kan örneğinin hemen pıhtılaşmaya

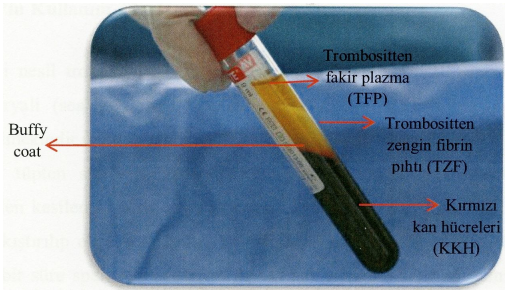
başlamasına ve zayıf mekanik özelliklere sahip, stabil olmayan TZF benzeri küçük bir kan pıhtısının oluşmasına sebep olacaktır. Bu yapının bilinmeyen seviyelerde büyüme faktörü ve hücre içeriğine sahip olabileceği de belirtilmiştir. Bu TZF benzeri yapıyı alttaki KKH tabakasından ayırmanın kolay olmadığı ve üründe fazla miktarda kırmızı kan hücresi bulunduğu belirtilmiştir (Dohan ve ark 2011).

1.13.4. TZF'in Kullanım Alanları

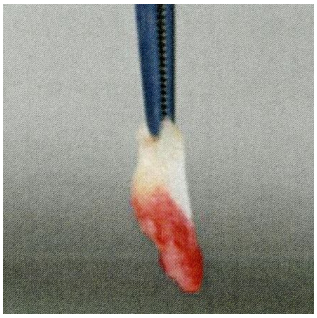
İkinci nesil trombositten zengin plazma (TZP) olarak da adlandırılan TZF, greft materyali (sealant) olarak ya da membran formunda başarılı bir şekilde kullanılabilmektedir (Choukroun ve ark 2006a).

TZF, tüpten steril pensetler yardımı ile çıkarıldıktan sonra kırmızı kan hücrelerinden kesilerek ya da sıyrılarak uzaklaştırılır (Şekil 1.5. ve Şekil 1.6.). İki gazlı bez arasında sıkıştırılıp eksuda kısmı ayrıştırılarak membran haline getirilebilir (Şekil 1.7.). Ya da bir süre spançların arasında kendi haline bırakılarak da membran haline gelebilir.

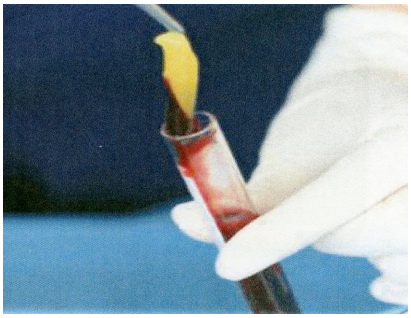
Bu işlem için özel olarak üretilmiş TZF kutu (PRF Box, Process Ltd., Nice, France) da kullanılabilir (Şekil 1.8.). TZF kutu sabit kalınlıkta membranlar oluşturarak bu membranları hidrate bir şekilde korur ve fibrin pıhtıdan elde edilen fibronektin ve vitronektinden zengin eksudayı toplamak için kullanılır. TZF, kutunun ızgaraları üzerine yerleştirildikten sonra üzeri kapatılır (Şekil 1.9.). Kutunun alt kısmında toplanan serum TZF'in saklanmasında ve greft materyallerini nemlendirmede kullanılır (Dohan ve ark 2006b).



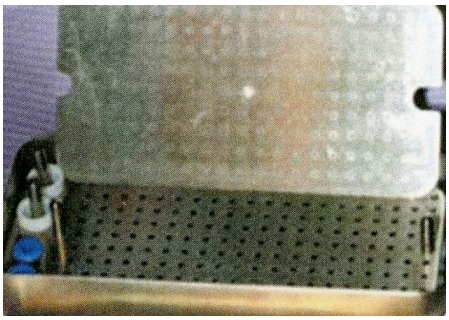
Şekil 1.4. Santrifüj sonrası TZF görünümü



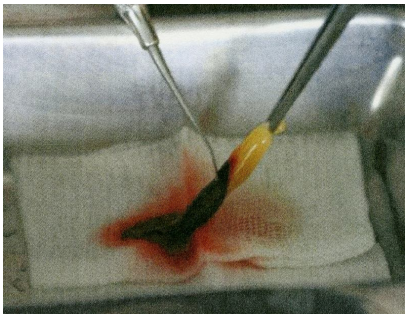
Şekil 1.7. TZF'nin iki spanç arasında sıkılarak membran haline getirilmesi



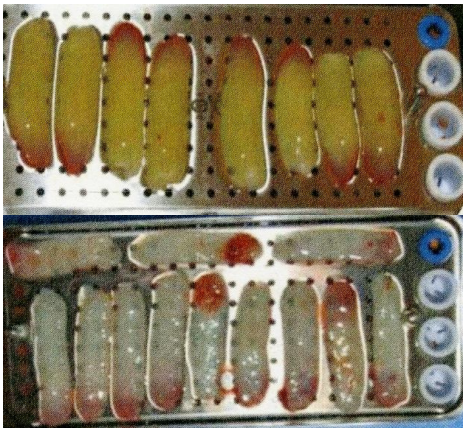
Şekil 1.5. TZF'nin penset yardımıyla tüpten çıkartılması



Şekil 1.8. TZF kutu (Toffler ve ark 2010)



Şekil 1.6. TZF'nin kırmızı kan hücrelerinden ayrıştırılması



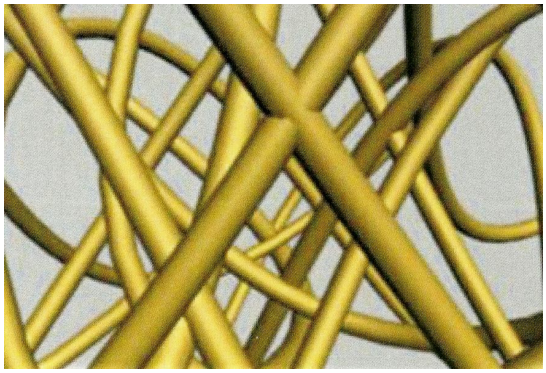
Şekil 1.9. TZF membranının oluşması (Del Corso ve ark 2010)

1.13.5. Fibrin Yapısı

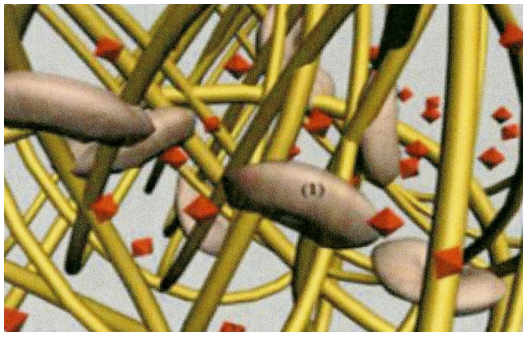
Fibrin plazmatik bir molekül olan fibrinojenin aktive olmuş formudur (Mosesson ve ark 2001). Hemostaz sırasında trombosit agregasyonunda belirleyici bir rol oynayan bu çözünebilir fibriler molekül hem plazmada hem de trombositlerin a-granüllerinde bol miktarda bulunmaktadır. Biyolojik bir yapıştırıcı görevi görerek başlangıç trombosit agregasyonunu sağlar ve koagülasyon sırasında damar çeperleri üzerinde koruyucu bir duvar oluşturur. Aslında fibrinojen bütün koagülasyon reaksiyonlarının son ürünüdür. Çözünebilir bir protein olan fibrinojen, trombin tarafından çözünemeyen fibrine dönüştürülür. Polimerize olan fibrin jel hasara uğrayan bölgede ilk skatrisyel matriksi oluşturur (Dohan ve ark 2006a).

TZF, iyileşme için gereken üç anahtar faktör olan anjiogenez, immünite ve epitelyal ilerleme için destek sağlamaktadır. Çünkü fibrin anjiogenezin doğal rehberidir. Anjiogenez hasarlı doku içerisinde yeni damarların oluşumudur. Anjiogenez migrasyon, divizyon ve endotelyal hücrelerdeki fenotipik değişim için bir matrikse ihtiyaç duyar (Dvorak ve ark 1987). Fibrin matriksin anjiogenez özelliği ise fibrinin 3 boyutlu yapısıyla ve bu yapı içerisine hapsolan sitokinlerle açıklanmaktadır (Şekil 1.10.). Buna ek olarak bFGF, VEGF, anjiopoietin ve PDGF gibi asıl anjiogenez büyüme faktörleri fibrin yapı içerisinde bulunmaktadır (Şekil 1.11. ve Şekil 1.12.). bFGF ve PDGF'nün fibrine karşı yüksek afinite gösterdikleri belirtilmiştir (Sahni ve ark 1998, Feng ve ark 1999). Fibrinin anjiogenezi uyarması birçok farklı büyüme faktörünün fibrine bağlanmasıyla açıklanabilir (Choukroun ve ark 2006a).

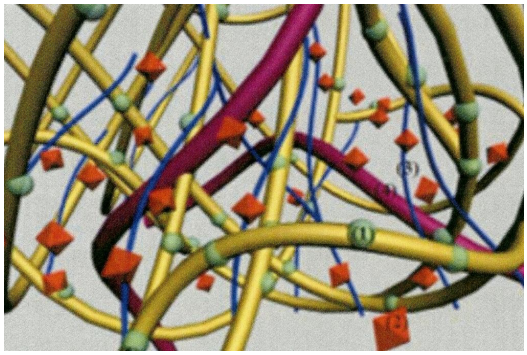
Hazırlanan in vitro modellerde fibrin pıhtının yapısal ve mekanik özelliklerinin de önemli olduğu gösterilmiştir. VEGF ve bFGF stimülasyonuna yanıt olarak endotelyal hücreler tarafından kapiller oluşumunda fibrin matriks rijiditesinin etkili olduğu bildirilmiştir (Nehls and Herrmann 1996). Bu fibrin matriks yapısındaki değişiklikler; fibrin yapıştırıcı, TZP ve TZF arasındaki biyolojik farklılıkları belirlemede çok önemlidir (Şekil 1.10. Şekil 1.11. ve Şekil 1.12.). Ayrıca fibrin, anjiogenezi sağlamak için endotelyal hücreler tarafından integrin salınımını sağlayarak hücrelerin fibrin, fibronektin ve vitronektine bağlanmasında direkt etkili olmaktadır (Feng ve ark 1999).



Şekil 1.10. Fibrin yapıştırıcı polimerizasyonu sonucu oluşan fibrin ağın bilgisayar modelleme ile oluşturulan şeması (Dohan ve ark 2006b).



Şekil 1.11. Trombositten zengin plazma (TZP) polimerizasyonu sonucu oluşan fibrin ağın bilgisayar modelleme ile oluşturulan şeması. (1) Fibrin jel yapı içerisinde hapsolan trombositler (2) Solüsyon içerisinde yer alan sitokinler (Dohan ve ark 2006b)



Şekil 1.12. Trombositten zengin fibrin (TZF) polimerizasyonu sonucu oluşan fibrin ağın bilgisayar modelleme ile oluşturulan şeması. Fibrin matriksteki, yapısal glikoproteinler (fibronektin) ve ekstrinsik sitokinler. (1) Fibrin ağ içerisinde hapsolan sitokinler. (2) Solüsyon içerisinde yer alan sitokinler. (3) Fibrin ile ilişkili glikanik zincirler. (4) Fibronektin. (5) Fibrin ağ ile ilişkili glikanik zincirler ve sitokinler (Dohan ve ark 2006b).

Fibrin, bağışıklık sistemine doğal destek sağlamaktadır. Fibrin ve fibrinojen yıkım ürünleri nötrofil migrasyonunu ve membranların CDllc/CD18 reseptör ekspresyonunu uyarır ve bu reseptör, nötrofillerin endotelyal hücrelere ve fibrinojene bağlanmasına izin verir (Loike ve ark 1991). Ayrıca fibrin ve fibrinojen yıkım ürünleri, nötrofillerin fagositozunu ve enzimatik prosesi düzenler (Kazura ve ark 1989). Monositler yara bölgesine nötrofillerden sonra ulaşmaktadırlar ve makrofajlar tarafından düzenlenen yara kolonizasyonları, fibrin ağları arasında yer alan kemotaktik ajanlar ve fibronektin aracılığı ile kontrol edilmektedir (Lanir ve ark 1988).

Fibrinin Kemik İyileşmesi Üzerine Etkileri

Fibrinin kemik iyileşmesi üzerine etkili olduğunu gösteren deneysel çalışmalar bulunmakla birlikte, fibrin ve kemik hücreleri arasındaki etkileşimi açıklayan sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Fibrinin kemik iyileşmesini hızlandırdığı ya da herhangi bir etkisinin bulunmadığı konusunda ortak bir görüş yoktur. Ortaya çıkan bu çelişkinin; farklı tür denek kullanılması, farklı tipte kemik defektlerinin oluşturulması ve farklı tip fibrin ürünün uygulanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Choukroun ve ark 2006a).

Bununla birlikte fibrin, kemik morfojenik protein (BMP) uygulamalarında da destek matriks görevi görmektedir. Bu nedenle fibrin matriks, kemik morfojenik proteinin; osteokonduktif, anjiotropik ve hemostatik özellikleri ile ilişkilendirilmektedir (Kawamura ve ark 1988).

Choukroun ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptıkları çalışmalarında kist enükleasyonundan sonra oluşan defektlerin, boş bırakıldığında 6-12 ay arasında, TZF uygulandığında ise 2 ay içerisinde tamamen iyileştiğini ve TZF'in kök hücrelerin doğal güçlerini kullanarak kemik iyileşmesini hızlandırdığını rapor etmiştir.

Fibrinin Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri

Fibrin matriks, fibroblastların ve epitelyal hücrelerin metabolizmalarını etkileyerek hasar gören dokuların örtülmesine ve korunmasına yardımcı olur. Yara kenarlarının etrafındaki epitelyal hücreler bazal ve apikal kutuplarını kaybederler ve yara bölgesine doğru uzanarak fibrinojen, fibronektin, tenaskin ve vitronektinden

oluşan geçici matriks üzerinden göç ederler. Bu göç basit bir dönüşümden farklı olarak ciddi bir matriks yıkımını göstermektedir (Choukroun ve ark 2006a).

Fibrin, fibronektin, PDGF ve TGF (3 fibroblast proliferasyonu, integrin ekspresyonu ve fibroblastların yara bölgesine göç etmesinde etkilidir. Plazminojen aktivatörü salgılandığında fibroblastlar, fibrin pıhtı içerisinde hareket edebilmek için proteolitik aktivite başlatırlar. Yapılan bir çalışmada fibrin jel içerisindeki fibroblast migrasyonun, α-zincirleri arasında maksimum sayıda çapraz bağlantılar oluştuğunda en üst seviyeye ulaştığı belirtilmiştir (Brown ve ark 1993). Bu durum TZF'in yavaş polimerizasyonu ile fibrin yapıştırıcı ve TZP'nin hızlı polimerizasyonu arasındaki biyolojik farklılığı açıklamaktadır. Bu olayların ardından fibroblastlar kollajen sentezine başlamaktadır (Choukroun ve ark 2006a).

Bu özellikleri ile TZF, yüzeyine epitelyal hücre göçünü yönlendirebilen ve mikrovaskülarizasyonu sağlayabilen doğal, fibrin bazlı bir biyomateryaldir (Choukroun ve ark 2006a). TZF, açık yaraları korumada ve iyileşmeyi hızlandırmada etkili olmasının yanı sıra yüksek miktarda lökosit içermesi nedeniyle enfekte yaralarda kullanımıyla da ön plana çıkmaktadır. Yapılan klinik bir çalışmada, çekim soketlerine TZF uygulanmıştır. TZF pıhtıya doğru hızlı bir neovaskülarizasyon geliştiği ve epitelyal iyileşme oluştuğu belirtilmiştir. Sonuç olarak soketin enfeksiyöz ve enflamatuar durumuna rağmen soket; hızlı, ağrısız, pürülan akıntı olmadan komplikasyonsuz bir şekilde iyileşmiştir (Choukroun ve ark 2006a).

Fibrin ve Mezenşimal Kök Hücreler

Kemik iliği kaynaklı mezenşimal kök hücreleri bütün kemik hücrelerinin ve diğer dokuların rejenerasyonunda önemlidir. Bu farklılaşmamış hücreler, kan ile hasar gören bölgelere iletilir ve bölgede birçok farklı hücre tipine dönüştürülürler. Başlangıç farklılaşmasını ve vaskülarizasyonunu sağlamak için fibrin ve fibronektinden oluşmuş geçici bir matrikse ihtiyaç vardır. Hasarlı bölgeye ulaşan dolaşımdaki mezenşimal kök hücreler, bu fibrin matriks içine hapsedilerek pıhtı içerisinde sekretuar fenotipe dönüşürler. Bu da fibrinin destekleyici matriks olarak kullanılmasını açıklamaktadır (Choukroun ve ark 2006a). Bu durumun geniş kemik defektlerinin iyileşmesinde önemli olduğu bildirilmiştir (Boo ve ark 2002, Bensaid ve ark 2003).

1.13.6. Trombositlerin Yapısı ve İçerikleri

Trombositler, kemik iliğindeki megakaryositler tarafından üretilen 1-4 µm çapında çekirdek içermeyen sitoplazma parçacıklarıdır. Dinlenme halinde tipik olarak diskoid şekilde olmalarına rağmen aktive olduklarında 5 µm' ye kadar ulaşabilen psödopodlar içeren globüler bir şekil alırlar. Vücutta her zaman dalakta lokalize olarak bulunur ve periferik dolaşıma geçtikten sonra ortalama 7-10 gün yaşarlar. Periferik yaymada kümeler halinde gözlenen trombositler tek tek incelendiğinde açık mavi boyanan periferal "hyalomer", mor granüller ve mitokondrilerden oluşan santral "granülomer" kısımlarından oluştuğu görülür. Hücre zarlarının sitoplazma içine parmak şeklinde girmesi sonucu oluşan ve yüzeye açılan "açık kanaliküler sistem" olarak adlandırılan bir kanalikül sistemine ve hyalomer bölgesinde trombosit aktivasyonu için gerekli olan Ca iyonlarını depolayan "yoğun tübüler sistem" adı verilen ikinci bir kanalikül sistemine sahiptirler. Yüzeylerinde bulunan reseptörleri, trombin, kollajen gibi moleküllerin uyarmasıyla aktif hale geçer ve sitoplazmalarındaki aktif molekülleri içeren granülleri "açık kanaliküler sistem" yoluyla dışarı atarlar (Carlson and Roach 2002).

Elektron mikroskopik inceleme ile ayırt edilebilen başlıca 3 tip granül bulunmaktadır. Bu granüller, yoğunluk ve içeriklerine göre alfa, delta ve lambda olarak adlandırılır (Rendu ve Brohard Bohn 2001).

Alfa Granüller

Hemostaz, inflamasyon, kemik ve yara iyileşmesinde görevli birçok protein ve büyüme faktörlerini içermesi sebebiyle; trombositlerin yoğunlaştırılarak klinik olarak yara ve kemik iyileşmesi gibi alanlarda kullanımının düşünülmesine neden olmuştur (Reed ve ark 2000).

Delta Granüller (Yoğun Cisimler)

Kalsiyum iyonları, pirofosfat, ADP ve ATP gibi protein olmayan moleküller ve plazmaya göre 100 kat fazla serotonin içeren granüllerdir (Reed ve ark 2000).

Lambda Granüller (Lizozomlar)

150-250 nm çaplı olan, glikozidaz, proteaz gibi bakterisidal etkili lizozomal enzimler içeren granüllerdir. Tamir fazından sonra plazminin, bölgedeki pıhtıyı eriterek ortadan kaldırmasına yardımcı olur (Reed ve ark 2000).

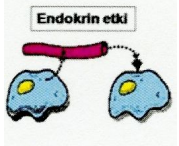
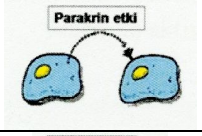
Trombositlerden Salınan Büyüme Faktörleri

Anjiogenez terimi ilk kez plasentadaki yeni damar oluşumunu tarif etmek için 1935'te kullanıma girmiş ve daha sonra tüm yeni damar oluşumları için kullanılmaya başlamıştır (Hertig 1935). Son yıllarda büyüme faktörlerinin yara iyileşmesini ve anjiogenezi olumlu yönde etkilediği saptanmış ve etki mekanizmalarının açıklığa kavuşturulması ile araştırmacıların kemik, yara, tendon, sinir iyileşmesine yönelik deneysel ve klinik uygulamalarında bu faktörleri daha büyük ilgi ile kullanmalarına neden olmuştur (Weiler ve ark 2004). Büyüme faktörleri, hücrelerin doku tamirindeki anahtar hücresel olayları (proliferasyon, kemotaksi, farklılaşma, matriks sentezi) spesifik hücre reseptörlerine bağlanarak düzenleyen biyolojik bir medyatör sınıfıdır (Lind 1996).

Büyüme ve farklılaşma faktörleri etki mekanizmalarına göre beş farklı gruptan oluşur (Çizelge 1.1.). Büyüme faktörleri hücre tarafından salgılandıktan sonra otokrin yoldan etki ederek kendi büyümesini ve fonksiyonunu değiştirebildiği gibi parakrin yoldan etki ederek bir hücrede salgılanıp başka bir hücrede etki gösterebilir. Büyüme faktörlerinin çoğu ekstraselüler matrikste depolanır ve matriks yıkılması esnasında ortama salınan bu medyatörler doku remodelasyonu ve rejenerasyonu sırasında farklı etkilere sahip kompleks bir sinyal ağın parçası olarak görev yaparlar (Lynch ve ark 1991).

Farklılaşma faktörleri de büyüme faktörleri gibi çalışarak mezenşimal hücreler gibi öncül hücrelerin, osteoblast gibi tam olgunlaşmış fonksiyonel hücrelere dönüşmesini sağlarlar (Lynch ve ark 1991).

Çizelge 1.1. Büyüme ve farklılaşma faktörlerinin etki mekanizmaları (Kutlu 2011).

Endokrin Etki	Faktör kan yolu ile taşınır ve uzaktaki hedef hücre etkilenir	
Parakin Etki	Salınan hücrenin etrafındaki farklı hücreler etkilenmektedir	
Otokrin Etki	Hedef hücre salınım yapan hücrenin kendisidir	
Justakrin Etki	Büyüme faktörleri salgılandıkları hücre zarına bağlanarak komşu hücreyi etkiler	
İntrakin Etki	Büyüme faktörü/reseptör kompleksi hücre içine alınır	

Cerrahi girişim sonrası trombositler aktive olarak yara bölgesinde stabil bir pıhtı meydana getirirler. Bunu takiben trombositler degranülasyona uğrayarak iyileşme ve formasyon sürecini hızlandırmak için ortama bir takım büyüme faktörleri salgılarlar. Farklılaşmamış mezenşimal hücrelerde farklılaşma süreci ve bu süreçte büyüme faktörlerinin etkili olduğu aşamalar Çizelge 1.2.'de özetlenmiştir.

Çizelge 1.2. Büyüme ve farklılaşma faktörleri ve etkileri (Hsu and Chang 2004).

Büyüme ve Farklılaşma Faktörü	Kaynak	Hedef Hücre	Etkisi
PDGF (Trombosit kaynaklı büyüme faktörü)	Endotelyal hücreler Makrofaj Monosit Trombosit	Düz kas hücreleri Fibroblast Glia hücreleri Makrofaj Nötrofil Osteoblast	Kollajen sentezi, Fibroblast kemotaksisi, Proliferasyonu, Makrofaj aktivasyonu
TGF-β (Dönüştürücü büyüme faktörü)	Makrofaj Monosit Nötrofil T-Lenfosit Trombosit	Endotelyal hücreler Fibroblast Kemik iliği hücreleri Pre-osleoblastlar	Kollajen sentezi Kollejenaz kontrolü Osteoblast ve fibroblast proliferasyonu Damarlanma
IGF-I (İnsülin benzeri büyüme faktörü)	Kondrosit Makrofaj Osteoblast Trombosit	Fibroblast Kondrosit Osteoblast	Osteoblast proliferasyonu, Osteoblast sentezi, Damarlanma
VEGF (Vasküler endotelyal büyüme faktörü)	Keratinosit Makrofaj	Endotelyal hücreler	Damarlanma
FGF (Fibroblast büyüme faktörü)	Endotelyal hücreler Makrofaj	Fibroblast Keratinosit	Fibroblast kemotaksisi, Proliferasyonu, Damarlanma

Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF)

PDGF faktörü esas olarak trombositlerdeki α-granüllerinden salınan bir büyüme faktörüdür. Bundan başka makrofajlar, endotelyal hücreler, fibroblastlar ve keratinositler tarafından da sentezlenerek salınmaktadır. Yaralanma sonrasında erken dönemde doku konsantrasyonu artan faktörlerdendir. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü fibroblastlar, düz kas hücreleri ve endotelyal hücreleri üzerinde kemoatraktan ve mitojenik etki gösterir. Trombosit kaynaklı büyüme faktörünün bu hücreler üzerindeki β reseptör aktivasyonu anjiogenez, kollajen sentezi ve fibroblast proliferasyonuna öncülük eder. Böylece fibroblastik ve osteoblastik yanıtlar artar, hücreler farklılaşarak büyüme faktörlerinin makrofaj gibi hücreler üzerindeki etkileri hızlanır (Marx ve ark 1998).

Kemik iyileşmesinde PDGF, osteoblastik ve enflamatuar mediatörlerin kemotaksisine, mezenşimal kök hücre ve fibroblast sentezine, osteoid yapının oluşmasına, kemik hücre proliferasyonuna, kollajen sentez ve döngü arttırımına,

kemik matriks sentez ve döngü uyarımına diğer anjiyojenik faktörlerin salınımını uyararak etki eder (Lind 1996).

Her 1 milyon trombositte yaklaşık 0.06 mg PDGF bulunmaktadır. Bu hesapla, her trombositte yaklaşık 6 x 10"17 gram ya da 1200 molekül PDGF bulunduğu söylenebilir. Bu rakamlar PDGF'nün gücünü bölgedeki trombosit sayısı arttırıldığında yara iyileşmesinde ve kemik rejenerasyonunda elde edilebilecek büyük ilerlemeleri ortaya koymaktadır (Marx ve ark 1998).

Dönüştürücü (Transforme Edici) Büyüme Faktörü (TGF)-β

TGF-p, dokularda üç farklı gen yapısında (TGF-β_1, TGF-β_2, TGF-β_3) bulunmaktadır (Ksander ve ark 1990). TGF-β_1 trombositlerde ve kemikte yüksek konsantrasyonlarda bulunurken TGF-β_2 ise osteoklastlar tarafından sentezlenip salgılanır (Oursler, 1994). TGF-β_1 ve TGF-β_2 bağ dokusu iyileşmesi ve kemik rejenerasyonunda görev alan, TGF-β'nın en sık görülen alt gruplarıdır. TGF-β_1 ve TGF-β_2'nin en önemli fonksiyonları, osteoblast öncü hücrelerinin kemotaksisini ve mitogenezini sağlamalarıdır. TGF-β lar osteoklast formasyonunu ve kemik rezorbsiyonunu inhibe eder ve rezorbsiyonu önleyerek kemik oluşumunu sağlarlar (Lind 1996).

TGF-β lar otokrin ve parakrin mekanizmalar ile etki gösterirler (Lind 1996). Parakrin etkilerini fibroblast, kemik iliği kök hücresi ve preosteoblast gibi hücreler üzerinde gösterirlerken otokrin etkilerini ise bu hedef hücrelerin yine TGF-β salgılaması ve depo etmesiyle sağlarlar (Aukhil 2000). Böylece TGF-β kemik iyileşmesini başlatmakla kalmayıp remodeling aşamaları ve kemik grefti olgunlaşmasında da etkili olabilmektedir (Lynch ve ark 1991, Nail ve ark 1996; Marxetal 1998). TGF-β ailesinin bir üyesi olan kemik morfojenik proteinler (BMP) ise mezenşimal hücreler ve osteoblastlar için mitojeniktir. Kallus oluşumu artırır, kemik iyileşmesini hızlandırır (Hsu ve Chang. 2004).

İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF-I ve IGF-II)

İnsülin benzeri büyüme faktörü adını insüline benzeyen yapısından almaktadır. IGF-I ve IGF-II olmak üzere iki formu vardır ve kemikte çok fazla miktarda bulunur. Dolaşımda bulunan IGF-I'in kaynağı büyük ölçüde karaciğer

dokusudur. IGF-II ise kemik matriksinde en yüksek miktarda bulunan büyüme faktörüdür. IGF-I ve IGF-II'nin yeni kemik oluşumu sırasında osteoblastlar tarafından yine osteoblastların sayılarını arttırmak için salgılandıkları düşünülmektedir. Kemik oluşumunu otokrin yolla düzenlerler. IGF'ler kemik matriksi içerisinde depo edilirler ve kemik matriksi rezorbe olduğunda kemik oluşumu için aktive olurlar. IGF'ler osteoblast öncü hücrelerine mitojenik etki ederek farklılaşmış osteoblastlar ile kemik oluşumunu stimüle ederler (Marx ve ark 1998).

PDGF ile birlikte sinerjistik etki gösterirler (Sanchez ve ark 2003). İmplant etrafına uygulanan PDGF-IGF kombinasyonunun erken dönemde iyileşmeyi stimüle ettiği ve klinik olarak bu kombinasyonun kullanımının hızlanmış ve artmış osseointegrasyona yol açtığı rapor edilmiştir (Lynch 2008).

Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)

Fibroblast büyüme faktörlerinin içinde en çok incelenmiş olan bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF)'dür. Osteoblastlar, endotel hücreleri, fibroblastlar, kondrositler ve keratinositler üzerinde mitojenik etki gösterir. Anjiogenezin başlaması için gerekli olan kapiller endotelyal hücrelerinin proliferasyonunu ve fibroblastlardan kollajenaz üretimini sağlar (Çetin ve Çapan 1994).

Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

Aghaloo ve Freymiller (2005), VEGF'nün, en kuvvetli anjiogenez uyarıcısı olduğunu belirtmişlerdir. VEGF, vasküler geçirgenliği arttırarak yara iyileşmesinde önemli rol oynayan fıbroblastlarm, enflamatuar ve endotelyal hücre migrasyonunun ve proliferasyonunun uyarılmasında rol alır (Fuerst ve ark 2003). Kemik iyileşmesi sırasında osteoblastlar, osteoklastlar ve mezenşimal hücrelerden yoğun olarak salınır (Lucarelli ve ark 2003).

1.13.7. Sitokinlerin Yavaş Salınımında Lökositlerin Rolü

TZF oluşum süreci boyunca lökositler, hemostatik ve enflamatuar olayların uyarılmasına karşılık olarak sitokin salgılamaktadırlar. Lökositlerden salınan sitokinler; küçük, çözünebilir moleküllerdir ve santrifüj sonucunda fibrin polimer mimariyle birleşir ve bu yapı içerisinde kalırlar. Polimerizasyon sırasında trombositler gibi bu fibrin ağ yapısı içerisinde hapsedilerek daha sonra yavaşça

salınımları sağlanacaktır. Trombositten zengin plazma (TZP), trombositten fakir plazma (TFP) ve TZF pıhtı eksüdası; PDGF-BB, TGF-Pı, IGF-I açısından karşılaştırıldığında TFP ile TZF pıhtı eksüdası arasında sitokin konsantrasyonları açısından farklılık bulunamamıştır. Bu değerlerin ise TZP'den düşük olduğu belirtilmiştir. Bu durumun TZF pıhtıda bulunan sitokinlerin, fibrin ağ yapısı içerisinde hapsolmuş halde bulunmasından kaynaklandığı rapor edilmiştir (Dohan ve ark 2006b).

Trombosit kaynaklı ürünler içerisinde bulunan lökositlerin rolü halen tartışılmakta olan bir konudur (Everts ve ark 2008). Trombosit kaynaklı ürünlerden olan trombositten zengin plazma (TZP) lökosit içerirken trombositten zengin büyüme faktörü (PRGF) lökosit içermemektedir (Sanchez ve ark 2003). Bazı araştırmacılar enflamatuar olayları önlemek amacıyla lökositlerin trombosit konsantrasyonlarından çıkarılmasını önermişlerdir (Anitua ve ark 2007). Ancak lökositlerin enflamasyonda anahtar rol oynadığını gösteren olumlu çalışmalar değerlendirildiğinde lökositlerin toplanmaması gerektiği belirtilmiştir (Martin ve Leibovich 2005). Bazı araştırmacılar ise lökositlerin direkt etkisine (Moojen ve ark 2008) ya da immün regülasyonda oynadıkları antienfeksiyöz rol üzerine dikkat çekmişlerdir (Dohan ve ark 2006a, El-Sharkawy ve ark 2007).

Antienfeksiyöz rollerinden başka lökositler, yara iyileşmesini hızlandıran ve anjiogenezde rol alan VEGF'nü büyük miktarlarda salgılamaktadır (Nielsen ve ark 2001). Buna ilaveten trombositler hem anjiyogenez uyarıcılarını (VEGF, bFGF) hem de trombosit inhibitörlerini (endostatin, trombospondin-1) içerirler (Italiano ve ark 2008).

TZF içerisindeki aktive olmuş lökositlerin önemli miktarlarda TGF-β_1 ve VEGF salgıladığı ve büyüme faktörleri için kaynak olarak gösterilebileceği düşünülmektedir. Bu faktörlerin seviyeleri düştüğünde lökositler, bu faktörleri yeniden salgılayarak gerekli olan düzeylere çıkmalarını sağlayabilir. Öte yandan TZF'in içerisindeki sitokinlerin yavaş salınımının, fibrin matriks içerisinde bulunan lökositler tarafından düzenlendiği düşünülmektedir (Dohan ve ark 2009a).

Trombositten fakir plazma (TFP) ve TZF pıhtı eksüdası arasında interlökin-l, interlökin-3, interlökin-6, tümör nekroz faktör-α, VEGF ve interlökin-4 sitokin

konsantrasyonları açısından farklılık bulunmadığı, ancak TZF'in sitokin değerlerinin plazma sitokin değerlerinden yüksek olduğu belirtilmiştir (Dohan ve ark 2006c).

TZF'in içeriğinde bulunan enflamatuar sitokinler şöyledir:

Interlökin-1β (IL-1β); düşük konsantrasyonda lokal inflamasyon mediatörü olarak etki gösterir. IL-1β, fibroblast proliferasyonunu, araşidonik asit metabolizmasını, kollajen sentezini, kollajenaz ve hyalüronidaz aktivitesini uyarır. Vasküler endotelyal hücrelerin proliferasyonunu inhibe eder (Tokgöz 1997).

İnterlökin-6 (IL-6); değişik dokuların büyümesini ve farklılaşmasını düzenleyen birçok işlevi olan bir sitokindir (Madhok ve ark 1993). IL-6' nın sitotoksik T-hücreleri, megakaryositler ve diğer hemotopoietik hücreler üzerinde proliferasyon ve farklılaşma sağlayıcı etkilerinin yanında, hepatik akut faz proteinlerinin ve plazma hücreleri tarafından immünglobulinlerin yapımının uyarımına neden olduğu bildirilmiştir (Dasgupta ve ark 1992).

Tümör Nekroz Faktör-α (TNF-α); akut faz proteinlerinin stimülasyonunda ve lökosit infiltrasyonu artışında rol oynamaktadır. Fibroblastlar için mitojenik özellik taşır; kollajen, kollajenaz biyosentezi ve prostaglandin E2 salınımını uyarır, in vitro, endotel hücre proliferasyonunu inhibe etmesine rağmen anjiogenezi uyarıcı etkisini ikinci bir mesajcı yoluyla yaptığı sanılmaktadır (Pike ve ark 1993).

İnterlökin-4 (IL-4); β hücrelerininin proliferasyonu ve farklılaşmasını arttırmasının yanında T-lenfosit, mast hücreleri ve hematopoietik progenitör hücrelerin de proliferasyonunu stimule eder. Böylece iyileşme sürecini desteklerken enflamasyonu yönetir. Ayrıca T-lenfositlerden Ig E salınımını sağlar (Mire ve Thorpe 1991).

Ankaferdin kanla karışması sonucu oluşan protein ağın proteoemetik analizinde çok sayıda ve çeşitli büyüme faktörü içerdiği ve yara iyileşmesine katkı sağlayacağı belirtilmiştir. Bundan yola çıkarak kemik grefti iyileşmesini olumlu yönde etkileyen yöntemlerden biri olabileceğini düşündüğümüz ankaferdin sentetik kemik grefti ile defekte uygulanması çalışmasında ortaya çıkan sonuçlar temini kolay, biyouyumlu, kemik ve yumuşak doku iyileşmesine olumlu katkıları olan

ankaferdin greft iyileşmesine etkisini gösterecektir ve böylelikle bu konu ile ilgili çalışmalara katkı sağlayacaktır.

Ankaferd tamamen bitkisel ve yerli üretim olan bir üründür. Bu ürünle yapılan diğer çalışmalar olumlu sonuçlar vermiştir ve bu çalışmayla ortaya çıkacak olan muhtemel olumlu sonuçlar bu ürünün bir etkisini daha ortaya koyacak ve ülkemiz koşullarında üretilen ankaferdin gelişmesine katkı sağlayacaktır. Çalışmada kullandığımız beta trikalsiyum fosfat tipi (β TCP) kemik grefti de Türkiyede üretilen tek sentetik kemik greftidir. Bu çalışma mevcut ürün için yapılan ilk bilimsel hayvan deneyidir. Yaptığımız literatür taramasında ABS'nin β-TCP ile birlikte kullanıldığını gösteren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır

Bu bilgiler ışığında çalışmamızın amacı, sentetik kemik greftlerinin ankaferd ve osteoindüktif etkisi bilinen TZF ile aynı deney hayvanında radyolojik, histolojik ve histomorfometrik olarak karşılaştırılmasıdır. Elde edilen verilerle ankaferd'in greft olgunlaşması üzerine etkisi ortaya konacaktır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma "Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri" tarafından desteklenmiştir. Çalışma için Selçuk Üniversitesi deney hayvanları etik kurulundan (2010-080) hayvan etiği açısından onay alınmıştır (Bkz. EK-A). Kemik örneklerinin radyolojik incelemeleri Selçuk Üniversitesi tıp fakültesi radyoloji anabilim dalında, histolojik incelemeleri de Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

2.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda 21 adet iskelet gelişimini tamamlamış, 12-14 aylık, erkek, ortalama 3500-4000 gr ağırlığında Yeni Zelenda beyaz cinsi tavşan kullanılmıştır (Şekil 2.1.) Deney hayvanları Selçuk üniversitesi deneysel araştırma merkezinden temin edilmiş, ameliyat, bakım ve sakrifikasyonları da yine aynı merkezde yapılmıştır. Bu merkez şu anda Necmettin Erbakan üniversitesi deneysel araştırma merkezidir.



Şekil 2.1. Yeni Zelenda beyaz tavşanı.

2.2. Gruplar

Deney hayvanları her grupta 7 hayvan olacak şekilde rastgele 3 gruba ayrılmıştır. Ameliyatlardan 30, 90 ve 180 gün sonra hayvanlar sakrifiye edilmiştir. Sakrifikasyondan sonra radyolojik, histolojik ve histomorfometrik değerlendirmeler yapılmıştır.

Her hayvana aynı işlem uygulanmıştır, sadece sakrifikasyon dönemleri farklıdır.

A, B, C, D alt gruplarını içeren ve 7 hayvandan oluşan gruplara, her hayvanın kafatasına her biri 8-9 mm olacak şekilde 4 adet defekt oluşturuldu.

A grubu: Sağ arka bölgedeki defekte βTCP (BMT Calsis Ankara Türkiye) + TZF uygulandı.

B grubu: Sol arka bölgedeki defekt kontrol grubu olarak boş bırakıldı.

C grubu: Sağ ön bölgedeki defekte sadece βTCP uygulandı.

D grubu: Sol ön bölgedeki defekte βTCP + Ankaferd (ankaferd ilaç kozmetik İstanbul Türkiye) uygulandı.

Çizelge 2.1. Araştıma grupları ve alt grupları.

Gruplar		Greftlerin Uygulanış Biçimleri	Postoperatif İyileşme Süresi	N
Grup 1	**A**	β TCP + TZF	30 Gün	7
	B	Boş (Kontrol)		
	C	β TCP		
	D	β TCP + Ankaferd		
Grup 2	**A**	β TCP + TZF	90 Gün	7
	B	Boş (Kontrol)		
	C	β TCP		
	D	β TCP + Ankaferd		
Grup 3	**A**	β TCP + TZF	180 Gün	7
	B	Boş (Kontrol)		
	C	β TCP		
	D	β TCP + Ankaferd		

2.3. Cerrahi İşlem

Tavşanlara 100 mg/kg ketamin HCl (50 mg/ ml Ketalar®, Parke Davis) ve 10 mg /kg Xylazin HCl (23/32 mg/ml Rompun®, Bayer) intramuskuler enjeksiyon yapılarak genel anestezi sağlandı.

Anestezi sağlandıktan sonra hayvanların kafaları, kan alınacak kulak traş edildi. ve TZF elde etmek için santral kulak venine mavi uçlu katater yerleştirildi, 9-10 cc kan alındı ve steril boş cam tüplere (Paul Marienfeld Königshofen Almanya) konuldu (Şekil 2.2.). Santrifüjü gerçekleştirmek için tüpler sanrifüj cihazına (Hettich® Tuttlingen, Almanya) yerleştirildi. Tüpler 2700 rpm de 12 dakika boyunca

santrifüj edildikten sonra üst katmanda trombositten fakir plazma (TPF) ortada TZF ve en altta kırmızı kan hücrelerine (eritrositler) ayrıştırılarak üç tabaka elde edilmiş oldu (Şekil 1.4.).

Hayvanların traş edilen kafatası iyot solüsyonu ile dezenfekte edildi (Şekil 2.3.). Sutura koronalise dik olacak şekilde ortalama 3 cm uzunluğunda cilt, cilt altı ve periost insizyonu yapıldı. Periost künt diseksiyonla eleve edildi kafatası ortaya kondu (Şekil 2.4.). Serum fizyolojik irrigasyonu altında piyasemene takılan iç çapı 8 mm olan cerrahi trephine frez (Hager & Meisinger Neuss Almanya) ile kafatasına 4 adet işaret kondu (Şekil 2.5.), daha sonra 1,6 mm kalınlığında çelik rond frez (Hager & Meisinger Neuss Almanya) ile işaretli alanların içleri dura bazı bölgelerden görülene dek traşlandı. Böylece kafatasında 4 adet birbirine eş kemik defekti oluşturulmuş oldu (Şekil 2.6.).

Açılan defektlerden sağ arkadakine hazırlanan TZF, βTCP ile karıştırılarak yerleştirildi. Sağ öndeki defekte βTCP tek başına yerleştirildi. Sol öndeki defekte ise önce kan daha sonra da ankaferdle karıştırılan βTCP yerleştirildi. Sol arkadaki defekt ise kontrol amaçlı olarak boş bırakıldı (Şekil 2.7. ve Şekil 2.8.).

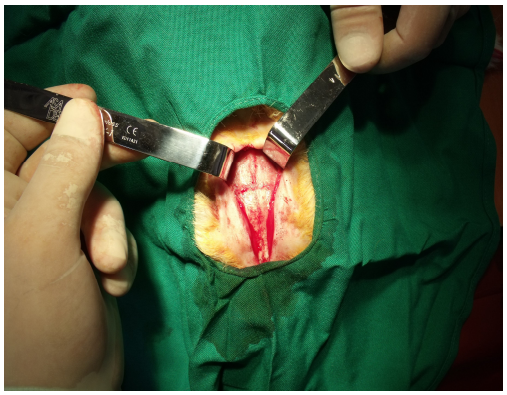
Greftlerin yerleştirilmesinden sonra bölge temizlendi; artık greftler uzaklaştırıldı. Dokular 4-0 vicryl sütür (Johnson & JohnsonNorderstedt Germany) ile kat kat primer sütüre edildi. Bölge iyotlu solüsyonla tekrar silindi ve hayvanlar postoperatif bakıma alındı.



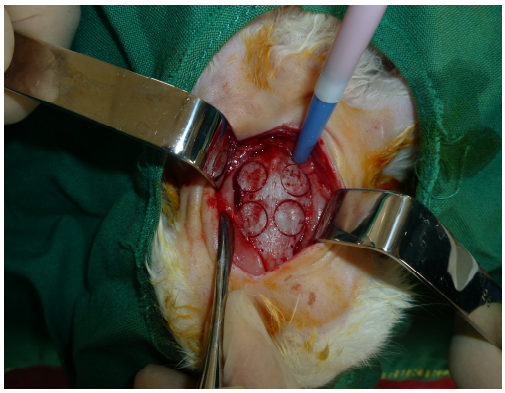
Şekil 2.2. Santral kulak veninden mavi uçlu katater yerleştirilerek, steril boş cam tüplere 9-10 cc kan alınması.



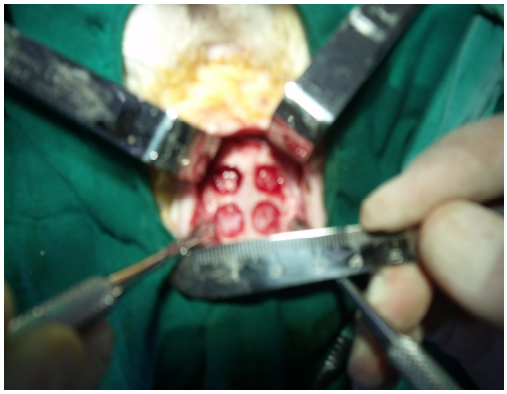
Şekil 2.3. Traş edilen kafatası iyot solüsyonu ile dezenfekte edildi.



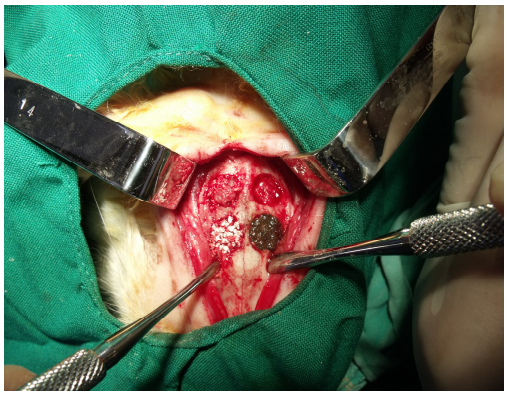
Şekil 2.4. Sutura koronalise dik olacak şekilde cilt, cilt altı ve periost insizyonu yapıldı. Periost künt diseksiyonla eleve edildi kafatası ortaya kondu.



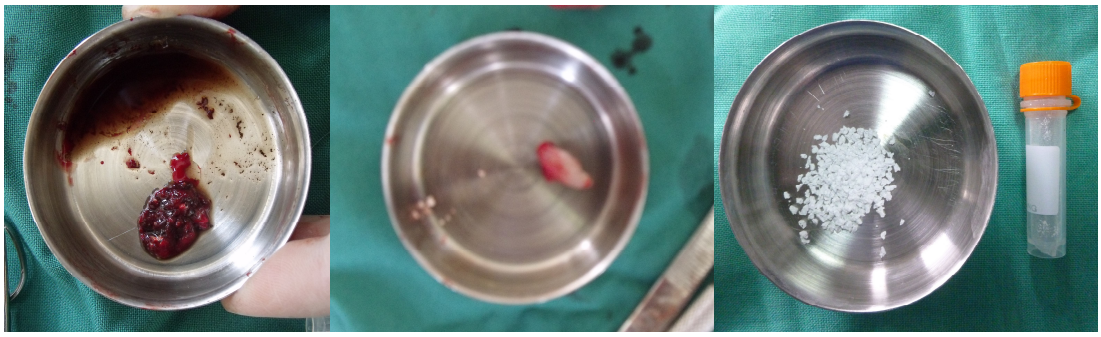
Şekil 2.5. Piyasemene takılan iç çapı 8 mm olan cerrahi trephine frez ile kafatasına 4 adet işaret kondu.



Şekil 2.6. Çelik rond frez ile işaretli alanların içleri dura bazı bölgelerden görülene dek traşlandı.



Şekil 2.7. Açılan defektlerden sağ arkadakine TZF+βTCP, sağ öndekine βTCP, sol öndekine ankaferd+βTCP, sol arkadaki ise kontrol amaçlı olarak boş bırakıldı.



Şekil 2.8. Defektlere uygulanan örnekler.

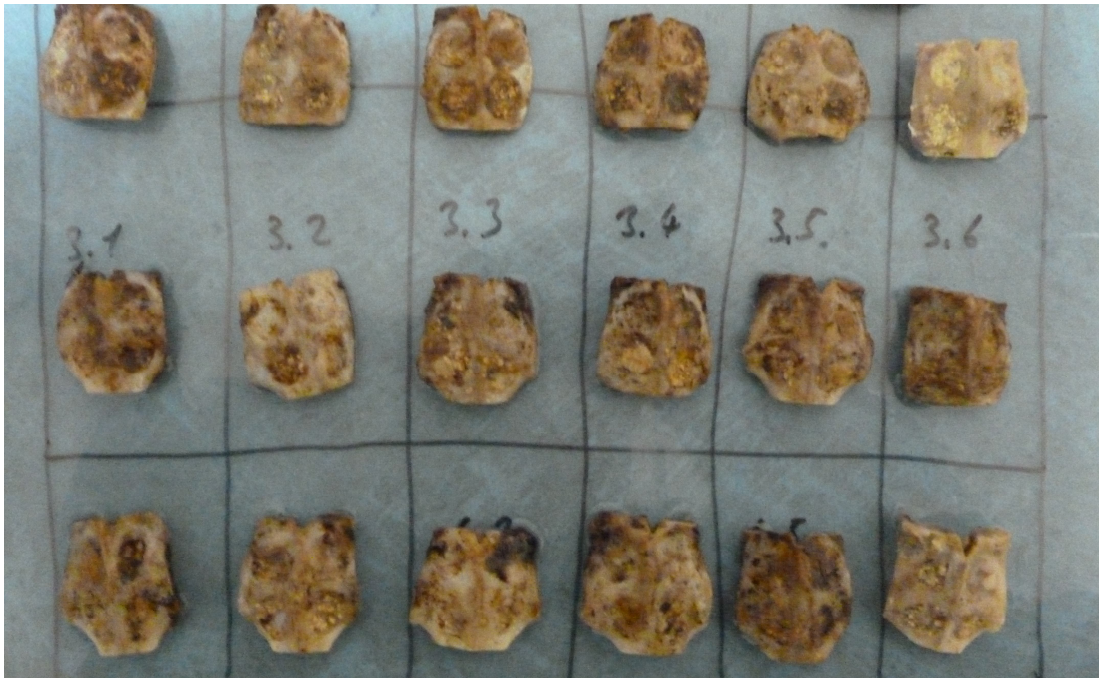
2.4. Postoperatif Bakım

Ameliyattan önce ve ameliyattan sonra 3 gün boyunca enfeksiyon kontrolü için hayvanlara intramuskuler 5mg/kg Penisilin G prokain, Penisilin G potasyum (İecilline 400.000 IU: 1 flakon ve 2 ml'lik enjeksiyonluk su içeren ampul İ.E. Ulagay, Türkiye) antibiyotik verildi.

Tavşanlar normal şehir suyu ve hazır özel pellet yem ile beslendi. Çalışmada etik kurallara uygun olarak bütün hayvanlar deney süresince 21-22˚C oda sıcaklığında, %50 nem ayarlı, optimize edilmiş odalarda tek tavşanlık kafeslerde barındırıldı. Gün içinde yapılan kontrollerde tavşanların genel sağlık durumları, yeme içmeleri, cilt ve tüy değişiklikleri, kafes temizliği takip edildi.

2.5. Hayvanların Sakrifikasyonu ve Kemik Örneği Elde Edilmesi

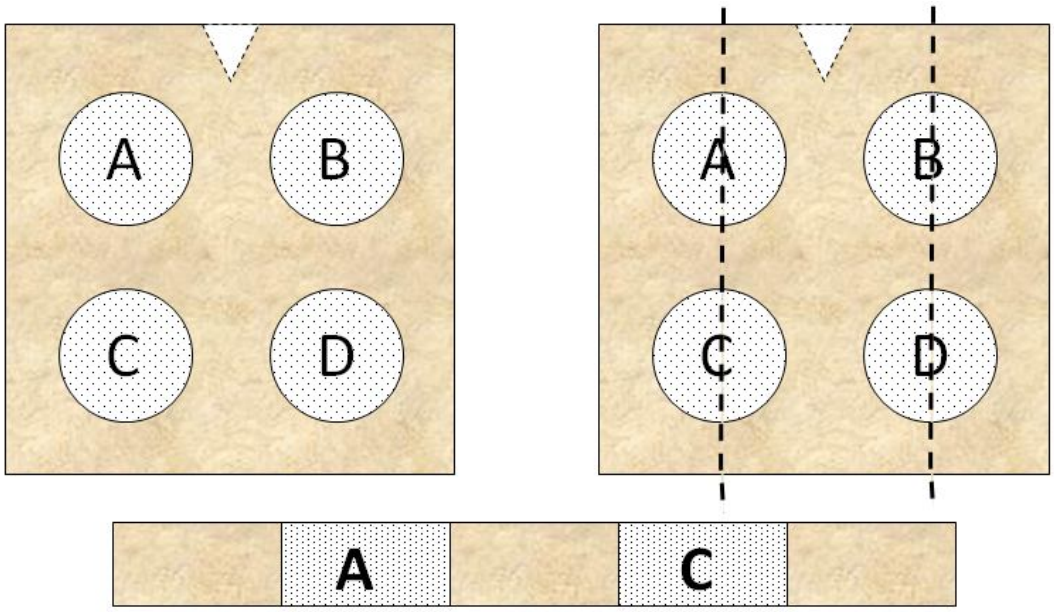
Postoperatif 30, 90, 180. günlerde hayvanlar 2 kat doz verilerek sakrifiye edildi. Hayvanların kafatası üzerindeki dokular diseke edildikten sonra kafatası kemiği tur motoruna takılan separe ile defektlerin etrafında en az 5 mm sağlam kemik kalacak şekilde kesilip çıkarıldı. Kafatasının yönünü belirlemek için arka kısma bir adet çentik konuldu. Örnekler tek tek kodlanmış kaplarda %10'luk formalinde (Merck Almanya) muhafaza edildi (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Sakrifikasyondan sonra elde edilen örnekler

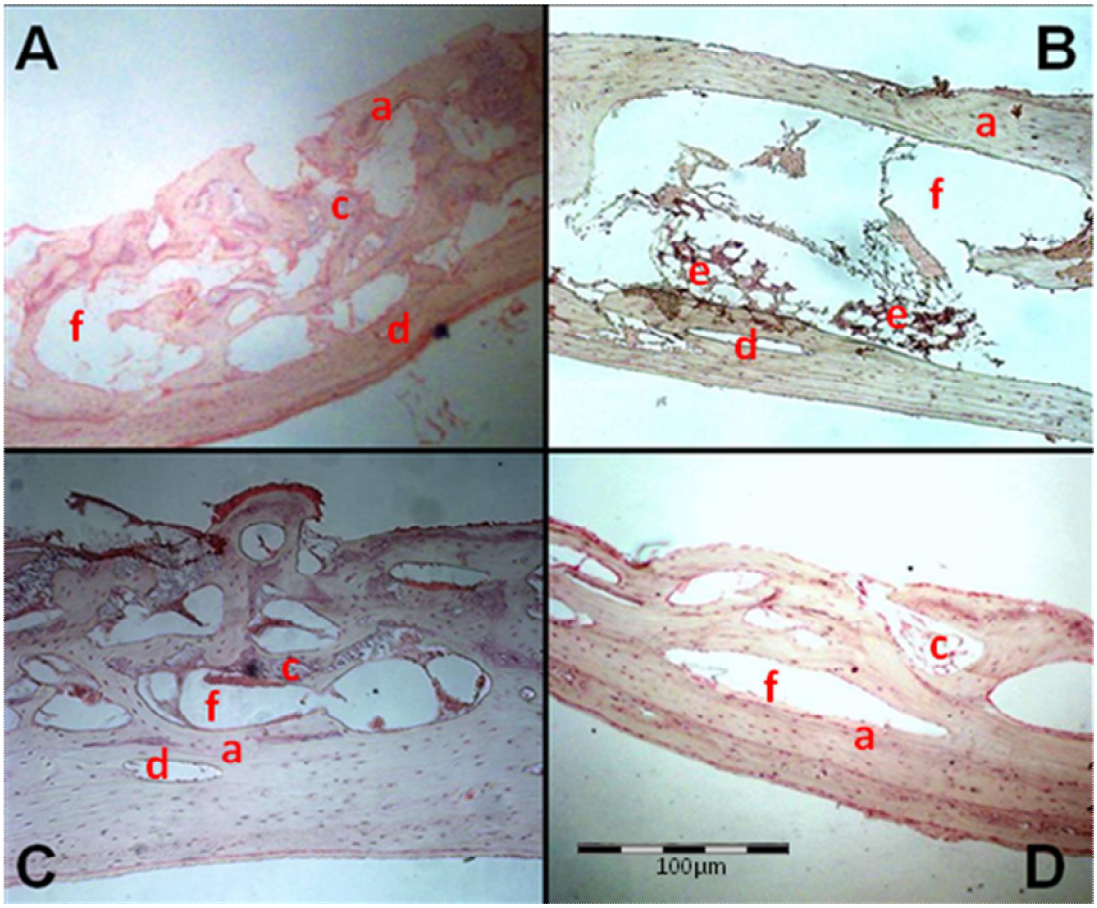
2.6. Histolojik Kesitlerin Hazırlanması

1, 3 ve 6 aylık deney gruplarından elde edilen tavşan kalvaryum örnekleri 3 farklı uygulama (greft) ve kontrollere ait alanları içermekteydi. Bu 4 alana ait transvers kesitleri elde etmek için örnekler üçgen bir çentikle işaretlenmiş sağ taraf referansına göre: C-A ve D-B doğrultularında çelik separe yardımı ile kesilen üst ve alt dilimler, doğrultuları ve uygulama kodları kaydedilerek %10'luk formaldehit tespit solüsyonu içerisine alındı. Her iki parça da C ve A ile D ve B uygulamalarına ait yan yana ikişer alan içermekteydi. Tek parça olarak kalan çentikli orta parça ise yedek doku örneği olarak saklandı (Şekil 2.10.).

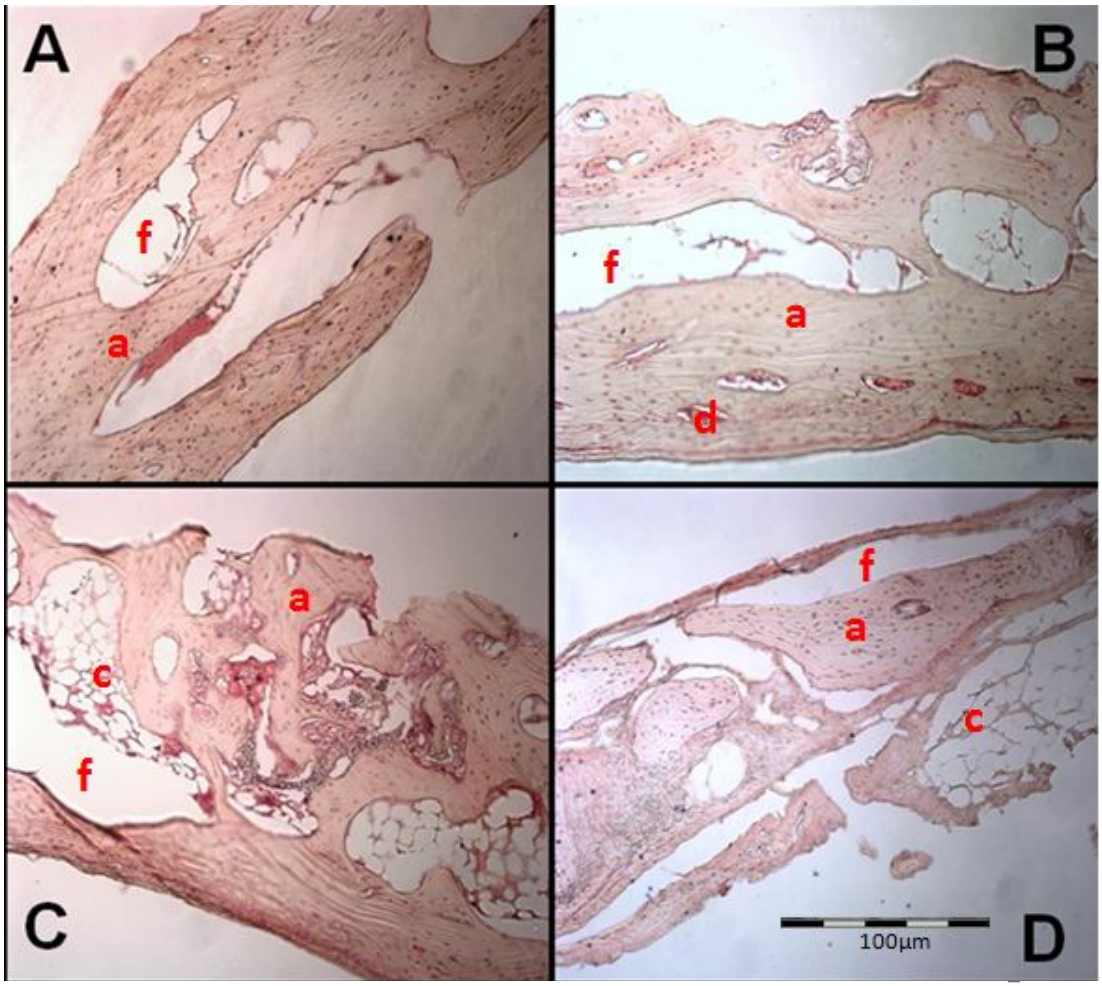


Şekil 2.10. Kalvaryum örneklerinde üçgen ile belirlenmiş (çentik atılmış) referans işaretine göre kodlanan uygulama alanlarından C-A ve D-B doğrultusunda kesim doğrultularını göstermektedir. Altta: normal kemik alanları (doku dolgulu) içerisinde greft uygulamalarına ait bölümlerin (noktalı) transvers (enine) görüntüleri görülmektedir.

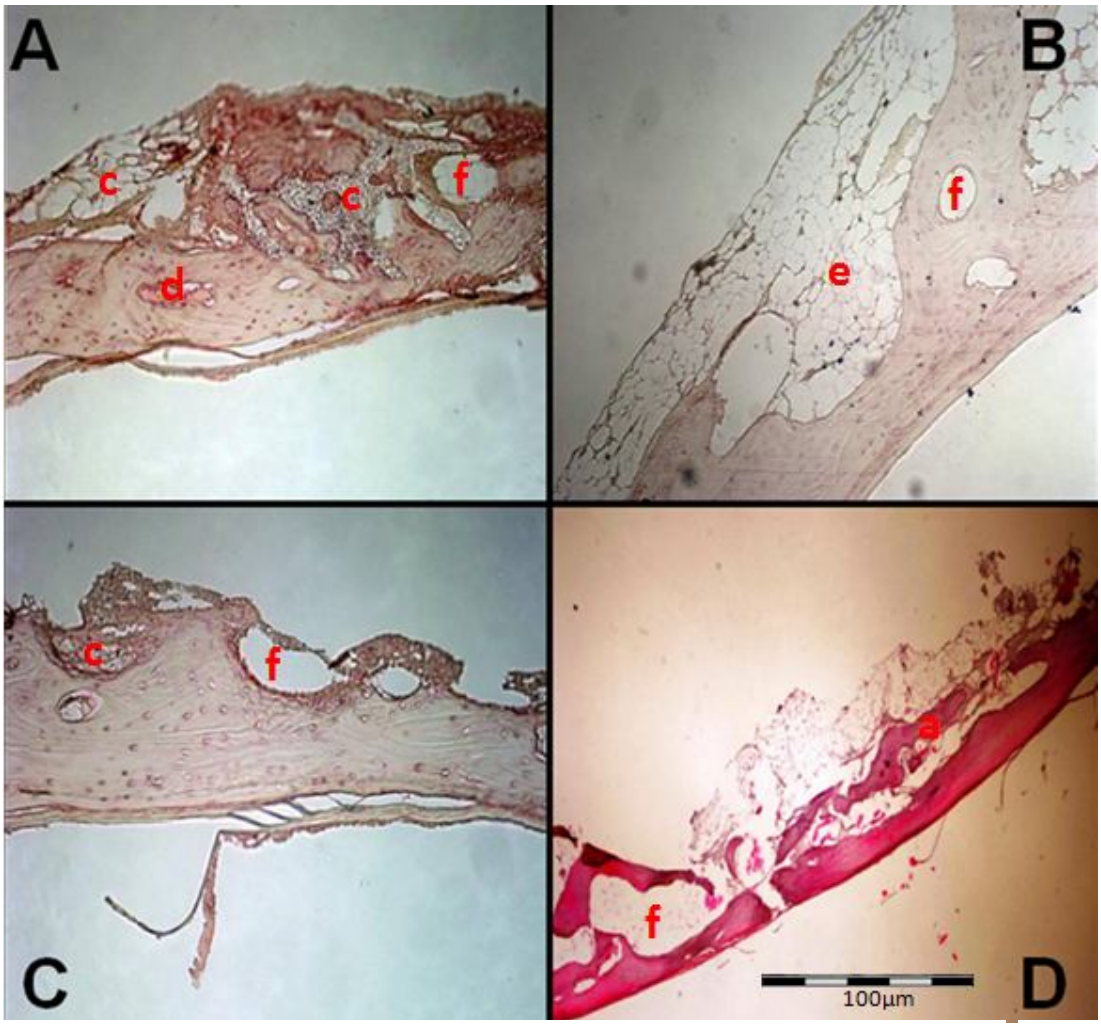
En az 48-96 saatlik ön fiksasyon işlemi sonrası, dekalsifikasyon esnasında da tespit işleminin de verimliliği ve sürekliliğini sağlamak üzere %10'luk formaldehit solüsyonunda hazırlanmış %10'luk EDTA (Etilen diamin tetra asetik asit, [CH2N (CH2CO2H)2]2) (pH 7.4) solüsyonunda yavaş, uzun süreli dekalsifikasyon prosedürüne tabi tutuldu. Solüsyon birer haftalık aralıklarla yenilenerek EDTA'nin dekalsifikasyon verimliği sağlanmaya çalışıldı. Ayrıca günaşırı dekalsifikasyon etkinliği manuel olarak doku sertliği kontrol edildi. Dekalsifikasyon işlemi birkaç kez tekrar edildi. Son defasında %10'luk EDTA+%1 NaOH solüsyonunda birkaç gün daha tutuldu. Günlük olarak palpasyonla yeterli yumuşaklığa eriştiği belirlenen örnekler rutin histokimyasal takip işlemine alındı. Absolüye kadar artan dereceli etil alkol serilerinden ve ksilolden geçirilen örnekler parafine dik olarak gömülerek bloklandı. Parafin bloklardan rotary mikrotomla 5-7 µm'lik transvers (enine) kesitler poly-L lysine kaplı lamlara alındı. Deparafinizasyon ve rehidratasyon işlemlerini takiben kesitler rutin Hematoksilen ve Eosin (H&E) (Şekil 2.11,12,13) ve Modifiye Mallory trikrom (MT) (Şekil 2.14,15,16) boyaları ile histokimyasal olarak boyandı.



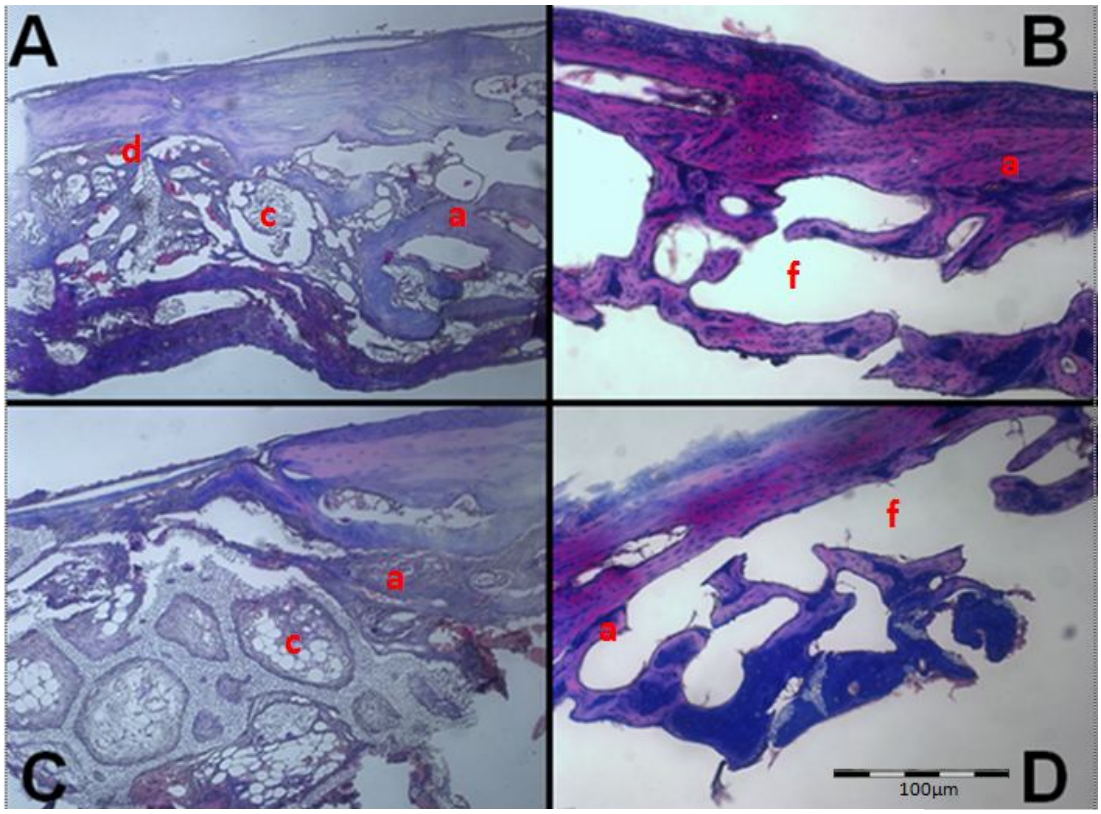
Şekil 2.11. A, B, C, D gruplarının 1. Ay histolojik görüntüsü (H&E X10) a-yeni kemik oluşumu, b-fibröz doku, c-organize olmuş greft, d-damarsal yapılar, e-kemik iliği ve yağ dokusu, f-boşluklar.



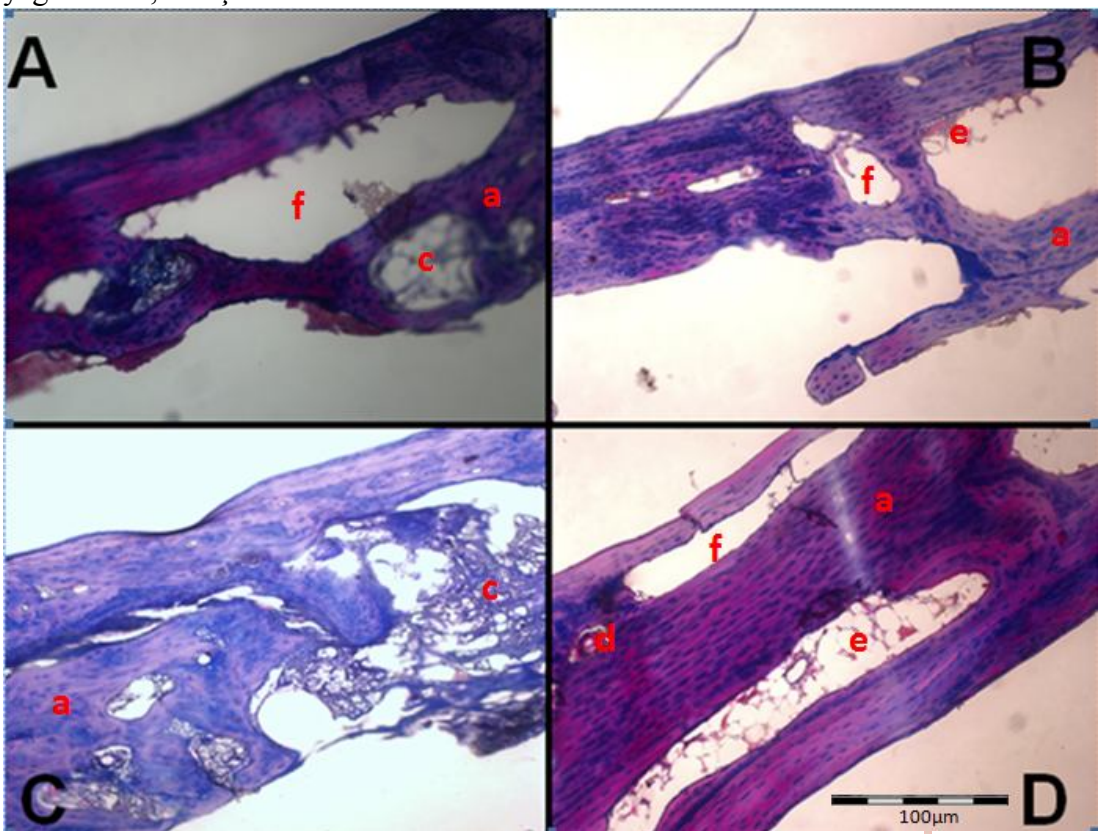
Şekil 2.12. A, B, C, D gruplarının 3. Ay histolojik görüntüsü (H&E X10) a-yeni kemik oluşumu, b-fibröz doku, c-organize olmuş greft, d-damarsal yapılar, e-kemik iliği ve yağ dokusu, f-boşluklar.



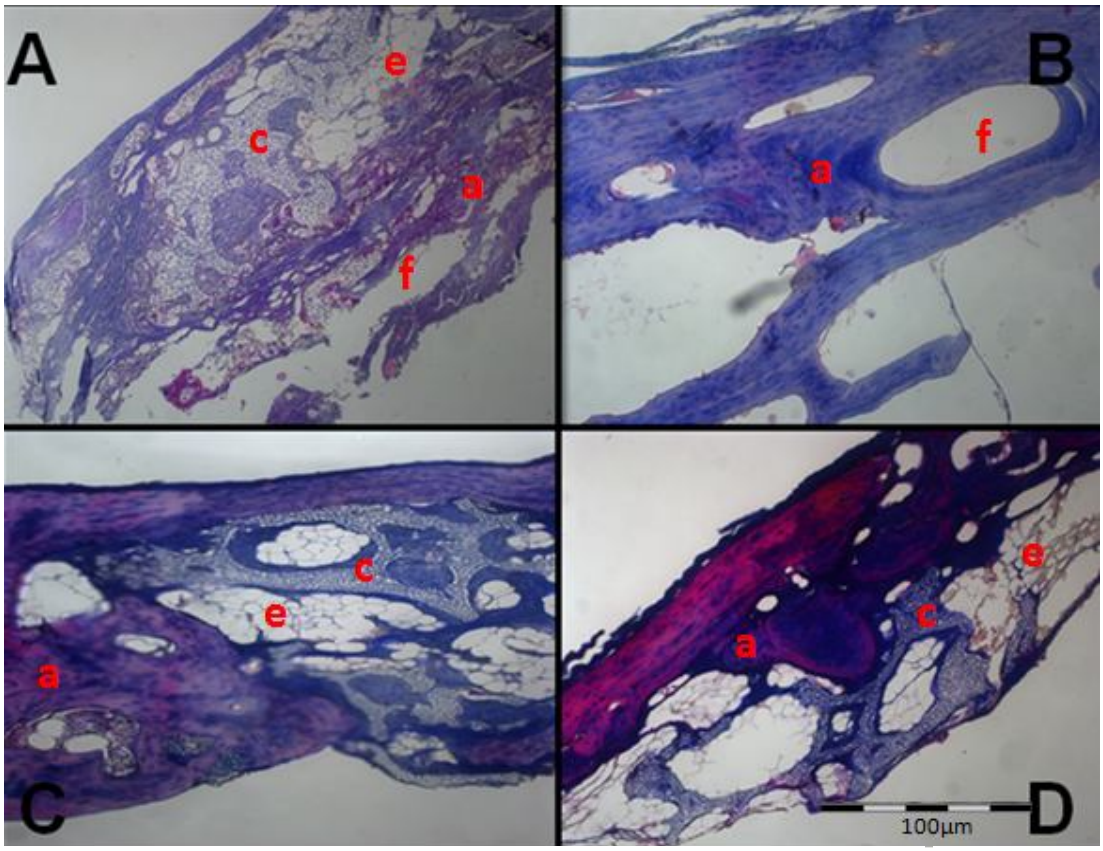
Şekil 2.13. A, B, C, D gruplarının 6. Ay histolojik görüntüsü (H&E X10) a-yeni kemik oluşumu, b-fibröz doku, c-organize olmuş greft, d-damarsal yapılar, e-kemik iliği ve yağ dokusu, f-boşluklar.



Şekil 2.14. A, B, C, D gruplarının 1. Ay histolojik görüntüsü (MT X10) a-yeni kemik oluşumu, b-fibröz doku, c-organize olmuş greft, d-damarsal yapılar, e-kemik iliği ve yağ dokusu, f-boşluklar.



Şekil 2.15. A, B, C, D gruplarının 3. Ay histolojik görüntüsü (MT X10) a-yeni kemik oluşumu, b-fibröz doku, c-organize olmuş greft, d-damarsal yapılar, e-kemik iliği ve yağ dokusu, f-boşluklar.

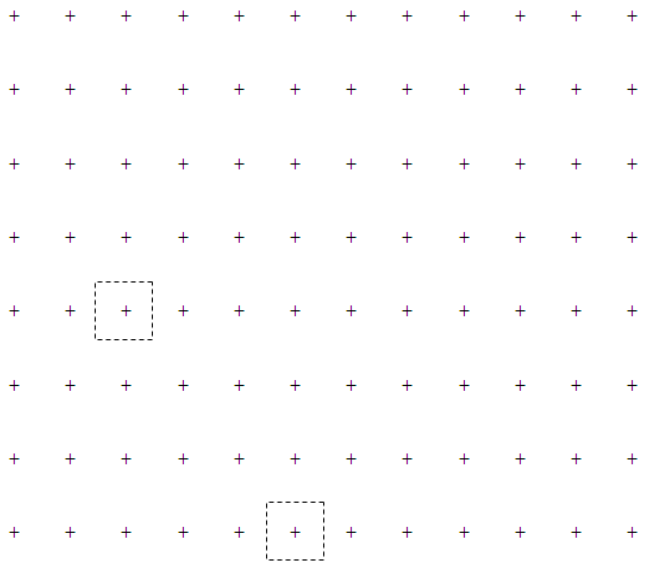


Şekil 2.16. A, B, C, D gruplarının 6. Ay histolojik görüntüsü (MT X10) a-yeni kemik oluşumu, b-fibröz doku, c-organize olmuş greft, d-damarsal yapılar, e-kemik iliği ve yağ dokusu, f-boşluklar.

2.7. Görüntü Analizi

Kesitler Olympus BX51 Trinoküler mikroskopta (Olympus Tokyo Japonya) incelendi. DP72 kamera (Olympus Tokyo Japonya) ile çeşitli objektif büyütmelerinde dijital olarak görüntülendi. 10X objektif büyütmesi ile elde edilen dijital Şekiller monitör üzerinde nokta sayım cetveli kullanılarak analiz edildi.

Nokta sayım cetveli, bir asetat üzerinde eşit aralıklarla işaretlenmiş + işaretlerinden oluşmaktadır (Şekil 2.17.). Her bir + kendi etrafındaki birim alanı temsil etmektedir. Dolayısı ile her parametre için elde edilen nokta sayısı yüzdeye çevrilerek yüzde oranları belirlendi. Ayrıca, her referans noktasının temsil ettiği birim kare alan: Image J 1.46r (Wayne Rasband, National Institute of Health, USA) java programı ile bilgisayarda hesaplanarak tüm parametreler için toplam alanlar analiz edildi.



Şekil 2.17. Nokta sayım cetveli: Kare alanlar + işaretinin temsil ettiği birim alanı göstermektedir.

Analiz işlemleri için aşağıdaki parametrelerin birim alanları çift kör olarak, iki araştırmacı tarafından farklı zamanlarda değerlendirildi.

- Yeni kemik oluşumu
- Fibroz doku
- Organize olmuş greft
- Damarsal yapılar
- Kemik iliği ve yağ dokusu
- Boşluklar

Ayrıca; tüm dokular mikroskopla incelenerek:

- Kemik köprünün kurulup kurulamaması,
- Kemik oluşumu
- Kollajen yapıların dağılımı,
- İmmün ve inflamatuar doku cevabı, yönünden de değerlendirildi.

Bu değerlendirme için 5 dereceli bir skorlama kullanıldı. Bu derecelendirmede:

- 0: Hiç yok,
- +: Çok zayıf,
- ++: Orta derecede,
- +++: Kuvvetli,

- ++++: Çok kuvvetli, olarak değerlendirildi.

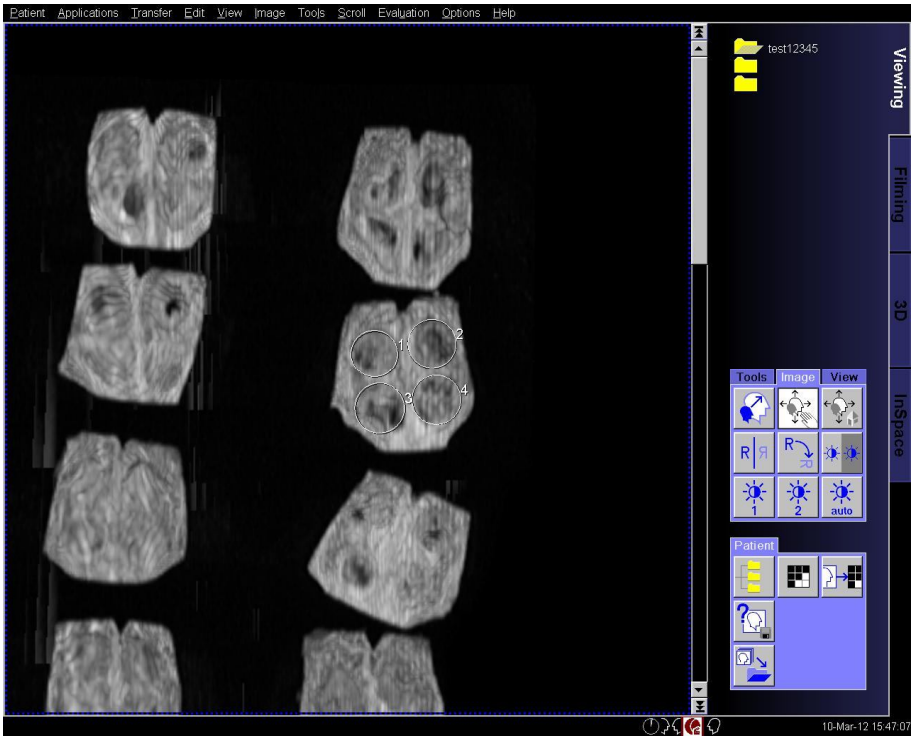
2.8. Radyolojik İnceleme

Radyolojik olarak iki yöntem kullanılmıştır.

İlk olarak örnekleri Hologic marka mamografi cihazı (Hologic Bedford USA) ile 35 kvp 14 ms de görüntüleri elde edildi. Görüntüler arası fark olmaması için bütün örneklerin aynı anda radyografisi alındı. Elde edilen görüntüler PAX 10.0 programı ile iyileşmeleri aşağıdaki skorlama ile değerlendirildi.

1. Kötü
2. Orta
3. İyi
4. Çok iyi

İkinci olarak örnekler su dolu bir pet şişenin etrafına yapıştırıldı. Görüntüler Siemens, Somatom-Definition Flash (Siemens Erlangen Almanya) marka tomografi cihazında temporal kemik modunda elde edildi. Bu görüntüler PAX 10.0 programı ile her defekt ayrı ayrı olacak şekilde dansitometrik olarak değerlendirildi (Şekil 2.18.).



Şekil 2.18. Dansitometrik inceleme.

2.9. İstatistiksel Yöntem

Sürekli değişkenlerin normal dağılıp dağılmadıkları Shapiro Wilks testi ile incelendi. Bu testin sonuçlarına göre değişkenlerin çoğu normal dağılım göstermemektedir. Bu nedenle istatistiksel analizlerde parametrik olmayan yöntemler kullanıldı.

Her zaman periyodunda grupların karşılaştırılmasında Freidman testi uygulandı ve anlamlı bulunan değerlerin ikili karşılaştırılması için ise Wilcoxon testi kullanıldı. İlgili anlamlılık seviyeleri tabloda gösterildi.

Alt gruplardaki zamana bağlı değişim incelenirken grupların karşılaştırması için k- bağımsız Kruskal Wallis testi kullanıldı. Grup içinde zamana bağlı anlamlı değişim bulunması halinde 2- bağımlı grup karşılaştırmaları Mann Whitney U ile yapıldı. İlgili anlamlılık seviyeleri tabloda gösterildi.

Tanımlayıcı istatistik olarak ortalama (ort), standart sapma (std), minimum (min), maksimum (max) değerler verildi ve $p<0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tüm istatistiksel analizler SPSS® 15.0 programı Windows® kullanılarak gerçekleştirildi.

3. BULGULAR

3.1. Grup İçi Bulguların Değerlendirilmesi

3.1.1. Yeni Kemik Oluşumunun Değerlendirilmesi

1., 3., 6. aylarda yeni kemik oluşumu bakımından A, B, C, D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.1.).

Çizelge 3.1. A, B, C, D Gruplarının Yeni kemik oluşumunun 1. 3. ve 6. aylardaki dağılımı.

YENİ KEMİK OLUŞUMU		1 AY	3 AY	6 AY
A GRUBU	ORT	59, 39	56, 41	52, 20
	STD	10, 22	4, 82	10, 83
	MİN	40, 88	51, 85	41, 75
	MAK	70, 64	64, 84	71, 27
B GRUBU	ORT	44, 74	54, 30	52, 16
	STD	16, 21	11, 93	11, 62
	MİN	23, 58	38, 86	32, 95
	MAK	65, 24	70, 63	63, 52
C GRUBU	ORT	54, 22	55, 62	59, 81
	STD	8, 57	13, 47	12, 89
	MİN	43, 51	37, 68	38, 26
	MAK	65, 28	73, 56	75, 00
D GRUBU	ORT	64, 77	60, 89	59, 25
	STD	10, 65	2, 70	9, 04
	MİN	52, 82	57, 62	51, 08
	MAK	79, 53	64, 16	76, 27
P	A-B-C-D	NS	NS	NS
	A-B	NS	NS	NS
	A-C	NS	NS	NS
	A-D	NS	NS	NS
	B-C	NS	NS	NS
	B-D	NS	NS	NS
	C-D	NS	NS	NS

3.1.2. Greft Organizasyonunun Değerlendirilmesi

1. ayda greft organizasyonu bakımından A ve C, A ve D, B ve D, C ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, A ve B, B ve C grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Çizelge 3.2.).

3. ayda greft organizasyonu bakımından A ve C, A ve D, C ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, A ve B, B ve C, B ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Çizelge 3.2.).

6. ayda greft organizasyonu bakımından A, B, C, D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.2.).

Çizelge 3.2. A, B, C, D Gruplarının Greft Organizasyonunun 1. 3. ve 6. aylardaki dağılımı.

ORGANİZE GREFT		1 AY	3 AY	6 AY
A GRUBU	ORT	9, 96	5, 52	7, 22
	STD	4, 52	1, 26	11, 04
	MİN	2, 96	3, 85	0
	MAK	14, 47	7, 32	27, 63
B GRUBU	ORT	0	0	0
	STD	0	0	0
	MİN	0	0	0
	MAK	0	0	0
C GRUBU	ORT	11, 40	6, 74	3, 49
	STD	5, 53	7, 18	4, 49
	MİN	4, 52	0	0
	MAK	20, 61	18, 12	9, 41
D GRUBU	ORT	8, 54	3, 88	3, 61
	STD	9, 58	3, 77	7, 87
	MİN	0	0	0
	MAK	20, 42	8, 29	19, 59
P	A-B-C-D	P<0, 05	P<0, 05	NS
	A-B	P<0, 05	P<0, 05	NS
	A-C	NS	NS	NS
	A-D	NS	NS	NS
	B-C	P<0, 05	P<0, 05	NS
	B-D	NS	P<0, 05	NS
	C-D	NS	NS	NS

3.1.3. Fibröz Doku Oluşumunun Değerlendirilmesi

1. ayda fibröz doku oluşumu bakımından A ve C, A ve D, C ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, A ve B, B ve C, B ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Çizelge 3.3.).

3. ayda fibröz doku oluşumu bakımından A, B, C, D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.3.).

6. ayda fibröz doku oluşumu bakımından A, B, C, D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.3.).

Çizelge 3.3. A, B, C, D Gruplarının Fibröz Doku oluşumunun 1. 3. ve 6. aylardaki dağılımı.

FİBRÖZ DOKU OLUŞUMU		1 AY	3 AY	6 AY
A GRUBU	ORT	6, 74	6, 90	11, 26
	STD	3, 48	4, 62	6, 74
	MİN	2, 96	2, 47	3, 21
	MAK	11, 72	15, 24	18, 68
B GRUBU	ORT	2, 44	6, 09	6, 80
	STD	0, 83	3, 98	6, 80
	MİN	0, 81	2, 86	1, 70
	MAK	3, 05	13, 02	20, 09
C GRUBU	ORT	5, 75	6, 17	10, 29
	STD	2, 41	2, 47	7, 62
	MİN	3, 62	2, 27	1, 99
	MAK	9, 16	9, 50	21, 74
D GRUBU	ORT	4, 95	6, 38	9, 29
	STD	2, 45	3, 79	5, 99
	MİN	1, 75	1, 41	3, 42
	MAK	7, 94	10, 00	17, 54
P	A-B-C-D	P<0, 05	NS	NS
	A-B	P<0, 05	NS	NS
	A-C	NS	NS	NS
	A-D	NS	NS	NS
	B-C	P<0, 05	NS	NS
	B-D	P<0, 05	NS	NS
	C-D	NS	NS	NS

3.1.4. Doku Boşluklarının Değerlendirilmesi

1. ayda doku boşlukları bakımından A ve C, A ve D, grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, A ve B, B ve C, B ve D, C ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Çizelge 3.4.).

3. ayda doku boşlukları bakımından A, B, C, D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.4.).

6. ayda doku boşlukları bakımından A, B, C, D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.4.).

Çizelge 3.4. A, B, C, D Gruplarının Doku boşluklarının 1. 3. ve 6. aylardaki dağılımı.

DOKU BOŞLUK		1 AY	3 AY	6 AY
A GRUBU	ORT	13, 13	19, 49	16, 03
	STD	9, 97	8, 22	10, 86
	MİN	4, 00	8, 46	7, 69
	MAK	28, 40	30, 25	35, 26
B GRUBU	ORT	44, 04	24, 42	25, 78
	STD	18, 39	8, 32	8, 70
	MİN	28, 57	14, 29	13, 07
	MAK	74, 39	33, 66	35, 94
C GRUBU	ORT	21, 21	15, 31	14, 75
	STD	7, 66	6, 63	8, 53
	MİN	14, 94	8, 62	6, 40
	MAK	32, 61	26, 89	29, 85
D GRUBU	ORT	13, 86	23, 71	16, 27
	STD	6, 79	7, 52	7, 07
	MİN	4, 95	12, 50	8, 55
	MAK	25, 98	31, 92	24, 55
P	A-B-C-D	P<0, 05	NS	NS
	A-B	P<0, 05	NS	NS
	A-C	NS	NS	NS
	A-D	NS	NS	NS
	B-C	P<0, 05	NS	NS
	B-D	P<0, 05	NS	NS
	C-D	P<0, 05	NS	NS

3.1.5. Kemik İliği ve Yağ Dokusunun Değerlendirilmesi

1. ayda kemik iliği ve yağ dokusu bakımından A, B, C, D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.5.).

3. ayda kemik iliği ve yağ dokusu bakımından A, B, C, D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.5.).

6. ayda kemik iliği ve yağ dokusu bakımından A, B, C, D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.5.).

Çizelge 3.5. A, B, C, D Gruplarının Kemik iliği ve yağ dokusunun 1. 3. ve 6. aylardaki dağılımı.

KEMİK İLİĞİ YAĞ DOKU		1 AY	3 AY	6 AY
A GRUBU	ORT	8, 20	9, 51	17, 37
	STD	6, 49	8, 71	19, 87
	MİN	2, 07	1, 65	3, 62
	MAK	18, 24	25, 38	56, 60
B GRUBU	ORT	6, 65	13, 36	14, 27
	STD	5, 81	15, 60	19, 48
	MİN	0	3, 17	0
	MAK	14, 12	42, 86	51, 14
C GRUBU	ORT	5, 10	14, 62	9, 93
	STD	2, 48	11, 92	8, 63
	MİN	1, 71	1, 12	0
	MAK	7, 97	35, 80	25, 22
D GRUBU	ORT	6, 09	7, 99	19, 86
	STD	4, 63	3, 08	13, 70
	MİN	2, 00	3, 33	0
	MAK	14, 85	11, 19	33, 33
P	A-B-C-D	NS	NS	NS
	A-B	NS	NS	NS
	A-C	NS	NS	NS
	A-D	NS	NS	NS
	B-C	NS	NS	NS
	B-D	NS	NS	NS
	C-D	NS	NS	NS

3.1.6. Damarlanmanın Değerlendirilmesi

1. ayda damarlanma bakımından A, B, C, D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.6.).

3. ayda damarlanma bakımından A, B, C, D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.6.).

6. ayda damarlanma bakımından A, B, C, D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.6.).

Çizelge 3.6. A, B, C, D Gruplarının Damarlanmanın 1. 3. ve 6. aylardaki dağılımı.

DAMARLANMA		1 AY	3 AY	6 AY
A GRUBU	ORT	2, 58	2, 17	2, 41
	STD	1, 11	0, 80	1, 37
	MİN	1, 26	1, 23	0, 47
	MAK	4, 14	3, 61	4, 40
B GRUBU	ORT	2, 13	1, 82	0, 98
	STD	1, 17	1, 51	0, 37
	MİN	0, 66	0, 49	0, 49
	MAK	3, 57	4, 76	1, 28
C GRUBU	ORT	2, 31	1, 53	1, 73
	STD	0, 56	0, 51	0, 93
	MİN	1, 55	0, 57	0, 50
	MAK	3, 05	2, 08	2, 94
D GRUBU	ORT	1, 77	2, 14	1, 71
	STD	0, 89	1, 10	0, 74
	MİN	0, 79	0, 52	0, 85
	MAK	3, 33	3, 33	2, 70
P	A-B-C-D	NS	NS	NS
	A-B	NS	NS	NS
	A-C	NS	NS	NS
	A-D	NS	NS	NS
	B-C	NS	NS	NS
	B-D	NS	NS	NS
	C-D	NS	NS	NS

3.1.7. Kemik Köprü Oluşumunun Değerlendirilmesi

1. ayda kemik köprü oluşumu bakımından A ve B, A ve C, A ve D, C ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, B ve C, B ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Çizelge 3.7.).

3. ayda kemik köprü oluşumu bakımından A, B, C, D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.7.).

6. ayda kemik köprü oluşumu bakımından A ve C, A ve D, C ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, A ve B, B ve C, B ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Çizelge 3.7.).

Çizelge 3.7. A, B, C, D Gruplarının kemik köprü oluşumunun 1. 3. ve 6. aylardaki dağılımı.

KEMİK KÖPRÜ		1 AY	3 AY	6 AY
A GRUBU	ORT	1, 67	1, 33	1, 83
	STD	1, 03	0, 82	0, 98
	MİN	0	0	1, 00
	MAK	3, 00	2, 00	3, 00
B GRUBU	ORT	0, 83	1, 00	0, 17
	STD	0, 75	0, 63	0, 41
	MİN	0	0	0
	MAK	2, 00	2, 00	1, 00
C GRUBU	ORT	2, 17	1, 17	1, 33
	STD	0, 98	0, 41	0, 82
	MİN	1, 00	1, 00	1, 00
	MAK	3, 00	2, 00	3, 00
D GRUBU	ORT	2, 00	1, 33	1, 83
	STD	0, 89	0, 52	0, 75
	MİN	1, 00	1, 00	1, 00
	MAK	3, 00	2, 00	3, 00
P	A-B-C-D	P<0, 05	NS	P<0, 05
	A-B	NS	NS	P<0, 05
	A-C	NS	NS	NS
	A-D	NS	NS	NS
	B-C	P<0, 05	NS	P<0, 05
	B-D	P<0, 05	NS	P<0, 05
	C-D	NS	NS	NS

3.1.8. Kemik Oluşumunun Histolojik Değerlendirilmesi

1. ayda yeni kemik oluşumu bakımından A ve C, A ve D, C ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, A ve B, B ve C, B ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Çizelge 3.8.).

3. ayda yeni kemik oluşumu bakımından A, B, C, D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.8.).

6. ayda yeni kemik oluşumu bakımından A ve C, A ve D, C ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, A ve B, B ve C, B ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Çizelge 3.8.).

Çizelge 3.8. A, B, C, D Gruplarının Kemik oluşumunun histolojisinin 1. 3. ve 6. aylardaki dağılımı.

KEMİK OLUŞUMU		1 AY	3 AY	6 AY
A GRUBU	ORT	2, 50	1, 50	2, 00
	STD	0, 55	0, 84	0, 89
	MİN	2, 00	0	1, 00
	MAK	3, 00	2, 00	3, 00
B GRUBU	ORT	0, 83	1, 17	0, 67
	STD	0, 41	0, 41	0, 52
	MİN	0	1, 00	0
	MAK	1, 00	2, 00	1, 00
C GRUBU	ORT	2, 33	1, 17	1, 67
	STD	0, 82	0, 41	0, 52
	MİN	1, 00	1, 00	1, 00
	MAK	3, 00	2, 00	2, 00
D GRUBU	ORT	2, 00	1, 50	2, 00
	STD	0, 63	0, 84	0, 63
	MİN	1, 00	1, 00	1, 00
	MAK	3, 00	3, 00	3, 00
P	A-B-C-D	P<0, 05	NS	P<0, 05
	A-B	P<0, 05	NS	P<0, 05
	A-C	NS	NS	NS
	A-D	NS	NS	NS
	B-C	P<0, 05	NS	P<0, 05
	B-D	P<0, 05	NS	P<0, 05
	C-D	NS	NS	NS

3.1.9. Kollagen Oluşumunun Değerlendirilmesi

1. ayda kollagen oluşumu bakımından A ve C, A ve D, B ve C, C ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, A ve B, B ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Çizelge 3.9.).

3. ayda kollagen oluşumu bakımından A ve B, C ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, A ve C, A ve D, B ve C, B ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Çizelge 3.9.).

6. ayda kollagen oluşumu bakımından A, B, C, D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.9.).

Çizelge 3.9. A, B, C, D Gruplarının Kollajen oluşumunun 1. 3. ve 6. aylardaki dağılımı.

KOLLAJEN OLUŞUMU		1 AY	3 AY	6 AY
A GRUBU	ORT	1, 83	0, 83	1, 50
	STD	0, 75	0, 41	1, 05
	MİN	1, 00	0	0
	MAK	3, 00	1, 00	3, 00
B GRUBU	ORT	0, 67	0, 67	1, 00
	STD	0, 52	0, 52	0, 63
	MİN	0	0	0
	MAK	1, 00	1, 00	2, 00
C GRUBU	ORT	1, 33	1, 50	1, 50
	STD	0, 52	0, 55	0, 55
	MİN	1, 00	1, 00	1, 00
	MAK	2, 00	2, 00	2, 00
D GRUBU	ORT	1, 50	1, 50	1, 00
	STD	0, 55	0, 55	0, 89
	MİN	1, 00	1, 00	0
	MAK	2, 00	2, 00	2, 00
P	A-B-C-D	P<0, 05	P<0, 05	NS
	A-B	P<0, 05	NS	NS
	A-C	NS	P<0, 05	NS
	A-D	NS	P<0, 05	NS
	B-C	NS	P<0, 05	NS
	B-D	P<0, 05	P<0, 05	NS
	C-D	NS	NS	NS

3.1.10. Enflamasyonun Değerlendirilmesi

1. ayda enflamatuar yanıt bakımından A ve C, A ve D, C ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, A ve B, B ve C, B ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Çizelge 3.10.).

3. ayda enflamatuar yanıt bakımından A ve B, A ve C, A ve D, B ve D, C ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, B ve C, grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Çizelge 3.10.).

6. ayda enflamatuar yanıt oluşumu bakımından A, B, C, D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.10.).

Çizelge 3.10. A, B, C, D Gruplarının Enflamasyonun 1. 3. ve 6. aylardaki dağılımı.

ENFLAMASYON		1 AY	3 AY	6 AY
A GRUBU	ORT	1, 83	1, 17	0, 17
	STD	0, 75	0, 75	0, 41
	MİN	1, 00	0	0
	MAK	3, 00	2, 00	1, 00
B GRUBU	ORT	0, 50	0, 33	0, 17
	STD	0, 55	0, 52	0, 41
	MİN	0	0	0
	MAK	1, 00	1, 00	1, 00
C GRUBU	ORT	1, 50	1, 17	0, 33
	STD	0, 55	0, 41	0, 52
	MİN	1, 00	1, 00	0
	MAK	2, 00	2, 00	1, 00
D GRUBU	ORT	1, 50	0, 83	0, 33
	STD	0, 55	0, 75	0, 52
	MİN	1, 00	0	0
	MAK	2, 00	2, 00	1, 00
P	A-B-C-D	P<0, 05	P<0, 05	NS
	A-B	P<0, 05	NS	NS
	A-C	NS	NS	NS
	A-D	NS	NS	NS
	B-C	P<0, 05	P<0, 05	NS
	B-D	P<0, 05	NS	NS
	C-D	NS	NS	NS

3.1.11. Kemik Dansitometrik İncelemesinin Değerlendirilmesi

1. ayda dansitometrik inceleme bakımından A ve D, C ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, A ve B, A ve C, B ve C, B ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Çizelge 3.11.).

3. ayda dansitometrik inceleme bakımından B ve C grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, A ve B, A ve C, A ve D, C ve D, B ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Çizelge 3.11.).

6. ayda dansitometrik inceleme bakımından A, B, C, D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.11.).

Çizelge 3.11. A, B, C, D Gruplarının Dansitometrik incelemesinin 1. 3. ve 6. aylardaki dağılımı.

DANSİTE		1 AY	3 AY	6 AY
A GRUBU	ORT	1.863, 83	1.746, 67	1.598, 33
	STD	103, 36	163, 13	129, 66
	MİN	1.757, 00	1.536, 00	1.431, 00
	MAK	2.034, 00	1.957, 00	1.780, 00
B GRUBU	ORT	1.610, 50	1.645, 33	1.424, 67
	STD	427, 02	218, 73	277, 29
	MİN	802, 00	1.376, 00	1.052, 00
	MAK	1.930, 00	1.948, 00	1.774, 00
C GRUBU	ORT	1.890, 67	1.970, 50	1.657, 33
	STD	239, 30	190, 95	144, 28
	MİN	1.536, 00	1.682, 00	1.403, 00
	MAK	2.193, 00	2.219, 00	1.825, 00
D GRUBU	ORT	1.487, 00	1.905, 17	1.735, 17
	STD	306, 60	119, 31	236, 54
	MİN	944, 00	1.668, 00	1.482, 00
	MAK	1.843, 00	1.983, 00	2.020, 00
P	A-B-C-D	P<0, 05	P<0, 05	NS
	A-B	NS	NS	NS
	A-C	NS	NS	NS
	A-D	P<0, 05	NS	NS
	B-C	NS	P<0, 05	NS
	B-D	NS	NS	NS
	C-D	P<0, 05	NS	NS

3.1.12. Radyolojik İyileşme Skorunun Değerlendirilmesi

1. ayda radyolojik iyileşme skoru bakımından A, B, C, D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.12.).

3. ayda radyolojik iyileşme skoru bakımından A, B, C, D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.12.).

6. ayda radyolojik iyileşme skoru bakımından A ve B, A ve D, B ve C, C ve D, B ve D grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, A ve C grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Çizelge 3.12.).

Çizelge 3.12. A, B, C, D Gruplarının Radyolojik iyileşme skorunun 1. 3. ve 6. aylardaki dağılımı.

İYİLEŞME SKORU		1 AY	3 AY	6 AY
A GRUBU	ORT	3, 67	3, 83	3, 17
	STD	0, 52	0, 41	0, 41
	MİN	3, 00	3, 00	3, 00
	MAK	4, 00	4, 00	4, 00
B GRUBU	ORT	2, 83	3, 50	2, 83
	STD	0, 75	0, 55	0, 75
	MİN	2, 00	3, 00	2, 00
	MAK	4, 00	4, 00	4, 00
C GRUBU	ORT	3, 50	3, 33	2, 50
	STD	0, 55	0, 82	0, 55
	MİN	3, 00	2, 00	2, 00
	MAK	4, 00	4, 00	3, 00
D GRUBU	ORT	2, 67	3, 33	2, 67
	STD	1, 03	0, 52	0, 52
	MİN	1, 00	3, 00	2, 00
	MAK	4, 00	4, 00	3, 00
P	A-B-C-D	NS	NS	P<0, 05
	A-B	NS	NS	NS
	A-C	NS	NS	P<0, 05
	A-D	NS	NS	NS
	B-C	NS	NS	NS
	B-D	NS	NS	NS
	C-D	NS	NS	NS

3.2. Gruplar Arası Bulguların Değerlendirilmesi

3.2.1. A Grubunun Değerlendirilmesi

A grubunun gruplar arası değerlendirmesinde 1. ve 3. aylar arasında değerlendirdiğimiz faktörlerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken, 1. ve 6. aylar arasında enflamasyon ve kemik dansitometrisi bakımından, 3. ve 6. aylar arasında ise kemik dansitometrisi ve kemik iyileşme skoru bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Çizelge 3.13.).

3.2.2. B Grubunun Değerlendirilmesi

B grubunun gruplar arası değerlendirmesinde 1. ve 3. aylar arasında fibröz doku oluşumu ve doku boşlukları bakımından, 1. ve 6. aylar arasında ise kemik köprüsü oluşumu bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. 3. ve 6. aylar arasında değerlendirdiğimiz faktörlerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.13.).

3.2.3. C Grubunun Değerlendirilmesi

C grubunun gruplar arası değerlendirilmesinde 1. ve 3. aylar arasında kemik iliği ve yağ dokusu oluşumu, doku boşlukları ve damarlanma bakımından, 1. ve 6. aylar arasında enflamasyon ve kemik iyileşme skoru bakımından 3. ve 6. aylar arasında ise enflamasyon ve kemik dansitomerisi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Çizelge 3.13.).

3.2.4. D Grubunun Değerlendirilmesi

D grubunun gruplar arası değerlendirilmesinde 1. ve 3. aylar arasında doku boşlukları ve kemik dansitomerisi bakımından, 1. ve 6. aylar arasında değerlendirdiğimiz faktörlerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır 3. ve 6. aylar arasında ise kemik iyileşme skoru bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Çizelge 3.13.).

Çizelge 3.13. A, B, C, D Gruplarının 1. 3. ve 6. aylardaki gruplar arası dağılımı.

	A GRUBU				B GRUBU				C GRUBU				D GRUBU			
	1-3-6 AY	1-3 AY	1-6 AY	3-6 AY	1-3-6 AY	1-3 AY	1-6 AY	3-6 AY	1-3-6 AY	1-3 AY	1-6 AY	3-6 AY	1-3-6 AY	1-3 AY	1-6 AY	3-6 AY
Yeni Kemik Oluşumu	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Organize Greft	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Kemik İliği- Yağ	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	P<0, 05	P<0, 05	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Fibröz Doku	NS	NS	NS	NS	P<0, 05	P<0, 05	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Boşluk	NS	NS	NS	NS	P<0, 05	P<0, 05	NS	NS	P<0, 05	P<0, 05	NS	NS	P<0, 05	P<0, 05	NS	NS
Damarlanma	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	P<0, 05	P<0, 05	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Kemik Köprü	NS	NS	NS	NS	P<0, 05	NS	P<0, 05	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Kemik Oluşumu	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Kollagen	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
İnflamasyon	P<0, 05	NS	P<0, 05	NS	NS	NS	NS	NS	P<0, 05	P<0, 05	P<0, 05	NS	NS	NS	NS	NS
Dansite	P<0, 05	NS	P<0, 05	P<0, 05	NS	NS	NS	NS	P<0, 05	NS	P<0, 05	NS	P<0, 05	P<0, 05	NS	NS
Radyolojik İyileşme Skoru	P<0, 05	NS	NS	P<0, 05	NS	NS	NS	NS	P<0, 05	P<0, 05	NS	NS	P<0, 05	NS	NS	P<0, 05

4. TARTIŞMA

Araştırmacılar devamlı olarak kemik greftleme teknikleri üzerine çeşitli çalışmalar yapmaktadırlar. Daha hızlı olgunlaşan ve daha yoğun kemik ile iyileşmeyi sağlayacak yöntemlerin geliştirilmesinin yanı sıra kemik defektlerinin kendiliğinden ya da kemik grefti ve kemik benzeri alloplastik maddelerin daha az komplikasyonla kemik ile bütünleşmesine yardımcı olacak yöntemler üzerine çalışmaktadırlar (Raghoebar 2005). Kemik rejenerasyonunu arttırmak için son yıllarda oral ve maksillofasiyal cerrahide otojen trombosit konsantrasyonlarından faydalanılmaktadır (Frenso ve ark 2010, Gentile ve ark 2010).

Yapılan çalışmalarda, trombositlerin α-granüllerinden bol miktarda, PDGF, TGF-β, IGF, EGF gibi büyüme faktörlerinin salgıladığı bildirilmektedir. Bu büyüme faktörlerinin kollajen sentezini arttırdığı bildirilmektedir. Kollajen sentezindeki artışın yumuşak dokuda direnci arttırdığı, kemik dokuda ise kallus oluşumunu başlattığı düşünülmektedir. Büyüme faktörlerinin etkili fonksiyon gösterdiklerinde doku iyileşmesini hızlandırdığı bildirilmektedir (Deutman ve ark 2008, He ve ark 2009, Hsu ve ark 2009, Shen ve ark 2009).

Greft materyali seçiminde, alıcı kemik yatağı özellikleri, greft malzemesinin osteojenik, osteokondüktif, osteoindüktif potansiyelleri ve hastanın genel sağlık durumu gibi pek çok faktör göz önünde bulundurulmalıdır. Otojen kemik greft materyali kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda osteoindüktif, osteokondüktif ve osteojenik etkileri nedeni ile öncelikli olarak tercih edilmektedir (Lundgren ve ark 1997). Ancak biz çalışmamızda iyileştirmeyi hızlandırıcı faktörlerin etkisini daha net görebilmek için osteoindüktif ve osteojenik potansiyelinin daha düşük olduğunu düşündüğümüz beta TCP tipi sentetik bir kemik grefti kullandık.

Kemik grefti, uygulanacağı bölgeye blok ya da partikül formda yerleştirilebilmektedir. Blok kemik greftleri yapısal bütünlüklerinin iyi olması, stabilizasyon sağlamaları ve korteks yapısının greftleme sonrası gelişecek rezorbsiyona karşı koyması ile öne çıkmaktadır (Lundgren ve ark 1997). Bu avantajlarına rağmen blok kemik greftlerinin içerisinde yeni kan daman oluşum hızı partikül kemik greftlerine göre daha yavaştır. Bu nedenle partikül kemik greftleri blok kemik greftlerine göre daha hızlı olgunlaşmaktadır (Garg 2004, Felice ve ark

2009). Çalışmamızda hızlı olgunlaşma özelliğinden yararlanmak için partikül kemik grefti kullanılmıştır. Her bir hayvanda oluşturulan dört adet kemik defektine, yalnız partikül formda beta TCP, TZF ile birlikte partikül formda beta TCP ve ankaferd ile birlikte partikül formda beta TCP uygulanmış, bir defekt ise kontrol amaçlı boş bırakılmıştır. Böylece ankaferd ve TZF nin partikül formda beta TCP ile birlikte kullanımının kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine etkileri histolojik ve radyolojik olarak incelenmiştir.

Deneklerin kafatası kullanılarak deney ve kontrol grubu aynı hayvanda oluşturulmuştur. Böylelikle deney hayvanı farklılığından kaynaklanacak olumsuzlukların önüne geçilmesi planlanmıştır. Develioğlu ve arkadaşları (2005) çalışmalarında aynı hayvanda oluşturulan deney ve kontrol gruplarının hayvan farklılığından doğabilecek değişiklikleri elimine ettiğini bildirmiştir.

Deney hayvanlarında kafatasındaki defektlerin rejeneratif kapasiteleri insanlardakinden daha iyi olduğu bilinmektedir. Kafatası, morfolojik ve embriyolojik açıdan bir membran prosesinden gelişim gösterir ve bu nedenle de yüz bölgesinde yer alan membranöz yolla gelişmiş diğer kemiklerle benzerlik gösterir. Anatomik olarak kafatası iki kortikal tabaka içerir ve bu açıdan da mandibulaya benzerlik gösterir. Fizyolojik olarak da kafatası kortikal kemiği atrofik bir mandibulaya benzerlik gösterir. Bu nedenden dolayı bizde literatürlerle uyumlu olarak matür Yeni Zelanda tavşanlarının kafatası bölgelerinde çalışmamızı yaptık.

Kemik metabolizması düzenlenmesinde cinsiyet hormonlarından östrojenin önemli etkisi olduğu ve östrojen hormonu eksikliğinde kemik iyileşmesinin geciktiği bilinmektedir (Kagel ve ark 1995). Dişi hayvanlarda kemik metabolizmasının menstrual siklus döneminde cinsiyet hormonu seviyelerinden etkilendiği göz önünde bulundurularak deney hayvanı olarak erkek Yeni Zelanda tavşanı seçilmiştir.

Kemik doku üzerine yapılan çalışmalarda kemik iyileşmesinin değerlendirme süreleri arasında ortak bir görüş yoktur (Schmidmaier ve ark 2001, Demircan ve ark 2008, Gielkens ve ark 2008). Uushalo ve arkadaşları (2001), histolojik olarak defektin yeni kemik dokuyla ilk haftada dolduğunu, aynı zamanda kortikal kemiğin kapanmasının 6 hafta sonunda gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Tavşanlarda yaptıkları kemik iyileşmesi ile ilgili çalışmalarda Miranda ve arkadaşları (2006), 7., 15., 30..

60. günlerde, Ohya ve arkadaşları (2005), 2., 4., 8. haftalarda, l., 2., 4. aylarda, Yıldız (2006), 14., 30., 60. günlerde, Butterfield (2005), 2, 4., 8. haftalarda. Jung ve arkadaşları (2005), 4. hafta sonunda. Nagata ve arkadaşları (2009), 4. ve 12. hafta sonunda,, Hatakeyama ve arkadaşları (2008) ise 2. hafta sonunda hayvanları sakrifiye etmişlerdir. Aghaloo ve arkadaşları (2002, 2004) tavşanlarda TZP ile yaptıkları çalışmada tavşanları 4., 8. ve 16. Haftalarda, Pripatnanont ve arkadaşları (2013) 8 hafta sonunda sakrifiye etmişlerdir. Yazawa ve arkadaşları (2004) tavşanlarda 1., 4. ve 8. haftalarda radyolojik ve histolojik değerlendirme yapmışlardır. Aghaloo ve arkadaşları (2004), Yazavva ve arkadaşları (2004), Butterfield ve arkadaşları (2005), Jung ve arkadaşlarının (2005) yaptıkları çalışmalarda 1. ve 2. haftalarda kemikleşmenin başladığını 6. ve 8. haftalarda da defektlerin dolduğunu bildirmektedirler. Biz çalışmamızda ankaferd ve tzf nin beta TCP ile kullanımının uzun dönem etkilerini araştırmak için 1., 3., 6. aylarda sakrifikasyon yaptık.

Son yıllarda, Choukroun tarafından ikinci kuşak trombosit konsantrasyonu olarak tanımlanan TZF'nin doku iyileşmesini arttırmak amacıyla kullanımı artış göstermiştir. TZF lökositten ve trombositten zengin fibrin biomateryali olarak tanımlanmaktadır. Bu teknikte antikuagülana, sığır kaynaklı trombine, kalsiyum kloride, herhangi bir jelleştirici maddeye ihtiyaç duyulmaması tekniğin daha basit ve ucuz olmasını sağlamaktadır (Koçyiğit ve ark 2012). Biyokimyasal madde ilave edilmemesi nedeniyle TZF'in sadece santrifüje edilmiş doğal kan ürünü olduğu ve kandaki doğal fibrin yapısından daha sıkı yapıda fibrin içerdiği ayrıca bireylerde herhangi bir immün reaksiyona yol açmayan otolog bir yapı olduğu belirtilmiştir (Dohan ve ark 2006b). Fibrin pıhtı içerisindeki trombositler, düşük hızda ve uzun süreli büyüme faktörü salınımına izin verirler. TZF'de büyüme faktörü salınımı kemik yapımının başladığı ilk 7 gün boyunca artar ve 14. günde pik yapar daha sonra 28. güne kadar azalarak devam eder. TZP 'de ise büyüme faktörlerinin ilk 24 saatte pik yaptığı daha sonraki günlerde ise çok az miktarda salınarak 7 gün sonunda salınınım durduğu belirtilmiştir (Dohan ve ark 2006b, 2006c). Literatürde kan kaynaklı ürünler arasında belirtilen üstün özellikleri nedeniyle araştırmamızda TZF kullanılması planlanmıştır.

Choukroun ve arkadaşları (2006) TZF elde etmek için venöz kanın 3000 rpm de, 10dk süresince santrifüj edilmesi gerektiğini belirtmiştir. Ancak Rodella ve

arkadaşları (2011) yaptığı çalışmada 2700 rpm de 12 dk süren santifüj işlemi sonrası daha sıkı ve yoğun kıvamda TZF oluştuğunu belirtmiştir. Çalışmamızda bu nedenle tavşan kulak veninden alınan kan 2700 rpm de 12 dk santrifüje edilip kullanılmıştır.

TZF'nin fibrin ağı içerisindeki lökositlerin aktive olması ve sitokinlerin fibrin ağ ile birleşmesinin bağışıklıktaki rolü önemlidir. Sitokinlerin devamlı salınımı greft materyali içerisindeki enflamatuar ve enfeksiyöz olayların kontrolünde önemli rol oynar. Fibrin ağın rejenerasyon bölgesine integrasyonu, hücre migrasyonunu kolaylaştırır. Bu durum özellikle neoanjiogenez, vaskülarizasyon ve greftin canlılığını sağlayan endotelyal hücreleri ve kök hücreleri için önem taşımaktadır. Trombosit sitokinleri. fibrin matriks rezorbe oldukça salınırlar ve iyileşmede rol alırlar. Bu devamlı salınım prosesi organizma tarafından iyileşmeye yardımcı olmak ve bağ doku remodelasyonunu sağlamak için kullanılmaktadır. Bu sitokin içeriği ile TZF pıhtısı bir tür immün regülasyon nodu olarak değerlendirilebilir. TZF'nin enfeksiyonlara karşı savunma kapasitesi bu sitokinlerin kemotaktik özellikleri ve neovaskülarizasyonu hızlandırma yetenekleri sayesinde olmaktadır. TZF bu özelliği ile kemik greftlerinde enflamasyonu ve sepsis riskini kontrol edebilmektedir (Simonpieri ve ark 2009a, 2009b). Bu durum TZF kullanımı sonrasında postoperatif dönemde enfeksiyon oluşmamasını açıklayabilmektedir. Çalışmamızda 3 adet deney hayvanı çeşitli nedenlere bağlı olarak çalışma dışı bırakılmıştır.

Simonpieri ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptıkları çalışmada fibrin pıhtının mekanik rol oynamasıyla TZF'nin, greft biyomateryalini koruduğunu ve stabilize ettiğini dolayısıyla TZF'nin kemik partikülleri arasında biyolojik birleştirici olarak rol aldığını ve oluşan kohezyon kuvvetiyle greftin, iyileşmenin erken dönemlerinde gerekli olan biyokimyasal güce sahip olduğunu belirtmişlerdir. Bizde çalışmamızda jelatinöz formda TZF ile karıştırdığımız greftte herhangi bir stabilizasyon problemi yaşamadık ve TZF nin greft yerleştirmesini kolaylaştırdığı görüşündeyiz.

Literatürde TZF'nin birçok greft materyali ile birlikte kullanımı rapor edilmiştir. Tavşanlar üzerinde yapılan çalışmasında, tavşan kafatasında 9 mm çapında iki adet defekt oluşturulmuştur. Oluşturulan defektlerden bir tanesi ipek fibroin tozu ve TZF kombine edilerek doldurulmuştur. İkinci defekt ise boş bırakılmıştır. Operasyondan 6 hafta sonra yapılan histomorfometrik analiz sonucunda, ortalama yeni kemik oluşumunun kontrol grubunda %39,59, deney

grubunda ise %44,38 olduğu tespit edilmiştir. Altı hafta sonunda yapılan analiz sonucunda TZF'nin kemik iyileşmesini arttırdığı ancak aradaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. Onikinci haftada alınan örneklerde ise konrol grubunda yeni kemik oluşumu ortalama %49,86, deney grubunda ise %59,83 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuca göre TZF'nin geç dönemde kemik iyileşmesini istatistiksel açıdan anlamlı derecede artırdığı bildirilmektedir (Lee ve ark 2010).

Buna benzer olarak Jang ve arkadaşları (2010) 10 Yeni Zelanda tavşanı üzerinde yaptıkları çalışmada, deneklerin tibialarına 7 mm'lik trefin firezle *2* adet monokortikal defekt oluşturmuşlar ve defekt boyutlarından daha dar olan 3 mm çapında 10 mm uzunluğunda 2 adet implant yerleştirmişlerdir. Deney grubundaki implant çevresinde bulunan defektlere TZF ve ipek protein birlikte uygulanmış, kontrol grubu defektleri ise boş bırakılmıştır. 8 hafta sonra denekler sakrifiye edilerek histomorfometrik analizleri yapılmıştır. Deney grubunun yeni kemik formasyonunun, kontrol grubuna göre daha yüksek değerler gösterdiğini belirtmişlerdir.

TZF konusunda birçok araştırması olan Choukroun ve arkadaşları (2006b), sinüs tabanı elevasyonunda kemik rejenerasyonunu arttırmak için TZF'nin dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftiyle (DKKG) beraber kullanılma potansiyelini araştırmışlar ve 8. ayın sonunda TZF ve DKKG kombinasyonunun kemik rejenerasyonunu arttırdığını göstermişlerdir.

Nacopulos ve arkadaşlarının 2014 yılında tavşan femurlarında yaptıkları çalışmada oluşturdukları özdeş iki defekte yerleştirdikleri TZF ve TZF + βTCP-HA kombinasyonunu histolojik ve radyolojik (CT) olarak incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda TZF + βTCP-HA kombinasyonunun yeni kemik oluşumunu TZF'ye oranla daha çok artırdığı bulunmuştur. TZF ve Bio OSS ile yapılan başka bir çalışmada araştırmacılar TZF'nin olumlu etkileri olduğu sonucuna varmışlardır (Oliveira ve ark 2014). Tavşan kafatasında yapılan TZF ve βTCP-HA (Straumann bone ceramic SBC) çalışmasında histomorfometrik ve micro ct üzerinde radyolojik incelemeler yapılmış ve sonucunda TZF'nin yeni kemik oluşumunu artırdığı bildirilmiştir (Acar ve ark 2014). Yılmaz ve arkadaşları domuz tibialarına oluşturdukları 4 defekte TZF, βTCP, TZF+βTCP kombinasyonu yerleştirmişler birini kontrol amaçlı boş bırakmışlardır. Histolojik ve stereolojik olarak inceledikleri

örneklerde TZF+βTCP kombinasyonunun kemik oluşumunu diğerlerine göre daha iyi indüklediğini göstermişlerdir (Yılmaz ve ark 2014). TZF ve çeşitli greft materyallerinin karşılaştırıldığı çalışmada histomorfometrik ve dansitometrik incelemeler sonucunda TZF'nin olumlu etkileri ortaya konmuştur (Pripatnanont ve ark 2013).

Bizde yaptığımız çalışmanın sonucunda 30., 90. günlerde TZF+β-TCP grubunda yalnız β-TCP ve kontrol grubuna göre yeni kemik oluşumu bakımından yüksek değerler bulunmuştur ancak istatistiksel açıdan herhangi bir fark bulunamamıştır. Bu farklılığa rağmen sonucun istatiksel bir fark oluşturmaması çalışmada kullanılan denek sayısının yetersizliği ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Ankaferd'in kanama durdurucu amaçla kullanımı 2007 yılından bu yana bilinen bir uygulamadır. Çeşitli tıbbi girişimlerde ve diş hekimliği uygulamalarında kullanılmak üzere tampon, sprey ve ampul şeklindeki ticari preparatları mevcuttur. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ABS'nin yumuşak ve sert doku iyileşmesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Yeşilada ve arkadaşları (2008) 32 sıçanın kullanıldığı deneysel çalışmalarında ABS'nin flep nekroz oranını azalttığını ve flep sağ kalımını artırdığını göstermişler, aynı çalışmacıların diğer bir çalışmasında ise ABS'nin sıçanlarda ciltteki sekonder yara iyileşmesini hızlandırdığı sonucuna varmışlardır. Araştırmacılar ABS'nin hücresel ve vasküler proliferasyonu etkilemekte olduğunu ve bu kombine etki ile doku beslenmesini arttırdığı görüşünü savunmuşlardır. Erçetin ve arkadaşlarının (2010) intraoral dental girişim içeren ve ABS sprey uygulanan çalışmalarında; post-operatif 48 saatlik gözlem sonucunda, yara iyileşmesinin erken döneminde ABS'nin hastaların %45'inde yara iyileşmesini hızlandırdığını belirtmişlerdir

Literatürde ABS'nin kemik iyileşmesine etkisini kesin olarak gösterebilen çalışma henüz bulunmamaktadır. Bu yönde yapılan, Demircan ve arkadaşlarının (2008) sıçan modeli üzerinde sert doku iyileşmesini inceledikleri öncül çalışma bulunmaktadır. Çalışmada; 16 adet sıçanın tibialarında 5 mm derinliğinde, 3 mm çapında standardize defektler oluşturulmuş, deneklerin yarısında defektlere ABS uygulanmış, diğer yarısı kontrol grubu olarak değerlendirmeye alınmıştır. 7 günlük takip sonucu yapılan histopatolojik incelemelerde, ABS uygulanan grupta anlamlı

derecede yüksek oranda kemik yapımı izlenmiştir. Buna göre ABS'nin erken dönem kemik iyileşmesine olumlu etkisi savunulmuştur. Çalışmamızda her bir hayvanda oluşturulan dört adet kemik defektine, yalnız partikül formda β-TCP, TZF ile birlikte partikül formda β-TCP ve ankaferd ile birlikte partikül formda β-TCP uygulanmış, bir defekt ise kontrol amaçlı boş bırakılmıştır. Böylece ankaferd ve TZF'nin partikül formda β-TCP ile birlikte kullanımının kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine etkileri histolojik olarak incelenmiştir. Çalışmamız ankaferd ve sentetik kemik greftinin bir arada kullanıldığı literatürdeki ilk çalışmadır. Çalışmamızda öncül çalışma ile uyumlu olarak ankaferdin erken dönemde yeni kemik oluşumu bakımından diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha yüksek değerler verdiği gözlenmiştir.

ABS'nin invitro antimikrobiyal aktivitesinin incelendiği bir çalışmada Agar well difüzyon tekniği ile 102 hastadan elde edilen klinik izolat üzerinde çalışılmıştır. Çalışmada 15 ayrı mikroorganizma değerlendirilmiştir. Bu çalışmada tüm gram negatif ve gram pozitif mikroorganizmalarda ABS'ye karşı oluşan zon çapları 10-18 mm arasında ortalama 15 mm olarak bulmuş ve ABS'nin antimikrobiyal olarak etkin olduğunu bildirmiştir (Fisgin ve ark 2009). Bu çalışma nın ışığında ABS'nin greft ile birlikte kullanımının TZF'de olduğu gibi sepsis riskini ve enflamasyon riskini ortadan kaldırabileceği düşünülebilir.

ABS plazma ve serum içinde saliseler düzeyinde kısa sürede bir yapı ağı (network) oluşturur. Yapılan genel hemostatik ve biyokimyasal testler sonucu bu yapı ağının Ankaferd'in kan içindeki proteinler ve asıl olarak da fibrinojenle kurduğu karşılıklı etkileşim ile birlikte oluştuğu ve kırmızı kürelerin vital aggregasyonunu sağladığı ortaya çıkmıştır. Bu süreçte doku onarımına izin verecek düzeyde kan durdurulması işlemi temel olarak protein eritrosit etkileşimi ile bağlantılıdır. Kan hücreleri de bu ağa eşlik ederler. ABS ağında fizyolojik hemostatik işlem doku faktörü bağlantılı kan pıhtılaşımı yapısından bağımsız olarak, bu sistemi bozmadan gelişir. Bu nedenle ABS hem normal hemostatik değerlere sahip bireylerde hem de birincil ya da ikincil hemostazı defektif olan bireylerde etkilidir. Oluşan bu network ağı greftle birlikte oluşturulduğunda hemostazın yanında greft kullanımını kolaylaştırdığını ve stabilizasyonunu sağladığını gözlemledik.

Kim ve arkadaşlarının 2011 yılında, sinüs tabanı elevasyonunda kemik rejenerasyonunu arttırmak için TZF+TCP, BMP-2 kaplı TCP ve TCP kullandıkları çalışmasında TZF+TCP grubunda kollagen fibrillerin daha kalın olduğunu bulmuşlardır. Biz de çalışmamızda TZF ve Ankaferd'in kollajen miktarını artırdığı gözlemledik. Bu durum kullandığımız materyallerin iyileşmeyi artıran faktrleri indüklediğini göstermektedir.

Zhang ve arkadaşlarının 2012 yılında yaptıkları kemik rejenerasyonu çalışmasında sinüs lifting yaptıkları bir gruba Bio-oss ve TZF ikincisine sadece sadece Bio-oss uyguladıkları bölgeleri 6 ay sonra histolojik olarak incelemişlerdir. Sadece Bio-oss olan grupta damarlanmanın daha iyi olduğunu, fibröz doku ve doku boşluklarının daha fazla olduğunu iki gruptada kemik köprü oluşumunu birbirine benzer bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda damarlanmanın tüm gruplarda benzer olduğu fibröz dokunun ise boş grupta 1 aylık dönemde diğer gruplardan düşük olduğu bulunmuştur. Ayrıca doku boşluklarını beklendiği gibi boş grupta 1. ayda diğerlerine göre daha fazla gözlenmektedir.Bu durum defektlerin doldurulmasının pozitif etkilerini göstermektedir.

Enflamatuar reaksiyonun incelendiği çalışmalarda çeşitli materyaller üzerinde yapılmış histolojik çalışmalarda (Kim ve ark 2011, Zhang ve ark 2012) gruplar arasında enflamatuar reaksiyonun benzer olduğunu bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda boş grupta daha düşük enflamatuar yanıt varken diğer gruplarda benzer enflamatuar reaksiyon gözlendiği saptanmıştır. Bu çalışmalarda bizim çalışmamızı desteklemektedir.

Kemik grefti ve kemik iyileşmesi çalışmalarında histolojik incelemeler altın standarttır. Ancak tüm çalışmalarda histolojik inceleme mümkün olmamaktadır. Bu sebeple radyolojik incelemeler de kullanılmaktadır. Bizde çalışmamızda radyolojik incelemeleri de kullandık.

Bu tür çalışmalar da direk grafi, tomografi, micro CT gibi çok çeşitli radyolojik inceleme metodu kullanılmaktadır (Pripatnanont ve ark 2013, Acar ve ark 2014, Ezirganlı ve ark 2014, Nacopaulos ve ark 2014). Biz çalışmamamız da kolay ulaşabildiğimiz ve geçerli olan bilgisayarlı tomografi ve bir çeşit direk grafi metodu olan mamografiyi kullandık.

Çalışmamızda bilgisayarlı tomografi ile elde edilen dansitometrik veriler ışığında TZF ve ABS'nin sadece β-TCP kullanılan gruptan daha düşük değerler verdiği bulunmuştur. Bu da sadece β-TCP bulunan defektte daha fazla kemik grefti olmasıyla ilişkilendirilebilir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Kemik grefti araştırmalarında 6 aylık takip süresinin uzun olduğu geç dönem inceleme için 3 ay yeterlidir.

Bir hayvanda kafatasında 4 adet kemik defekti oluşturmanın zor olduğu daha geniş ve az sayıda defekt oluşturmanın araştırmayı kolaylaştırır.

Araştırmamızda yeni kemik oluşumuna etkileri bakımından sıralamanın şu şekildedir.

- 1. ay: D>A>C>B
- 3. ay: D>A>C>B
- 6. ay: D>C>A>B

ABS ve TZF'nin herhangi bir doku reaksiyonuna neden olmayan kolay uygulanabilen birer yöntemdir.

Hem ABS'nin hem TZF'nin kemik iyileşmesine katkı sağlayan, yara yeri enfeksiyonunu ve postoperatif ödemi azaltan bir tekniktir.

ABS ve TZF'nin hidrofobik ve yerleştirmesi zor olan sentetik greftin yerleştirmesini kolaylaştıran bir yöntemdir.

ABS ve TZF'nin kullanılan greft miktarını azalttığı ve ekonomik açıdan hastaya ve hekime katkı sağlacaktır.

ABS ve TZF'nin greft partiküllerini stabilize etmek için iyi birer yöntem olacağı ve membran ihtiyacını azaltacaktır.

ABS ve TZF'nin hemostatik etkisinin stabilizasyon açısından önemli olduğu, kemik içi defektten gelen kanamanın daha hızlı pıhtılaşmasını sağlayarak, greft materyalinin ortamdan uzaklaşmasını engeller ve stabil kalmasına yardımcı olur

ABS ve TZF'nin erken dönem yeni kemik oluşumunu artırarak kemik dokusu üzerine yapılacak işlemlere daha erken hazır olur ve ileri cerrahi uygulamalar için bekleme süresini kısaltacaktır.

ABS ve TZF kemik grefti ile birlikte güvenle kullanılabilir. Ancak etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi için farklı zaman aralıklarında ileri deneysel ve klinik çalışmalar yapılmalıdır.

6. KAYNAKLAR

Acar AH, Yolcu Ü, Gül M, Keleş A, Erdem NF, Kahraman S, 2014. Micro-computed tomography and histomorphometric analysis of the effects of platelet-rich fibrin on bone regeneration in the rabbit calvarium. Arch Oral Biol, 60 (4),606-14.

Aghaloo TL, Moy PK, Freymiler EG, 2004. Evaluation of platelet-rich plasma in combination with anorganic bovine bone in the rabbit cranium: A Pilot Study. Int J Oral Maxillofac Implants, 19 (1), 59-65.

Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG, 2002. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A Pilot Study. J Oral Maxillofac Surg, 60 (10), 1176-81.

Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG 2005. Evaluation of platelet rich plasma in combination with freeze dried bone in the rabbit cranium: A pilot study. Clin Oral Imp Res, 16, 250-7.

Akay MT 1975. Genel Histoloji,1, Ankara, Palme yayıncılık, s. 51-4

Albee FH, Morrison HF, 1920. Studies in bone growth, triple calcium phosphate as a stimulus to osteogenesis. Ann Surg, 71, 32.

Amler MH. 1987. Osteogenic potential of nonvital and synthetic implant materials. J Periodontol, 58, 758-63.

Anitua E, Sanchez M, Orive G, Andia I, 2007. The potential impact of the preparation rich in growth factors (PRGF) in different medical fields. Biomaterials, 28 (31), 4551-60.

ANKAFERD BloodStopper araştırma etkinlikleri raporu - 2008. Bölüm 1. Erişim: (www.ankaferd.com/pdf/ABSAR2008_1.pdf) 2008, Erişim tarihi: 14 Mart 2015.

ANKAFERD BloodStopper araştırma etkinlikleri raporu - 2008. Bölüm 2. Erişim: (www.ankaferd.com/pdf/ABSAR2008_2.pdf) 2008, Erişim tarihi: 14 Mart 2015.

Aukhil I, 2000. Biology of wound healing. Periodontology, 22, 44-50.

Bauer TW, Muschler GF, 2000. Bone graft materials. Clinical Orthopedics and Related Research, 371, 10-27

Bauer TW, Muschler GF 2000.Bone graft materials. Clinical Orthopedics and Related Research, 371, 10-27.

Benli M, Yiğit N, 2005. Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (thymus vulgaris) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 3 (8),1-8

Bensaid W, Triffitt JT, Blanchat C, Oudina K, Sedel L, Petite H, 2003. A biodegradable fibrin scaffold for mesenchymal stem cell transplantation. Biomaterials, 24, 2497-502.

Bernard GW, 1991. Healing and repair of osseous defect. Dent Clin North Am, 35, 469-77.

Betz RR, 2002. Limitations of autograft and allograft. New synthetic solutions. Orthopedics, 25, 561-70.

Bloomquist DS, Turvey TA, 2000. Modern practice in orthognatic and reconstructive surgery. In Fonseca Volume 2, Philadelphia, London. WB Saunders Company,s. 513-21.

Borelli J, William DP, William MR 2003. Treatment of nonunions and osseous defects with bone graft and calcium sulfate. Clin Orthop and Rel Research,411, 245-54.

Boyne PJ, 1986. Designs and methods. J Oral Implants, 12, 333-7.

Bozkaya S, 2005. Deproteinize ve demineralize kemik greftlerinin kemik iyileşmesi üzerine etkilerinin deneysel olarak incelenmesi. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Brinker Mark R, O'Connor D, Miller M, 2006. Miller'ın Ortopedi Kitabı. Çeviri editörleri Yetkin H, Yazıcı M, Ankara, Adya, 1-44.

Brond AR, Rubin TC, 1990. Fracture Healing. In: Surgery of the Musculoskeletal System. Churchill Livingstone, New York 1, 93–114.

Bucholz RW, Carlton A, Holmes R, 1989. Interporous hydroxyapatite as a bone graft substitute in tibial plateau fractures. Clin Orthop, 240, 53-62.

Byrd HS, Hobar PC, 1993. Augmentation of craniofacial skeleton with porous hydroxylapatite granules. Reconst. Surg, 91, 15-22.

Carlson NE, Roach RB, 2002. Platelet-rich plasma. Clinical applications in dentistry. Dentistry & Medicine, 133, 1383-86.

Chalmes J, Gray DH, Rush J, 1975. Observation on the induction of bone in soft tissue. J Bone and Joint Surgery, 57, 36-45.

Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. 2001. Une opportunite'en paro-implantologie: le PRF. Implantodontie, 42, 55-62.

Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL,2006a. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 101 (3), 56-60.

Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, 2006b. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod,101 (3), 299-303.

Coetzee AS, 1980. Regeneration of bone in the presence of calcium sulfate. Arch Otolaryngol, 106, 405-9.

Constantino PD, Freidman CD, 1994. Soft tissue augmentation and replacement in the head and neck. Otolaryngol Clin North Am, 27, 1-12.

Constantino PD, Freidman CD, 1994. Synthetic bone graft substitutes. Otolaryngol Clin North Am, 27, 1037-73.

Cortellini P, Pniprato G, Tonetti M, 1993. Periodontal regeneration of human intrabony defects. Re-entry procedures and bone measurement. J Periodontol, 64, 261-68.

Cortellini P, Pniprato G, Tonetti M, 1994. Periodontal regeneration of human intrabony defects. V. Effects of oral hygiene on long term stability. J Periodontol, 21, 606-10.

Cruess RL, 1984. Healing of bone, tendon and ligament In: Fractures. Philadelphia, Lippincott Company, 1, 147–67.

Cypher TJ, Grossman JP, 1996. Biological principles of bone graft healing. J Foot Ankle Surg, 35, 413-7.

Çetin M, Çapan Y, 2004. bFGF (Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü) ve Formülasyonlarında Yeni Yaklaşımlar. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 24 (2), 107-24.

Daculsi G, Passuti N, Martin S, Deudon C, Legeros RZ, Raher S, 1990. Macroporous calcium phosphate ceramic for long bone surgery in humans and dog. Clinical and histological study. J Biomedical Materials Research, 24, 379-96.

Dasgupta B, Corkill M, Kirkham B, 1992. Serial estimation of IL-6 as a measure of systemic disease in rheumatoid arthritis. J Rheumatol, 19, 22-5.

De Groot, 1983. Histology of bone: A synopsis, bioceramics of calcium phosphate ed. De Groot, CRC Press, Boca Ration, 59, 100-11.

De Leonardis D, Pecora GE, 1999. Augmentation of the maxillary sinus with calcium sulfate: one-year clinical report from a prospective longitudinal study. Int J Oral and Maxillofac Imp, 14, 869-78.

Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM, 2009a. Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) membranes in periodontal surgery: understanding the biomaterial or believing into the magic of growth factors. J Periodontal, 80 (11), 1694-7.

Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM, 2009b. Clinical evaluation of a modified coronally advanced flap alone or in combination with a platelet-rich fibrin membrane for the treatment of adjacent multiple gingival recessions: A 6-month study. J Periodontal, 80 (11), 1698-702.

Del Corso M, To filer M, Dohan DM, 2010. Use of autologous leukocyte and platelet-rich fibrin (L-PRF) membrane in post avulsion sites: An overview of Choukroun's PRF. The Journal of Implants and Advanced Clinical Dentistry, 1 (9), 27-36.

Demircan S, Isler SC, Cakarer S, Yuzbasioglu E, Soluk M, Cebi Z The effects of Ankaferd Blood Stopper on short term bone tissue healing: An experimental study on mice [in Turkish]. 8th Oral Surgery Congress, 24-29th May 2008, Bodrum, Mugla, Turkey.

Deutman K, Vehof J, Spauwen P, Stoelınga P, Jansen J, 2008. Orthotopic bone formation in titanium fiber mesh loaded with platelet rich plasma and placed in segmental defects. Int. J. Oral Maxillofac. Surg, 37, 542-9.

Develioglu H, Koptagel E, Gedik R, Dupoirieux L, 2005. The effect of a biphasic ceramic on calvarial bone regeneration in rats. Journal of Oral Implantology, 31 (6), 309-312.

Dietz G, Bartholmes P, 1998. Calcium Hydroxide and Bone Regeneration: Odontological Aspects of Induced Osteogenesis in Experiment and Clinical Practice. München, 21-2

Diss A, Dohan DM, Mouhyi J, Mahler P, 2008. Osteotome siniis floor elevation using Choukroun's platelet-rich fibrin as grafting material: A 1-year prospective pilot study with microthreaded implants. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 105 (5), 572-9.

Dohan DM, Choukroun J, 2006d. PRP, cPRP, PRF, PRG, PRGF, FC. How to find your way in the jungle of platelet concentrates. Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 103, 305-6.

Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, 2006a. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 101 (3), 37-44.

Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, 2006b. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 101 (3), 45-50.

Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, 2006c. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 101 (3), 51-55.

Dohan DM, Del Corso M, Charrier JB, 2007. Cytotoxicity analyses of Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) on a wide range of human cells: The answer to a commercial controversy. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 103, 587-93.

Dohan DM, Del Corso M, Diss A, Mouhyi J, Charrier JB, 2011. Three-dimensional architecture and cell composition of a choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane. Annals of Maxillofacial Surgery, 1, 53-7.

Dohan DM, Doglioli P, Peppo GM, Del Corso M, Charrier JB, 2010. Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) stimulates in vitro proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose-dependent way. Archives of Oral Biology, 55 (3), 185-194.

Dohan DM, Peppo GM, Doglioli P, Sammartino G, 2009a. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): A gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates. Technologies Growth Factors, 27 (1), 63-9.

Dohan DM, Diss A, Odin G, Doglioli P, Hippolyte MP, Charrier JB, 2009b. In vitro effects of Choukroun's PRF (platelet-rich fibrin) on human gingival fibroblasts, dermal prekeratinocytes, preadipocytes and maxillofacial osteoblasts in primary cultures. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 108 (3), 341-52.

Dvorak HF, Harvey VS, Estrella P, Brovvn LF, McDonagh J, Dvorak AM, 1987. Fibrin containing gels induce angiogenesis. Implications for tumor stroma generation and wound healing. Lab Invest, 57, 673-686.

Ellis III E 1998. Surgical reconstruction of defects of jaws. In Peterson LJ, eds. Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery. St. Louis. Cv Mosby, s. 680-4.

El-Sharkawy H, Kantarci A, Deady J, Hasturk H, Liu FT, Alshahat M, Van Dyke TE, 2007. Platelet-rich plasma: Growth factors and pro and antiinflammatory properties. J Periodontal, 78 (4), 661-9.

Erbe EM, 2000 Attributes of vitoss synthetic cancellous bone void filler, an ultraporous beta-tricalcium phosphate saccfold. J Periodontal, 48 (2), 322-9.

Erçetin S, Haznedaroğlu IC, Kurt M, Önal IK, Aktaş A, Kurt ÖK, Göker H, Özdemir O, Kirazlı Ş, Fırat HC, 2010. Safety and efficacy of ankaferd blood stopper in dental surgery. Int J Hematol, 20 (1), 1-5.

Erkoçak A, 1975. Genel Histoloji, Ankara, Ankara Üniversitesi Basımevi, s. 53-65

Everts PA, Van Zundert A, Schonberger JP, Devilee RJ, Knape JT, 2008. What do we use: Platelet-rich plasma or platelet-leukocyte gel. J Biomed Mater Res, 85 (4), 1135-6.

Ezirganli S, Kazancioglu HO, Mihmanli A, Sharifov R, Aydin MS, 2014. Effects of different biomaterials on augmented bone volume resorptions. Clin Oral Implants Res., 27, 26-32

Felice P, Lezzi G, Giuseppe L, Piattelli A, Marchetti C, 2009. Reconstruction of atrophied posterior mandible with inlay technique and mandibular ramus block graft for implant prosthetic rehabilitation. J Oral Maxillofac Surg, 67, 372-80.

Feng X, Clark RA, Galanakis D, Tonnesen MG, 1999. Fibrin and collagen differentially regulate human dermal microvascular endothelial celi integrins: stabilizationofalpha/beta3 mRNA by fibrin. J Invest Dermatol, 113, 913-9.

Frenso L, Fondevıla D, Bambo O, Chacaltana A, Garcıa F, Andaluz A, 2010. Effects of platelet rich plasma on intestinal wound healing in pigs. Vet J, 185, 322-7.

Fuerst GM, 2003. Enhanced bone-to-implant contact by platelet-released growth factors in mandibular cortical bone: A histomorphometric study in minipigs. Int J Oral Maxillofac Implants, 18, 685-690.

Garg AK, 2004. Bone Biology, Harvesting, Grafting For Dental Implants. China: Quintessence Publishing, 21,12-7

Gartner Leslie P, Hiatt James L, 1997. Cartilage and bone. Color Textbook of Histology. Saint Louis Saunders,p. 114–30.

Gazdag AR, Lane JM, Glaser D, Forster RA, 1995. Alternatives to autogenous bone graft: efficacy and indications. J Am Acad Orthop Surg, 3, 1-8.

Geesink RGT, Degroot K, 1988. Bonding of bone to apatite coated implants. J Bone Joint Surg, 70, 17-8.

Gentıle P, Bottını Dj, Spallone D, Curcıo Bc, Cervellı V, 2010.Application of platelet rich plasma in maxillofacial surgery: clinical evaluation. J. of Craniofac Surg, 21, 900-4

Gibble JW, Ness PM, 1990. Fibrin (TZF): a second- generation platelet concentrate. Part I : technological concepts and evolution. Transfusion, 30, 741-7

Gielkens P, Schortinghuis J, Jong J, Charlotte M, Van Leeuwen MB, Raghoebar GM, 2008. A comparison of micro-CT, microradiography and histomorphometry in bone research. Archives of Oral Biology, 53 (6), 558-66.

Glowacki J, Mulliken JB, 1985. Demineralized bone implants. Clinics in Plastic Surgery, 12, 233-41.

Göker B, Özmen R, 2009. sSıçanlarda ısırgan otu (urtica dioica l.) yaprağı ile beslenen dişi sıçanlarda akut karbon tetraklorür uygulamasının plazma ve karaciğer lipid peroksidasyonu ile glutatyon seviyeleri üzerine etkisi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi, 23 (2), 77-80.

Gruenwalkd J, Brendler T, Jaenicke C, 2007. PDR for Herbal Medicines, 4th ed. Montvale, NJ: Thomson Healthcare, p. 405-10.

Gunzburg RG, Szpalski M, 2002. Use of a novel beta-tricalcium phosphate-based bone void filler as a graft extender in spinal fusion surgeries. Orthopedics, 25 ,591-5.

Gülçin I, Küfrevioglu OI, Oktay M, Büyükokuroglu ME, 2004. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (Urtica dioica L.). Journal of Ethnopharmacology, 90, 205-15

Gülsün B, Erol B, Yılmaz F, Atay Ç, 1997. Sentetik bir kemik alloplastı ile ksenojenik kemik greftinin osteogenezis üzerine olan etkilerinin deneysel olarak arastırılması. Türk Oral ve Maksillofasiyal Cerrahi Dergisi, 1, 1-12.

Güven Y, 1988. Kıkırdak, Kemik ve Diş Biyokimyası. İ. Ü. Dişhekimliği Fak.Biyokimya Bilim Dalı Ders notları.

Hatakeyama M, Beletti ME, Barbosa DZ, Dechichi P, 2008. Radiographic and histomorphometric analysis of bone healing using autogenous graft associated with platelet rich plasma obtained by 2 different methods. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 105, 13-18.

Havelin LI, Engeseater LB, Furnes O, Lie SA, Vollset SE, 2000. The Norwegian arthroplasty register: 11 years and 73000 arthroplasties. Acta Orthop Sacnd,71, 337-53.

He L, Lın Y, Hu X, Zhang Y, Wu H, 2009 A comparative study of platelet rich fibrin and platelet rich plasma on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro, Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 108, 707-13

Heck AM, DeWitt BA, Lukes AL, 2000. Potential interactions between alternative therapies and warfarin. Am J Health Syst Pharm, 57 (13),1221-7.

Heise U, Osborn JF, Duwe F, 1990. Hydroxyapatite ceramic as a bone substitute. Int orthopedics, 14, 329-38.

Hertig AT, 1935. Angiogenesis in the early human chorion and in the primary placenta of the macacque monkey. Contrib Embryol, 25, 39-81.

Hinz P, Wolf E, Schwengiser G, Hartelt E, Ekkernkamp A, 2002. A new resorbable bone void filler in trauma: Early clinical experience and histologic evaluation. Orthopedics, 25, 597-600.

Hollinger JO, Battistone GC ,1986. Biodegradable bone repair materials. Clin Orthop, 207, 209-305.

Hollinger JO, Brekke J, 1996. Role of bone substitutes. Clin Orthop, 324, 55-65.

Hsu C, Chang J, 2004. Clinical implications of growth factors in flexor tendon wound healing. The Journal of Hand Surgery, 29 (4), 551-563.

Hsu C, Yuan K, Tseng C, 2009. The negative effect of platelet rich plasma on the growth of human cells is associated with secreted thrombospondin-1, Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod,107, 185-92

Italiano JE, Richardson JL, Patel-Hett S, Battinelli E, Zaslavsky A, Short S, 2008. Angiogenesis is regulated by a novel mechanism: Pro and antiangiogenic proteins are organized into separate platelet alpha granules and differentially released. Blood, 111 (3), 1227-33.

Jang ES, Park JW, Kweon H, Lee KG, Kang SW, Baek DH, 2010.Restoration of peri-implant defects in immediate implant installations by Choukroun platelet rich fibrin and silk fibroin powder combination graft. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 109, 831-36.

Jarho M, 1981. Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. Clin Orthop, 157, 259.

Jung RE, Schmoekel HG, Zwahlen R, Kokovic V, Hammerle CHF, Weber E, 2005. Platelet rich plasma and fibrin as delivery systems for recombinant human bone morphogenetic protein-2. Clin Oral Impl Res, 16, 676-82.

Junguiera LC, Carneiro J, Kelley RO, 1998. Temel Histoloji. 8.Baskı. İstanbul: Barış Kitabevi, s. 132-51.

Kanakamedala A, Ari G, Sudhakar U, Vijayalakshmi R, Ramakrishnan T, Emmadi P, 2009. Treatment of a furcation defect with a combination of platelet-rich fibrin (PRF) and bone graft-a case report. ENDO, 3 (2), 127-35.

Kawamura M, Urist MR, 1988. Human fibrin is a physiologic delivery system for bone morphogenetic protein. Clin Orthop, 235, 302-10.

Kazura JW, Wenger JD, Salata RA, Budzynski AZ, Goldsmith GH, 1989. Modulation of polymorphonuclear leukocyte microbicidal activity and oxidative metabolism by fibrinogen degradation products D and E. J Clin Invest, 83, 1916-24.

Kekilli, E, Yagmur C, Ertem K, Türkbilen B, 2005. Kemik greftlerinde nükleer tıp uygulamaları. Türkiye Klinikleri J Med Sci, 25, 261-279.

Khan SN, 2000. Bone growth factors. Orthop Clin North Am, 31 (3), 375–88.

Khan SN, Tomin E, Lanr JM ,2000. Clinical applications of bone graft substitutes. Orthop Clin North Am, 31, 389-96.

Kılıçoglu S, 2002. Mikroskobi düzeyde kırık iyilesmesi. Ankara Üniversitesi Tıpfakültesi Mecmuası, 55 (2), 143-50.

Kim BJ, Kwon TK, Baek HS, Hwang DS, Kim CH, Chung IK, Jeong JS, Shin SH, 2012. A comparative study of the effectiveness of sinus bone grafting with recombinant human bone morphogenetic protein 2–coated tricalciumphosphate and platelet-rich fibrin–mixed tricalcium phosphate inrabbits Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol;113:583-92

Lanir N, Ciano PS, Van de Water L, McDonagh J, Dvorak AM, Dvorak HF, 1988. Macrophage migration in fibrin gel matrices. II. Effects of clotting factor XIII, fibronectin, and glycosaminoglycan content on celi migration. J Immunol 140, 2340-9.

Lee EH, Kim JY, Kweon HY, Jo YY, Min SK, Park YW, 2010. A combination graft of low-molecular-weight silk fibroin with Choukroun platelet-rich fibrin for rabbit calvarial defect. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 109, 33-8.

Lee HY, Choi BH, Jung JH, Zhu SJ, Lee SH, Huh Y, 2007. Maxillary sinus floor augmentation using autogenous bone grafts and platelet enriched fibrin glue with simultaneous implant placement. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 103 (3), 329-33.

Lee JW, Kim SG, Kim JY, Lee YC, Choi JY, Dragos R, 2012. Restoration of a peri-implant defect by platelet-rich fibrin. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod,113 (4), 459-63.

Leonetti, J.A., Rambo, H.M., Throndson, R, 2000. Osteotome sinus elevation and imolant placement with narrow size bioactive glass Implant Dentistry, 9, 177-81.

Lind M, 1996. Growth factors: possible new clinical tools. A review. Acta Orthop Scand, 67 (4), 407-17.

Lind M, 1998. Growth factor stimulation of bone healing. Effects on osteoblasts, osteomies, and implants fixation. Acta Orthop ScandSuppl, 283, 2-37.

Loike JD, Sodeik B, Cao L, Leucona S, Weitz JI, Detmers PA, 1991. CDllc/CD18 on neutrophils recognizes a domain at the N terminus of the A alpha chain of fibrinogen. Proc Natl Acad Sci, 88, 1044-8.

Lucarelli E, 2003. Platelet-derived growth factors enhance proliferation of human stromal stem cells. Biomaterials, 24, 3095-100.

Lundgren AK, Sennerby L, Lundgren D, 1997. An experimental rabbit model for jaw-bone healing. Int J Oral Maxillofac Surg, 26 (6), 461-4.

Lundquist R, Dziegiel MH, Agren MS 2008. Bioactivity and stability of endogenous fibrogenic factors in platelet-rich fibrin. Wound Repair Regen, 16, 356-63.

Lynch SE, Buser D, Hernandez RA, 1991. Effects of the platelet-derived growth factor/insulin-like growth factor-I combination on bone regeneration around titanium dental implants. Results of a pilot study in beagle dogs. Journal of Periodontology, 62,710-6.

Madhok R, Crilly A, Watson J, 1993. Serum IL-6 levels in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis, 52, 232-4.

Martin P, Leibovich SJ, 2005. Inflammatory cells during wound repair: The good, the bad and the ugly. Trends Cell Biol, 15 (11), 599-607.

Marx RE, Eichstaed R, Carlson ER. Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR, 1998. Platelet rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 85, 638-46.

Miranda SR, Filho HN, Padovan EM, Daniel A, Daniela R, Mariza N, 2006. Use of platelet rich plasma under autogenous onlay bone grafts. Clin Oral Impl Res, 17, 694-9.

Mire-Sluis AR, Thorpe R, 1991. Interleukin-4 proliferative signal transduction involves the activation of a tyrosine specific phosphatase and the dephosphorylation of an 80-kDa protein. J Biol Chem, 266 (27), 18113-8.

Mirzayan R, Panosssian V, Avedian R, Forrester DM, Menendez LR, 2001. The use of calcium sulfate in the treatment of bening bone lesions. J Bone Joint Surg, 83, 355-8.

Moore WR, Grave SE, Bain GI, 2001. Synthetic bone graft substitutes. Australian and New Zealand Journal of Surgery, 71, 354-61.

Mosesson MW, Siebenlist KR, Meh DA, 2001. The structure and biological features of fibrinogen and fibrin. Ann N Y Acad Sci, 936, 11-30.

Murashima Y, Yoshikawa G, Wadachi R, Sawada N, Suda H, 2002. Calcium sulfate as a bone substitute for various osseous defects in conjunction with apicectomy. Int Endodontic J, 36, 768-74.

Muschik M, Ludwig R, Halbhubner S, Bursche K, Stoll T, 2001. Beta-tricalcium phosphate as a bone substitute for dorsal spinal fusion in adolescent idiopathic scoliosis: preliminary results of a prospective clinical study. Eur Spine J, 10, 178-84.

Nacopoulos C, Dontas I, Lelovas P, Galanos A, Vesalas AM, Raptou P, Mastoris M, Chronopoulos E, Papaioannou N, 2014 Enhancement of bone regeneration with the combination of platelet-rich fibrin and synthetic graft. J Craniofac Surg, Nov 25 (6), 24-9.

Nagata MJH, Melo LGN, Messora MR, Bomfim SRM, Fucini SE, Garcia VG, 2009. Effect of platelet rich plasma on bone healing of autogenous bone grafts in critical size defects. J Clin Periodontal, 36, 775-83.

Nail MD, Richard E, Colvin P, Schultz G, Fein D Cassisi NJ, 1996. Transforming growth factor-pi improves wound healing and random flap survival in normal and irradiated rats. Otolaryngol Head Neck Surg, 122 (2), 171-7.

Nehls V, Herrmann R, 1996. The configuration of fibrin clots determines capillary morphogenesis and endothelial celi migration. Microvasc Res, 51, 347-64.

Niekisch R, 1980. Application possibilities of fibrin glue in dentistry and maxillofacial surgery. Zahn Mund Kieferheilkd Zentralbl, 68 (6), 555-61.

Nielsen HJ, Werther K, Mynster T, Svendsen MN, Rosendahl S, Elley T, Skov F, 2001. Bacteria-induced release of white cell and platelet-derived vascular endothelial growth factorin vitro. Vox Sang, 80 (3), 170-8.

Ohya M, Yamada Y, Ozawa R, Ito K, Takahashi M, Ueda M, 2005. Sinus floor elevation applied tissue engineered bone: Comparative study between mesenchymal stem cells/platelet rich plasma (PRP) and autogenous bone with PRP complexes in rabbits. Clin Oral ImplRes, 16, 622-9.

Oliveira MR, deC Silva A, Ferreira S, Avelino CC, Garcia IR Jr, Mariano RC, 2014 Influence of the association between platelet-rich fibrin and bovine bone on bone regeneration. A histomorphometric study in the calvaria of rats. Int J Oral Maxillofac Surg, Dec 30,74-7

Oonishi H, Kushitani S, Yasukawa E, Iwaki H, Hench LL, Wilson J, Tsuji E, Sugishara T, 1997. Particulate bioglass compared with hydroxyapatite as a bone graft substitute. Clin Orthop, 334, 316-25.

Ortolani E, Nazzicone M, Fratto G, 1991. Evaluation of biocompatible osteoconductive polymer activity and biocompatibility for minor oral surgery in animals and humans. J Int Med Res, 19, 237-41.

Oursler MJ, 1994. Osteoclast synthesis, secretion and activation of latent transforming growth factor. J Bone Miner Res, 9, 443-52.

Ozaki A, 2000. Role of fracture hematoma and periyosteum during fracture healing in rats: interaction of fracture hematoma and the periyosteum in the initial step of the healing process. J. Orthop. Sci, 5 (1), 64–70.

Pecora GE, De Leonardis D, Della Rocca C, Cornelini R, Cortesini C, 1998. Short-term healing following the use of calcium sulfate as a grafting material for sinus augmentation: a clinical report. Int J Oral Maxillofac Implant, 13, 866-73.

Peltier LF, Bickel EY, 1957. The use of plaster of Paris to fill defects in bone. Ann Surg, 146, 61.

Pike MC, Synderman R, McCarty DJ, Koopman WJ, 1993. Structure and function of monocytes and macrophages. In: Arthritis and allied conditions. Philadelphia, Lea and Febiger, p. 347-75.

Pripatnanont P, Nuntanaranont T, Vongvatcharanon S, Phurisat K, 2013. The primacy of platelet-rich fibrin on bone regeneration of various grafts in rabbit's calvarial defects. J Craniomaxillofac Surg, Dec, 41 (8), 191-200.

Rabie AB, Chow KM, Wong RW, 1999. Demineralized intramembranous bone matrix augments the healing of endochondral bone graft. Int J Adult Orthod Ortognath Surg, 14, 185-97.

Rabie ABM, Chay SH, Wong AMK, 2000. Healing of autogenous bone in the presence and absence of homologous demineralized intramembranous bone. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, 117, 288-97.

Raghoebar GM, Schortinghuis J, Liem RSB, Ruben JL, Wal JE, Vissink A, 2005. Does platelet rich plasma promote remodelling of otologous bone graftsused for augmentation of maxillary sinus floor. Clin Oral Impl Res, 16, 349-56.

Reed GL, Fitzgerald ML, Polgar J, 2000. Molecular mechanisms of platelet exocytosis: insights into the "secrete" life of thrombocytes. Blood, 96, 3334-42.

Rendu F, Brohard-Bohn B, 2001. The platelet release reaction granules' constituents, secretion and function. Platelets, (12), 261-73.

Sahni A, Odrljin T, Francis CW 1998. Binding of basic fibroblast growth factor to fibrinogen and fibrin. JBiol Chem, 273, 7554-7559.

Sanan A, Haines SJ, 1997. Repearing holes in the head: A history of cranioplasty. Neurosurgery, 40,588-603.

Sanchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI, 2003. Is Platelet rich plasma the perfect enhancement factor? A current review Int J Oral Maxillofac Implants, 18, 93-103.

Schenk Robert K, 2003. Biology of fracture. In: Browner B, Jupiter J, Levine A, Trafton P (Eds) Skeletal Trauma. Philadelphia, Saunders, p. 29-74.

Schmidmaier G, Wildemann B, Bail H, Lucke M, Fuchs T, Stemberger A, 2001. Local application of growth factors (insulin-like growth factor-1 and transforming growth factor-beta 1) from a biodegradable poly (D, L-lactide) coating of osteosynthetic implants accelerates fracture healing in rats. Bone, 28 (4), 341-50.

Seiler JG, Johnson J 2000. Iliac crest autogenous bone grafting: donor site complications. J South Orthop Assoc, 9, 91-7.

Shen Y, Fan Z, Zhao J, Zhang P, 2009. The application of platelet rich plasma may be a novel treatment for central nervous system diseases, Med Hypotheses, 6, 1038-40

Simonds RJ, Holmberg SD, Hurwitz RL, Coleman TR, Bottenfield S, Conley LJ, Kohlenberg SH, Castro KG, Dahan BA, Schable CA, 1992. Transmission of human immunodeficiency virus type 1 from a sero-negative organ and tissue donor. N. Engl. J. Med, 326, 726-32.

Simonpieri A, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM, 2009a. The relevance of Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part I: A new grafting protocol. Implant Dent, 18 (2), 102-11.

Simonpieri A, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM, 2009b. The relevance of Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part II: implant surgery, prosthodontics and survival. Implant Dent, 18 (3), 220-9.

Solheim E, Pinholt EM, Bang G, Sudmann E, 1992 Regeneration of calvarial defects by a composite of bioerodible polyorthoester demineralized bone in rats. J Neurosurg, 76, 275-9

Soydan N, 1992. Genel Histoloji, İstanbul, Palme Yayıncılık s. 28-31

Stevenson S, 1998. Enhancement of fracture healing with autogenous and allogenic bone grafts. Clinical Orthopedics and Realted Resarch, 355, 239-46.

Strnad Z, Strnad J, Povysil C, Urban K, 2000. Effect of plasma sprayed hydroxyapatite coating on osteoconductivitiy of commercially pure titanium implants. Int J Oral and Maxillofac Impl, 15, 483-90.

Szpalski M, Gunzburg RG, 2003. Applications of calcium phosphate-based cancellous bone void fillers in trauma surgery. Orthopedics, 25, 601-9.

Şatan T, Sarban S, Hersekli MA, 1998. Osteoporoz Ankara, Nova Yayınevi s. 18-23

Şençimen M, Gülses A, Özkaynak Ö, Varol A, Okçu KM, Doğan N, 2009. Trombositten zengin fibrin membran kaplı otojen kemik grefti ile tek taraflı alveol yarığı onarımı. Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 33 (3), 37-42.

Tay BK, Patel VV, Bradford DS, 1999. Calcium sulfate and calcium phosphate based bone substitutes: Mimicry of the mineral phase of bone, 30,615-23.

Tekelioglu M, 1989. Genel Tıp Histolojisi, I. Baskı, Ankara, Beta Basım Yayım, s. 71-6

Toffler M, 2010. Osteotome-mediated sinus floor elevation using only platelet-rich fibrin: An early report on 110 patients. Implant Dentistry, 19 (5), 447-55.

Tokgoz G, 1997. Sitokinler. Klinik immunoloji, 11, 85-100.

Tomin E, Beksaç B, Lane ML, 2002. Amerika Bilesik Devletlerinde ortopedik girisimlerinde otogreftlerin yerine kullanılan materyallere toplu bakıs. Derleme. Journal of arthroplasty arthroscpic surgery, 13 (2), 114-29.

Triffitt JT, 1996. The stem cell of the osteoblast. Bilizekian J, Raisz L, Rodou G (eds) Principles of bone biology. San Diego, CA. Academic, p. 39-50.

Tuksan C, Yaltırık M, 2002. Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan biyomateryaller. İstanbul. İ.Ü. Basın ve Yayınevi Müd, s. 31-5

Tunalı M, Özdemir H, Pikdöken L, Gürbüzer B, Oruç S, 2009. Endodontik-periodontal kombine kemik içi defektlerin tedavisinde trombositten zengin fibrin membran ile otojen kemik greftinin kombine kullanımı. Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 12 (1), 43-6.

Turner TM, Urban RM, Gitelis S, Haggard W, Richelsoph K, 2003. Resorption evaluation of a large bolus of a calcium sulfate in a canine medullary defect. Orthopedics, 26, 577-9.

Türker M, Yücetaş S, 1997. Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi. Ankara. Atlas Kitapçılık, s. 429-30.

Us K, 2005. Kırıklar hakkında genel bilgiler. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Bölümü Ders Notları, Ankara, s. 11-2

Walsh WR, Morberg P, Yu Y, Yang Jl, Haggard W, Sheath PC, Svehla M, Bruce WJ, 1995. Response of a calcium sulfate bone graft substitute in a confined cancellous defect. Clin Orthopedic, 406, 228-36.

Weiler A, Forster C, Hunt P, Falk R, Jung T, Unterhauser NF, 2004. The influence of locally applied platelet-derived growth factor-bb on free tendon graft remodeling after anterior cruciate ligament reconstruction. The American Journal of Sports Medicine, 32 (4), 888-91.

Whitman H, Berry RL, Green DM, 1997. Platelet gel: An autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 55 (11), 1294-9.

Wilkins K, 2005. Travma. In: Lynn Staheli (Ed) Pediatrik Ortopedi. Çeviri editörü Yalçın S, İstanbul, Avrupa Tıp Kitapçılık, s 203-60.

Wood G, 2003. General principles of fracture treatment. In: Canale (Ed) Campell's Operative Orthopaedics, Philadephia, Mosby, p 2669-724.

Yazawa M, Ogata H, Kimura A, Nakajima T, Mori T, Watanabe N, 2004. Basic studies on the bone formation ability by platelet rich plasma in rabbits. J Craniofac Surg, 15 (3), 439-46.

Ye X, Krohn RL, Liu W, Joshi SS, Kuszynski CA, McGinn TR, Bagchi M, Preuss HG, Stohs SJ, Bagchi D, 1999. The cytotoxic effects of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract on cultured human cancer cells. Mol Cell Biochem, 196 (1-2), 99-108.

Yılmaz C, Erdemli E, Selek H, Kınık H, Arıkan M, 2001. The contribution of vitamin C to healing of experimental fractures. Arch Trauma Surg 121, 426–8.

Yilmaz D, Dogan N, Ozkan A, Sencimen M, Ora BE, Mutlu I, 2014. Effect of platelet rich fibrin and beta tricalcium phosphate on bone healing. A histological study in pigs. Acta Cir Bras. Jan, 29 (1), 59-65.

Ylinen P, Suuronen R, Taurio R, Tormala P, Rokanken P, 2002. Use of hydroxylapatite/ polymer-composite in facial bone augmentation. An experimental study. Int J Oral and Maxillofac Surg, 31, 405-9.

Yukna RA, Mayer ET, Amos SM, 1989. 5-year evaluation of durapatite ceramic . alloplastic implants in periodontal osseous defects. J. Periodont, Oct 60 (10), 544-51.

Zhang Y, Tangl S, Huber CD, Lin Y, Qiu L, Rausch-Fan X, 2012. Effects of Choukroun's platelet-rich fibrin on bone regeneration in combination with deproteinized bovine bone mineral in maxillary sinus augmentation: A histological and histomorphometric study. Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery, 40, 321-8

8. ÖZGEÇMİŞ

1984 tarihinde İzmir'de doğdu. İlköğrenimini Torbalı Cengiz Topel İlköğretim Okulunda, orta öğrenimini Torbalı Anadolu Lisesinde, lise öğrenimini ise İzmir Atatürk Lisesinde tamamladıktan sonra, 2002 yılında Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ne başlama hakkı kazandı. 2007 yılında Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ni bitirerek diş hekimi ünvanını aldı. 2008 yılında Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başladı. 2008 yılında aynı bölümde araştırma görevlisi kadrosuna atandı. Yabancı dili İngilizcedir.