T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DEVEKUŞU (STRUTHİO CAMELUS) YUMURTA KABUK ZARININ TAVŞANLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN PALATİNAL MUKOZA YARALARININ İYİLEŞMESİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Ayşe SELÇUK

DOKTORA TEZİ

AĞIZ, DİŞ ve ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Ercan DURMUŞ

KONYA-2013

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DEVEKUŞU (STRUTHİO CAMELUS) YUMURTA KABUK ZARININ TAVŞANLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN PALATİNAL MUKOZA YARALARININ İYİLEŞMESİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Ayşe SELÇUK

DOKTORA TEZİ

AĞIZ, DİŞ ve ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Ercan DURMUŞ

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 10102024 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2013

ii. ÖNSÖZ

Doktora eğitimine başladığım ilk günden itibaren bana her konuda destek olan ve yol gösteren değerli danışman hocam Prof. Dr. Ercan Durmuş'a,

Çalışmamız boyunca bilgi ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. İlhami Çelik'e;

Doktora eğitimim boyunca üzerimde emeği bulunan hocalarım Prof. Dr. Hanife Ataoğlu, Prof. Dr. Doğan Dolanmaz, Doç. Dr. Gülsün Yıldırım, Doç. Dr. Hasan Küçükkolbaşı ve Doç. Dr. Abdullah Kalaycı'ya,

Doktoranın bana kattığı çok değerli arkadaşım Özüm Yücel'e ve Anabilim dalındaki tüm asistan arkadaşlarıma,

Doktora eğitimim süresince bana maddi ve manevi destek sağlayan TÜBİTAK'a;

Projemizi desteklediği için Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne;

Hayatımın her anında sonsuz sevgi ve destekleri ile yanımda olan sevgili annem, babam ve kardeşlerime,

Her zaman varlığıyla bana güç veren ve hiçbir zaman yardımını esirgemeyen dostum Aylin Gençkan'a,

Teşekkürlerimi sunarım.

iii. İÇİNDEKİLER

Sayfa

SİMGELER ve KISALTMALAR iv
1. GİRİŞ……...1
1.1. Oral Mukoza……...1
1.1.1. Oral Mukoza Epiteli……2
1.1.2. Lamina Propria……....4
1.2. Yara İyileşmesi……..8
1.2.1. İnflamatuar Faz……..11
1.2.2. Proliferatif Faz……...13
1.2.3. Matürasyon ve Remodeling Fazı……...15
1.3. Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu……...16
1.4. Bariyer Membranlar…….17
1.4.1. Rezorbe Olmayan Membranlar……..18
1.4.2. Rezorbe Olan Membranlar…….20
Rezorbe Olan Doğal Membranlar……...21
Kollajen Membranlar……..……21
Rezorbe Olan Sentetik Membranlar…….26
1.5. Yara Örtü Materyalleri…….27
1.6. Devekuşu Yumurta Kabuk Zarı……...35
2. GEREÇ ve YÖNTEM…….41
2.1. Deney Hayvanları ve Deney Grupları……..41
2.2. Yara Örtü Materyallerinin Elde Edilmesi ve Hazırlanması……42
2.3. Cerrahi Yöntem……44
2.4. Doku Örneklerinin Histolojik Yöntemlerle İşlenmesi…….47
2.5. Histolojik ve Histomorfometrik Analizler……...47
2.6. Yara Sahasının Dijital Görüntülerinin İncelenmesi…….48
2.7. İstatistiksel Analizler……...48
3. BULGULAR……..49
3.1. Klinik Bulgular……49
3.2. Histolojik ve Histomorfometrik Bulgular……53
4. TARTIŞMA……64
5. SONUÇ ve ÖNERİLER…….80

6. ÖZET……..82
7. SUMMARY……83
8. KAYNAKLAR……...84
9. EKLER……..109
EK-A: Etik Kurul Kararı……...109
10. ÖZGEÇMİŞ……110

iv. SİMGELER ve KISALTMALAR

Å: Angstrom

DNA: Deoksiribonükleik asit

e: Epitel

EGF: Epidermal büyüme faktörü

EPO: Eritropoietin

ePTFE: Genişletilmiş politetrafluoroetilen

FGF: Fibroblast büyüme faktörü

GM-CSF: Granülosit/makrofaj koloni stimüle eden faktör

IGF: İnsülin benzeri büyüme faktörü

IFN: İnterferon

IL: İnterlökin

Lp: Lamina propria

m: Materyal

mRNA: Mesajcı ribonükleik asit

NO: Nitrik Oksit

Ort: Ortalama

PDGF: Platelet orijinli büyüme faktörü

PGA: Poliglikolik asit

PLA: Polilaktik asit

PTFE: Politetrafluoroetilen

Ss: Standart Sapma

TGF: Transforme edici büyüme faktörü

TNF: Tümör nekrozan faktörü

TZF: Trombositten zengin fibrin

TZP: Trombositten zengin plazma

1. GİRİŞ

1.1. Oral Mukoza

Kutan mukoza özelliği gösteren oral mukoza, ağız boşluğunu kaplar ve ağız boşluğunu altındaki dokulardan ayırır. Esas olarak vajina ve özofagusta bulunan örtücü mukozaya benzemekle beraber, epitelinin keratinizasyon derecesindeki farklılıklarla bu mukozalardan ayrılır. Oral mukoza epiteli bazı bölgelerde keratinizasyon gösterirken bazı bölgelerde göstermez (Markiewicz ve ark 2007).

Deri ile karşılaştırıldığında benzer histolojik yapıya sahip olmasına rağmen, aralarında çok önemli farklar mevcuttur. Ağız mukozası, ter bezleri, yağ bezleri ve kılların olmadığı, değişime uğramış bir kutan mukozadır. Ağız boşluğu mukoza epiteli ve bunun derideki karşılığı olan epidermis, bazal membran aracılığıyla alttaki bağ dokusuna bağlanır. Deride bulunan stratum lusidum kutan mukozada bulunmaz. Lamina propria derideki dermisin ve submukoza ise subkutisin karşılığı olarak kabul edilebilir. Oral mukoza epitelinin yenilenme süresi yaklaşık iki hafta olup bu süre epidermise kıyasla oldukça kısadır (Yücetaş 2005).

Oral mukozanın en önemli görevi, hiç kuşkusuz, ağız boşluğunu kesintisiz bir şekilde kaplayarak koruyucu bir bariyer rolü üstlenmesidir. Konuşma, yutma, çiğneme gibi işlevlerde pasif olarak görev yaparken salgılama, duyu algılaması, rezorpsiyon gibi görevlerde aktif olarak rol alır. Salgılama büyük ve küçük tükürük bezleri aracılığı ile olup tükürükte müsin yanında amilaz gibi sindirime yardımcı enzimlerle mukozal glikoz ve bazı mineraller de salgılanır. Tükürük içinde bulunan immünoglobulinler mukozanın hücresel elementleri ile birlikte lokal immüniteden sorumludurlar. Ayrıca sinir uçlarındaki reseptörler termal ve mekanik değişiklikleri algılar ve dildeki tat alma tomurcukları önemli bir duyu organıdır. Allerjen ve toksik maddeler tükürük aracılığı ile seyreltilip mukoza tarafından rezorbe edilerek ortamdan kısa sürede uzaklaştırılır. Bu özellik ilaç kullanımında da avantaj sağlar. Örneğin dil altı nitrogliserin tabletler, mukozal emilim yoluyla vücuda alınmaktadır (Özbayrak 2006).

Oral mukoza, çok katlı yassı epitel (ektodermal) ve lamina propria olarak bilinen bağ dokusundan (mezodermal) oluşur. Bu iki tabaka ekstrasellüler matriks proteinlerinin özel bir ağı olan bazal membranla ayrılmıştır. Bazal membran, lamina lusida (rara), lamina densa ve lamina retikularis olmak üzere üç tabakadan meydana gelir. Lamina lusida başlıca laminin ve laminin reseptörlerinden oluşurken, lamina densa tip IV kollajen ihtiva eder. Lamina retikularis ise retiküler iplikler içerir ve lamina densa ile bağ dokusunun bağlanmasından sorumludur (Laurie ve ark 1982, Krstic 1991, Nerlich 1995, Winning ve Townsend 2000, Tanner 2012).

1.1.1. Oral Mukoza Epiteli

Epitelin kaynağı dil kökünde endoderm; dudak, yanak, dişeti, vestibulum oris, damak ve ağız tabanında ise ektodermdir (Winning ve Townsend 2000). Ağız boşluğunu döşeyen epitel;

1. Stratum bazale
2. Stratum spinozum
3. Stratum granülozum
4. Stratum korneum olmak üzere dört tabakadan oluşur (Krstic 1991).

Stratum bazale, direkt olarak bazal membran üzerine yerleşen epitel katmanıdır ve prizmatik hücrelerden meydana gelir. Bazal hücrelerin sitoplazmalarında yaygın şekilde dağılmış tonofilamanlar bulunur. Epitel hücreleri arasında hücreler arası bağlantı kompleksleri mevcuttur ki bunların en sık gözleneni dezmozomlardır. Dezmozom alanlarında hücre membranının kalınlaştığı ve bu bölgelerin sitosolik yüzden tonofilamanlarca desteklendiği gözlenir. Stratum bazale hücreleri bazal membrana hemidezmozomlarla bağlanır. Hemidezmozom aslında bir dezmozomun yarısıdır. Stratum bazale, hücre çoğalmasının aktif bir şekilde gerçekleştiği yerdir. Bu tabakadaki hücreler bölünerek farklılaşır. Bu farklılaşmaya giden hücre, terminal farklılaşmaya uğramadan önce birkaç kez bölünebilme yeteneğine sahiptir. Epitelin bu tabakasında mitoz bölünmenin farklı evrelerine rastlanır. Deride bazal tabaka genellikle tek bir hücre tabakasından oluşurken oral epitelde bazal tabaka iki veya üç hücre kalınlığında olabilir (Frank ve Cimasoni 1970, Listgarten 1972, Karring 1973, Lindhe ve ark 2003).

Stratum bazale üzerinde yer alan, poligonal veya büzüşmeden dolayı dikensi şekilli hücreler stratum spinozumu oluştururlar. Epitelin en geniş tabakasıdır. Bu tabakadaki hücreler mitoz özelliklerini koruyabilirler ancak bazal tabakadaki hücrelere göre daha az aktiftirler. Sayıca artmış ve gelişmiş dezmozomlar izlenir. Tonofilaman sayısında artış vardır ve yoğun demetler halinde bir araya gelerek tonofilaman demetlerine dönüşürler (Dale ve ark 1990, Ataoğlu ve Gürsel 1999).

Stratum granulozum, stratum spinozumun üzerinde iki veya üç hücre kalınlığında olup sadece ortokeratinize epitelde görülür. Bu tabakayı oluşturan hücreler yassılaşmıştır. Hücrelerin sitoplazmalarında koyu boyanan keratohiyalin granülleri dikkati çeker. Bu granüller tonofilamanların üzerine çökelmiştir. Hücre aktivitesi son derece düşmüştür. Bazal tabakadan granüler tabakaya gidildikçe sitoplazmadaki tonofilaman ve dezmozom sayısı artar. Buna karşılık, keratinositlerdeki mitokondriyon, endoplazmik retikulum ve Golgi kompleksi gibi organellerin sayısı azalır (Listgarten 1972, Lindhe ve ark 2003).

Stratum korneum, epitelin en üst tabakasıdır. Hücreleri biriken keratin nedeniyle dejenere olmuş ve birbirine paralel yerleşimli lameller haline gelmiştir. Bu duruma ortokeratinizasyon adı verilmektedir. Keratinizasyonun tam olmadığı durumlarda hücre çekirdeği ve izole organeller izlenebilir. Bu duruma ise parakeratinizasyon denilmektedir. Bu tabakadaki hücreler yüzeyden atılırlar. Ancak bazal tabakalardan yüzeye doğru yer değiştiren hücreler bu tabakayı devamlı olarak yenilerler (Bloom ve Fawcett 1968, Krstic 1991, Neville ve ark 2002).

Dişeti, sert damak ve dilin dorsal yüzey mukoza epiteli çok katlı yassı epiteldir. Dişeti ve sert damaktaki keratinize epitel, kemik veya diş sementine sıkıca tutunmuş olup yoğun bir fibröz lamina propria üzerine oturmuştur (Krstic 1991). Keratin tabakası parakeratinize, ortokeratinize veya her ikisinin kombinasyonundan oluşur. Sert damak mukoza epiteli ortokeratinize; dişeti, dil sırtı, alveolar mukoza epiteli ise orto ve parakeratinize epiteldir (Neville ve ark 2002). Keratinizasyon göstermeyen yani nonkeratinize epitel; vestibüler mukoza, ağız tabanı, yanak, yumuşak damak ve dilin ventral yüzeyi gibi mekanik streslerin az olduğu bölgeleri kaplamıştır. Keratin, normal mukoza ve deriyi korur. Çeşitli uyaranlarla keratinize olmayan epitel keratinize epitele dönüşürken, keratinize epitel daha da keratinize

hale gelebilir. Keratinizasyon dejenerasyondan ziyade adaptasyona bağlı bir farklılaşma olayıdır. Bu olay, enerji harcanmasını gerektiren bir protein sentez prosedürüdür ve çekirdek ve organelleriyle dejenere olmamış aktif hücreler tarafından gerçekleştirilir (Lindhe ve ark 2003, Yücetaş 2005).

Oral mukoza epitelinin büyük bir bölümünü epitel hücreleri olan keratinositler oluştururken epitel içinde melanositler, Langerhans hücreleri, Merkel hücreleri ve enflamatuar hücreler de bulunur. Bu hücre tiplerinin çeşitli boyut ve görünümde sitoplazmik uzantıları vardır ve 'Clear Cells' olarak adlandırılırlar. Çekirdeklerini çevreleyen zon, keratinosit çekirdeklerinin çevresinde bulunanlardan daha açık izlenir. Stratum bazale katmanında veya yakınında bulunurlar. Merkel hücreleri dışında, bu hücreler keratin üretmezler ve komşu hücrelerine dezmozomal uzantıları yoktur. Melanositler pigmentasyondan sorumlu hücrelerdir. Langerhans hücreleri oral mukozanın savunma mekanizmasında rol oynarlar. Merkel hücreleri ise dokunma duyusunu algılarlar (Schroeder ve Theilade 1966, Ness ve ark 1987, Barrett ve Beynon 1991, Ramieri ve ark 1992, Barrett ve Cruchley 1996).

Oral mukoza fonksiyonlarına göre örtücü mukoza, çiğneme mukozası ve özelleşmiş mukoza olmak üzere üç farklı morfolojik yapıya sahiptir. Örtücü mukoza, yanağın içini, dudakları, ağız tabanını, dil altını, vestibül bölgeyi ve yumuşak damağı örter. Çiğneme mukozası sert damak ve dişetini kaplar ve arada submukoza olmaksızın periosta direkt bağlıdır. Özelleşmiş mukoza dil sırtı ile sınırlanmıştır. Ağırlıklı olarak keratinize olan bu bölge aynı zamanda tat tomurcukları ve papillaları içermektedir (Bloom ve Fawcett 1968, Cawson ve ark 1998, Winning ve Townsend 2000, Gartner ve Hiatt 2001).

1.1.2. Lamina Propria

Oral mukozayı meydana getiren diğer bir katman olan lamina propria, mukozaya yapısal destek sağlayan fibröz bağ dokusudur. Ana bileşenleri; kollajen lifler (%60), fibroblastlar (%5), damar ve sinirlerdir (%35). Ayrıca dişeti dışında yer yer küçük tükürük bezlerine de rastlanmıştır (Gartner ve Hiatt 2001, Lindhe ve ark 2003). Lamina propria, processus alveolarisler ve damağın ön bölümünde fibröz bir

bağ ile doğrudan periosteuma tutunmuştur. Ağız tabanında ise submukoza üzerine oturur ve gevşektir. Epitel içine doğru mikroskobik papillalar halinde derin uzantılar yapar ve bu uzantılar dişeti ve damakta daha belirgindir. Aynı şekilde epitel de lamina propria içerisine doğru karşıt yönde uzantılar yapar. Bunlara 'rete-peg' denir (Bloom ve Fawcett 1968, Krstic 1991).

Ağız mukozası lamina propriasında rastlanan hücreler:

- Fibroblastlar

- Mast hücreleri

- Makrofajlar

- Enflamatuar hücrelerdir (Winning ve Townsend 2000, Markiewicz ve ark 2007).

Fibroblastlar, bağ dokusunun temel hücreleridir. Toplam hücre popülasyonunun %65'ini oluştururlar. Bu hücreler bağ dokusu içindeki çeşitli tipteki fibrillerin ve şekilsiz temel maddenin yapımından sorumludurlar. Mekik biçimli fibroblastlar, bir veya daha fazla çekirdekçik içeren oval şekilli bir çekirdeğe sahiptirler. İyi gelişmiş endoplazmik retikulumun yanı sıra kayda değer büyüklükte Golgi kompleksi ve çok sayıda mitokondriyon da bulunmaktadır. Sitoplazması çok sayıda tonofilaman içerir. Mitotik yetenekleri sınırlı olmakla beraber, doku yaralanmalarında fibroblasta gereksinim arttığından bölünerek çoğalabilirler. Böylece doku kaybının şekilsiz temel madde ve fibril senteziyle tamiri sağlanır (Krstic 1991, Newman 2002).

Mast hücreleri, şekilsiz temel maddenin ana komponentinin üretiminden sorumludurlar. Mikrovasküler sistemin fonksiyonunu etkileyen ve kan dolaşımını kontrol eden vazoaktif maddeler üretirler. Mitokondriyon ve endoplazmik retikulumun pek gelişmemiş olduğu bu hücrelerde Golgi kompleksi iyi gelişmiştir. Sitoplazmalarında proteolitik enzim, histamin ve heparin içeren çok sayıda vezikül mevcuttur. Mast hücresi granülleri de denen bu veziküllerin içerikleri nedeniyle

organizmadaki inflamasyon ve anaflaksi olaylarında etkili hücrelerden biri olarak rol oynamaktadırlar. Heparin içerikleri nedeniyle de kanın pıhtılaşmamasını sağlarlar (Carranza ve Cabrini 1955, Shapiro ve ark 1969).

Makrofajlar, fibroblastlardan sonra bağ dokusunda en çok bulunan hücrelerdir. Farklı fagositik ve sentetik işlevlere sahiplerdir. Makrofajlar esas görevleri organizmanın savunması olan ve bu görevi gerek doku ve hücre artıklarını gerekse dışarıdan giren zararlı mikroorganizma ve diğer tanecikleri fagositozla yok ederek gerçekleştiren hücrelerdir. Özellikle kronik iltihaplı dokuda sayıları fazladır. Kemik iliğinde yapılan ve bölgeye kanla gelen monositlerden köken alırlar ve kandan dokuya geçen monositler makrofaj olarak adlandırılırlar (Newman 2002).

Bağ dokusu, fibroblastlar, mast hücreleri ve makrofajların yanı sıra nötrofilik granülositler, lenfositler ve plazma hücreleri gibi çeşitli tipte inflamatuar hücreleri de barındırmaktadır (Lindhe ve ark 2003).

Ağız mukozasında dört tip bağ dokusu ipliği bulunur. Bunlar:

1. Kollajen İplikler
2. Retiküler İplikler
3. Oksitalan İplikler
4. Elastik İpliklerdir (Ataoğlu ve Gürsel 1999).

Kollajen iplikler, bağ dokusunun temel iplikleridir ve dişetindeki total proteinin %60'ını oluştururlar. Kollajenin en küçük birimi, ipliksel bir protein olan tropokollajendir. Tropokollajen molekülü yaklaşık 3000 Å uzunluğunda ve 15 Å kalınlığındadır. Bu yapı, üç polipeptid zincirinin heliks şeklinde bir araya gelmesi ile ortaya çıkar. Her zincir yaklaşık 1000 amino asit içerir. Amino asitlerin 1/3'ünü glisin, yaklaşık % 20'sini prolin ve hidroksiprolin oluşturur. Fibroblastlarda öncelikle DNA'dan transkripsiyonla mRNA yapılmaktadır. Bu molekül çekirdekten sitoplazmaya geçer ve endoplazmik retikulum membranının sitosolik yüzünde

yerleşen ribozomlar, bu mRNA üzerinde oluşur. Ribozomlarda translasyon olayıyla amino asitler bir araya gelerek peptid zincirlerini oluştururlar. Sentezlenen bu tropokollajen ipliksel makromolekülleri hücre dışına yani ekstrasellüler bölgeye atılır. Hücre dışında tropokollajen molekülleri uç uca eklenerek uzunlamasına bir araya gelerek protofibrilleri, sonrasında boylarının yaklaşık % 25'ini örtecek şekilde birleşerek kollajen mikrofibrilleri, mikrofibriller de bir araya gelerek kollajen fibrilleri ve fibril demetleri olan kollajen fibraları oluştururlar. Kollajen fibriller olgunlaştıkça tropokollajen molekülleri arasında kovalent çapraz bağlar şekillenir. Bunun sonucunda kollajen çözünürlüğü giderek azalır. Dişeti ve periodontal ligament içinde kollajen iplikler düzensiz veya rastgele dağılırlar (Page ve ark 1974, Bartold 1995, Newman 2002, Lindle ve ark 2003).

Aslında tip III kollajen iplikler olan retiküler iplikler, bazal membrana yakın bulunurlar ve yoğunlaşarak bazal membranın retiküler laminasını oluştururlar. Bununla birlikte, çok sayıda retiküler iplik, gevşek bağ dokusu içinde kan damarlarını çevrelemektedir (Winning ve Townsend 2000).

Oksitalan iplikler, dişetinde nadir bulunmakla beraber periodontal ligamentte oldukça boldur. Bunlar yaklaşık 150 Å kalınlığa sahip olan uzun ince fibrillerden oluşmaktadır. Periodontal ligamentteki oksitalan iplikler, dişlerin uzun akslarına paralel uzanırlar. Bu ipliklerin fonksiyonları henüz tam olarak bilinmemektedir (Kvam 1973, Fullmer ve ark 1974).

Elastik iplikler ise elastin adı verilen proteinlerden oluşurlar ve dişeti ve periodontal ligamentte yoğun olarak perivasküler alanlarda izlenmektedirler. Paralel düzenlenirler veya bir araya gelerek ağ şeklinde yapılar oluştururlar (Kvam 1973, Fullmer ve ark 1974).

Bağ dokusunun şekilsiz temel maddesi, temelde fibroblastlar tarafından üretilmekle birlikte bazı bileşenleri mast hücreleri tarafından sentezlenirken, kandan su ve minerallerin de katılmasıyla şekillenir. Bağ dokusu hücreleri bu temel maddede yaşamlarını sürdürür ve bu durum bağ dokusunun fonksiyonunun devamı için önemlidir. Su, elektrolit, besin maddeleri ve metabolitlerin bağ dokusu hücreleri arasında taşınması temel madde aracılığıyla gerçekleşir. Şekilsiz temel maddenin ana bileşenleri, proteoglikanlar ve glikoproteinler olarak ikiye ayrılır. Proteoglikanlar, karbonhidrat birimi olarak glikozaminoglikanları içerir. Glikoproteinler de oligosakkarit içerirler fakat bunlar glikozaminoglikanlardan farklıdır. Proteoglikanlarda karbohidrat bileşenleri baskınken, glikoproteinlerde protein bileşenleri baskındır. Proteoglikanlar ve glikoproteinler, hücrelerin ipliklere ve bazal membrana tutunmasını ve doku sıvısının miktar ve bileşimini ayarlarlar. Doku sıvı içeriği ve ozmotik basıncın önemli belirleyicileridir. Eğer dişeti baskıya maruz kalırsa proteoglikan ve glikoprotein makromolekülleri deforme olurlar. Baskı ortadan kalktığında orijinal formlarına dönerler. Bu durum dişetinin esnekliği bakımından oldukça önemlidir (Oksala ve ark 1995, Luomanen ve ark 1997).

1.2. Yara İyileşmesi

Yara, dokunun cerrahi, spontan, idiyopatik veya çeşitli hastalıklar sonucu anatomik ve fonksiyonel bütünlüğünün bozulmasıdır. Yara iyileşmesi ise yara bölgesinde başlatılan hücresel ve biyokimyasal olayların yeni doku oluşumuyla sonuçlanmasıdır (Peacock 1984, Turgut ve ark 1995).

Yara iyileşmesi, birçok hücre, ekstrasellüler matriks, büyüme faktörleri ve diğer sitokinlerin karşılıklı etkileşimleri ve koordinasyonlarına bağlı olarak gelişen oldukça karmaşık ve dinamik bir süreçtir (Witte ve Barbul 1997). Bu süreç, yaralanan doku ve yara tipine bağlı olarak değişiklikler gösterebilir. Bunun dışında yara iyileşmesini etkileyen birçok lokal ve genel faktörler de bulunmaktadır. Lokal faktörler; iskemi, gerilim, basınç, ölü boşluklar, yabancı cisimler, lokal travma,

radyasyon ve çevre sıcaklığıdır (Bernstein ve ark 1993, Erdem 1996, Engin 2000). Genel faktörler ise beslenme, yaş, büyüme faktörleri ve diabet, kronik vasküler rahatsızlık, renal yetmezlik, karaciğer yetmezliği, immün yetmezlik gibi hastalıklardır (Barbul ve Purtill 1994, Erdem 1996, Steed 1998, Hackam ve Ford 2002, Schreml ve ark 2010).

Yara iyileşmesi, vasküler, hücresel ve biyokimyasal olayların yönlendirdiği rejenerasyon ve tamir adı verilen iki mekanizma ile gerçekleşmektedir (Boucek 1984). Rejenerasyon, iyileşen dokunun yapı ve fonksiyon olarak orijinal dokudan ayırt edilmediği iyileşme tipidir (Melcher 1969, Krawczyk 1978). Doku bütünlüğünün, fibröz doku formasyonu veya bağ dokusu skarı ile gerçekleştiği iyileşme tipi ise tamir olarak adlandırılmaktadır. Bu iyileşme ile dokuların normal anatomi ve fonksiyonları kazandırılamaz (Harrison 1991, Hupp 2003).

Yara iyileşmesi klinik olarak primer, sekonder ve tersiyer olarak üçe ayrılmaktadır. Primer yara iyileşmesi, keskin kenarlı alet ile oluşturulan yara kenarlarının anatomik pozisyonuna yakın bir pozisyona yaklaştırılmasıyla iyileşmenin elde edilmesidir. Bu durumda iyileşme için minimum epitelizasyon, kollajen birikimi, kontraksiyon ve remodeling gerçekleşir. Dikiş ile kapatılan cerrahi insizyonlar primer yara iyileşmesine örnek teşkil eder. Sekonder yara iyileşmesinde yara kenarları arasında boşluk veya yara kenarlarının birleşmesini engelleyen doku kaybı bulunmaktadır. Bu tipte defektin iyileşmesi yeni bağ dokusu oluşumu, epitel göçü, kollajen depozisyonu, kontraksiyon ve remodeling ile gerçekleşmektedir. Çekim soketinin iyileşmesi sekonder iyileşmeye örnektir. Tersiyer iyileşme ise doku greftleri ile desteklenen yara iyileşmesi ya da sekonder iyileşme başladıktan sonra yapılan cerrahi müdahaleyle primer iyileşmenin sağlandığı iyileşme tipidir. Tersiyer iyileşme gecikmeli bir primer kapatma olarak da adlandırılmaktadır (Shetty ve Bertolami 2004).

Yaralanmadan sonra ilk olarak trombosit ve fibrinden oluşan hemostatik tampon şekillenir. Koagülasyon basamağı ekstrinsik ve intrinsik yollarla aktive edilir ve her iki koagülasyon mekanizması da bir plazma proteini olan fibrinojenin fibrine dönüşmesini katalize eden trombinin üretimine neden olur. Böylece sırayla vazokonstriksiyon, trombosit agregasyonu ve fibrin formasyonu gerçekleşir. Fibrin,

hemostaza katılmasının yanında yarada erken iyileşme döneminde oluşan geçici matriksin de esas bileşenidir. İyileşmenin erken döneminde primer olarak hücresel tutunmaya yardımcı olur ve yarada değişik hücrelerin migrasyonunu düzenler. Pıhtı ve çevresindeki yara dokusu içinde bulunan trombositlerin kollajenle teması ve önceden ortamda bulunan trombin ve fibronektin, trombosit alfa granüllerinden sitokinlerin salınımını uyarır (Pool 1977, Jespersen 1988, Brown 1996).

Sitokinler hücre zarları üzerindeki reseptörlere bağlanarak hücresel fonksiyonları yönlendiren proteinlerdir (Seymour ve Gemmell 2001). Belli bir sitokin, çeşitli hücreler tarafından farklı dokularda salgılanır fakat aynı biyolojik etkiyi gösterir. Sitokinler; endokrin, parakrin ve otokrin yollarla fonksiyon görürler. Endokrin yolla etki eden bir faktör, genellikle kan yoluyla taşınır ve hedef hücreyi uzaktan etkileyebilir. Parakrin yolla etki eden faktörler, bir hücreden salındıktan sonra yakın lokalizasyondaki farklı bir hücreyi etkilerler. Otokrin faktörler ise salındıkları hücrenin fonksiyonlarını etkilerler (Fisher ve Lakshmanan 1990, Steenfos 1994).

Büyüme faktörü terimi sıklıkla sitokinler ile eş anlamlı olarak kullanılıyorsa da büyüme faktörleri esas olarak hücresel proliferasyona neden olurlarken, sitokinler diğer hücresel aktiviteleri de düzenleyebilirler. Sitokinler ilk olarak birbirlerini uyarırlar, ikinci olarak hücre yüzey reseptörlerini düzenlerler, üçüncü olarak da hücre fonksiyonu üzerine sinerjistik veya antagonistik etkileşim gösterirler (Gemmell ve ark 1997).

Sitokinler başlıca şu ana gruplara ayrılmaktadır:

1. Büyüme faktörleri (Epidermal büyüme faktörü, EGF; Platelet orijinli büyüme faktörü, PDGF; İnsülin benzeri büyüme faktörü-1, IGF-1; İnsülin benzeri büyüme faktörü-2, IGF-2; Fibroblast büyüme faktörü, FGF vb.)

2. Lenfokinler (İnterlökin-1, IL-1α, IL-1β, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10 vb.)

3. Koloni stimüle eden faktörler (Granülosit/makrofaj koloni stimüle eden faktör, GM-CSF; Eritropoietin, EPO vb.)

4. Transforme edici büyüme faktörleri (TGF-α, TGF-β)

5. Tümör nekrozan faktörleri (TNF-α, TNF-β)

6. İnterferonlardır (IFN-α, IFN-β, IFN-γ) (Liu ve ark 2010).

Sitokinlerin bazıları (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 ve TNF), proenflamatuar fonksiyonlara sahipken, diğer bir kısmı (IL-4, IL-10 ve TGF-β) antienflamatuar fonksiyonlara sahiptirler (Takashiba ve ark 2003).

Sitokinler, kemotaktik ve hücresel proliferasyonu uyarması, aynı ve farklı tipteki hücreler arasındaki sinyalizasyonu sağlaması, ekstrasellüler matriks oluşumu, anjiogenezi kontrol etmesi ve doku bütünlüğünü yeniden kurmasıyla iyileşme sürecinde temel bir rol oynarlar (Gope 2002, Gosain ve DiPietro 2004, Broughton ve ark 2006, Campos ve ark 2008).

Hemostazın sağlanmasından sonra yara iyileşmesi başlar. Yara iyileşmesi üç fazdan meydana gelir. Bunlar:

1. İnflamatuar faz

2. Proliferatif faz

3. Matürasyon ve remodelling fazıdır (Clark 1993, Steed 2003).

1.2.1. İnflamatuar Faz

Yara iyileşmesinin ilk basamağı inflamasyondur ve 3-6 gün sürmektedir (Singer ve Clark 1999, Broughton ve ark 2006). İnflamasyon yara sahasındaki vasküler, hücresel ve humoral reaksiyonları içerir. Önceden var olan doku yapısının yıkılması ve hücresel, hücre dışı ve patojen debrislerin temizlenmesiyle

karakterizedir (Goldman 2004). Yarayı kontamine eden bakterilerin, nekrotik ve zarar görmüş dokuların uzaklaştırılmasıyla hücresel metabolizma için uygun bir ortam hazırlanır (Harrison 1991).

İyileşme sürecinin erken evresinde oluşan vazokonstriksiyonu, histamin, bradikinin, prostoglandin ve lökotrien gibi faktörlerin salınımı ile vazodilatasyon takip eder. Damar geçirgenliğinin artması ile plazma proteinleri ve diğer iyileşme mediyatörlerinin damar dışına çıkması ve lenfatik drenajın blokajı sonucu şişlik, kızarıklık, sıcaklık artışı, fonksiyon kaybı ve ağrı gibi inflamasyonun kardinal belirtileri kendini gösterir (Li ve ark 2007).

Fibrin içerisindeki sitokinlerin kemotaktik etkileri sonucu inflamatuar hücreler yara bölgesine iştirak eder (Goldman 2004). Yara bölgesine ilk gelen inflamatuar hücreler nötrofillerdir (Szpaderska ve ark 2003). Nötrofiller, proteazlar ve sitokinler yardımı ile yarayı kontamine eden bakterileri ve cansız doku artıklarını fagosite ederler (Werner ve Grose 2003). Nötrofillerin başlangıçta yalnızca savunmaya yönelik fagositoz fonksiyonları olduğu düşünülürken aynı zamanda proinflamatuar sitokinleri salgıladıkları ve bunların da lokal fibroblast ve keratinositlerin erken dönemde uyarılmasına neden oldukları tespit edilmiştir. Nötrofiller yaralanmadan 24-48 saat sonra yangı bölgesinde maksimum sayıya ulaşırlar ve eğer yara kontamine olmazsa birkaç gün içinde sayıları azalmaya başlar. Pıhtı içinde bulunan nötrofiller ile canlı dokuda görevini tamamlamış olanlar fagosite edilerek bölgedeki makrofajlar tarafından ortamdan uzaklaştırılırlar (Ennis ve Meneses 2000, Robson ve ark 2001, Hart 2002).

Makrofajlar, dolaşımdaki monositlerin veya mevcut dokudaki mononükleer hücrelerin fenotipik değişikliklere uğraması sonucu oluşur. Pıhtılaşma faktörleri, PDGF, TGF-β gibi sitokinler ve kollajen yıkım ürünleri gibi kemotaktik faktörlerin etkisi ile yaraya taşınırlar (Pierce ve ark 1991, Ramasastry 2005). Makrofajlar inflamatuar fazın en önemli hücreleridir. Patojenik organizmaları, cansız dokuları ve kalan nötrofilleri fagosite ederler. Ayrıca PDGF, FGF, TGF-β, TGF-α, IL-1 ve TNF-α gibi sitokinlerin sentezini gerçekleştirirler (Falanga 1993, McCartney-Francis ve Wahl 2001). Bu sitokinler proliferasyon ve matriks üretimi ile birlikte hücre migrasyonunda da önemlidirler. Proteaz transkripsiyonu, inflamatuar sitokinler

tarafından gerçekleştirilir. Örneğin; TNF-α, matriks metalloproteinaz transkripsiyonunu indükler (Abraham ve ark 2000). Matriks metalloproteinaz, inflamatuar debrisleri temizler ve hücrelerin ekstrasellüler matrikse migrasyonunu uyarır. TNF ve IL-1 sitokinleri ise makrofajlardaki nitrik oksit sentaz enzimini aktive ederek daha fazla miktarda nitrik oksit (NO) sentezini uyarır. NO, peroksit iyon radikalleri ile etkileşime girerek patojenler için öldürücü olan daha toksik peroksinitrit ve hidroksil radikallerini ortaya çıkarır (Nussler ve Billiar 1993). Her ne kadar nötrofiller fagositozu başlatan primer hücreler olsalar da makrofajların fagositoz etkinliği daha fazladır. Aynı zamanda sentezlediği çeşitli mediyatörlerle fibroblast migrasyon ve matürasyonunu, kollajen ve granülasyon dokusu oluşumunu ve anjiogenezi stimüle ederek inflamasyon ve tamir süreçleri arasında kilit rol oynaması, yara iyileşmesinde bu hücreleri vazgeçilmez kılmaktadır (Li ve ark 2007).

İnflamasyonun akut fazı gerekli olmakla birlikte, inflamasyonun devamlı olması konak için zararlıdır. Makrofaj sayı ve aktivitesi yaralanmadan sonraki 5. günde azalmaktadır. Makrofajlar onarım tamamlanana kadar yara iyileşme sürecini düzenlemeye devam ederler (Shetty ve Bertolami 2004).

1.2.2. Proliferatif Faz

İnflamatuar faz süresince sentezlenen sitokinler, proliferatif fazı stimüle eder. Hücre proliferasyonu, anjiogenez ve epitelizasyonu içeren bu fazın etkin hücreleri; fibroblastlar, epitel ve endotel hücreleridir. Yaralanmadan sonraki 2-4 gün içinde başlayıp yaklaşık 2-3 hafta kadar süren proliferatif faz, gevşek bir matrikste inflamatuar hücreler, fibroblastlar ve yeni oluşan kapillerleri içeren granülasyon dokusu oluşumu ile karakterizedir (Kirsner ve Eaglstein 1993, Niesler ve Ferguson 2001).

İlk önemli basamak, yaranın artan oksijen ve besin ihtiyacının karşılanması için bölgede yeni kan damarlarının oluşumudur. Anjiogenez olarak tanımladığımız bu süreç FGF-2 ve TNF-α gibi çoğu makrofaj kaynaklı sitokinler ile birlikte yara hipoksisi tarafından tetiklenir. Endotel hücreleri anjiogenik uyarı doğrultusunda göç ederler. Bunlar bölünüp farklılaşarak tübüler bir lümen oluşturur ve böylece vasküler ağın dalları meydana gelir. Yeni meydana gelen bu damarların bir bölümü sonradan

kaybolur (Zhang ve ark 1997, Engin 2000, Oike ve ark 2004). Anjiogenez yara kenarlarından merkezine doğru ilerler. Yeni oluşan damarlar düzensiz kan akımı, dolambaçlı rotaları ve aşırı geçirgen özelliklerinden dolayı etkisizdirler (Ruben ve ark 1980). Daha etkili ve matür damarlaşma endotel hücrelerinin matürasyonuna, bu da fibroblasların etkinliği sonucu kollajen ve matriks formasyonuna bağlıdır (Harrison 1991).

Fibroblastlar, inflamatuar hücreler ve bu hücrelerden kaynaklanan kemotaktik sitokinlerin etkisiyle yara bölgesine göç ederler. Bu hücreler, inflamatuar fazda şekillenen fibrin yapı üzerinde yer değiştirirler ve bir matriks içinde kollajen, elastin, fibronektin, glikozaminoglikanlar ve kollajenaz gibi yeniden yapılanma fazında önemli olan proteazları üretirler. Böylece yeni ekstrasellüler matriks şekillenir (Kirsner ve Eaglstein 1993, Desmouliere 1995). Yara matriksindeki temel yapı molekülü kollajendir. Kollajen tüm canlı dokuların başlıca yapı proteinidir. Kollajen birikimi yaranın gerilme kuvvetini arttırır ve yeni oluşan damarlara destek verir. Yeterli kollajen ve matriks üretimi normal yara iyileşmesinin göstergeleridir (Brown 1996, Engin 2000, Sukotjo ve ark 2003). Yaş, gerilim, basınç, stres ve TGF-β, PDGF, FGF gibi sitokinler kollajen sentez hızını etkilerler (Welch ve ark 1990).

Yaralanmadan sonra epitel hücreleri spesifik değişikliklere uğrar ve yara içine doğru prolifere olurlar. Epitel hücrelerinin migrasyon ve proliferasyonunda EGF, transforme edici büyüme faktörleri (TGF-α, TGF-β) gibi sitokinler rol oynarlar. Mukozal yaralardaki epitelyal hücreler fibrin pıhtının nemli yüzeyine göç ederler. Migrasyon süresince uzamış yara kenarlarındaki epitel hücrelerinin birbirleriyle kontağı sonucu epitelyal bir köprü oluşur. Bu köprüden sonra epitel hücreleri diferansiye olur, mitoza uğrar ve olgunlaşma süreci boyunca çok katlı yassı epitelin tabakalarını oluştururlar. Bu şekilde etkili bir epitelyal bariyer oluşur ve bağ doku iyileşmesi oral kavite irritanlarının kontaminasyonu olmadan devam eder (Sciubba ve ark 1978, Harrison 1991). Bu etkisinin dışında epitelyal bariyerin iki önemli görevi daha vardır. Bunlardan birincisi; bağ dokusu hücreleri için besleyici olan doku sıvısının kaybını önlemesidir (Rubben ve ark 1980). Diğeri ise yara dayanıklılığını arttırmasıdır (Harrison 1991). Reepitelizasyon sonucu yara kenarları birbirine doğru çekilerek yara boyutu küçülür yani yara kontraksiyonu gerçekleşir. Yara

kontraksiyonunun ölçüsü, yara derinliğine ve yaranın lokalizasyonuna bağlıdır (Shetty ve Bertolami 2004).

Bağ dokusu iyileşmesi epitelyal bariyer oluştuktan sonra başlar. Makrofajlar, nötrofillerin başlattığı fagositoza inflamatuar faz boyunca devam ederken fibroblastların yara alanına migrasyonunu sağlayan faktörler sentezlerler (Sciubba ve ark 1978). Fibroblastlar yara alanı çevresindeki perivasküler dokularda diferansiye olmamış ektomezanşimal hücrelerden farklılaşırlar (Boucek 1984). Her iki hücre tipi de yara alanına bağlanır ve glikozaminoglikan, glikoprotein ve fibröz proteinlerin sentezine başlar (McGrath ve Emery 1985). İlk şekillenen kollajen, bu ektomezanşimal hücreler ve genç fibroblastlar tarafından sentezlenen Tip III kollajendir (Hunt ve ark 1984).

Yara iyileşmesi devam ettiği sürece makrofaj sayısı azalırken, fibroblastların sayısı artmaktadır (Hunt ve ark 1984). Zayıf kollajenasyona bağlı olarak granülasyon dokusu en başta daha gevşekken artan kollajen matürasyonu ile daha fibröz bir bağ dokusu oluşur (Ruben ve ark 1980). Bu evrede yara alanındaki doku, normal mukoperiosteal dokudan daha ince olması, daha az yoğunlukta lif içermesi ve birim alan başına düşen fibroblast sayısının daha fazla olması ile ayrılır (Krawczyk 1978).

1.2.3. Matürasyon ve Remodeling Fazı

Yara alanındaki fibroblast sayısının ve yara iyileşmesi için gerekli metabolik ihtiyaçların azalması ile kapillerden oluşan zengin ağın gerilemeye başlaması bağ dokusu iyileşmesinin sona erdiğini ve matürasyon ve remodelling fazının başladığını gösterir. Yara matriksinin matürasyonu süresince kollajen formasyonu ve yıkımı devam eder. Kollajen liflerinin formu, hacmi, gücü ve oriyantasyonu birçok değişikliğe uğrar. Başlangıçta, olgunlaşmamış kollajen Tip III iplikler, proteoglikanlar ve glikozaminler yaraya hakimdir. Olgunlaşma ilerledikçe makrofajlar, proteaz ve kollajenaz serbestleştirir ve yaradaki olgunlaşmamış kollajen daha güçlü Tip I kollajen ile yer değiştirir (Kanzler ve ark 1986). Gerilme kuvveti, kollajen fibrillerinin yerini daha fazla moleküller arası bantlar içeren organize fibrillerin alması ile birlikte yavaş yavaş artar. Buna bağlı olarak skar dokusunun gerilme kuvveti giderek artar ve sonunda orijinal doku gücünün % 80'ine ulaşır

(Brown 1996, Shetty ve Bertolami 2004). Skar kollajen ve matriksin homeostazı büyük ölçüde serin proteaz ve matriks metalloproteinaz tarafından düzenlenir. Bu evrenin ne kadar süreceği belirsizdir. Bu süreçte oluşabilecek herhangi bir sorun yetersiz matriks yapım ya da bozulmasına yol açabilir ve iyileşme skar veya yara dehissensi ile sonuçlanabilir (Shetty ve Bertolami 2004).

1.3. Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu

Yara bölgesine çevre dokulardan farklı hücresel komponentlerin migrasyonu sonucu bazı durumlarda istenilen iyileşme gerçekleşemez. Bir anatomik bölgenin belli tipteki doku ile iyileşmesi için bir bariyer gereklidir ve istenmeyen hücrelerin yara bölgesine göçü engellenirken bu bariyer, hapsettiği alan içindeki rejeneratif hücrelerin göçüne izin verir. Bu teknik yönlendirilmiş doku rejenerasyonu olarak adlandırılır (Dahlin ve ark 1990, Nyman 1991).

Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu, özellikle periodontal defektlerin tedavisinde kullanılan bir yöntemdir. Periodontal tedavinin amacı, yalnızca ilerleyen periodontal hastalığı durdurmak değil, yıkıma uğramış periodontal dokuların yeniden eski sağlıklı durumuna dönmesini ve rejenerasyonunu da sağlamaktır (Nyman ve ark 1982). Bu anlamda yönlendirilmiş doku rejenerasyonu, kayıp periodontal dokuların bir bariyer yardımıyla istenmeyen epitel hücreleri, bağ dokusu hücreleri ve kemik hücrelerinden korunarak rejenerasyonunu sağlaması açısından önemlidir (Caffesse ve Becker 1991, Gottlow ve ark 1992, Caffesse ve ark 1994). Fiziksel bariyerlerin oral cerrahideki ana hedefleri, kök yüzeyinden dişeti bağ dokusunun ve oral epitelin apikale migrasyonunu önlemek ve bir boşluk oluşturarak periodontal ligament hücrelerinin kök yüzeyinde çoğalmasını sağlamaktır (Minabe 1991). Aynı prensiple, kaybedilmiş kemik dokunun tekrar kazanılması ve kemik defektlerinin iyileşmesinde yeni kemik rejenerasyonu bir bariyer membran yardımı ile uyarılabilir. Bu yönteme ise yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu denilmektedir. Bu yöntemle, osteojenik hücre migrasyonu sağlanırken, kemik defektinin içine bağ dokusu büyümesi önlenir (Dahlin ve ark 1988, Dimitriou ve ark 2012).

Dişeti çekilmesi sonucu açığa çıkan kök yüzeylerinin kapatılması (Rosetti ve ark 2012, Wang ve ark 2012) ve furkasyon defektlerinin tedavisi gibi periodontal cerrahi gerektiren durumlarda (Ponteriero ve ark 1989, Andrade ve ark 2007, Patel ve ark 2012) yönlendirilmiş doku rejenerasyonuna sıklıkla başvurulmaktadır. Sinüs membranı perforasyonlarında (Proussaefs ve ark 2004, Hernandez-Alfaro ve ark 2008), oroantral açıklıkların kapatılmasında (Waldrop ve Semba 1993), vertikal ve kemik içi defektlerde (Selvig ve ark 1993, Mattson ve ark 1999, Needleman ve ark 2006) ve implant cerrahisinde (Mihatovic ve ark 2012, Ramel ve ark 2012, Schwarz ve ark 2012) yönlendirilmiş doku rejenerasyonu uygulanmaktadır. Ayrıca ortodontik diş hareketleri sonucu kemik dehissensi veya azalmış kemik desteği ile karşılaşılabilir ve bu durumlarda da yönlendirilmiş doku rejenerasyonu tercih edilen yardımcı tedavidir (Diedrich 1996, Toygar ve Kircelli 2010).

1.4. Bariyer Membranlar

Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu tekniği kapsamında pek çok bariyer membran kullanılmaktadır (Caffesse ve ark 1994, Parrish ve ark 2009).

İdeal bir bariyer membranda bulunması gereken özellikler şunlardır:

- Rejeneratif hücrelerin migrasyonuna izin verecek bir boşluk oluşturmalıdır.

- Rejeneratif olmayan hücreler için engelleyici olmalıdır.

- Biyouyumlu olmalıdır.

- İnert olmalıdır.

- Antijenik özellik taşımamalı ve toksik olmamalıdır.

- İyileşme sırasında stabilitesini koruyabilmelidir. Dışarıdan gelebilecek baskılara dirençli olmalıdır.

- İçinde bulunduğu doku ile bütünleşebilmelidir.

- Sterilizasyonu etkili ve kolay olmalıdır.

- Uygulaması kolay olmalıdır (Gottlow 1993, Bunyaratavej ve Wang 2001).

Günümüzde kullanılan membranlar temel olarak iki gruba ayrılır. Bunlar;

1. Rezorbe olmayan membranlar

2. Rezorbe olan membranlardır (Parrish ve ark 2009).

1.4.1. Rezorbe Olmayan Membranlar

Yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda öncelikle rezorbe olmayan membranlar kullanılmıştır. Bu tip membranların en önemli dezavantajı, materyali çıkarmak için ikinci bir cerrahi işlem gerekmesidir. Membran çıkarılırken olgunlaşmamış yeni doku membrana tutunmuş olabilir ve bunun sonucu yeni şekillenen dokuya verilen mekanik zarar dokunun iyileşme sürecini etkiler. Ayrıca yeni oluşan doku ikinci ameliyatta tamamen örtülmezse daha az doku rejenerasyonu görülür (Tonetti ve ark 1993, Cortellini ve ark 1995). Diğer yandan bu tip membranların ekspoze olma riski oldukça yüksektir (Lang ve ark 1994, Murphy 1995). Ekspoze membran enfeksiyon riskini arttırır. Enfeksiyon ise gerçekleşecek doku rejenerasyonu miktarını azaltır (Selvig ve ark 1990). Bu sebepten membranın açığa çıktığı durumlarda çok iyi postoperatif ağız bakımı sağlamak ve enfeksiyonun rejenere olmuş dokuya yayılmasını önlemek için membranın erken çıkartılması gereklidir. Hastanın zayıf oral hijyen veya sigara alışkanlığı gibi iyileşmeyi olumsuz etkileyecek alışkanlıkları varsa rezorbe olmayan membranlardan ziyade rezorbe olan membranlar tercih edilmelidir (Sato 2006).

İlk uygulanan rezorbe olmayan membran teflon esaslı politetrafluoroetilendir (PTFE). Daha sonra teflon geliştirilerek genişletilmiş politetrafluoroetilen (ePTFE) membranlar ortaya çıkmıştır. Rezorbe olmayan bariyerler arasında periodontal

tedavideki kullanımları açısından en çok tercih edilen ePTFE bariyerlerdir (Caffesse ve ark 1994). Farklı defektler için farklı kalınlık, porözite ve sertlikte üretilebilirler (Simion ve ark 1994). Biyolojik olarak inerttirler, yabancı cisim reaksiyonu oluşturmazlar ve mikrobiyolojik reaksiyonlara karşı dayanıklıdırlar (Caffesse ve ark 1994, Buser ve ark 1996).

ePTFE membran, yayınlanan bir vaka raporunda otojen kemik grefti ile birlikte oroantral açıklığın kapatılması için kullanılmıştır. Tedavi sonucunda implant cerrahisi ve protetik rehabilitasyon planlanan vakada öngörülen iyileşme gerçekleşmiştir (Scattarella ve ark 2010). Piette ve ark (1995), çift taraflı damak yarığı olan hastaların tedavisinde otojen greft ve ePTFE membran kombinasyonunu tercih etmiş ve iyileşme sorunsuz gerçekleşmiştir. Matzen ve ark (1996), sıçanlarda oluşturdukları osseöz submukoz damak yarığını ePTFE membran kullanarak onarmışlar ve doku benzeri bir midpalatal sutur oluşturarak kemik iyileşmesinin gerçekleştiğini rapor etmişlerdir. ePTFE membranlar ayrıca implant cerrahisinde (Fiorellini ve ark 2007, Jung ve ark 2012) ve kist kavitelerinin yönlendirilmiş doku rejenerasyonu rehberliğinde iyileşmesi (Dahlin ve ark 1990, Vitkus ve Meltzer 1996) amacıyla da kullanılmaktadırlar.

ePTFE membranlar, doku sıvılarına karşı geçirgendirler. Materyal porözite özelliği ile yaklaşık 3-4 hafta için bakteriyel penetrasyonu geciktirmekte ancak bu zamandan sonra enfeksiyon riski nedeniyle çıkarılması gerekmektedir. Yine ekspoze olmasından dolayı enfeksiyon riskinin yüksek olduğu bilinmektedir. Tüm bu sebeplerden dolayı membranın çıkarılması için ikinci bir cerrahiye gereksinim duyulması ve bu sürede yeterli rejenerasyon sağlanamaması veya rejenerasyonun olumsuz etkilenmesi önemli dezavantajlardır (Metzler ve ark 1991, Tonetti ve ark 1993, Cortellini ve ark 1995, Murphy 1995).

Yoğun PTFE yapısında bir teflon bariyer olan d-politetrafluoroetilen, ePTFE membranların olumsuz özelliklerini azaltmak için geliştirilmiş poröz olmayan bir membrandır. Fakat dokuyla bütünleşmesi zayıftır (Bartee 1995, Crump ve ark 1996).

ePTFE membranların periodontal cerrahi için geliştirilmiş ve daha büyük ve stabilizasyon gerektiren defektler için uygun titanyum destekli tipleri de mevcuttur. Bu membranlar özellikle vertikal sırt augmentasyonları için kullanılırlar. Çok az klinik ve histolojik inflamasyon ile mükemmel doku uyumları mevcuttur (Von Arx ve ark 1996).

Yarı geçirgen silikon bariyer, özellikle yanık tedavisinde kullanılan bir yara örtücüdür. Silikon esaslı rezorbe olmayan sentetik bir membrandır. Periodontal cerrahide furkasyon defektlerinde kullanıldığını gösteren çalışmalar vardır. Uygulaması zordur ve boşluk oluşturmada yetersizdir (Aukhil ve ark 1986, Twohey ve ark 1992).

Rubber dam, periodontal kemik defektlerinin tedavisinde kullanılan bir diğer rezorbe olmayan membrandır. Doku ile bütünleşmez ve uygulaması zordur. Boşluk oluşturmada yetersizdir (Cortellini ve Proto 1994, Salama ve ark 1994).

Millipor filtreler, selüloz asetat esaslı bakteri filtresidir. Bu rezorbe olmayan membran, periodontal defetlerde ePTFE membranlardan sonra sıklıkla kullanılan bir materyaldir. ePTFE membrandan daha ucuz olsa da kırılganlığı ve kullanım zorluğu önemli bir dezavantajdır. Ayrıca toksik olduğuna dair bilgiler mevcuttur (Dowell ve ark 1991).

1.4.2. Rezorbe Olan Membranlar

Rezorbe olmayan membranların dezavantajlarının üstesinden gelebilmek için rezorbe olan membranlar geliştirilmiştir. Rezorbe olan bariyerlerin yumuşak doku uyumları daha iyidir. Bu membranlar tek bir cerrahi operasyon gerektirmektedirler. Dolayısıyla yeni oluşan dokuya gelebilecek mekanik zararların veya membranın çıkartılmasından sonra yeni dokunun örtülmesi ile ilgili problemlerin önüne geçilir.

İkinci bir cerrahi operasyon gerektirmemesi aynı zamanda ağrı ve rahatsızlığı azaltır, iyileşme zamanını kısaltır ve maliyeti düşürür (Hurzeler ve ark 1998, Zhao ve ark 2000).

Rezorbe olan membranların en büyük dezavantajı, ekspoze oldukları durumlarda çıkartılamamalarıdır. Bunun sonucu enfeksiyon rejenere olan dokuya yayılır. Ancak membranın ekspoze olmasıyla rezorbsiyonu hız kazanmakta ve böylece yeni oluşan doku ile kontaminasyon süresi kısalmaktadır. Bu membranlar ile yeni doku oluşup oluşmadığının, ne kadar yeni doku kazanımı olduğunun ve yönlendirilmiş doku rejenerasyonunun başarılı olup olmadığının değerlendirilmesi için daha uzun zaman gerekmektedir (Hurzeler ve ark 1998, Zhao ve ark 2000, Owens ve Yukna 2001).

Rezorbe olan membranlar, doğal ve sentetik olarak iki gruba ayrılırlar. Doğal membranlar kollajen tipi membranlardır. Sentetik membranlar ise polilaktik asit (PLA), poliglikolik asit (PGA) ve bunların kopolimerlerinden sentezlenir. Membranların rezorbsiyon şekilleri farklıdır. Kollajen membranlar enzimatik degradasyona uğrarken, sentetik membranlar hidroliz yolu ile degrade olurlar (Blumenthal 1993, Van Swol ve ark 1993, Polson ve ark 1995, Hutmacher ve ark 1996).

Rezorbe Olan Doğal Membranlar

Kollajen Membranlar

Kollajen, insan vücudundaki tüm proteinlerin yaklaşık üçte bir kadarını oluşturan bağ dokusu proteinlerinden biridir. Kollajen moleküllerinin en belirleyici özelliği, üç alfa polipeptid zincirinin heliks şeklinde bir arada sarmal yapmasıyla oluşmasıdır. Alfa heliks yapı kollajene yüksek gerilme ve direnç sağlar. Kollajen

moleküllerinin gerilme ve sıkışmaya karşı dirençli olmaları, yaranın gerilim kuvvetine ve sağlamlığına etki eder (Blumenthal 1992, Kielty ve ark 1993, Newman 2002, Arslan 2003).

Kollajenin temel birimi olan tropokollajenler arasındaki farklı bağlanmalar sonucu farklı kollajen alt türleri ortaya çıkar. Kollajenin yarı ömrü birkaç gün kadardır ve özel kollajenazlar tarafından yıkılırlar (Eyre 1981, Newman 2002, Lindhe ve ark 2003).

Günümüzde yaklaşık 29 kadar kollajen tipi belirtilmiştir. Kollajen tipleri aşağıdaki şekilde sınıflandırılır:

1. Fibriler kollajenler: Esas olarak tip I, II, III, V ve XI kollajenlerdir.

2. FACIT kollajenler: Bu grup kollajenlerin özelliği diğer kollajen tiplerinin aksine, üçlü heliks biçimindeki yapının arada kesintiye uğraması ve kollajen liflerinin matriksin kollajen dışı bileşenleri ile bağlantılar kurabilmesidir. Tip IX, XII, XIV, XVI, XIX[5] XX[4] ve XXI[3] bu gruba girer.

3. Kısa zincir kollajenleri: Hekzagonal ağ oluşturan kollajenlerdir. Tip VIII ve X kollajenler bu gruptadırlar.

4. Bazal membran kollajenleri: Tip IV kollajeni içerir.

5. Multipleksinler: Birçok dokuda gözlenen, özellikle nonfibriler tipteki, tip XV ve XVIII kollajenlerden oluşur.

6. MACIT kollajenler: Tip XIII ve XVII (hemidezmozom yapısında), XXIII, XXV kollajenleri içerir.

7. Diğer kollajenler: Tip VI[5] ve VII[6] kollajen ise diğer sınıflandırmalar içerisinde yer almayan kollajenlerdir (Fitzgerald ve Bateman 2001, Koch ve ark 2001, Myllyharju ve Kivirikko 2004).

Çok sayıda kollajen tipi rapor edilmesine rağmen en iyi tanımlanmış olanlar; Tip I, Tip II, Tip III, Tip IV, Tip V ve Tip X kollajenlerdir.

Tip I kollajen en yaygın olanıdır. Fibröz yapısına bağlı olarak dokulara dayanıklılık ve stabilite kazandırır. Bu kollajen; kemik, tendon, dentin, dişeti, organ kapsülleri, deri, fibröz kıkırdak, fasya, sklera gibi dokularda bulunur ve fibroblast, osteoblast, odontoblast ve kondroblastlar tarafından sentezlenir. Bağ dokusu ekstrasellüler matriksinin ana fibriler proteinidir (Ricard-Blum ve Ruggiero 2005). Tip I kollajenin öncelikli işlevi, doku bütünlüğünü korumak için yapısal bir iskelet oluşturmak olmasına rağmen son dönemdeki çalışmalar göstermiştir ki adezyon, migrasyon ve sinyal iletimi gibi hücre davranışlarını düzenlemektedir (Ottani ve ark 2001, Kadler 2004, Heino 2007). Bu özellikleri ile hasarlı dokuyu yeniden şekillendirmek için Tip I kollajen kullanılabilir (Pieper ve ark 2002, Gruber ve ark 2006).

Tip II kollajen, hiyalin kıkırdak ve nükleus pulpozusta lokalizasyon gösterir ve kondroblastlar tarafından sentezlenir. Orta şiddette basınçlara dayanıklıdır (Grant 2007).

Tip III kollajen, genelde tip I kollajen ile birlikte görülür. Kan yapan organlar, deri, damarlar ve karaciğer, böbrek, dalak ve akciğer gibi organlarda bulunur. Fibroblastlar ve düz kas hücreleri tarafından sentezlenir (Everson 1985).

Tip IV kollajen, epitel, endotel, bazal lamina ve böbreğin glomerüler kanal membranında lokalize olur. Epitel ve endotel hücreleri tarafından sentezlenir. Bu kollajenin, tip I, II ve III kollajen ile karşılaştırıldığında daha büyük boyutta alfa zincirleri, dallanma ve daha yüksek elastikiyet gibi özellikleri vardır (Crouch ve Bornstein 1979, Hofmann ve ark 1984).

Tip V kollajen, kan damarlarında çok yaygın görülür. Ayrıca plasenta bazal membranlarında da bulunmaktadır. Düz kas hücreleri tarafından sentezlenir (Everson 1985). Tip VII kollajen bazal laminada, Tip IX ve X kollajenler kıkırdak dokusunda izlenmiştir. Tip VI, VIII, XI ve XII kollajenler ise interstisyel bağ dokusu elemanlarıdır (Grant 2007).

Kollajen ilk kez 1940 yılında yara iyileştirici ve hemostatik ajan olarak kullanılmıştır. 1973 yılında Chvapil tarafından yapılan çalışmalarla tekrar gündeme gelmiştir. Kollajen ipliklerin yara iyileşmesi üzerindeki etkisi ile daha hızlı bir epitelizasyon sağlanabildiği gösterilmiştir (Chvapil ve ark 1973).

Kollajenin; membran, jel, sünger, toz ve sutur gibi çeşitli formları vardır (Chvapil ve ark 1973, Mitchell 1986, Keefe ve ark 1992, Omura ve ark 1997). Bu formları ile kollajen, yara ve yanıkların kapatılmasında, hemostatik ajan olarak ve kemik formasyonunu stimüle eden tendon greftlemede kullanılmaktadır (German ve ark 1972, Alexander ve Rabinowitz 1978, Güngörmüş ve Kaya 2002, Rastogi ve ark 2009).

Kollajen farklı şekillerde elde edilmektedir. Kollajenin eldesi dura mater veya fasya latadan dondurup kurutularak hazırlanabileceği gibi sığır veya domuz kaynaklı ksenojenik kollajen de kullanılabilmektedir (Mitchell 1986, Rastogi ve ark 2009). Liyofilize dura mater, insan kadavrasından elde edilerek antijenik ve pirojenik maddelerden arıtılması için bir dizi işlemden geçer. Daha sonra gamma ışınları ile steril edilerek saklanabilir. Dura mater kollajen liflerden zengin bir dokudur. Çift katlı fibröz yapısı vardır. Enfeksiyona karşı direnci yüksektir ve dokularca iyi tolere edilir. Doku reddi ve enflamasyona neden olmadan rezorbe olur (Busschop ve De Boever 1983, Güven 1998). Dura materin kalın ve sert olduğunun düşünülmesi üzerine kullanım kolaylığı açısından daha ince ve yumuşak olan fasya lata kollajen kaynağı olarak önerilmiştir (Silverstein ve ark 1992). Güven (1998) tarafından yapılan çalışmada, dura mater ve fasya lata karşılaştırılmış ve çalışma sonuçlarına göre dura materin dokuya adaptasyonunun daha iyi olduğu ve daha dayanıklı olduğu sonucuna varılmıştır. Bu doğal kollajen kaynaklarının en büyük dezavantajı, donörden insan bağışıklık yetmezlik virüsü (HIV) ve hepatit virüsü gibi virüs geçişleri görülmesidir. Uygun işlemler ile hazırlandığı takdirde bu riskin minimal olacağı belirtilmiştir (Zaner ve ark 1989). Fakat dondurma ve kurutma işlemine maruz bırakılmış bir dura mater kullanımından sonra Creutzfeld-Jacob hastalığı geliştiğini bildiren vaka raporları vardır (Miyashita ve ark 1991, Weber ve ark 1993).

Kollajen membranlar, uygun biyolojik özelliklerinden dolayı rezorbe olan bariyer membranlar içerisinde en çok tercih edilen materyallerdir. Bu özellikler şu şekilde sıralanmaktadır:

- Kollajen molekülleri gerilme ve sıkışmaya karşı dirençlidir.

- Biyouyumludur ve zayıf immünojeniktir.

- Düşük enfeksiyon ve doku nekrozu oranına sahiptir.

- Besin ve gazların difüzyonuna olanak sağlayan yarı geçirgen yapıdadır.

- Trombosit agregasyonu ile hemostatik etki gösterir.

- Fibroblastlar için kemotaktiktir.

- Hücrelerin adezyon ve migrasyonunu teşvik eder.

- Yara iyileşmesinde önemli role sahiptir.

- Ekspoze olma ihtimali düşüktür.

- Doku ile yer değiştirdiğinde doku hacminin artmasına katkıda bulunur.

- Uygulaması kolaydır (Mundell ve ark 1993, Wang ve MacNeil 1998, Bunyaratavej ve Wang 2001, Patino ve ark 2002, Rastogi ve ark 2009).

Tükürük enzimleri, mekanik travma, polimorfonükleer lökosit hücreler ve epitelyal hücrelerden salınan kollajenaz enzimi kollajen membranın rezorbsiyonunda etkilidir (Pitaru ve ark 1989, Beghé ve ark 1992, Palmieri 1992). Farklı kaynaktan elde edilen kollajen membranların farklı rezorbsiyon süreleri vardır (Kürkcü ve Görmez 2008). Kullanılacak olan membran seçilirken membranın yara bölgesinde kalması istenilen süre dikkat edilecek önemli etkenlerin başında gelmektedir (Hurzeler ve ark 1997, Buser ve ark 2000).

Diş hekimliğinde kollajen membranlar, kollajenin periodontal bağ dokuda bulunan temel komponent olmasından dolayı tercih edilmekte ve daha ziyade sentetik kollajen membranlar kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda bu materyalin kullanımının ataşman kazancı ve kök kapatmadaki başarılı sonuçları periodontolojide kabul edilebilir olmalarını sağlamıştır (Schlee ve ark 2012, Wang ve ark 2012).

Kollajen membran, diş hekimliğinde yönlendirilmiş doku rejenerasyonu ile periodontal ve kemik içi defektlerin onarımında (Yukna ve Yukna 1996, Shieh ve ark 1997, Burns ve ark 2000, Wang ve ark 2000, Wang ve Carroll 2000, Bunyaratavej ve Wang 2001), preprotetik cerrahide (Llambes ve ark 2007), çekim soketlerinin iyileşmesinde (Iasella ve ark 2003, Corinaldesi ve ark 2011), oroantral açıklıklarda (Mitchell ve Lamb 1983, Kinner ve Frenkel 1990), sinüs lifting (Becker ve ark 1992, Proussaefs ve ark 2003, Testori ve ark 2008, Choi ve ark 2009) ve implant cerrahisinde (Tawil ve Mawla 2001, Oh ve ark 2003) kullanılmaktadır.

Rezorbe Olan Sentetik Membranlar

Sentetik rezorbe olan polimerler, biyomateryal alanında başlıca yeniliklerden biridir. Bu polimerlerden polilaktik asit (PLA) ve poliglikolik asit (PGA) polimerlerinin, ortopedi ve maksillofasiyal cerrahi alanlarında yapılan deneysel çalışmalarda osteosentez üzerinde etkili oldukları bulunmuştur (Galgut ve ark 1991, Gottlow 1993, Schliephake ve ark 1994).

PLA ve PGA polimerleri, esas olarak rezorbe olan alifatik poliesterleridir. Bu malzemeler sünger, jel ve toz gibi formlarda uygulanabilir. Doğal kaynaklardan elde edilen materyallere göre en büyük avantajları, yapısal olarak kontrol altında tutulabilmeleridir. Aynı zamanda biyouyumludurlar, alerjik değillerdir ve herhangi bir enflamatuar cevaba sebep olmazlar (Serino ve ark 2003, Chhabra ve ark 2011).

PLA ve PGA polimerleri, düşük molekül ağırlığına sahip oldukları için daha hızlı absorbe olurlar ki bu süre minimum 3-4 ay, maksimum ise 6-8 aydır. Rezorbe olan sentetik membranlar, hidroliz yoluyla parçalanır ve Krebs döngüsünde rezorbe olduğu için son ürünleri karbondioksit ve su olmakla beraber iyi tolere edilirler (Gottlow ve ark 1986, Elgendy ve ark 1993, Gatti ve ark 1999).

Rezorbe olan sentetik polimerler, kemik rejenerasyonunu stimüle edici etkilerinden dolayı son yıllarda oral cerrahide sıklıkla kullanılmaktadır. Özellikle yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda, bir bariyer oluşturarak kemik formasyonuna izin verirler (Gottlow 1993, Hurzeler ve ark 1997. Chhabra ve ark 2011).

1.5. Yara Örtü Materyalleri

Uzun yıllardır yanıkların, açık yaraların ve cerrahi defektlerin kapatılmasında geçici ve daimi yara örtü materyalleri uygunlukları açısından araştırılmıştır. Çeşitli yara tipleri ve iyileşme fazlarının varlığı yara örtü materyallerinin farklı tiplerinin araştırılması gerekliliğini doğurmuş ve et ve bal (Rastogi ve ark 2009) kullanımı dahil gazlı bez (Stashak ve ark 2004), otogreft (Henriques ve ark 2011, Mahajan ve ark 2012), allogreft (Tal 1999, Hashemi ve ark 2012), ksenogreft (Bukovcan ve Koller 2010, Duteille ve Perrot 2012), amniyon membranı (Samandari ve ark 2004, Kothari ve ark 2012) ve çeşitli membranlar (Tinti ve Vincenzi 1994, Omura ve ark 1997) bu amaç için kullanılmıştır. Ayrıca iki veya daha fazla polimer tabakasından oluşan polimerik esaslı sentetik yara örtü materyalleri de geliştirilmiştir. İç tabaka yaraya tutunma özelliğine sahipken dış tabaka yarayı korumaktadır. Bu polimerler yüzeyel yaralar için uygundur ve geçici olarak kullanılan yara örtü materyalleridir (Balasubramani ve ark 2001). 1960'lı yıllarda yara örtü malzemelerinin iyileşme sürecinde minimal sayılabilecek bir etkinliğinin olduğuna inanılırken son yapılan araştırmalar, yara örtü malzemelerinin aktif rol oynamasının yara iyileşmesi için optimal bir ortam oluşturup bu ortamın devamlılığını sağlayarak iyileşme sürecine pozitif katkısı olduğunu göstermiştir (Abbenhaus ve ark 1965).

Sekonder iyileşmeye bırakılan yara yüzeyi postoperatif dönemde hastada kanama, ağrı ve hassasiyet gibi şikayetlere sebep olabilir. Açık bırakılan yaralar, enfeksiyona, kontraksiyona, skara ve diğer klinik komplikasyonlara daha fazla yatkındırlar. Yara örtü materyallerinin kullanımı ile bu problemler ortadan kaldırılabilir (May 1991, Rastogi ve ark 2009).

Yara örtü materyalleri uygulama şekillerine göre geçici ve daimi olmak üzere ikiye ayrılırlar. Geçici yara örtü materyalleri, belirli bir süre için yarayı mekanik travmalardan korur ve bakteriler için fiziksel bir bariyer oluştururlar. Ağrıyı azaltmak ve epitelizasyonu kolaylaştırmak için yüzeyel yaralarda tercih edilmektedirler (Sherian ve Tompkins 1999). Daimi yara örtü materyalleri ise iyileşme tamamlanana kadar yara bölgesini örterler. Otojen greftler ve kollajen esaslı materyaller daimi yara örtü materyallerine örnektir (Silver 1994, Balasubramani ve ark 2001, Lee ve ark 2001).

İdeal yara örtü materyalinin bazı özelliklere sahip olması gerekmektedir. Bunlar:

- Doku ile benzer mekanik özelliklerde ve biyouyumlu olmalıdır.

- İyileşme sürecinde etkin hücrelerin aktivasyon ve migrasyonunu sağlamalıdır.

- Yara bölgesini örterek hemostazı sağlamalıdır.

- İnflamasyonu azaltmalıdır.

- Epitelizasyonu yönlendirmelidir.

- Kontraksiyonu azaltmalıdır.

- Su ve elektrolit kaybını engellemeli ve oksijen geçişine izin vermelidir.

- Ağrıyı azaltmalıdır.

- Yara bölgesini örterek yarayı korumalıdır.

- Pansuman ihtiyacını azaltmalıdır.

- İyileşme süresini kısaltmalıdır (Ruszczak 2003, Yang ve ark 2003, Rinastiti ve ark 2006, Wang ve ark 2008, Rastogi ve ark 2009, Sirousazar ve ark 2011).

Yara örtü materyallerinin kullanımına bağlı olarak belirtilen en önemli komplikasyon enfeksiyondur. Özellikle oral kavitede bakteriyel kontaminasyonun fazla olmasından dolayı enfeksiyon riski oral mukozadaki yaralarda daha yüksektir (Sciubba ve ark 1978, May 1991).

Oral ve maksillofasiyal cerrahide; cerrahi operasyon sonrası oluşan defektlerin rekonstrüksiyonunda (Cortallini ve ark 1995, Crump ve ark 1996, Rastagi ve ark 2009), implant çevresinde oluşan defektlerin kapatılmasında (Fowler ve ark 2000, Speroni ve ark 2010), mukozal açıklıkların onarımında (Haim 1999, Narang ve Gupta 2011), metastatik çene hastalıkları ve osteoradyonekroz sonucu ekspoze olmuş maksillofasiyal kemik defektlerinin kapatılmasında (Chandarana ve ark 2012), vestibül derinleştirme gibi preprotetik operasyonlarda (Güler ve ark 1997, Bhola ve ark 2003), yarık dudak damak olgularında (Duskova ve ark 2006) ve oroantral fistül onarımında (Waldrop ve Semba 1993, Visscher ve ark 2010) otojen mukozal greftlerden kollajen membrana kadar birçok yara örtü materyali kullanılmaktadır.

Serbest deri ve mukoza greftleri, oral kavitedeki yaraların kapatılmasında kullanılan otojen greftlerdir. Özellikle tümör eksizyonu ve preprotetik cerrahi işlemlerinden sonra oluşan defektlerin kapatılmasında tercih edilirler (May 1991). Mukoza greftinin renk uyumunun mükemmel olması, tükürük bezleri içermesi dolayısıyla nemli olması ve kıl folikülü ve ter bezi içermemesi gibi birçok avantajı mevcuttur (Güven ve Keskin 2001). Son 20 yıllık süreçte vestibüloplasti uygulamalarında serbest dişeti grefti uygulamak rutin bir yaklaşım haline gelmiştir (Bhola ve ark 2003). Bu yaklaşım greft kaynağı olarak özellikle palatinal bölge olmak üzere donör saha gerektirir. Greftin alınması için ikinci bir cerrahi müdahale gerekliliği ve ikinci bir yara alanı oluşturulması önemli bir dezavantajdır (Sumi ve ark 1999). Ayrıca cerrahiye bağlı donör sahada sinir hasarı, periosteal nekroz ve

osteomiyelit gibi komplikasyonlarla karşılaşılabilir (Hashemi ve ark 2012). Büyük defektlerde palatinal bölgede yeterli doku olmayabilir ve kanama görülebilir (Herford ve ark 2010). Yine palatinal bölgeden greft alındığında iyileşme geç ve ağrılı olabilir (Güven ve Keskin 2001). Bukkal mukoza donör saha olarak tercih edilirse cerrahiye bağlı Stenson Kanalı zarar görebilir, skar gelişebilir ve ağız açıklığında azalma meydana gelebilir (Bhola ve ark 2003). Aşırı basınç altında mukozal greftlerde ülserleşme görülebilir (Güven ve Keskin 2001).

Deri greftleri yara örtü materyali olarak iyi bir alternatiftir (Kruger 1984). Fakat oral kaviteye uygulandığında bir takım problemler ortaya çıkabilir. Deri greftleri normal ağız epitelinden farklı renk ve yapıya sahiptir. Kıl ve yağ bezleri içerdiği için kötü tat ve koku gibi olumsuzluklar ile karşılaşılabilir (Hashemi ve ark 2012). Deri greftlerinin önemli dezavantajlarından biri de kuru olmalarıdır (Rastogi ve ark 2009). Avantajları ise kolayca revaskülarize olabilirler, büyük defektleri örtecek kadar elde edilebilirler ve dayanıklıdırlar (Güven ve Keskin 2001).

Alloderm aseptik olarak elde edilen insan derisidir. Ana komponenti kollajen ve elastik liflerdir. Greft reddine neden olabilecek hücre yapıları ve diğer faktörler deriden dondurma kurutma işlemi ile uzaklaştırılmıştır (Wei ve ark 2000). Yapılan çalışmalarda allodermin otojen bağ dokusuna ve absorbe olabilen bariyer membranlara alternatif olabileceği gösterilmiştir (Tal 1999). Son dönemlerde kök rezorbsiyonunda kök yüzeyini örtmek amacıyla tercih edilmektedir (Haim 1999). Aynı zamanda diş ve implant çevresindeki yapışık dişetini artırmak için de alloderm uygulanabilir (Fowler ve ark 2000). Cerrahi donör saha olmaması, kanamayı azaltması, sınırsız kullanım alanı, postoperatif komplikasyonların daha az olması ve iyi renk uyumu allodermin avantajları arasındadır (Hashemi ve ark 2012). Fakat allodermlerle ilgili uzun soluklu çalışmalar mevcut değildir. Pahalı olması, kaynağın az olması, değişkenlik, donörden hastalık taşıma riski ve immün red allodermin kullanımını sınırlar (Hansbrough ve ark 1997, Vuola ve Pipping 2002). Ayrıca standart bir sterilizasyon prosedürü yoktur ve bu durum materyalin biyomekanik özellikleri için bir sorun teşkil ederek başarı oranını düşürür (Krych ve ark 2008).

İnsan amniyon membranı, fetusun ektoderminden elde edilen biyolojik bir grefttir. Stromal bir matrikse, kalın bir kollajen tabakaya ve bir epitel tabaka ile bunun üzerine oturduğu bir bazal membrana sahiptir. Cilt epidermisine benzemektedir ve 1910 yılında ilk defa John Staige Davis insan amniyon zarını yara örtü materyali olarak kullanmıştır (Hillerup 1987, Guler ve ark 1997). Antiadeziv ve bakteriostatiktir. Örttüğü yarayı korur ve yaranın elektrolit, sıvı, enerji ve protein kaybını azaltır. Ayrıca ağrıyı minimalize eder, sekonder epitelizasyonu teşvik eder, immünojenitesi yoktur, komşu dokularda neovaskülarizasyonu uyarır ve kullanımı kolaydır (Raghoebar ve ark 1995, Ravishanker ve ark 2003, Samandari ve ark 2004, Atiyeh ve ark 2005, Baradaran-Rafii ve ark 2007, Stock ve ark 2007). Yapılan çalışmalar göstermektedir ki amniyon; kondroblast, osteoblast, miyosit, endotel ve nöronal hücrelere farklılaşan kök hücrelerinin kaynağıdır (Kjaergaard ve ark 2001, Int Anker ve ark 2004, Alviano ve ark 2007). İntraoral ve ekstraoral bölgede yara örtü malzemesi olarak ve özellikle vestibüloplastide kullanılmaktadır (Güler ve ark 1997). Donörlerin tüberküloz, bruselloz, karaciğer hastalığı, otoimmün hastalıklar, merkezi sinir sistemi hastalıkları ve multipl skleroz gibi hastalıkları taşımamaları gerekmektedir (Demirkan ve ark 2002, Anderson ve ark 2003, Chuck ve ark 2004, Muraine 2004). Çünkü amniyon zarı, normal doğum veya sezaryeni takiben alındığı için bakteri kontaminasyonu veya sfiliz, AIDS, hepatit B ve hepatit C gibi viral hastalık geçişi görülebilir (Adds ve ark 2001). Bu nedenle amniyon zarı, antibiyotikli solüsyonlarda yıkanır, liyofilizasyon işlemi gerçekleştirilir ve gamma ışınları ile steril edilerek yara örtü materyali olarak kullanılabilir hale getirilir. Buna ek olarak uzun süre gliserolde muhafaza edilebilir (Kim ve ark 2000, Gajiwala ve Gajiwala 2004). İnsan fibroblastik hücrelerde in vitro çoğaldığı bilinen insan sitomegalo virusün epitelyal insan amniyonunda da çoğaldığı bulunmuştur. Bu durum amniyonun biyolojik örtü materyali olarak kullanımında önemli bir dezavantajdır (Ravishanker ve ark 2003). Ayrıca klinik uygulamalarda amniyon zarı frajildir ve manipülasyonu zordur (Ramakrishnan ve Jayaraman 1997).

Rezorbe olan ve olmayan birçok membran da yara örtü malzemesi olarak kullanılmaktadır. ePTFE memranların yara örtü materyali olarak etkinliğinin incelendiği bir hayvan çalışmasında otojen deri grefti, allogreft ve ePTFE membran karşılaştırılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre ePTFE membran, minimal inflamatuar cevap ve yabancı cisim reaksiyonu göstermiştir. Membrana bağlı herhangi bir yan

etki belirtilmemiştir. Sonuçta ePTFE membranın yara örtü materyali olarak kullanılabilirliği desteklenmiştir (Tian ve ark 2009). Rastogi ve ark (2009) yaptıkları bir çalışmada ise benign ve malign lezyonların eksizyonları sonucu oluşan sekonder defektleri sığır kaynaklı kollajen membranlar ile kapatmışlardır. Enfeksiyon, yara kontraksiyonu, skar, ağrı, epitelizasyon gibi birçok parametre değerlendirilmiş ve kollajenin iyi bir yara örtü materyali olduğu sonucuna varılmıştır.

Son yıllarda yara iyileşmesini ve rejenerasyonu hızlandıran trombosit konsantrasyonları geliştirilmiştir. Trombosit konsantrasyonları içerikleri ve elde ediliş yöntemlerine göre trombositten zengin plazma (TZP) ve trombositten zengin fibrin (TZF) olarak iki sınıfa ayrılır (Dohan Ehrenfest ve ark 2009). TZP, yüksek konsantrasyonlarda trombosit ve büyüme faktörleri içeren otojen kan pıhtısıdır (Marx ve ark 1998). TZP, koagülasyonu önlemek için sitrat, fosfat, dekstroz gibi antikoagülanlar eklenerek hazırlanır (Carter ve ark 2003). Trombin ve kalsiyum klorür eklendiğinde jel formunda kullanılabilir. (Tözüm ve Demiralp 2003, Waselau ve ark 2008, Cervelli ve ark 2009). Trombosit konsantrasyonlarının ikincisi olan TZF, trombositlerin ve sitokinlerin fibrin ağı içerisinde yoğunlaştırılmasıyla elde edilir (Dohan ve ark 2006). TZF, TZP'den farklı olarak herhangi bir antikoagülan ya da sentetik madde eklenmeden elde edildiği için üretim süresi daha kısadır ve maliyeti daha düşüktür (Dohan Ehrenfest ve ark 2009). Trombosit konsantrasyonları, doku için nontoksik olduklarından güvenle kullanılabilirler (Schmitz ve Hollinger 2001). Trombosit konsantrasyonları hem doku kabuğu olarak, hem de güçlü mitojenik ve kemotaktik büyüme faktörlerinin kaynağı olarak yara iyileşmesinde önemli bir işlev görürler. Yumuşak ve sert dokunun daha hızlı bir şekilde iyileşmesini sağlarlar (Whitman ve ark 1997, Tözüm ve Demiralp 2003, Aroca ve ark 2009). Eppley ve ark (2004), kronik ülserlerin tedavisinde granülasyon dokusunun epitelizasyonunu hızlandırmak için otolog trombosit faktörlerin kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Yapılan çalışmalarda trombosit konsanttrasyonlarının, dişeti çekilmelerini örtme amaçlı çeşitli greft ve membranlarla kombine kullanılabileceği rapor edilmiştir (Petrungaro 2001, Cheung ve Griffin 2004, Vastardis ve ark 2004). Ayrıca periodontal defektlerin tedavisinde (Thorat ve ark 2011), sinüs lifting operasyonlarında (Lee ve ark 2007, Zhang ve ark 2012), soket augmentasyonlarında (Gürbüzer ve ark 2010) ve açık yara yüzeylerinin

örtülmesinde (Braccini ve ark 2007, Yen ve ark 2007, Cervelli ve ark 2009) kullanılmaktadırlar.

Klasik biyomateryal uygulamalarından farklı olarak dokunun oluşum ve rejenerasyon mekanizmalarını anlayarak fonksiyon görebilen dokuların elde edilmesini hedefleyen doku mühendisliği, son yıllarda önemli bir araştırma konusu haline gelmiş ve hasarlı dokuların restorasyonu açısından ümit verici gelişmeler ortaya çıkmıştır. Doku mühendisliği uygulamalarının temel elemanları; hedef dokuyu oluşturabilme potansiyeline sahip hücreler, bu hücrelerin fonksiyonlarını destekleyen veya yönlendiren büyüme faktörleri ve bu iki elemanın içinde yer aldığı oluşturulması hedeflenen dokunun üç boyutlu yapısını belirleyen doku iskeletidir (Heng ve ark 2004, Salgado ve ark 2004).

Doku mühendisliğinde, doku kondüksiyonu, doku indüksiyonu ve hücre nakli olmak üzere üç strateji kullanılmaktadır (Jin ve ark 2003, Scheller ve ark 2009). Doku kondüksiyonu, canlı hücreleri ya da biyolojik sinyalleri içermez. Dental implant uygulamaları ve yönlendirilmiş doku rejenerasyonu doku kondüksiyonuna örnek gösterilebilir (Kaigler ve Mooney 2001, Ricci ve Terracio 2011). Doku indüksiyonu uygulaması, hasarlı doku alanında, yapı iskeleti üzerine spesifik ekstrasellüler matriks moleküllerinin yerleştirilmesi ile olmaktadır. Domuzdan alınan diş minesi proteinlerinin, periodontal hasarlı bölgelerde yeni kemik oluşumu için kullanılması bu yaklaşıma örnektir (Heijl ve ark 1997, Tyagi ve Dhindsa 2009). Hücre naklinde; doku iskeleti, biyosinyal moleküller ve kök hücrelerden oluşan üç temel faktör vardır (Scheller ve ark 2009). Doku iskeleti, hücre üremesini yeni doku ve organları oluşturacak şekilde yönlendirmek ve gerekli mekanik desteği sağlamak için üç boyutlu olarak üretilir. Doku etrafındaki ortama benzer etkiler sağlamak için ise biyosinyaller kullanılır (Baum ve Mooney 2000). Doku iskeleti olarak kullanılacak biyomateryalin; gözenek yapısı ve boyutu ile yüzey ve mekanik özellikleri uygun olmalıdır (Riminucci ve Bianco 2003, Salgado ve ark 2004). Doku mühendisliği çalışmalarında; sentetik seramikler (trikalsiyumfosfat, hidroksiapatit), sentetik polimerler (polilaktikasit, poliglikolik asit, kaprolakton), inorganik sığır kemiği ve doğal polimerler (kollajen, kitosan, hyaluronik asit) doku iskeleti olarak kullanılmaktadır (Wiesmann ve ark 2004). Yüksek çoğalma ve farklılaşma

kapasitesine sahip kök hücreler, embriyonik kök hücreler ya da erişkinden elde edilmiş kök hücreler olabilir (Fortier 2005, Wang ve ark 2012). Embriyonik kök hücreler çok yüksek çoğalma ve farklılaşma kapasitesine sahiptirler. Erişkin kök hücreler belirli dokularda bulunur ve sınırlı sayıda hücre tipine dönüşme potansiyeline sahiptirler (Heng ve ark 2004, Ikada 2006).

Doku mühendisliğinin, diş hekimliğinde kemik (Chen ve ark 2005, Xu ve ark 2010), kıkırdak (Duraine ve ark 2011, Jin 2011), dental pulpa (Prescott ve ark 2008, Hacking ve Khademhosseini 2009) ve tükürük bezi (Sugito ve ark 2004) gibi oral kavitenin çeşitli dokularında çok geniş uygulama alanları bulunmaktadır. Oral mukoza defektlerinde diğer yara örtü materyallerine alternatif olarak başvurulan bir yöntemdir. Pena ve ark (2011), otojen oral mukozanın farelerdeki rejenerasyon kapasitesini ölçtükleri çalışmalarında bu yöntemin klinik olarak uygulanabilirliğini göstermişlerdir. Ueda ve ark (2001), dil kanseri nedeniyle ağız tabanı ve mandibulası segmental olarak rezeke edilmiş bir hastada doku mühendisliği rehberliğinde yaptıkları greftlemeden on gün sonra implant dayanakları etrafında ve ağız tabanında normal mukoza izlediklerini ve implantlar etrafında herhangi bir mukozal enflamasyon gözlenmediğini bildirmişlerdir. Yapılan başka çalışmalarda palatinal doku grefti alınmasından sonra doku mühendisliği ile hazırlanan greftler donör bölgeye yerleştirilmiştir. Böylece donör bölge rahatsızlıkları azaltılarak hasta konforu arttırılmıştır (Raghoebar ve ark 1995, Lauer ve Schimming 2001). Diş hekimliğinde, doku mühendisliği ile elde edilmiş dokuların uygulamaları giderek önem kazanmakla birlikte bir çok tipte hücreyi gerektiren kompleks doku defektlerinin tedavisi üzerine daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç vardır (Tyagi ve Dhindsa 2009).

1.6. Devekuşu Yumurta Kabuk Zarı

Yumurta kabuğu, kalsifiye olmayan bir yumurta kabuğu zarı ve bu zarı çevreleyen kalsifiye bir kabuk matriksinden oluşmaktadır (Hincke ve ark 2000).

Kalsifiye yumurta kabuğu boyunca mükemmel bir polikristal yapının varlığı Von Nathusius tarafından yapılan araştırmalar ile gündeme gelmiş ve Tyler (1964) bu çalışmaların sonuçlarını, yeni yorumlar da ekleyerek yayınlamıştır (Arias ve ark 1993, Panheleux ve ark 1999).

Yumurta kabuğu, kalsiyum karbonat (% 94), magnezyum karbonat (% 1), kalsiyum fosfat (% 1) ile organik materyallerden (% 4) oluşmaktadır (Stadelman 2000, Tsai ve ark 2006). Yumurta kabuğu, kabuk membranı, kabuk matriksi ve kütiküla olmak üzere üç ayrı organik komponent içermektedir (Arias ve ark 1993). Bu komponentleri altı tabaka meydana getirir ki bunlar dıştan içe doğru; kütiküla, vertikal kristal tabaka, süngerimsi (palisad) tabaka, mamillar tabaka, dış kabuk zarı ve iç kabuk zarıdır. Bu tabakaların tipi, sayısı ve kalınlığı çeşitlilik göstermektedir (Tullett 1987, Richards ve ark 2000, Stadelman 2000).

Kabukta dikine yerleşmiş kristal tabakası halindeki süngerimsi dış katman ve içte yer alan meme başı benzeri uçlardan oluşan mamillar katman, kalsit kristallerine bağlı protein liflerinin bir birleşimidirler. Kristaller, az miktarda magnezyum içeren kalsiyum karbonattan oluşmaktadır. Bu katmanlarda çok sayıda por bulunur ve bu porlar gaz geçişine izin verirler (Tsai ve ark 2006). Mamillar katman dış kabuk zarı ile temas halindedir ve mamillar uçların kabuk zarı üzerinde yoğun biçimdeki dağılımları kabuğun sertleşmesini sağlar. Yumurta kabuğu ve dış kabuk membranı arasındaki bu ilişki kabuk dayanıklılığının göstergesidir (Richards ve ark 2000). Kabuğun en dış yüzeyi olan kütiküla tabakası, organik bir tabakadır ve hidroksiapatit kristallerinin ince bir filmini ve yüzeyel kabuk pigmentlerini içerir (Nys ve ark 1991, Arias ve ark 1993). Kalınlığı 0,5-12,8 µm arasındadır (Haines ve Moran 1940). Kütiküla tabakasının iki görevi vardır. Bunlardan birincisi, su kaybını ve gaz değişimini kontrol etmektir. İkinci görevi ise mikrobiyal invazyona karşı koruyucu bir bariyer rolü oynamasıdır (Peebles ve ark 1987, Stadelman 2000, Richards ve ark 2002).

Devekuşu yumurta kabuğunun özellikleri diğer kuşların yumurta kabukları ile benzer olmakla birlikte taksonomik farklılıkları yansıtan varyasyonları vardır (Panheleux ve ark 1999). Bir tavuk yumurta kabuğu ve devekuşu yumurta kabuğu arasında en belirgin fark boyutlarıdır. Tavuk yumurta kabuğu kalınlığı ortalama 0,3-0,4 mm, devekuşu yumurta kabuğu ise ortalama 2,5 mm'dir. Her ikisi de kalsitik biyominerallerdir ve çekirdekten noksandırlar (Richards ve ark 2002). Birçok araştırmacı devekuşu yumurta kabuğunda diğer kuş yumurtalarının aksine kütiküla tabakasının olmadığını belirtmişlerdir (Deeming 1995, Sparks ve Deeming 1996). Devekuşlarının yüksek orandaki embriyo ölümleri bu tabakanın olmaması ile açıklanmıştır (Huchzermeyer 1996). Devekuşu yumurta kabuğu üzerinde yapılan araştırmalarda en dikkat çekici unsur mamillar, süngerimsi ve vertikal kristal tabakalardaki kalsifiye komponentlerin konsantrasyonudur. Kalitatif gözlemler sonucu devekuşu yumurta kabuğunun süngerimsi tabakasının, tavuk ve diğer kuş türlerinin yumurta kabuklarına göre daha az poröz olduğu ileri sürülmüştür. Bu nedenle tavuklara ait daha poröz yumurta kabuklarının, daha az poröz kabuklar ile karşılaştırıldığında yüksek kırılganlık indeksi ve dolayısıyla düşük dayanıklılığa sahip oldukları görülür (Sparks ve Deeming 1996). Devekuşu yumurta kabuğu kalınlığı, dayanıklılığı ve kurvatürü göz önüne alınarak yüz rekonstruktif cerrahi alanında hayvan çalışmaları yapılarak araştırılmış ve umut verici sonuçlar elde edilmiştir (Dupoirieux 1999, Dupoirieux ve ark 2001).

Yumurtanın formasyonunda ve kanatlı embriyosunun gelişmesinde kilit role sahip yumurta kabuk zarları, kabuk altında yerleşmiş durumdadır ve yumurta akını çepeçevre kuşatırlar (Yi ve ark 2003). Nükleer DNA içermeyen bir membrandır (Yang ve ark 2003). Biri kalın ve dışta yer alan, diğeri ince ve içte bulunan iki zardan oluşmaktadır (Parsons 1982, Carrino ve ark 1996, Nakano ve ark 2003). Tavuklarda bu iki zarın toplam kalınlığı yaklaşık 100 mikrometredir (Suyama ve ark 1994). Yumurta kabuk zarı, yüksek düzeyde kollajenize fibröz bir zardır. Stromal hücrelerin yumurta kabuk zarının dış yüzüne afinitesi zarın biyouyumluluğunun bir göstergesidir (Tavassoli 1983). Zar aynı zamanda düşük antijeniktir. Kuru haliyle kırılgandır ve yüzeyi düz değildir (Yi ve ark 2006).

Zarın katmanlı yapısı, ipliksel bir protein ağından meydana gelir. İpliksel formdaki zar proteinleri, zara yarı geçirgen özellik sağlayacak biçimde tertiplenmiştir. Küçük moleküller için seçici geçirgen olan zar, glukoz gibi büyük moleküller için geçirgen değildir. Aynı zamanda bu ipliksel yapı ile kabuk zarı biyomateryal olarak kullanıldığında, stromal hücrelerin tutunabilecekleri ve çoğalabilecekleri geniş bir yüzey oluşturur (Tavassoli 1983, Tsai ve ark 2006, Tang ve ark 2009).

Yumurta kabuğu zarında temel organik maddeler; kollajen, keratin, elastin, osteopontin ve sialoprotein gibi çapraz bağlı proteinlerdir. Zarın kuru ağırlığının %88-96'sı proteinden meydana gelir. Ayrıca zarda % 16 oranında nitrojen, % 2 oranında sakkarid ve % 1,4 oranında da lipid bulunmaktadır (Nakano ve ark 2001, Ino ve ark 2006, Yi ve ark 2006). Dermatan sülfat ve kondroitin sülfat gibi glikozaminoglikanları ve sülfatlı glikoproteinleri de içermektedir (Baker ve Balch 1962, Picard ve ark 1973). Diğer bileşenler; hyaluronik asit (Long ve ark 2005), sialik asit (Nakano ve ark 2003), dezmozin ve izodezmozin (Starcher ve King 1980), ovotransferrin (Gautron ve ark 2001), lizil oksidaz (Akagawa ve ark 1999), lizozim (Hincke ve ark 2000) ve β-N-asetilglukozaminidazdır (Ahlborn ve ark 2006).

Yumurta kabuğu zarı, kalsiyum karbonat minerallerinden oluşan kabuğun aksine daha düşük yoğunluktadır ve membrandan üretilen organik matriks, inorganik mineraller kadar rijit değildir (Dean 1987, Tullett 1987). Bu, por kanallarının yapısından dolayı kabuk partiküllerinde daha fazla makropor yapı şekillenmesiyle sonuçlanır. Bu nedenle de yumurta kabuğu porözitesinin, kabuk zarının porözitesinden daha büyük olduğu tahmin edilmektedir (Poland ve Sheldan 2001).

Diğer dokularda olduğu gibi lifli biyopolimerler, yumurta kabuğu zarı için de yapısal elementlerdir. Kollajen birçok biyolojik sistemde bulunan bir biyopolimerdir. Kabuk zarı Tip I, Tip V ve Tip X kollajen olmak üzere üç tip kollajen içerir (Arias ve ark 1992). Dış zar, mukopolisakkarit ve keratan sülfat içeren nükleasyon merkezleri çevresinde oluşan kalsifikasyon ile baskın biçimde Tip I kollajen içerirken, iç zar Tip I ve V kollajenleri içerir. Ek olarak immüno-histokimyasal yöntemlerle her iki zarda da Tip X kollajenin bulunduğu gösterilmiştir. Tip X kollajen, yumurta akı ve sarısının mineralize olmasına engel olan bir mineralizasyon inhibitörü olarak işlev

görür (Robinson ve King 1968, Arias ve ark 1993, Carrino ve ark 1996, Arias ve ark 1997). Kabuk zarında kollajen bulunması, potansiyel kullanım alanları bakımından çok önemlidir. Sığır kollajeni ve bir dereceye kadar da insan kollajeni kullanımı, özellikle biyomedikal alanda gittikçe önemli yer bulmaktadır. Aynı zamanda, kollajenden deri ve diğer dokuların kayıplarında kullanılabilecek ürünlerin geliştirilmesi için yoğun olarak çalışılmaktadır. Sığır kollajeniyle ilgili otoimmün ve alerjik reaksiyonların ortaya çıkma ihtimali vardır. Alternatif olarak yumurta kabuk zarlarının bu amaçlarla değerlendirilmesi, doğal, ucuz ve kolay elde edilebilir bir kaynak olması bakımından da önemlidir (Jia ve ark 2011).

Yumurta kabuğu zarının dezavantajları; nispeten düşük şeffaflık, esneklik ve dayanıklılıktır. Düşük şeffaflık yaranın moniterize edilmesini engeller. Düşük esneklik ve dayanıklılık kullanımını sınırlar. Yumurta kabuğu zarının yüzeyi düz değildir. Ayrıca tavuk yumurta kabuk zarının boyutu sınırlıdır ki bu dezavantaj devekuşu yumurta kabuk zarlarının kullanımı ile elimine edilmiştir (Yang ve ark 2003, Yi ve ark 2006).

Yumurta başına daha geniş yüzey alanına ve daha fazla kalınlığa sahip materyal elde edilebilmesi yanında mekanik direncinin de daha yüksek olması nedeniyle devekuşu yumurta kabuk zarı daha uygun bir yara örtü materyali olabilir (Yang ve ark 2003). Tavuk yumurta kabuk zarları gibi devekuşu yumurta kabuk zarları da büyük oranda kollajen ipliklerden oluşur. Richards ve ark (2000), devekuşu yumurta dış kabuk zarının çok sayıda ipliksel protein katmanlarından oluşan bir materyal olduğunu bildirmişlerdir. Tavuk yumurta kabuk zarı mikroorganizma penetrasyonunda kısmen etkilidir (Haigh ve Betts 1991). Devekuşu yumurta kabuk zarı lifleri ise mikrobiyal penetrasyona karşı oldukça etkili bir bariyer olarak rol oynarlar. Membran matriksinin alt kısımlarına yakın bölgelerde bakteri sayısında artış ve lif yapısı ile bakteri hücre duvarı arasındaki süreklilik, bakterilerin etkili bir şekilde tutulduğunu göstermektedir (Richards ve ark 2002). İç kulak ve üreme sistemindeki mukopolisakkarit yapı ile bakteri etkileşimi de bu sürekliliğe benzemektedir (DeSouza ve ark 1999, Bernstein ve Reddy 2000).

Bakteri penetrasyonuna karşı etkili bir bariyer olmasının yanı sıra kalsifiye kabuk ile yumurta albümini arasında bulunan yumurta kabuğu zarının, yumurtanın

formasyonunda ve albuminin korunmasında da biyolojik etkisi söz konusudur (Nakano ve ark 2003). Bu özelliklerine bağlı olarak hem iç hem de dış yumurta kabuk zarı, yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda membran olarak ve yara iyileşmesine katkı sağlamak için biyolojik yara örtü materyali olarak kullanılmaktadır.

İlk defa Maeda ve Sasaki tarafından (1982) klinik çalışmalarda kullanılan zar, reepitelizasyon sağlamıştır. 1995 yılında hayvanlarda yapılan bir çalışma ile yumurta kabuk zarının yara kapatılmasında kullanılabileceği doğrulanmıştır (Chuang ve Yang 1995). Yang ve ark (2003), yaptıkları bir çalışmada yanık tedavisi için alınan deri greftini takiben donör saha kapatılmasında yumurta kabuk zarını kullanmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre zarın, donör alandaki epitelizasyonu teşvik ettiği ve subjektif ağrı hissini azalttığı belirtilmiştir. Durmuş ve ark (2003), devekuşu yumurta kabuk zarını kabuk tozuyla birlikte kraniyal kemik defektlerinde greft olarak kullanmışlardır. Araştırmacılar zarın biyouyumluluğunun oldukça iyi olduğunu ve defekt sahasında doku reddi reaksiyonu gelişmediğini bildirmişlerdir. Zadik (2007), yumurta kabuk zarı kullanılarak dudak yırtığı yarasında iyileşme sağlanan bir vaka rapor etmiştir. Ayrıca zarın kollajen, glikozamin, kondroitin ve hyaluronik asit kombinasyonunu içeren doğal bir kaynak olması sebebi ile zar tozlarından oluşan kapsüllerin son yıllarda eklem ve doku hastalıklarının tedavisindeki etkinliği araştırılmaktadır (Ruff ve ark 2009, Benson ve ark 2012).

Yumurta kabuk zarı; hücre kültürü için substrat, enzim immobilizasyonu için platform ve ağır metal ürünlerinin adsorbsiyonu için matriks olarak da kullanılmaktadır (Tavassoli 1983, Choi ve ark 2001, Ishikawa ve ark 2002).

Oral ve maksillofasiyal cerrahide temel hedef, kaybedilen dokunun fonksiyonel ve estetik bakımdan yeniden kazandırılmasıdır. Bu hedefe ulaşmak birçok bilimadamı ve klinisyen için önemli bir amaç oluşturmaktadır. Bu amaç doğrultusunda yönlendirilmiş doku rejenerasyonu rehberliğinde istenilen dokuların rejenerasyonuna izin veren birçok yara örtü materyali geliştirilmiştir. Materyallerin hemostazı sağlaması, ağrı ve inflamasyonu azaltması, epitelizasyonu yönlendirmesi, kontraksiyonu azaltması ve iyileşme süresini kısaltması gibi özelliklerinin olması

istenmektedir (Yang ve ark 2003, Pei ve ark 2008, Wang ve ark 2008, Rastogi ve ark 2009).

Otojen deri ve mukoza greftleri, alloderm, amniyon membranı, ePTFE ve kollajen gibi çeşitli membranlar, uzun yıllardır araştırmacılar tarafından defekt alanını örtmek ve yara iyileşmesine katkı sağlamak üzere geliştirilen ve uygulanan materyallerdir. Kollajen membran, biyouyumlu olması, hemostatik ve kemotaktik etkisi, düşük enfeksiyon oranı göstermesi ve kollajenin bağ dokusunda biyolojik olarak yüksek oranda bulunması gibi özellikleri nedeniyle yara örtü materyalleri içerisinde yaygın kullanım alanına sahip bir biyomateryaldir (Patino ve ark 2002, Rastogi ve ark 2009).

Devekuşu yumurta kabuk zarı, biyouyumludur ve düşük antijenik özelliğe sahiptir. Yüksek oranda kollajen içeriği ile mukoza defektlerinin kapatılmasında bu materyallere alternatif olabilir. Ayrıca yumurta kabuğu zarı gıda sanayi atık ürünü olarak bol miktarda mevcuttur. Diğer materyallerin yurtdışından temin edildiği göz önünde bulundurulursa, yumurta kabuğu zarı kolay temin edilebilir ve ucuz olması açısından önemlidir (Tavassoli 1983, Yi ve ark 2006).

Bu çalışmada, devekuşu yumurta kabuğu zarının farklı işlemlere maruz bırakılan formlarının, deneysel olarak oluşturulan oral mukoza yaralarının iyileşmesi üzerindeki etkilerinin, klinik, histolojik ve histomorfometrik yöntemlerle araştırılması, kollajen membran ile karşılaştırılması ve elde edilen verilerle, materyallerin biyouyumlulukları, biyobozunum süreçleri ve yara iyileşmesi üzerindeki olumlu veya olumsuz etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Deney Hayvanları ve Deney Grupları

Bu çalışma için Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 6 Nisan 2010 tarihinde 2010-036 karar sayısı ile onay alındı (EK-A).

Bu deneysel çalışmada beş aylık, erkek ve ağırlıkları 2,8 ile 3,4 kg arasında değişen (ortalama ağırlık; 3,1 kg ± 0,12) 45 adet beyaz Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Çalışmada kullanılan hayvanlar Veteriner Hekim tarafından kontrol edildi ve genel sağlık durumlarının normal olduğuna dair onay alındı. Tavşanlar üç farklı yara örtü materyali uygulanacak ve üç farklı zamanda değerlendirilecek şekilde gruplara ayrıldı. Hayvanlar, her bir grupta beş hayvan olacak şekilde rastgele seçildi.

Uygulanan yara örtü materyaline göre gruplar:

1. Kontrol Grubu: 15 tavşanda oluşturulan yaralar, kollajen membran ile kapatıldı.

2. I. Deney Grubu: 15 tavşanda oluşturulan yaralar, glutaraldehidle muamele edilip otoklav yardımıyla steril edilen devekuşu yumurta kabuk zarı parçaları ile kapatıldı.

3. II. Deney Grubu: 15 tavşanda oluşturulan yaralar, tripsinle muamele edilip etilen oksit ile sterilizasyonu gerçekleştirilen devekuşu yumurta kabuk zarı parçaları ile kapatıldı.

Bu üç farklı yara örtü materyali uygulanan ve on beşer tavşandan oluşan gruplar, 7., 14. ve 21.günlerde alınan örnekler ile kendi içlerinde üçer gruba ayrıldılar (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Deney grupları ve gruplardaki tavşan sayılarının dağılımı.

Gruplar	Yara Örtü Materyali	Dönemler ve Hayvan Sayıları		
		7. gün	14. gün	21. gün
Kontrol	Ticari kollajen membran	5	5	5
I.Deney	Glutaraldehid ile muamele edilip otoklavda sterilize edilen devekuşu yumurta kabuk zarı	5	5	5
II.Deney	Tripsin ile muamele edilip etilen oksitle sterilize edilen devekuşu yumurta kabuk zarı	5	5	5

2.2. Yara Örtü Materyallerinin Elde Edilmesi ve Hazırlanması

Ticari bir işletmeden temin edilen taze devekuşu yumurtaları önce steril serum fizyolojik ile yıkanıp kurutuldu. Steril kabinette açılan yumurtaların ak ve sarıları boşaltıldı ve kabuk altı iç zarları dikkatlice ayrıldı. Steril serum fizyolojikle yıkanarak eşit parçalara bölündü.

Zar parçalarının bir kısmı % 2,5'lik glutaraldehitte 48 saat süreyle bekletildi. Tekrar steril serum fizyolojikle üç kez yıkanan zar parçaları, son yıkamayı takiben etüvde kurutuldu ve otoklavda sterilize edildi (Resim 2.1).

Diğer kabuk zarı parçaları ise tripsinin sudaki çözeltisinde (10 ml, 2500 U/mL) 37ºC'de bir gece tüp çalkayıcıda çalkalanarak inkübe edildi. Takiben distile suda yıkanan zarlar, 50ºC'lik etüvde bir gece kurutuldu. Bu zar parçalarının sterilizasyonu etilen oksitle gerçekleştirildi (Resim 2.2).



Resim 2.1. Glutaraldehidle muamele edilip otoklavda sterilize edilerek hazırlanan yara örtü materyali.



Resim 2.2. Tripsinle muamele edilip etilen oksitle sterilize edilerek hazırlanan yara örtü materyali.

Pozitif kontrol grubunda tip I kollajen içeren ve sığır aşil tendonu kaynaklı bir kollajen membran (FormaAid ®) materyali kullanıldı (Resim 2.3).



Resim 2.3. Ticari kollajen membran.

2.3. Cerrahi Yöntem

Deney hayvanlarında, kas içine yapılan 35 mg/kg ketamin (Ketalar, Eczacıbaşı) ve 5 mg/kg xylazin (Rompun, Bayer) enjeksiyonu ile genel anestezi sağlandı. Ayrıca cerrahi alana % 2 lidokain (Jetokain; Lidokain HCl 20mg/ml ve Epinefrin HCl 0,0125 mg/ml) lokal anestezi amaçlı enjekte edildi.

Hayvanların ağızları antiseptik (Isosol Gargara) bir ağız gargarası ile yıkandı. Tavşanların damak bölgelerinde punch biyopsi aparatıyla 4 mm çaplı deneysel yaralar oluşturuldu (Resim 2.4). Yara kenarları periost elevatörü yardımıyla diseke edildi.



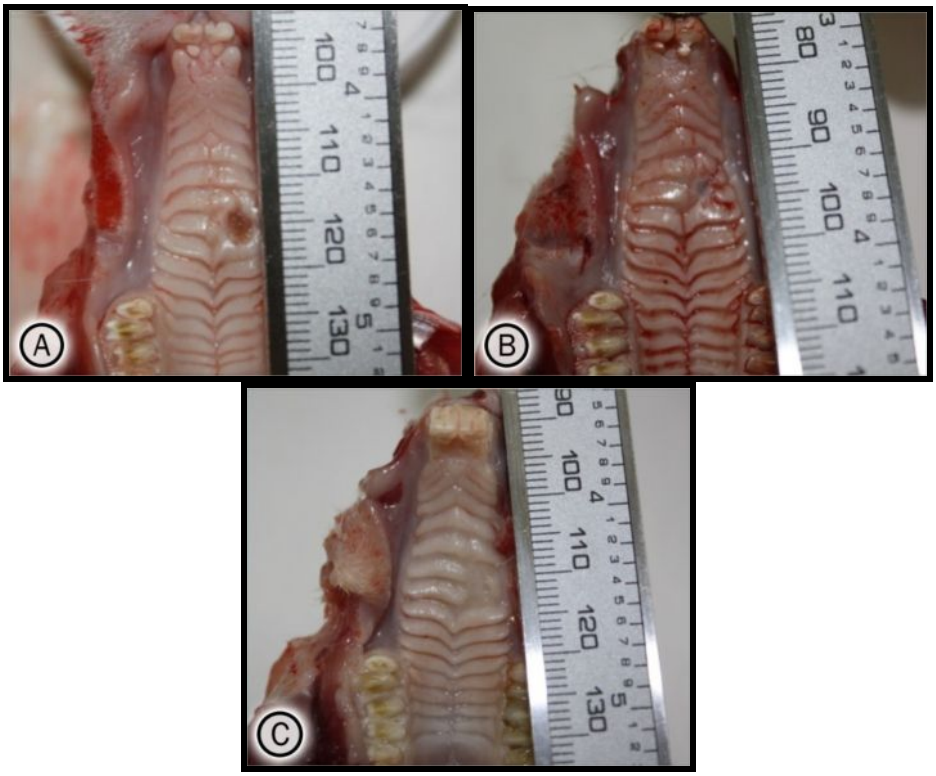
Resim 2.4. Punch yardımıyla 4 mm çapta oluşturulan yara bölgesi.

Yara örtü materyalleri diseke edilen mukozanın altına uzanacak şekilde yerleştirildi. Böylece yara yüzeyini tamamen örtmesi sağlandı. 4-0 vikril sutur (Laktosorb, Orhan Boz) ile mukozadan mukozaya çapraz iki adet dikiş atılarak yara örtü materyalinin fiksasyonu sağlandı. Kanama kontrolü yapıldı.

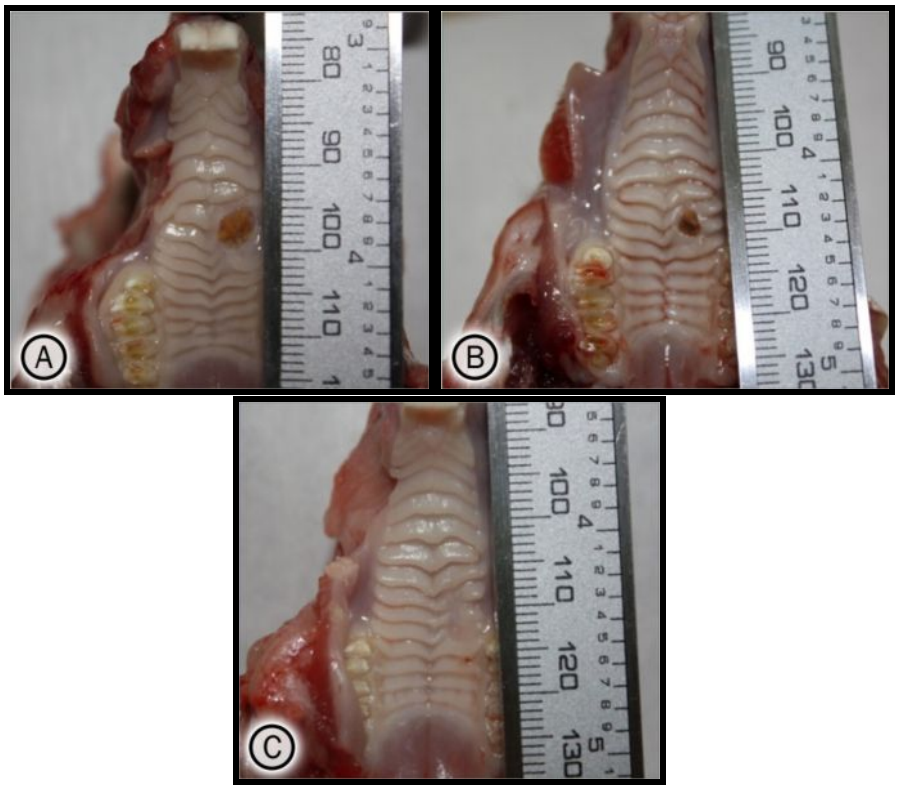
Hayvanlar operasyondan sonra her biri ayrı kafeslere alınarak veteriner hekim gözetimi altında tutuldu. Antibiyotik olarak 5 gün boyunca günde 2 defa olmak üzere penisilin G (Iecilline 400,000 IU/kg, İ.E. ULAGAY) ve analjezik olarak da 1 mg/kg tramadol (Contromal® 100 mg ampul, Abdi Ibrahim) kas içi enjeksiyonla yapıldı. Tavşanlara ilk 3 gün damar yolu ile % 5'lik dextroz (100mg/kg) verildi. Yedinci güne kadar yumuşak diyet ve su ile sonrasında ise standart tavşan yemi ve su ile beslenmeleri sağlandı.

Her bir gruptaki beşer tavşan 7., 14. ve 21. günlerde histolojik olarak değerlendirilmek üzere yüksek dozda anestezi verilerek sakrifiye edildi. Yara oluşturulan bölgelerden mukozanın tüm katmanlarını kapsayan doku örnekleri alındı.

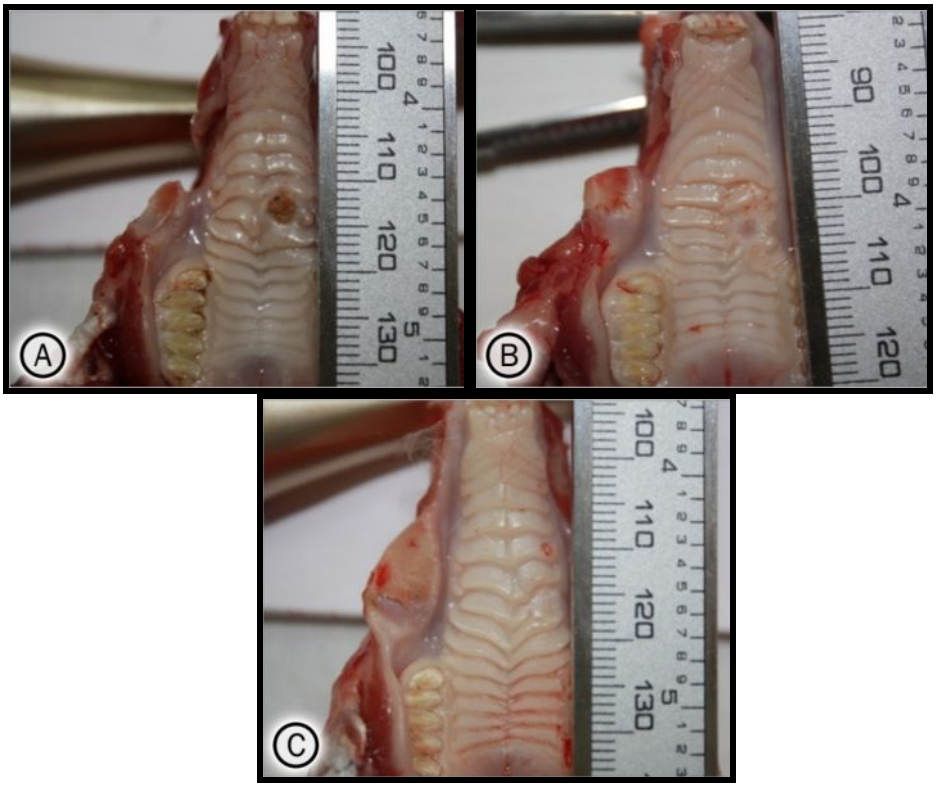
Hayvanlar sakrifiye edildikten sonra, dijital fotoğraf makinesiyle (Canon 450D) yara bölgelerinin dijital fotoğrafları çekildi (Resim 2.5, Resim 2.6, Resim 2.7).



Resim 2.5. Kontrol grubunda 7. günde (A),14. günde (B) ve 21. günde (C) yara bölgesinin makroskobik görünümü.



Resim 2.6. I. Deney grubunda 7. günde (A),14. günde (B) ve 21. günde (C) yara bölgesinin makroskobik görünümü.



Resim 2.7. II. Deney grubunda 7.günde (A),14. günde (B) ve 21. günde (C) yara bölgesinin makroskobik görünümü.

2.4. Doku Örneklerinin Histolojik Yöntemlerle İşlenmesi

Doku örnekleri tamponlu formal salinde bir gece tespitten sonra akar suda yıkandı, dehidrasyon ve parlatmadan sonra parafinde bloklandı. Her bloktan 4 adet ve 6 μm kalınlığında kesit alınarak aşağıdaki boyama işlemleri uygulandı:

1. Genel yapının, doku iyileşme olaylarının ve epitelizasyonun belirlenmesi için Crossman'ın üçlü boyası,

2. Hematoksilen eozin boyası,

3. Retiküler ipliklerin boyanması için Gordon ve Sweet'in retiküler iplik boyası,

4. Sahadaki elastik iplik yapım olayının tespiti için Verhoeff'un elastik iplik boyası.

2.5. Histolojik ve Histomorfometrik Analizler

Kesitlerde;

1. Yerleştirilen materyalin integrasyonu
2. Yerleştirilen materyalin rezorpsiyonu ve doku reddi reaksiyonunun gelişip gelişmediği
3. Retiküler ipliklerin bazal membrandaki devamlılığı
4. Elastik ve kollajen iplik oranları
5. Epitel ve keratin kalınlıkları belirlendi.

Hazırlanan preparatlar, ışık mikroskobuyla (Nikon Eclipse E 400, Nikon Corporation, Chiyoda-ku, Japan) equipped with a digital camera (DS Camera Head DS-5M, DS Camera control unit DS-L1) incelenerek gerekli görülen bölgelerin dijital görüntüleri kaydedildi. Epitel ve keratin kalınlıkları, kaydedilen görüntülerden İMAGE J görüntü analiz programı yardımıyla belirlendi. Kollajen ve elastik iplik oranları ise kaydedilen dijital görüntülerden kollajen veya elastik ipliklerin kapladıkları alanların tüm doku alanına oranı (%) ile ifade edildi ve veriler dijital

görüntü analiz programıyla (BS 200 PRO, Engineering, Medical Industry and Trade, Ankara, Turkey) analiz edildi.

2.6. Yara Sahasının Dijital Görüntülerinin İncelenmesi

Kaydedilen dijital fotoğraflar, İMAGE J görüntü analiz programıyla analiz edilerek yara bölgesinin alanı belirlendi. Elde edilen verilerden yara kapanma oranı; başlangıçtaki yara alanı ile operasyondan sonraki dönemde ölçülen yara alanı farkının, başlangıç yara alanına oranıyla hesaplandı ve sonuçlar yüzde (%) olarak ifade edildi.

2.7. İstatistiksel Analizler

Elde edilen sayısal veriler, istatistiksel analiz için Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 15 paket programı kullanılarak değerlendirildi. Verilere yapılan ön testler sonunda parametrik ya da parametrik olmayan hangi testlerin uygulanacağı belirlendi. Gruplar arasındaki farklar ve bu farkların hangi gruptan kaynaklandığının analizi One-Way ANOVA (varyans analizi) ve Kruskal Wallis testi ile incelendi. İki bağımsız örneklem için Mann Whitney-U testi kullanıldı. Gruplararası karşılaştırmada $p<0,05$ ve daha düşük değerler önemli olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Klinik Bulgular

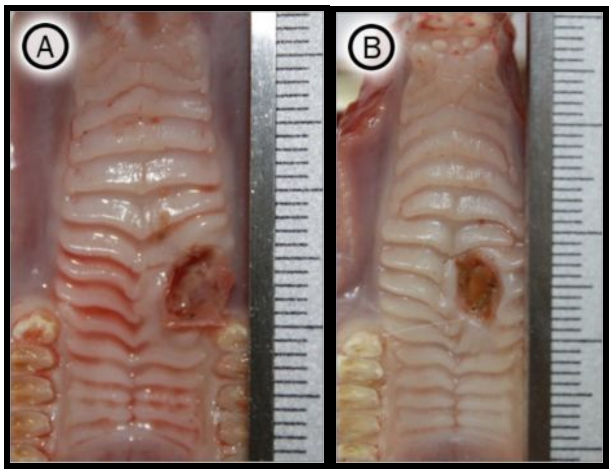
II. Deney grubunda 21. günde sakrifikasyonu planlanan bir hayvan ameliyattan sonra anesteziye bağlı olarak kaybedildi. Çalışmaya bu grupta dört, diğer gruplarda beş tavşan olacak şekilde devam edildi (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Çalışma sonunda değerlendirilen tavşan sayılarının dağılımı.

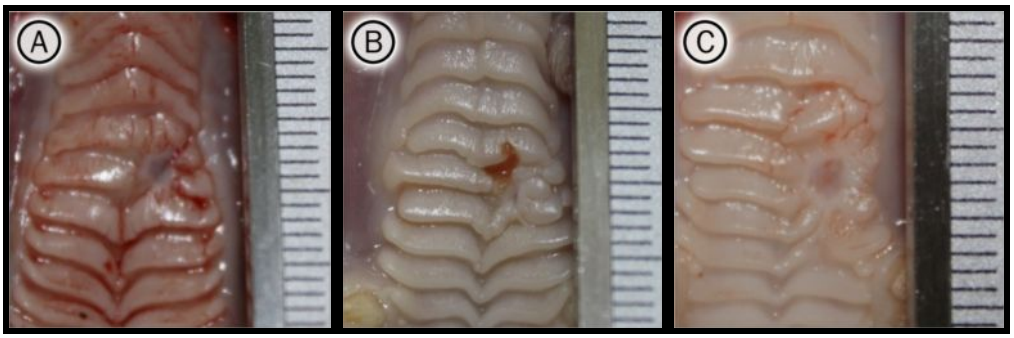
GRUPLAR	7. günde sakrifiye edilen	14. günde sakrifiye edilen	21. günde sakrifiye edilen
Kontrol Grubu	5	5	5
I. Deney Grubu	5	5	5
II. Deney Grubu	5	5	4

Operasyon sırasında farklı işlemler uygulanmış devekuşu yumurta kabuk zarlarının, kollajen membrana kıyasla bölgeye uygulanabilirliğinin daha kolay ve adaptasyonunun daha iyi olduğu görüldü. Fakat deney gruplarında kontrol grubuna göre daha çok fiksasyon problemi ile karşılaşıldı. Operasyon sırasında grupların hiçbirinde herhangi bir komplikasyon oluşmadı. Operasyon sonrası iyileşme süresi boyunca yine hiçbir grupta pü drenajı ve kızarıklık gibi enfeksiyon bulguları gözlenmedi. Materyale karşı olumsuz bir reaksiyon gelişmedi.

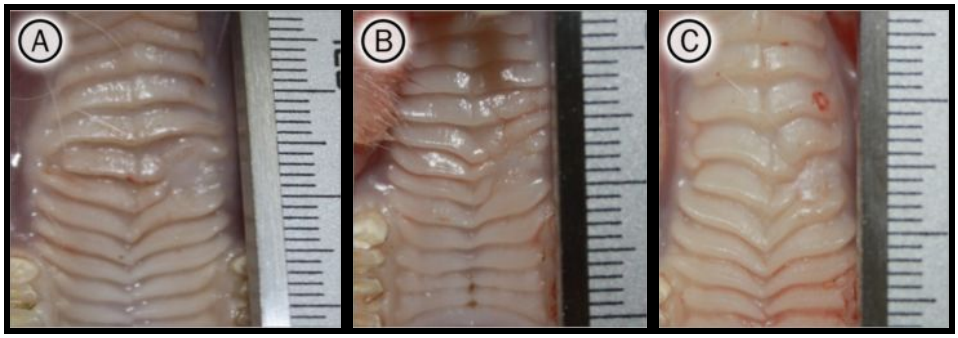
Yara kapanma oranları değerlendirildiğinde 7. günde kontrol ve II. deney gruplarında birer tavşanda yara alanlarının, başlangıçta oluşturulan 4 mm çaptaki yara alanlarına göre genişlediği görüldü (Resim 3.1). 14. günde kontrol ve deney gruplarında yaralar büyük oranda iyileşme gösterirken, 21. günde kontrol grubundaki bir tavşan hariç yaraların tamamen kapandığı gözlendi (Resim 3.2, Resim 3.3).



Resim 3.1. 7.günde kontrol (A) ve II. deney gruplarında (B) gözlenen genişleyen yara bölgelerinin makroskobik görünümü.



Resim 3.2. 14. günde kontrol (A), I. deney (B) ve II. deney (C) gruplarında yara bölgelerinin makroskobik görünümü.



Resim 3.3. 21. günde kontrol (A), I. deney (B) ve II. deney (C) gruplarında yara bölgelerinin makroskobik görünümü.

Kollajen membran uygulanan kontrol grubu ile I. ve II. deney gruplarındaki 7., 14. ve 21. günlerde yara kapanma oranlarına ait sonuçlar Çizelge 3.2'de gösterildi. Farklı yara örtü materyalleri uygulanan gruplar arasında yara kapanma oranları açısından 7., 14. ve 21. günlerde istatistiksel olarak önemli bir fark (p>0,05) bulunmadı.

Çizelge 3.2. Kontrol, I. deney ve II. deney grupları arasında 7., 14. ve 21. günlerde yara kapanma oranlarının karşılaştırılması.

	Kontrol Grubu	**I. Deney Grubu**	**II. Deney Grubu**	
	Ort ± Ss	**Ort ± Ss**	**Ort ± Ss**	**p**
7.gün	31,6 ±17,41	35,8±15,51	35,4±18,02	0,982*
14.gün	89,2±3	82,4±6,08	90,2±3,13	0,408*
21.gün	84±16	100±0	97±3,55	0,272**

**One-Way ANOVA ve **Kruskal Wallis Testlerine göre gruplar arasındaki fark istatistiksel öneme sahip değildi (p>0,05).*

Kontrol grubunda 7., 14. ve 21 günler değerlendirildiğinde yara kapanma oranları açısından 14. ve 21. günler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark saptanmazken (p>0,05), 14. ve 21. günlerde yapılan ölçümler 7. günde yapılanlara göre istatistiksel açıdan önemli bir farkla (p<0,05) daha yüksek oranlar gösterdi (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Kontrol grubunda 7., 14. ve 21. günler arasında yara kapanma oranlarının karşılaştırılması.

Kontrol Grubu	**Ort ± Ss**	**7. - 14. günler p**	**7. - 21. günler p**	**14. - 21. günler p**
7.gün	31,6 ±17,41	**0,03**		
14.gün	89,2±3		**0,048**	
21.gün	84±16			0,962

Tukey testine göre 14. ve 21. günler arasındaki fark istatistiksel öneme sahip değilken (p>0,05), diğer dönemler arasındaki fark istatistiksel öneme sahipti (p<0,05).

I. deney grubunda 7., 14. ve 21. günlerdeki yara kapanma oranları değerlendirildiğinde tüm zamanlar arasında istatistiksel olarak önemli bir farkın ($p<0,05$) olduğu ve yara bölgelerinin 21. günde tamamen iyileştiği görüldü (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. I. deney grubunda 7., 14. ve 21. günler arasında yara kapanma oranlarının karşılaştırılması.

I. Deney Grubu	**Ort ± Ss**	**7. - 14. günler p**	**7. - 21. günler p**	**14. - 21. günler p**
7.gün	35,8±15,51	**0,032**		
14.gün	82,4±6,08		**0,008**	
21.gün	100±0			**0,008**

Mann-Whitney U testine göre dönemler arasındaki fark istatistiksel öneme sahipti ($p<0,05$).

II. deney grubunda 7., 14. ve 21. günlerdeki yara kapanma oranları değerlendirildiğinde ise 14. ve 21. günler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmazken ($p>0,05$), 7. ve 14. günler ile 7. ve 21. günler arasında önemli bir fark ($p<0,05$) olduğu ve yara kapanma oranının zamanla arttığı tespit edildi (Çizelge 3.5).

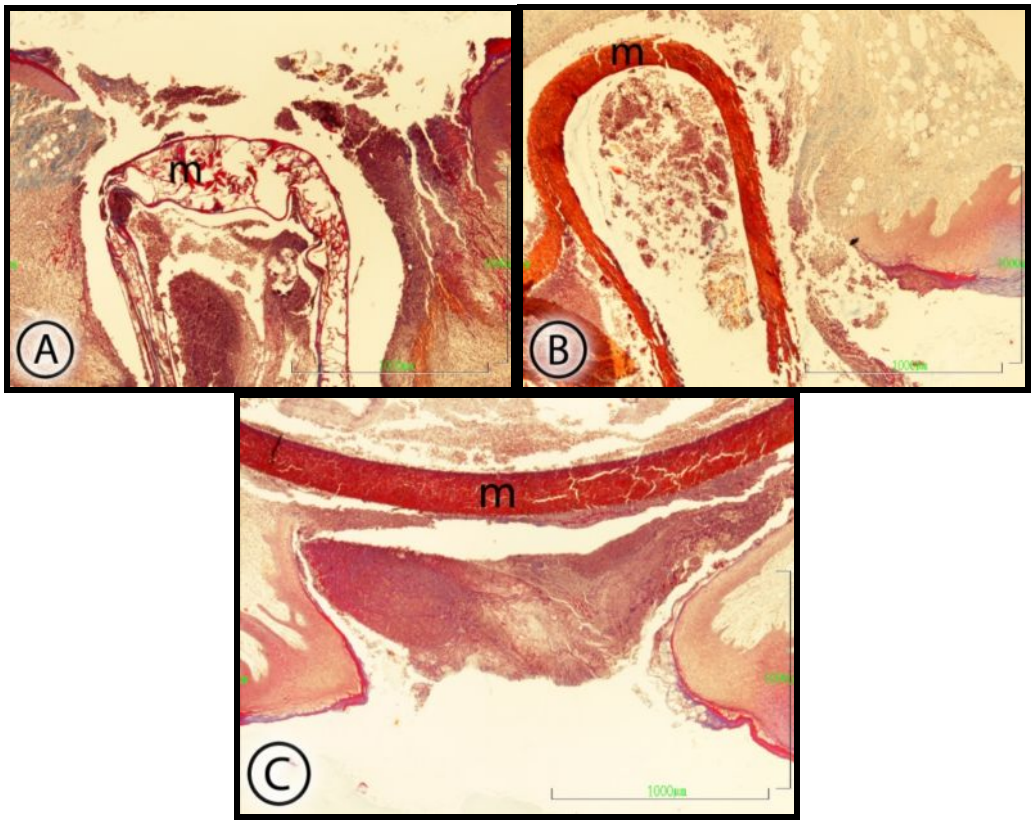
Çizelge 3.5. II. deney grubunda 7., 14. ve 21. günler arasında yara kapanma oranlarının karşılaştırılması.

II. Deney Grubu	**Ort ± Ss**	**7. - 14. günler p**	**7. - 21. günler p**	**14. - 21. günler p**
7.gün	35,4±18,02	**0,008**		
14.gün	90,2±3,13		**0,016**	
21.gün	97±3,55			0,063

Mann-Whitney U testine göre 14. ve 21. günler arasındaki fark istatistiksel öneme sahip değilken ($p>0,05$), diğer dönemler arasındaki fark istatistiksel öneme sahipti ($p<0,05$).

3.2. Histolojik ve Histomorfometrik Bulgular

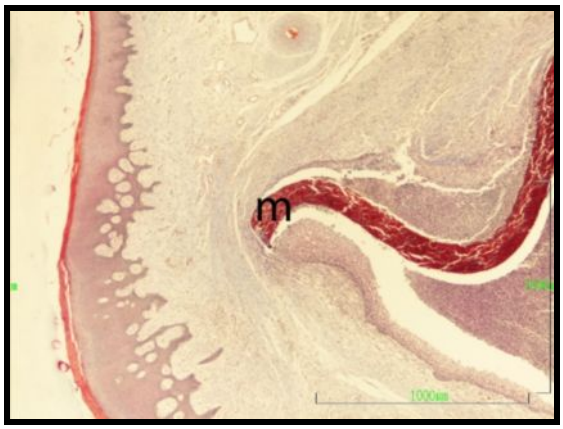
Kontrol grubu ile değişik işlemlerden geçirilmiş devekuşu yumurta kabuk zarlarının kullanıldığı deney gruplarında genel histolojik yapının ve doku iyileşme olaylarının belirlenmesi için Crossman'ın üçlü boyası ve hematoksilen eozin boyası yapıldı. Operasyon sonrası iyileşme süresi boyunca hiçbir grupta materyale karşı doku reddi reaksiyonu, istenmeyen enkapsülasyon ve anjiogenezde olumsuz değişiklik gözlenmedi. 7. günde her üç grupta da yara sahasına yerleştirilen materyallerin neredeyse tamamına yakınının rezorbe olmaksızın yara sahasında bulunduğu tespit edildi (Resim 3.4).



Resim 3.4. 7. günde kontrol (A), I. deney (B) ve II. deney (C) gruplarında rezorbe olmayan materyalin (m) mikroskobik görünümü. Üçlü boyama, büyütme çizgisi: 1000µm.

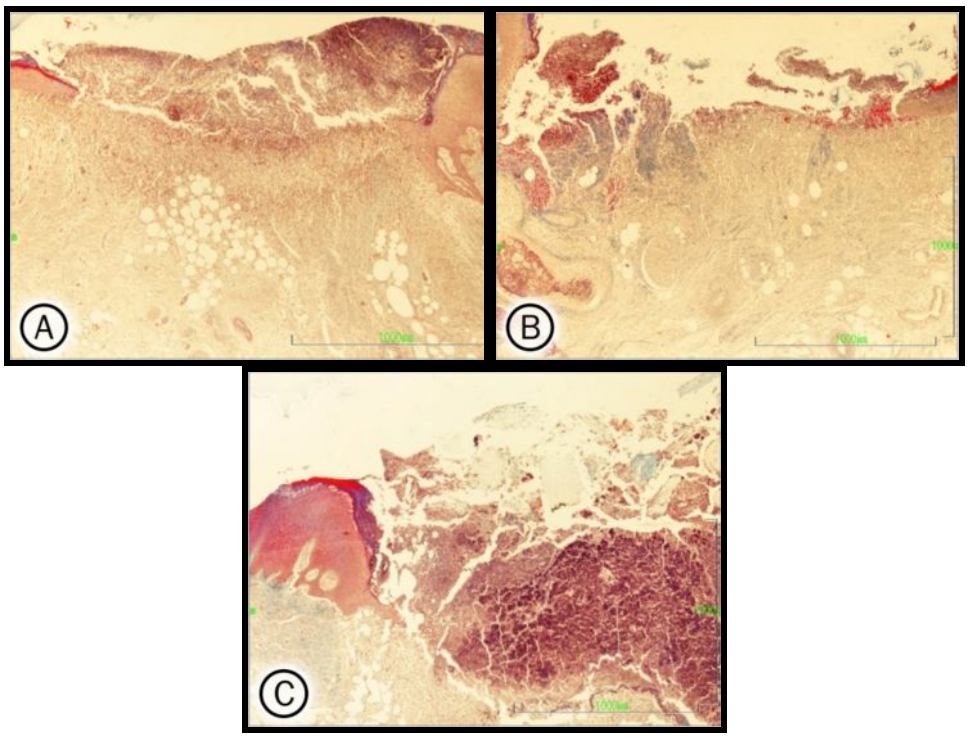
Kontrol grubunda kullanılan kollajen membran 14. ve 21. günlerde büyük oranda rezorbe olmuş durumdaydı. I. deney grubunda 14. günde rezorbsiyon görülmekle beraber materyalin büyük bir kısmı yara bölgesindeyken, 21. günde yara bölgesinde sadece ufak materyal parçaları izlendi. II. deney grubunda 21. günde dahi

materyalin önemli bir kısmının rezorbe olmaksızın yara bölgesinde varlığını sürdürdüğü görüldü (Resim 3.5).



Resim 3.5. 21. günde II. deney grubunda materyalin (m) mikroskobik görünümü. Üçlü boyama, büyütme çizgisi: 1000µm.

Epitel ve keratin kalınlıkları, hazırlanan preparatların dijital görüntüleri incelenerek değerlendirildi. Kontrol ve her iki deney grubunda da 7. günde epitel ve keratin oluşumu izlenmedi (Resim 3.6).



Resim 3.6. 7. günde kontrol (A), I. deney (B) ve II. deney (C) gruplarına ait mikroskobik görünümler. Üçlü boyama, büyütme çizgisi: 1000µm.

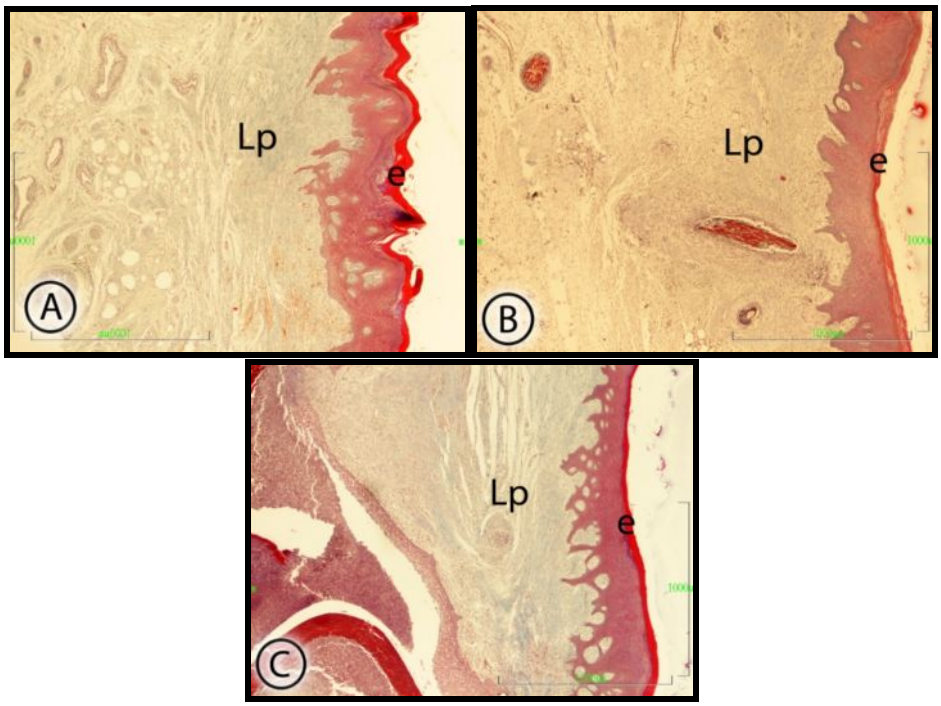
Kontrol, I. deney ve II. deney gruplarında 14. ve 21. günlerde epitel kalınlıklarına ait sonuçlar Çizelge 3.6'da gösterildi. Her iki dönemde de epitel kalınlıkları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark (p>0,05) görülmedi. Kontrol, I. deney ve II. deney grupları ayrı ayrı değerlendirildiğinde ise hiçbir grupta 14. ve 21. günler arasında epitel kalınlıkları açısından istatistiksel olarak önemli bir fark (p>0,05) bulunmadı.

Çizelge 3.6. Kontrol, I. deney ve II. deney gruplarında 14. ve 21. günlerde epitel kalınlık değerlerinin karşılaştırılması.

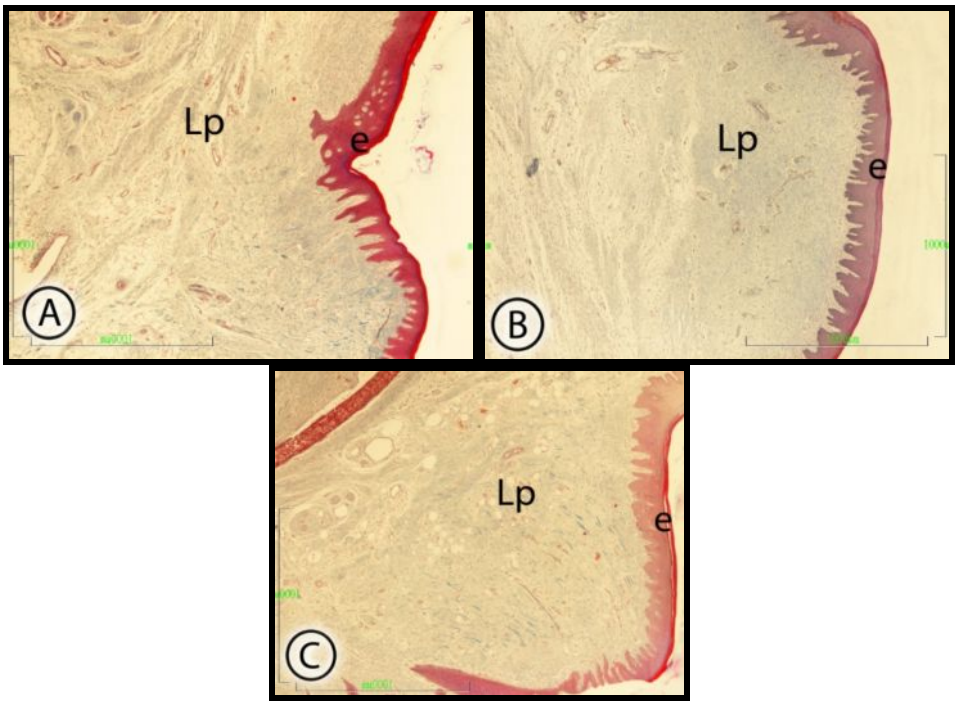
	Kontrol Grubu	**I. Deney Grubu**	**II. Deney Grubu**	**p**
	Ort±Ss	**Ort±Ss**	**Ort±Ss**	
14.gün	218,41±16,1	249,7±19,54	237,09±13,98	0,437*
21.gün	235,96±19,63	214,45±7,32	194,69±15,52	0,211*
p	0,683**	0,421***	0,111***	

**One-Way ANOVA, **Tukey ve ***Mann-Whitney U testlerine göre gruplar ve dönemler arasındaki fark istatistiksel öneme sahip değildi (p>0,05).*

Alınan doku örnekleri üzerinde yapılan histolojik incelemelerde 14. günde reepitelizasyon tamamlanmadığı için rete-pegler düzensiz bir dağılım gösterdiler (Resim 3.7). 21. günde alınan doku örneklerinde ise reepitelizasyonun tamamlanması sonucu daha düzenli rete-pegler izlendi (Resim 3.8).



Resim 3.7. 14. günde kontrol (A), I. deney (B) ve II. deney (C) gruplarında düzensiz dağılım gösteren rete-peglerin mikroskobik görünümleri. Lp (Lamina propria), e (epitel). Üçlü boyama, büyütme çizgisi: 1000µm.



Resim 3.8. 21. günde kontrol (A), I. deney (B) ve II. deney (C) gruplarında düzenli bir dağılım gösteren rete-peglerin mikroskobik görünümleri. Lp (Lamina propria), e (epitel). Üçlü boyama, büyütme çizgisi: 1000µm.

Kontrol, I. deney ve II. deney gruplarında 14. ve 21. günlerde keratin kalınlıklarına ait sonuçlar Çizelge 3.7'de gösterildi. Kontrol grubu ve II. deney grubu ayrı ayrı değerlendirildiğinde keratin kalınlıkları açısından 14. ve 21. günler arasında

önemli bir fark (p>0,05) yoktu. I. deney grubunda ise 21. gündeki keratin kalınlığının 14. gündeki keratin kalınlığından istatistiksel açıdan önemli bir farkla daha fazla olduğu bulundu (p<0,05).

Keratin kalınlıkları açısından 21. günde kontrol, I. deney ve II. deney grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark yokken (p>0,05), 14. günde gruplar arasında keratin kalınlıklarının farklı olduğu belirlendi (p<0,05). Hangi gruplar arasında fark olduğunun tespiti için yapılan Tukey testinin sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli farkın kontrol ve I. deney grupları arasında olduğu ve kontrol grubu keratin kalınlığının, I. deney grubu keratin kalınlığından istatistiksel açıdan önemli bir farkla (p<0,05) daha fazla olduğu görüldü (Çizelge 3.8).

Çizelge 3.7. Kontrol, I. deney ve II. deney gruplarında 14. ve 21. günlerde keratin kalınlık değerlerinin karşılaştırılması.

	Kontrol Grubu	**I. Deney Grubu**	**II. Deney Grubu**	**p**
	Ort±Ss	**Ort±Ss**	**Ort±Ss**	
14.gün	16,91±1,72	10,8±1,36	13,7±0,93	**0,028***
21.gün	19,47±1,8	21,79±1,5	15,11±1,96	0,066*
p	0,445**	**0,008*****	0,73***	

**One-Way ANOVA, **Tukey ve ***Mann-Whitney U testlerine göre 14.günde gruplar ve I. deney grubunda da dönemler arasındaki farklar istatistiksel öneme sahipti (p<0,05)*

Çizelge 3.8. Kontrol ve I. deney gruplarında 14.günde keratin kalınlık değerlerinin karşılaştırılması.

	Kontrol Grubu	**I. Deney Grubu**	**p**
	Ort±Ss	**Ort±Ss**	
14.gün	16,91±1,72	10,8±1,36	**0,022**

Tukey testine göre 14. günde kontrol ve I. deney grupları arasındaki farklar istatistiksel öneme sahipti (p<0,05).

Kontrol grubu, I. ve II. deney gruplarındaki 7., 14. ve 21. günlerde kollajen iplik oranlarına (%) ait sonuçlar Çizelge 3.9'da gösterildi. Gruplar arasında kollajen iplik oranları açısından 7., 14. ve 21. günlerde istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmadı (p>0,05).

Çizelge 3.9. Kontrol, I. deney ve II. deney gruplarında 7., 14. ve 21. günlerde kollajen iplik oranlarının karşılaştırılması.

	Kontrol Grubu	**I. Deney Grubu**	**II. Deney Grubu**	**p**
	Ort±Ss	**Ort±Ss**	**Ort±Ss**	
7.gün	1,12±0,24	1,12±0,17	0,88±0,16	0,621*
14.gün	5,78±0,22	5,2±0,48	4,24±0,5	0,072**
21.gün	6,27±0,71	5,85±0,17	6,69±0,92	0,673**

**Kruskal Wallis ve **One-Way ANOVA testlerine göre gruplar arasındaki farklar istatistiksel öneme sahip değildi (p>0,05).*

7., 14. ve 21. günlerdeki kollajen iplik oranları kontrol grubu, I. ve II. deney gruplarında ayrı ayrı karşılaştırıldığında 14. ve 21. günler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmazken (p>0,05), 7. ve 14. günler ile 7. ve 21. günler arasında önemli bir fark (p<0,05) olduğu ve kollajen iplik oranının zamanla arttığı tespit edildi (Çizelge 3.10, Çizelge 3.11, Çizelge 3.12).

Çizelge 3.10. Kontrol grubunda 7., 14. ve 21. günler arasında kollajen iplik oranlarının karşılaştırılması.

Kontrol grubu	**Ort ± Ss**	**7. - 14. günler**	**7. - 21. günler**	**14. - 21. günler**
		p	**p**	**p**
7.gün	1,12±0,24			
		0,00		
14.gün	5,78±0,22		**0,00**	
21.gün	6,27±0,71			0,726

Tukey testine göre 14. ve 21. günler arasındaki fark istatistiksel öneme sahip değilken (p>0,05), diğer dönemler arasındaki fark istatistiksel öneme sahipti (p<0,05).

Çizelge 3.11. I. deney grubunda 7., 14. ve 21. günler arasında kollajen iplik oranlarının karşılaştırılması.

I. Deney Grubu	Ort ± Ss	7. - 14. günler p	7. - 21. günler p	14. - 21. günler p
7.gün	1,12±0,17			
		0,008		
14.gün	5,2±0,48		**0,008**	
21.gün	5,85±0,17			0,310

Mann-Whitney U testine göre 14. ve 21. günler arasındaki fark istatistiksel öneme sahip değilken (p>0,05), diğer dönemler arasındaki fark istatistiksel öneme sahipti (p<0,05).

Çizelge 3.12. II. deney grubunda 7., 14. ve 21. günler arasında kollajen iplik oranlarının karşılaştırılması.

II. Deney Grubu	Ort ± Ss	7. - 14. günler p	7. - 21. günler p	14. - 21. günler p
7.gün	0,88±0,16			
		0,008		
14.gün	4,24±0,5		**0,016**	
21.gün	6,69±0,92			0,111

Mann-Whitney U testine göre 14. ve 21. günler arasındaki fark istatistiksel öneme sahip değilken (p>0,05), diğer dönemler arasındaki fark istatistiksel öneme sahipti (p<0,05).

Kontrol grubu, I. ve II. deney gruplarındaki 7., 14. ve 21. günlerde elastik iplik oranlarına (%) ait sonuçlar Çizelge 3.13'te gösterildi. Elastik ipliklerin özellikle bağ dokusunda perivasküler alanlarda yerleştiği görüldü. Kontrol ve deney grupları arasında elastik iplik oranları açısından 7., 14. ve 21. günlerde istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadı (p>0,05).

Çizelge 3.13. Kontrol, I. deney ve II. deney gruplarında 7., 14. ve 21. günlerde elastik iplik oranlarının karşılaştırılması.

	Kontrol Grubu Ort±Ss	I. Deney Grubu Ort±Ss	II. Deney Grubu Ort±Ss	p
7.gün	0,87±0,18	0,76±0,14	0,8±0,1	0,877*
14.gün	2,08±0,5	1,19±0,24	2,27±0,35	0,147*
21.gün	2,72±0,54	2,59±0,45	2,47±1,95	0,99**

**One-Way ANOVA ve **Kruskal Wallis testlerine göre gruplar arasındaki fark istatistiksel öneme sahip değildi (p>0,05).*

Kontrol grubunda 7., 14. ve 21. günler değerlendirildiğinde elastik iplik oranları açısından 7. ve 21. günler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmaktadır (p<0,05) ve 21. günde elastik iplik oranları daha yüksektir (Çizelge 3.14).

Çizelge 3.14. Kontrol grubunda 7., 14. ve 21. günler arasında elastik iplik oranlarının karşılaştırılması.

Kontrol Grubu	Ort ± Ss	7. - 14. günler p	7. - 21. günler p	14. - 21. günler p
7.gün	0,87±0,18			
		0,170		
14.gün	2,08±0,5		**0,029**	
21.gün	2,72±0,54			0,57

Tukey testine göre 7. ve 21. günler arasındaki fark istatistiksel öneme sahipti (p<0,05).

I. deney grubunda 7., 14. ve 21. günler değerlendirildiğinde elastik iplik oranları açısından 7. ve 14. günler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmazken, 21. günde yapılan ölçümler 7. ve 14. günlerde yapılanlara göre istatistiksel açıdan önemli bir farkla (p<0,05) daha yüksek oranlar gösterdi (Çizelge 3.15).

Çizelge 3.15. I. deney grubunda 7., 14. ve 21. günler arasında elastik iplik oranlarının karşılaştırılması.

I. Deney Grubu	Ort ± Ss	7. - 14. günler p	7. - 21. günler p	14. - 21. günler p
7.gün	0,76±0,14			
		0,151		
14.gün	1,19±0,24		**0,008**	
21.gün	2,59±0,45			**0,032**

Mann-Whitney U testine göre 21. gündeki oranlar ile diğer dönemlerdeki oranlar arasındaki fark istatistiksel öneme sahipti (p<0,05).

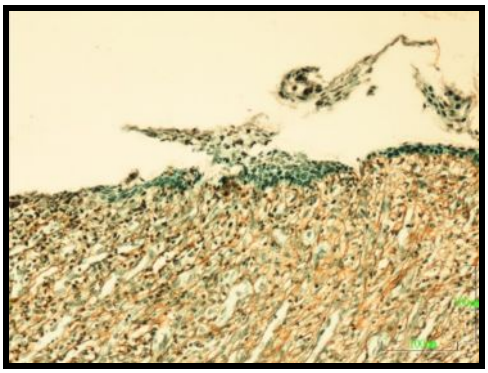
II. deney grubunda ise elastik iplik oranları açısından 7. ve 14. günler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark varken (p<0,05), diğer dönemler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur (Çizelge 3.16).

Çizelge 3.16. II. deney grubunda 7., 14. ve 21. günler arasında elastik iplik oranlarının karşılaştırılması.

II. Deney Grubu	Ort ± Ss	7. - 14. günler p	7. - 21. günler p	14. - 21. günler p
7.gün	0,8±0,1			
		0,016		
14.gün	2,27±0,35		0,286	
21.gün	2,47±1,95			1,00

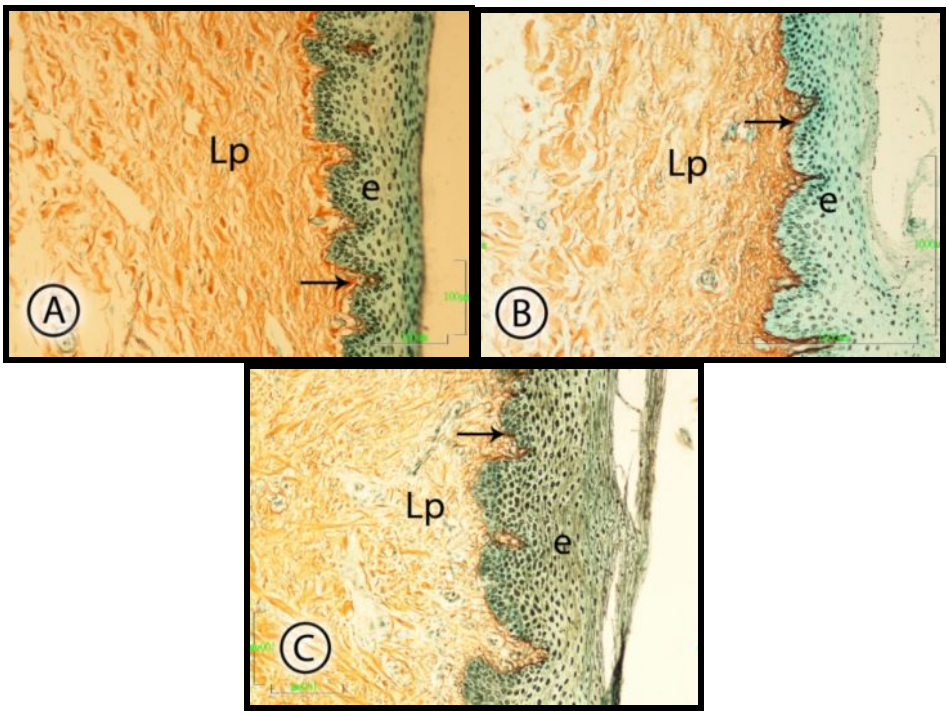
Mann-Whitney U testine göre 7. ve 14. günler arasındaki fark istatistiksel öneme sahipti (p<0,05).

Bazal membranda bulunan retiküler iplikler, Gordon ve Sweet'in retiküler iplik boyası yapılan kesitler üzerinde incelendi. 7. günde alınan kesitlerde kontrol, I. deney ve II. deney gruplarında retiküler laminanın kopuntulu seyrettiği görüldü (Resim 3.9).

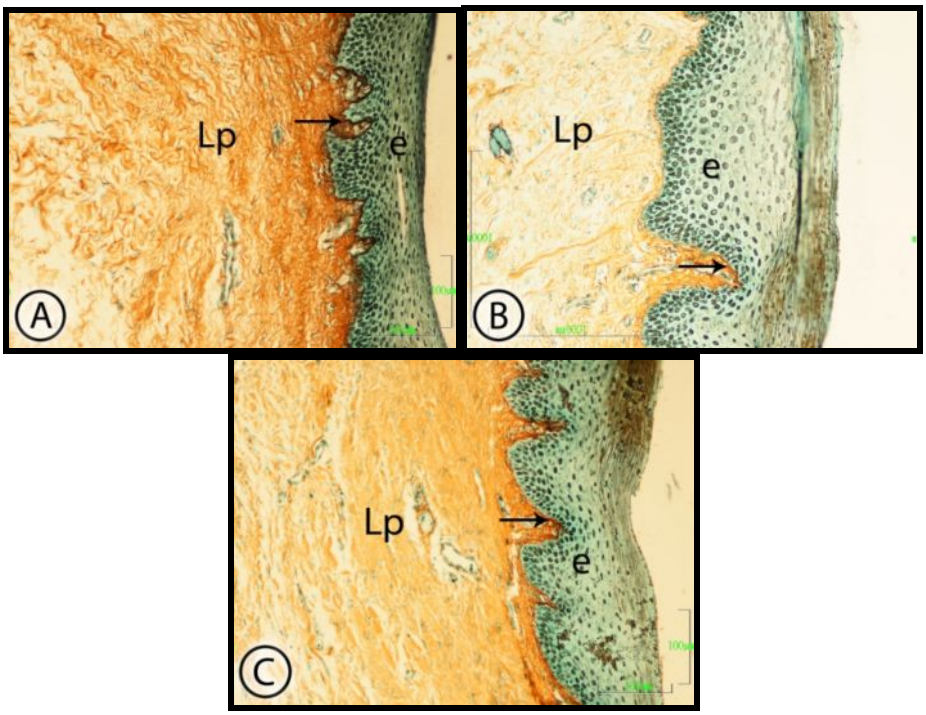


Resim 3.9. 7.günde retiküler iplik boyası uygulanan bir kesitin mikroskobik görünümü. Gordon ve Sweet'in retiküler iplik boyası, büyütme çizgisi: 100µm.

Kontrol, I. deney ve II. deney gruplarına ait histolojik kesitlere bakıldığında 14. ve 21. günlerde retiküler ipliklerden oluşan retiküler laminanın kopuntusuz şekilde seyrettiği belirlendi (Resim 3.10, Resim 3.11).



Resim 3.10. 14. günde kontrol (A), I. deney (B) ve II. deney (C) gruplarında retiküler ipliklerin mikroskobik görünümleri. Lp (Lamina propria), e (epitel). Gordon ve Sweet'in retiküler iplik boyası, büyütme çizgileri: 100µm (A,C), 1000µm (B).



Resim 3.11. 21. günde kontrol (A), I. deney (B) ve II. deney (C) gruplarında retiküler ipliklerin mikroskobik görünümleri. Lp (Lamina propria), e (epitel). Gordon ve Sweet'in retiküler iplik boyası, büyütme çizgileri: 100µm (A,C), 1000µm (B).

4. TARTIŞMA

Yara, canlı dokunun anatomik ve fonksiyonel devamlılığının bozulmasıdır. Yara iyileşmesi ise hemostaz ile başlayan inflamasyon, proliferasyon, matürasyon ve remodeling basamaklarını içeren yaralanmış dokunun anatomik ve fonksiyonel özelliklerinin yeniden oluşturulmasını sağlamaya yönelik bir onarım sürecidir (Clark 1993, Steed 2003, Broughton ve ark 2006).

Yara iyileşmesini çok farklı düzeylerde etkileyebilen lokal ve genel faktörler bulunmaktadır. Enfeksiyon, iskemi, ödem, basınç ve yabancı cisimler inflamatuar fazı uzatarak iyileşme sürecini olumsuz etkileyen lokal faktörlerdir (Kivisaari ve ark 1975, Simman ve ark 2003). Metabolik rahatsızlıklar, yaş, beslenme, sigara alışkanlığı, radyoterapi ve kemoterapi ise yara iyileşmesini etkileyen genel faktörler arasında sayılır (Gerstein ve ark 1993, Barbul ve Purtill 1994, Ekmektzoglou ve Zografos 2006, Deliaert ve ark 2012, Haubner ve ark 2012).

Yara iyileşmesinin lokal ve genel faktörler sebebiyle komplike hale geldiği ve doğal yara iyileşme sürecinin yara sahasını kapatmada başarılı olamadığı durumlarda en kısa zamanda, en az şekil ve fonksiyon kaybıyla iyileşmeyi hızlandıran ve yara açısından hastanın durumunu düzeltemeye yönelik tedavilerin yapılması konusu güncelliğini ve önemini korumaktadır. Yara iyileşmesinin gerçekleşebilmesi; kollajen sentezinde artış, epitel oluşumu ve yara kenarlarının birleşmesi gibi olaylar sonunda mümkün olmaktadır. Yara iyileşmesi ile ilgili araştırmalarda genellikle yaranın hızla normal dokuya dönüşümünü destekleyen şartların sağlanabilmesi amaçlanmaktadır. Bu amaç doğrultusunda yara iyileşme sürecine olumlu etkiler yapabilecek birçok kimyasal, fiziksel ve biyolojik ajanın araştırılmakta olduğunu görmekteyiz (Mian ve ark 1992, Avtan ve ark 1996. Akturk ve ark 2011). Otogreft (Henriques ve ark 2011, Mahajan ve ark 2012), allogreft (Tal 1999, Hashemi ve ark 2012), ksenogreft (Bukovcan ve Koller 2010, Duteille ve Perrot 2012), amniyon membranı (Samandari ve ark 2004, Kothari ve ark 2012), kollajen membran (Tinti ve Vincenzi 1994, Omura ve ark 1997) ve doku mühendisliği ile elde edilen birçok materyal (Raghoebar ve ark 1995, Lauer ve ark 2001, Bodner ve Grossman 2003)

yara iyileşmesine katkı sağlamak amacıyla yara örtü materyali olarak kullanılmaktadır.

Oral mukozadaki yaralar da diğer yaralar gibi epitelizasyon ve granülasyon dokusu oluşumuyla iyileşir. Fakat tükürük sekresyonu, gıda alımı, zayıf oral hijyen, yanak ve dilin sürekli hareketi ve çiğneme kuvvetleri yara iyileşme sürecini olumsuz etkileyebilir. Sürekli bakteri kontaminasyonu sonucu oral kavite yaralarında enfeksiyon riskinin yüksek olması skar ve kontraksiyon ile sonuçlanabilir (Sciubba ve ark 1978, Bertolami ve ark 1988, Doillon 1988, Chung ve ark 1990, May 1991, Gao ve ark 1992, Bessho ve ark 1998, Güngörmüş ve Kaya 2002). Bu faktörlerin iyileşme üzerindeki olumsuz etkilerini azaltabilmek, oral mukozadaki yaraları enfeksiyondan korumak ve iyileşmeye katkı sağlamak amacıyla; cerrahi operasyon sonrası oluşan defektlerin rekonstrüksiyonunda (Cortallini ve ark 1995, Crump ve ark 1996, Rastagi ve ark 2009), implant operasyonu sonrası veya çeşitli nedenlerle oluşan mukozal dehissenslerin onarımında (Haim 1999, Fowler ve ark 2000, Speroni ve ark 2010, Narang ve Gupta 2011), metastatik çene hastalıkları ve osteoradyonekroz sonucu ekspoze olmuş maksillofasial kemik defektlerinin kapatılmasında (Chandarana ve ark 2012), preprotetik operasyonlarda (Güler ve ark 1997, Bhola ve ark 2003, Kothari ve ark 2012), yarık dudak-damak olgularında (Duskova ve ark 2006) ve oroantral fistül onarımında (Waldrop ve Semba 1993, Visscher ve ark 2010) yara örtü materyallerine gereksinim duyulmaktadır.

Literatürde yara örtü materyallerinin iyileşmeye katkısını inceleyen çalışmalar mevcuttur (Evans ve ark 1979, Oliver ve Grant 1979, Mitchell 1983, Nanchahal ve Ward 1992, Raghoebar ve ark 1995, Ruszczak 2003, Rastogi ve ark 2009). Yara örtü materyalleriyle kapatılan yaralarda açıkta bırakılanlara göre enfeksiyon insidansı ve kontraksiyon derecesinin daha düşük olduğu düşünülmektedir. Loeffelbein ve ark (2012), domuz modeli kullanarak yaptıkları çalışmada amniyon membranıyla kapattıkları yaralar ile sekonder iyileşmeye bıraktıkları yaraları enfeksiyon, kontraksiyon derecesi ve skar açısından karşılaştırmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre yara örtü materyali kullanıldığında iyileşmenin daha az enfeksiyon, kontraksiyon ve skarla sonuçlandığını göstermişlerdir.

Yara yüzeyi kapatıldığında iyileşme süresinin daha kısa olduğu düşünülmektedir. Levin ve ark (1979), köpek ve tavşan modelleri kullanarak yaptıkları bir çalışmada oluşturdukları deneysel yaraları bir grupta sığır kaynaklı kollajen membranla kapatmışlar diğer grupta ise yarayı sekonder iyileşmeye bırakmışlardır. Araştırmacılar kollajen membran kullanılan grupta dişetinin daha hızlı iyileştiğini belirtmişlerdir. Bu çalışma yara örtü materyallerinin iyileşme süresini kısalttığı sonucuna varan birçok araştırmayla desteklenmiştir (Pruitt ve Levine 1984, Gao ve ark 1992, Sedlarik ve ark 1992, Park ve ark 2012). Farklı olarak In de Braekt ve ark (1992), yaptıkları bir hayvan çalışmasında palatinal bölgede oluşturdukları yumuşak doku defektlerini Von Langenbeck tekniğiyle onardıktan sonra açıkta kalan kemik yüzeylerini bir grupta poli-(L-laktik) asit membranla kapatırken diğer grupta membran kullanmamışlar ve kısa süreli takip sonucunda membran kullanılan grupta klinik yara iyileşmesinin anlamlı bir şekilde daha geç olduğu sonucuna varmışlardır. Fakat araştırmacılar bu durumun kısa takip süresinden kaynaklandığını, membranın olumlu etkilerinin daha uzun takip süresiyle ortaya çıkacabileceğini belirtmişlerdir.

Yara örtü materyallerinin ağrı kontrolüne, hemostaza ve hasta konforuna da katkı sağladığı bilinmektedir. Pruitt ve Levine (1984), yaptıkları bir çalışma ile yara örtü materyallerinin yarayı koruduklarını, mikrobiyal kontrolü sağladıklarını ve yara matürasyonunu hızlandırarak mekanik ve fizyolojik etkiler gösterdiklerini savunmuşlardır. Arai ve ark (2012), kanseröz veya prekanseröz lezyonların cerrahilerinin ardından oluşan sekonder defektleri kapattıkları yara örtü materyalinin hemostatik ve ağrı azaltıcı etkilerinin olduğunu belirtmekle beraber epitelizasyonu desteklediğini göstermişlerdir.

İdeal yara örtü materyallerinin sahip olması gereken özellikleri, yaygın kullanılan sentetik ve kompozit ürünler karşılamakla beraber bu materyallerin pahalı olmaları ve kullanıcı dostu olmamaları önemli dezavantajlardır (May 1991).

Otojen mukoza veya deri kaynaklı yara örtü materyalleri, mukogingival deformitelerin onarılmasında sıklıkla tercih edilen ve altın standart olarak kabul edilen biyomateryallerdir (Mahajan ve ark 2012). Fakat greftin alınması için ikinci bir cerrahi müdahale gerekliliği, ikinci bir yara alanı oluşturulması ve sınırlı boyutta

alınması bu materyallerin kullanımını sınırlamaktadır. Bu greftlerin alınmasını takiben cerrahiye bağlı donör sahada sinir hasarı, periosteal nekroz, kanama, ağrı, skar ve osteomiyelit gibi intraoperatif veya postoperatif komplikasyonlarla karşılaşılabilir (Bhola ve ark 2003, Herford ve ark 2010). Ayrıca deri greftlerinin normal oral mukoza epitelinden farklı renk ve yapıda olmaları, içerdikleri kıl folikülleri farklı yara örtü materyallerinin araştırılması için önemli nedenlerdir (Hashemi ve ark 2012). Bu açıdan doku mühendisliği alanındaki çalışmalar otojen greftlerin dezavantajlarını kısmen azalttığı için ve yine otojen bir kaynaktan kültüre greftler üretilmesi açısından dikkat çekicidir. Fakat 3-4 haftalık gecikmiş greftleme, aşırı frajilite, yüksek enfeksiyon riski ve greft alıcı sahanın sınırlı olması ksenogreft ve allogreftlerin yara örtü materyali olarak daha çok tercih edilmesine sebep olmuştur (Rheinwald ve Green 1975, Sumi ve ark 1999, Junkins-Hopkins 2011).

Ksenojenik deri greftlerinin bu amaçla değerlendirildiği bir çalışmada, ksenogreft kullanımının yaralarda enflamatuar cevap ve uzun iyileşme süresi ile sonuçlandığı bildirilmiştir (Salisbury ve ark 1973). Bir diğer örtü materyali olan alloderm; pahalı olması, kaynağının az olması, değişkenlik göstermesi, düşük kalite, donörden hastalık taşıma riski ve immün red gibi dezavantajları sebebiyle tercih edilmemektedir (Hansbrough ve ark 1997, Vuola ve Pipping 2002). Ek olarak alloderm ile amniyon membranının açık ve enfekte yaralardaki etkinliğinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, allodermin bakteri sayısını azaltmada amniyon membranı kadar etkili olmadığı sonucuna varılmış ve amniyon membranının alloderme alternatif bir yara örtü materyali olduğu konusuna dikkat çekilmiştir (Robson ve Krizek 1973). Amniyon membranı kullanılan bir başka araştırmada, membranın deri yaralarındaki iyileşme sürecinde epitelizasyonu desteklediği tespit edilerek bu görüş desteklenmiştir (Rinastiti ve ark 2006). Fakat Unger ve Roberts (1976), greft donör sahalarında uyguladıkları liyofilize amniyon membranının gecikmiş yara iyileşmesine sebep olduğunu ve ağrı hissini azaltıcı etkisinin olmadığını bulmuşlardır. Bu membranların hastalık taşıma riski sebebiyle de kullanımları sınırlıdır (Adds ve ark 2001, Ravishanker ve ark 2003). Ayrıca klinik uygulamalarda frajil, manipülasyonları zor, kolay ıslanan ve kolay temin edilemeyen materyallerdir (May 1991, Ramakrishnan ve Jayaraman 1997).

Yara iyileşmesine katkı sağlamak amacıyla en yaygın kullanılan materyallerden biri kollajendir. Biyouyumlu ve zayıf immünojen olması, hemostatik ve kemotaktik etkisi, düşük enfeksiyon oranı göstermesi, çıkarılmaları için ikinci bir cerrahi operasyon gerektirmemesi ve kolay temin edilebilir olması gibi özellikleri sık kullanımını açıklamaktadır. Daha da önemlisi Tip I kollajen periodontal ligamentin yanı sıra bağ dokusu ekstrasellüler organik matriksinin de önemli yapısal proteinidir (Ricard-Blum ve Ruggiero 2005). Çeşitli tip, yapı ve formdaki kollajen biyomateryalinin rekonstrüktif cerrahide kullanımı ve iyileşmeye katkısı birçok çalışmayla araştırılmıştır (Mundell ve ark 1993, Wang ve MacNeil 1998, Bunyaratavej ve Wang 2001, Patino ve ark 2002, Rastogi ve ark 2009).

Kollajenin vaskülarizasyon ve rejenerasyon için fibriler bir iskelet görevi görmesi ve yaranın erken matürasyonunu sağlaması gibi özelliklerini göz önünde bulunduran Babu ve ark (2011), dişeti çekilmelerinin tedavisinde kollajen membranın otojen bağ doku greftlerine alternatif olabileceğini bildirmişlerdir. Tip I kollajenin öncelikli işlevi doku bütünlüğünü korumak için yapısal bir iskelet oluşturmak olmasına rağmen yeni çalışmalar göstermiştir ki adezyon, migrasyon ve sinyal iletimi dahil hücre davranışlarını düzenleyerek yara iyileşmesine katkı sağlamaktadır (Ottani ve ark 2001, Vogel 2001, Heino 2007).

Tip I kollajene epitel, endotel, keratinosit, fibroblast ve osteoblast gibi farklı hücreler infiltre ve prolifere olabilmektedir. Bu özelliğiyle Tip I kollajen hem sert hem de yumuşak dokulardaki hasarlı bölgeyi yeniden şekillendirmek için kullanılmaktadır (Schor 1980, Pieper ve ark 2002, Gruber ve ark 2006). Güngörmüş ve Kaya (2002), tavşan modeli kullandıkları çalışmalarında kollajen membranın sert doku rejenerasyon hızına pozitif katkı sağladığını belirterek, membranın sert dokulardaki etkinliğini göstermişlerdir. Kollajen membran diş hekimliğinde de kemik rejenerasyonunu destekleyici etkisi göz önünde bulundurularak özellikle periodontal defektlerin onarımında greftlerle beraber veya greft olmaksızın sıklıkla kullanılmaktadır (Schlegel ve ark 1997, Camelo ve ark 2001, Oh ve ark 2003).

Tip I kollajen membranın yumuşak doku yara iyileşmesi için kullanıldığı bir çalışmada Gao ve ark (1992), ratlarda deneysel yanıklar oluşturmuşlar ve deney grubunda yaraları kollajen membranla kapatılırken kontrol grubunda yara yüzeylerini açıkta bırakılmışlardır. Yaralanmadan sonraki 10. günde sekonder iyileşmeye bırakılan yaralarda, yara alanının % 24' ünün tekrar epitelize olduğu görülürken kollajen membran uygulanan grupta bu oranın % 69 olduğu belirtilmiştir.

Al Khateeb ve ark (1996), köpeklerde oluşturdukları deneysel yaralarda sığır kaynaklı Tip I kollajen membranın greft materyali olarak biyouyumluluğunu ve etkinliğini değerlendirmişlerdir. Kontrol grubu sekonder iyileşmeye bırakılan yaralardan oluşmuştur. Postoperatif 1., 2. ve 3. haftalarda klinik ve histolojik değerlendirmeler yapılmış kollajen membranın topikal hemostatik etkisinin iyileşme sürecinde avantaj sağladığı ve herhangi bir yan etkiye neden olmadığı belirtilmiştir. Çalışma sonucunda kollajen membranın oral mukozada yara örtü materyali olarak uygulanabileceği gösterilmiştir.

Kollajen membranın yara iyileşme süresini kısalttığını destekleyen çalışmalar mevcuttur (Pruitt ve Levine 1984, Fırat 1996). Sedlarik ve ark (1992), yara örtü materyallerinin iyileşme süresine etkilerini değerlendirdikleri deneysel çalışmalarında iki kontrol ve iki deney grubu oluşturmuşlardır. Kontrol gruplarından birinde yaralar sekonder iyileşmeye bırakılırken diğer gruptaki yaralar parafinli gazlı bezle kapatılmıştır. Deney grubu ise doğal ve kimyasal işlemlerden geçirilmiş kollajen materyallerin uygulandığı iki alt gruba ayrılmıştır. Çalışma sonunda sekonder iyileşmeye bırakılan yaralar 50 günde, parafinli gazlı bezle kapatılan yaralar 48 günde iyileşirken deney gruplarında iyileşme sürelerinin sırasıyla 24 ve 27 gün olduğu rapor edilmiştir. Araştırmacılar yara örtü materyallerinin iyileşmeyi kısaltmasının yanı sıra yara iyileşmesinin daha kalitatif gerçekleştiğini savunmuşlardır. Gao ve arkadaşlarının (1992) yayınladıkları makale bu çalışmayı destekler niteliktedir. Araştırmacıların deney hayvanlarında oluşturdukları yanıklar kontrol grubunda gazlı bezle kapatılırken, deney grubunda kollajen membran kullanılmıştır. Gazlı bezle kapatılan yaralar 14,5 günde tekrar epitelize olurken, kollajen membran uygulanan grupta bu süre 10,3 gün olarak belirtilmiştir.

Deney hayvanlarıyla yapılan araştırmalar dışında Akpınar (1995) tarafından yapılan çalışmada, 18 hastada okside selluloz membran ve kollajen membranın yara iyileşmesine etkisi, klinik, histopatolojik ve histomorfometrik olarak birbirleriyle ve kontrol örnekleriyle karşılaştırılarak incelenmiştir. Vestibuloplasti yapılan hastaların palatinal donör sahalarına uygulanan materyallerden doku örnekleri alınmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde okside selluloz membranın antibakteriyel etkinliğinin daha fazla olmasının yanı sıra kollajen membran uygulanan yara bölgelerinde orjinale daha yakın hücre dizilimi izlenmiştir.

Rastogi ve ark (2009), premalign ve benign lezyonların eksizyonunu takiben primer kapanma sağlayamadıkları 60 hastada sığır kaynaklı kollajen membranı yara örtü materyali olarak uygulamışlardır. Çalışmada hemostaz, ağrı, enfeksiyon, epitelizasyon, kontraksiyon ve skar gibi birçok parametre değerlendirilmiştir. Araştırmacılar membrana karşı herhangi bir yan etki olmaksızın hasta konforunun arttığını ve 56 hastada epitelizasyonun başarılı bir şekilde gerçekleştiğini bildirmişler ve değerlendirilen diğer parametrelerle birlikte membranın 36 hastada oldukça etkili, 20 hastada etkili ve 4 hastada da başarısız olduğu sonucuna varmışlardır.

Etkinliği birçok çalışmayla kanıtlanan ve yaygın kullanım alanına sahip olan sığır kaynaklı Tip I kollajen membran, devekuşu yumurta kabuk zarının tavşanlarda deneysel olarak oluşturulan palatinal mukoza yaralarının iyileşmesi üzerindeki etkisinin araştırıldığı bu çalışmada kontrol grubu olarak tercih edildi.

Biyomateryal ve doku mühendisliği alanındaki gelişmeler sonucu yeni yara örtü materyalleri keşfedilmektedir. Fakat bu materyallerin pahalı olması araştırmacıları hayvan kaynaklı biyouyumlu ürünlere yönlendirmiştir. Son yıllarda tavuk ve devekuşu yumurta kabuk zarlarıyla yapılan çalışmalar bu anlamda dikkat çekicidir.

İlk defa Maeda ve Sasaki (1982) tarafından tavuk yumurta kabuğu zarı klinik çalışmalarda kullanılmıştır. Bu çalışmada üç vakada kullanılan zarın yaranın reepitelizasyonunu kolaylaştırdığı belirtilmiştir.

1995 yılında hayvanlarda yapılan bir çalışmayla yumurta kabuk zarının yara kapatılmasında uygulanabileceği desteklenmiştir (Chuang ve Yang 1995). Yang ve ark (2003) yaptıkları bir çalışmada yanık tedavisi için alınan deri greftini takiben donör saha kapatılmasında tavuk yumurtası kabuk zarını; Surgilon®, β-glukan kollajen ve Biobrane® membranlarla iyileşme hızı, ağrı kontrolü, esneklik ve dayanıklılık açısından karşılaştırmışlardır. Zarın sübjektif ağrı hissini azaltmada β-glukan kollajen ve Biobrane® kadar etkili olduğu bildirilmiştir. Yumurta kabuk zarının esneklik ve dayanıklılığı, Biobrane® ile kıyaslandığında daha az olmasına rağmen yara iyileşmesinin yumurta kabuk zarı kullanılan yaralarda daha hızlı olduğu gözlenmiştir. Çalışmada zarın epitelizasyonu teşvik eden ve ağrı hissini azaltan bir materyal olduğu sonucuna varılmıştır.

Zadik (2007), tavuk yumurtası kabuk zarı kullanarak dudak yırtığı yarasında iyileşme sağlanan bir vaka rapor etmiştir. Zarın yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda bariyer membran olarak kullanılması yönünde araştırmalar da yapılmaktadır (Jia ve ark 2011). Ayrıca kollajen, glikozamin, kondroitin ve hyaluronik asit kombinasyonunu içeren doğal bir kaynak olması sebebiyle zar tozlarından oluşan kapsüllerin son yıllarda eklem ve doku hastalıklarının tedavisindeki etkinliği araştırılmaktadır (Ruff ve ark 2009, Benson ve ark 2012).

Tavuk yumurta kabuk zarının en önemli dezavantajı, sınırlı boyutta zar elde edilebilmesidir (Yang ve ark 2003). Yumurta başına daha geniş yüzey alanına ve daha fazla kalınlığa sahip materyal alınabilmesi yanında mekanik direncinin de daha yüksek olması nedeniyle devekuşu yumurta kabuk zarının daha uygun bir yara örtü materyali olduğu ileri sürülmüştür. Richards ve ark (2000), devekuşu yumurta kabuk zarının morfolojik ve histokimyasal özelliklerini değerlendirdikleri çalışmalarında zarın çok sayıda ipliksel protein katmanlarından oluşan bir materyal olduğunu ve her iplik katmanının birbirine dik doğrultuda tertiplendiğini bildirmişlerdir. Ayrıca Haigh ve Betts (1991), yayınladıkları araştırmalarında tavuk yumurta kabuk zarının mikroorganizmalara karşı etkili bir bariyer olmadığı sonucuna varmışlardır. Diğer yandan Richards ve ark (2002), devekuşu yumurta kabuk zarının mikrobiyal penetrasyona karşı oldukça etkili bir bariyer olduğunu savunmuşlardır.

Kabuk zarı Tip I, Tip V ve Tip X kollajen olmak üzere üç tip kollajen içerir (Arias ve ark 1992). Kabuk zarının kollajen içeriği ve biyomateryal olarak uygulandığında stromal hücrelerin tutunabilecekleri ve çoğalabilecekleri geniş bir yüzey oluşturmaları kullanım alanları bakımından oldukça önemlidir (Tavassoli 1983,Tsai ve ark 2006, Tang ve ark 2009, Jia ve ark 2011).

Devekuşu yumurta kabuk zarı dikkat çekici bir biyomateryal olmasına rağmen zarın yara örtü materyali olarak kullanılması üzerine bilgiler kısıtlıdır. Durmuş ve ark (2003), devekuşu yumurta kabuk zarını kabuk tozuyla birlikte kraniyal kemik defektlerinde kullanmışlardır. Araştırmacılar iç ve dış devekuşu yumurta kabuk zarını glutaraldehid veya tripsinle muamele ederek tavşan kafatasında oluşturdukları defektlere devekuşu yumurta kabuğu tozuyla veya kabuk tozu olmaksızın uygulamışlar ve defekt sahasındaki iyileşmeyi gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar zarın biyouyumluluğunun oldukça iyi olduğunu ve defekt sahasında doku reddi reaksiyonu gelişmediğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda kollajen membranların protein içeriklerine bağlı olarak immünolojik ve enflamatuar reaksiyonlara sebep olabileceklerini ve sığır kaynaklı biyolojik membranlardan bovin spongiform ensefalopati bulaşma riski olduğunu belirtmişler ve yumurta kabuk zarının zoonotik etken taşımamasına dikkat çekmişlerdir.

Yapılan literatür taramasında devekuşu yumurta kabuk zarının yara örtü materyali olarak kullanıldığı çalışmaların çok az sayıda olduğu görüldü. Ayrıca yapılan çalışmalarda devekuşu yumurta kabuk zarının oral mukoza yaralarındaki örtü materyali olarak etkinliğinin değerlendirilmediği gözlendi. Bu nedenle bu çalışmada devekuşu yumurta kabuk zarının oral mukoza yaralarındaki etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlandı. Ayrıca yara örtü materyali olarak en çok tercih edilen kollajen membranla karşılaştırılarak; yara kapanma oranı, epitel ve keratin tabaka kalınlıkları, bazal membranda retiküler iplik devamlılığı, kollajen ve elastik iplik oranları gibi parametreler incelendi.

Araştırmacılar yumurta kabuk zarına istenen şeklin verilmesi, büyüklük ve kalınlığının ayarlanmasındaki güçlüklerin elimine edilmesi ve adezyon ve dayanıklılığının arttırılmasına yönelik farklı işlemlerle muamele edildikten sonra kullanılması üzerinde durmuşlardır (Yi ve ark 2003, Yi ve ark 2004). İşlenmemiş yumurta kabuğu zarı, yapısındaki disülfid çapraz bağlardan dolayı çözünme

özelliğine sahip değildir. Ayrıca toksisiteye neden olan ajanlar içerir. Bu olumsuzlukları ortadan kaldırmak için yapılan bir çalışmada, zardan toksik olmayan solventlerde çözünen fakat suda çözünmeyen bir yumurta kabuk zarı proteini elde edilmiştir. Araştırıcılar, bu çözünebilir zar proteinin doğal bir biyomateryal olarak kullanılabileceğini savunmuşlardır (Yi ve ark 2003).

Yi ve ark (2007), yumurta kabuk zarını 3-merkaptopropionik asit ve asetik asit ile muamele ederek yine çözünür yumurta kabuk zarı proteini elde etmişlerdir. Bu zar proteininin, Escherichia coli süspansiyonunda tutularak antibakteriyel özelliği ve tripsinle muamele edilerek de biyobozunurluğu test edilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre; çözünür zar proteini 3-merkaptopropionik asit ve asetik asitin neden olduğu yapısal değişikliklere bağlı olarak doğal yumurta kabuk zarının antibakteriyel özelliğini koruyamamıştır. Fakat tripsinle yapılan enzimatik deneyler göstermiştir ki doğal zarın biyobozunurluğu çözünür yumurta kabuk zarı proteininde korunmuştur.

Yapılan başka bir araştırmada zar, esneklik ve dayanıklılığını arttırmak için %2,5'lik glutaraldehidle muamele edilmiştir (Yang ve ark 2003, Tembe ve ark 2008). Durmuş ve ark (2003), devekuşu yumurta zarını benzer şekilde glutaraldehid veya tripsin çözeltilerinde bekleterek kullanmışlardır. Bu çalışmada bu model örnek alınarak devekuşu yumurta kabuk zarları, I. deney grubunda %2,5'lik glutaraldehidle 48 saat süreyle tespit edildi. II. deney grubunda ise kullanılan zarlar tripsinin sudaki çözeltisinde (10 ml, 2500 U/mL) 37ºC'de bir gece tüp çalkayıcıda çalkalanarak inkübe edildi.

İşlenmemiş tavuk yumurta zarına hücre adezyonunun zayıf olduğu gösterilmiştir. Otoklavizasyon ise iyi bir adezyon sağlamıştır. Araştırmacılar işlenmemiş formdaki kabuk zarında hücre tutunmasını engelleyen bir madde olabileceğini ve bunun otoklavla sterilizasyon işlemi sonrası inaktive olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Yi ve ark 2007). Diğer yandan bazı araştırmacılar tavuk veya devekuşu yumurta kabuk zarını etilen oksitle steril etmeyi tercih etmişlerdir (Durmuş ve ark 2003, Arias ve ark 2008). Bu çalışmada I. deney grubunda yara bölgelerine

uygulanan zar otoklav, II. deney grubunda yara bölgelerine uygulanan zar ise etilen oksitle steril edildi.

Devekuşu yumurta kabuk zarlarının farklı işlemlere maruz bırakılan formlarının palatinal mukoza yaralarının iyileşmesi üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bu çalışmada, mukozal yara iyileşmesinin değerlendirildiği çalışmalarda deney hayvanı olarak sıklıkla kullanılan tavşan tercih edildi (Grigor'ian ve ark 2006, Rinastiti ve ark 2006, Bornstein ve ark 2011, Lis ve ark 2012). Bakım ve beslenmesinin kolay olması, uygulamanın ve klinik takiplerin rahat yapılabilmesine izin vermesi tavşan kullanımının avantajları arasındadır. Swennen ve ark (2002), tavşan modelinin insanlara benzer sert ve yumuşak doku cevabı verdiğini bildirirken, Lis ve ark (2012) tavşan modelinin oral mukoza rejenerasyonunu etkileyen çeşitli faktörlerin araştırılmasında sıklıkla kullanıldığını belirtmişlerdir. Daha önceki çalışmalar esas alınaran bu çalışmada her grupta beş tavşan olacak şekilde, tavşanların palatinal mukozalarında 4 mm çapta deneysel yaralar oluşturulmuştur (Al Ruhaimi 2001, Wang ve ark 2002, Beurden ve ark 2006, Rinastiti ve ark 2006, Jiang ve ark 2009).

Kollajen, retiküler ve elastik iplikler bağ dokusunun fibriler yapılarıdır (Ataoğlu ve Gürsel 1999). Bu iplik tipleri farklı fiziksel ve kimyasal özellikleri sayesinde özel histokimyasal metodlarla boyanarak dokular içerisinde mikroskobik düzeyde gösterilebilir. Bu çalışmada 7., 14. ve 21. günlerde alınan kesitler, Crossman'ın üçlü boyası, Hematoksilen Eozin boyası, Gordon ve Sweet'in retiküler iplik boyası ve Verhoeff'un elastik iplik boyası ile boyanarak, bağ dokusu iplikleri, epitel ve keratin kalınlıkları histolojik olarak değerlendirildi (Culling ve ark 1985, Bradbury ve Gordon 1990, Ushiki 1992, Kiernan 1994, Ushiki 2002, Arias ve ark 2008).

Broughton ve ark (2006), yara iyileşmesi üzerine yayınladıkları bir makalede hemostaz ve inflamatuar fazın yaralanmadan hemen sonra başlayarak 4-6 gün kadar, proliferatif fazın ise yaralanmadan sonraki 4. gün başlayıp 14. güne kadar devam ettiğini belirtmişlerdir. Sumi ve ark (1999), iyileşmenin önemli bir göstergesi olan

epitelizasyonun yaralanmadan sonraki 2-3 hafta içerisinde tamamlandığını bildirmişlerdir. Yara iyileşmesinin değerlendirildiği birçok çalışmayla uyumlu olarak bu çalışmada da, inflamatuar fazın sona erdiği, kollajen sentezinin artış gösterdiği ve epitelizasyonun başlayarak reepitelizasyonun tamamlandığı 7., 14. ve 21. günlerde histolojik kesit alınması tercih edildi (Kahnberg ve Thilander 1987, Bodner ve ark 1992, Al-Khateeb ve ark 1996, Kozlovsky 2007).

Lis ve ark (2012), tavşan modeli üzerinde yara iyileşmesini değerlendirdikleri bir çalışmada oluşturdukları oral mukoza yaralarını deney gruplarının birinde otojen keratinosit kültüre greftle, diğerinde fibrin yapıştırıcıyla kapatmışlardır. Kontrol grubunda ise yaraları sekonder iyileşmeye bırakmışlardır. Çalışmada 7. günde alınan kesitlerin histolojik görüntüleri incelendiğinde grupların hiçbirinde yara bölgesinde epitelizasyon gözlenmemiştir. Ayvazyan ve ark (2011), farklı oranlarda fibroblast büyüme faktörü emdirilmiş kollajen jelatin süngerler ile normal salin solüsyonu emdirdikleri kollajen jelatin süngerlerin köpeklerin palatinal bölgelerinde oluşturdukları deneysel yaraların iyileşmesindeki etkilerini karşılaştırmışlardır. Birinci haftanın sonunda alınan histolojik kesitlerin dijital görüntüleri yara bölgesinde epitelin olmadığını göstermiştir. İkinci haftada ise yara yüzeyinde epitelizasyon oluşmuştur. Araştırmamızda da benzer şekilde 7. gün yapılan incelemede hiçbir grupta epitelizasyon ve dolayısıyla keratinizasyon gözlenmedi.

Wara-aswapati ve ark (2001), yaş ve cinsiyet faktörlerinin palatinal mukoza kalınlığına etkilerini inceledikleri çalışmalarında epitel kalınlığını periodontal sondla yaptıkları 15 ölçümün ortalamasını alarak hesaplamışlardır. Lee ve ark (2010), epitel kalınlığını aldıkları kesitlerde histomorfometrik yöntemle belirlemişler ve histolojik kesitteki tüm epitelyal rete-peg bölgelerinden yapılan ölçümlerin ortalamasını alarak hesaplamışlardır. Bu çalışmada direkt ölçüm yapmaya izin verecek büyüklükte bir yara alanı bulunmamaktadır. Bu sebeple epitel ve keratin kalınlığı ölçümleri alınan histolojik kesitlerde histomorfometrik analiz yoluyla yapıldı ve 15 ölçümün ortalaması alınarak belirlendi. Epitelizasyonun kontrol ve deney gruplarında 14. günde büyük oranda oluştuğu görüldü. 21. günde epitel kalınlığı ortalamaları üç grupta da arttı fakat 14. ve 21. günler arasındaki bu fark istatistiksel olarak önemli değildi ($p>0,05$). Keratin kalınlığı benzer şekilde ölçülerek değerlendirildiğinde kollajen membran uygulanan yaralar, otoklavize devekuşu yumurta kabuk zarı

uygulananlara göre daha fazla bir keratin kalınlığıyla iyileşti. Ayrıca keratin kalınlığı I.deney grubunda 14. ve 21. günler arasında önemli bir fark gösterdi ($p<0,05$) ve 21. günde daha yüksekti.

Samandari ve ark (2004), yaptıkları bir çalışmada rete-peg formasyonunun ikinci haftada görülmeye başlandığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada da grupların hepsinde ikinci hafta rete-peg izlenmesi bu görüşü desteklemektedir. 14. gün alınan örneklerde mikroskobik papillaların boylarının çok kısa ve az sayıda olduğu görüldü. 21. günde epitelizasyonun tamamlanması ve daha matür epitel varlığı, rete-peglerin daha uzun olması ve homojen dağılımıyla paralellik gösterdi. Bu bulgular literatür bulgularını destekler niteliktedir (Soehren ve ark 1973, Edel ve Faccini 1977, Akpınar 1995).

Winning ve Townsend (2000), oral mukoza embriyolojisi ve histolojisi konusunda yayınladıkları makalelerinde epitel ve bağ dokusu arasında retiküler laminanın retiküler iplik ağları tarafından şekillendirildiği için bu ismi aldığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada diğer kaynak bilgilerde de belirtildiği şekilde 14. ve 21. günlerde bazal membran boyunca retiküler iplikler sıralanmıştır (Kvam 1973, Ataoğlu ve Gürsel 1999). 14. ve 21. günlerde retiküler laminanın kopuntusuz seyretmesi ve epitel oluşumu paralellik gösterir. Zira bazal membran devamlılığı söz konusu olmadığında epitelin morfolojik gelişimi ve bağ dokusuna bağlanması beklenemez (Neufeld ve Aulthouse 1986, Chung ve ark 1997, Colley ve ark 2011). Bazal membran antijeni içeren ve içermeyen yara örtü materyallerinin yanık tedavilerindeki etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada, 3 haftalık değerlendirme sonucunda bazal membran antijeni içeren yara örtü materyali ile epitelyal hücre ataşmanının ve epitel tabaka morfolojik gelişiminin daha iyi olduğu sonucuna varılmıştır (Ralston ve ark 1999).

Rinanstiti ve ark (2006), yaptıkları bir çalışmada organize olmamış ve olgunlaşmamış kollajen liflerin 10. günde görüldüğünü belirtmişlerdir. Araştırmacılara göre kollajen lif yoğunluğu 3. günden başlayarak 10.güne kadar artış

göstermiştir. Fırat (1996), ratlarda açık yara modellerine uygulanan eksojen kollajen petlerin yara iyileşmesi üzerine etkilerini araştırdığı çalışmasında yaradaki kollajen miktarının 14. günde artışının dikkat çekici olduğunu bildirmiştir. 21. günde aldığı kesitlerin histolojik incelenmesinde kollajen miktarının 14. güne göre artış gösterdiğini ve epitelizasyonun tamamlandığını bulmuştur. Bu çalışmada kollajen lif oranlarına ait sonuçlar karşılaştırıldığında önceki çalışmalarla uyumludur. Tüm gruplarda 14. gün kollajen iplik oranları, 7. gün kollajen iplik oranlarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak önemli bir artış gösterdi ($p<0,05$). 21. gündeki kollajen iplik oranları, 14. gündeki oranlardan daha yüksek olmakla birlikte bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmadı ($p>0,05$).

Yara iyileşmesi sürecinde bağ dokusundaki elastik iplik oranları açısından üç farklı materyal arasında önemli bir fark yoktu ($p>0,05$). Kontrol grubunda 21. günde, 7. güne kıyasla elastik iplik oranlarının daha yüksek olduğu görüldü. I. deney grubunda önemli bu fark, 21. günde 7. ve 14. günden yüksek olacak şekilde mevcuttu ($p<0,05$). II. deney grubunda elastik lif oranları iyileşme süreci boyunca arttı fakat günler arasındaki bu artış önemli bulunmadı ($p>0,05$). Yoshimura ve ark (2005) yayınladıkları makalede elastik ipliklerin sağlıklı bağ dokusunda lamina propriada homojen bir dağılım gösterdiklerini belirtmişlerdir. Elastik iplikler doku elastikiyetini belirlerler. Elastik iplik değişikliklerinin yaşa ya da travmaya bağlı oluşabileceği rapor edilmiştir (Tosios ve ark 2010). Verhoeff'un elastik iplik boyasında siyah lifler şeklindeki boyanma matür elastik iplik boyanması olarak kabul edilmiştir (Temeltaş 2010). Bu çalışmada her üç materyal için de alınan histolojik kesitlerde siyah boyanan elastik liflerin 21. günde, 7. ve 14. günden daha homojen bir dağılım gösterdikleri görüldü.

Nagase ve ark (1989), subperiosteal implante ettikleri kollajenin bir hafta sonra büyük bir kısmının rezorbe olduğunu belirtirken Saygı (1990) yaptığı araştırmada 7. günde kollajen materyalinin kısmen rezorbe olduğunu ifade etmiştir. Membran rezorbsiyonundaki farklılıklar membranın yapısal özelliklerine veya tükürük içerisindeki bakteriyel enzimlerle temasa bağlı olabilir (Urbani ve ark 1997). Akpınar (1995), yaptığı çalışmada palatinal mukozaya yerleştirdiği kollajen membranın bir hafta sonraki histopatolojik tetkikinde materyal kalıntılarının varlığını

bildirmiştir. Bu çalışmada da kontrol grubunda yara yüzeyine yerleştirdiğimiz kollajen membran, 7. günde benzer şekilde histolojik kesitlerde izlendi.

Owens ve Yukna (2001) üç farklı kollajen membranın 1., 2., 3. ve 4. aylardaki rezorbsiyonlarını değerlendirmişlerdir. Bu çalışmaya göre 1. ayda kullanılan üç farklı kollajen membranın da zayıf rezorbsiyon gösterdiği, 2. ayda orta düzeyde bir rezorbsiyonun varlığı, 3. ayda tamamına yakının rezorbe olduğu ve 4. ayda ise tamamen rezorbsiyonun gerçekleştiği belirtilmiştir. Durmuş ve ark (2003), bu çalışmaya dayanarak farklı işlemler uyguladıkları devekuşu yumurta kabuk zarlarının kollajen membrana kıyasla daha yavaş rezorbe olduğunu göstermişlerdir. Yaptıkları çalışmada 3. ayın sonunda aldıkları kesitlerde devekuşu yumurta kabuk zarlarının sınırlı rezorbsiyonunu bildirmişlerdir. Uyguladıkları glutaraldehitin zarın sertliğini arttırdığını fakat biyobozunurluğunu yavaşlattığını yayınlamışlardır. Tripsinle muamele sonucu ise protein denaturasyonuna bağlı olarak rezorbsiyonun hızlandığını bulmuşlardır. Bu çalışmada daha önce yapılan araştırma ile uyumlu olarak kontrol grubunda kullanılan kollajen membranlar, I.deney grubunda kullanılan glutaraldehitte tespit edilen zarlara göre daha ileri rezorbsiyon gösterdiler. Fakat farklı olarak 21. günde en zayıf rezorbsiyon tripsinle muamele edilen zarların kullanıldığı II. deney grubunda izlendi.

In de Braekt ve ark (1992), av köpeklernde poli-(L-Laktik) asit membran uygulanan cerrahi sahaların indirekt teknikle fotoğraflarını çekmişler ve palatinal cerrahi sonrası yara iyileşmesi ve yara kontraksiyonunu bu fotoğraflarda yapılan ölçümlerle değerlendirmişlerdir. Sert damak tam kalınlık oluşturulan yara bölgesinin kontraksiyonunu ölçmeyi amaçlayan bir diğer deneysel çalışmada da polaroid fotoğraflar çekilmiş ve tatu yardımıyla bölgeler arası mesafeler ölçülmüştür (Bishara ve ark 1986). Akpınar (1995), çalışmasında fotoğraf tekniğini kullanmış fakat palatinal bölgenin anatomik yapısı nedeniyle görüntüleme zorluğu ve farklı günlerde standart fotoğraf elde etme güçlüğüyle karşılaştığını belirtmiştir. Bu çalışmada klinik bulguları desteklemek için hayvanların sakrifikasyonundan sonra yara bölgelerinin kumpasla direkt fotoğrafları çekildi. Görüntü analiz programında her fotoğrafta kumpas üzerindeki milimetrik değerlerle kalibrasyon yapılarak yara alanları ölçüldü.

Ayvazyan ve ark (2011), yaptıkları çalışmada kollajen jelatin süngerlere emdirdikleri farklı solüsyonlarla yara iyileşmesini değerlendirmişler ve birinci haftada hiçbir grupta yaraların kapanmadığını, ikinci haftada ise sadece fibroblast büyüme faktörü emdirilmiş membran uygulanan gruptaki yaraların tamamen iyileştiğini göstermişlerdir. Çalışmamız sonucunda birinci haftada hiçbir grupta yara alanları kapanmadı. Hatta kontrol ve II. deney gruplarında birer tavşanda yara alanlarının genişlediği fark edildi. İkinci haftada büyük oranda yaraların kapandığı görülürken, 3. haftada kontrol grubunda bir, II. deney grubunda iki tavşan dışında yaraların tamamen kapandığı gözlendi.

Bu çalışmada devekuşu yumurta kabuk zarının farklı işlemlere maruz bırakılan formlarının deneysel olarak oluşturulan oral mukoza yaralarının iyileşmesi üzerindeki etkileri; klinik, histolojik ve histomorfometrik yöntemlerle araştırılmış ve kontrol grubunda kullanılan kollajen membranla karşılaştırıldığında birçok parametrede fark olmadığı bulunmuştur. Günümüzde en çok tercih edilen yara örtü materyali olmasına rağmen kollajen membranın maliyetinin yüksek olması ve düşük de olsa hastalık taşıma riski önemli dezavantajlardır. Yara örtü materyallerine alternatif olabilecek ve hiçbir zoonotik etken taşımayan devekuşu yumurta kabuk zarının mukoza defektlerinin kapatılmasında yarayı örtmek amaçlı kullanılabileceği ve araştırmalarda yer alabilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu görüşündeyiz.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Operasyon sırasında farklı işlemler uygulanmış devekuşu yumurta kabuk zarlarının, kollajen membrana kıyasla bölgeye uygulanabilirliğinin daha kolay olduğu görüldü. Deney gruplarında kontrol grubuna göre daha çok fiksasyon problemiyle karşılaşıldı. Operasyon sonrası iyileşme süresi boyunca hiçbir grupta enfeksiyon bulguları ve materyale karşı doku reddi reaksiyonu görülmedi.

2. Yara bölgelerinin dijital fotoğrafları görüntü analiz programıyla değerlendirildiğinde gruplar arasında yara kapanma oranları açısından 7., 14. ve 21. günlerde istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadı.

3. 7. günde her üç grupta da materyallerin neredeyse tamamına yakınının rezorbe olmaksızın yara sahasında bulunduğu tespit edildi. Kollajen membranın farklı işlemler uygulanmış devekuşu yumurta kabuk zarlarına göre daha hızlı rezorbe olduğu görüldü. En zayıf rezorbsiyonu tripsinle muamele edilip etilen oksit sterilizasyonu yapılan zarın kullanıldığı II. deney grubu gösterdi.

4. Kontrol ve deney gruplarının hiçbirinde 7. günde epitel ve dolayısıyla keratin oluşumu izlenmedi. 14. ve 21. günlerde epitel kalınlıkları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadı. Gruplar ayrı ayrı değerlendirildiğinde ise epitel kalınlıkları açısından 14. ve 21. günler arasında fark yoktu. 14. günde kontrol grubundaki keratin kalınlığı, I. deney grubundaki keratin kalınlığından istatistiksel açıdan önemli bir farkla daha fazlaydı. 21. günde ise gruplar arasında keratin kalınlıkları açısından istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmadı.

5. Gruplar arasında kollajen ve elastik iplik oranları açısından 7., 14. ve 21. günlerde istatistiksel olarak önemli bir fark olmamakla beraber kollajen iplik oranları tüm gruplarda 14. günde dikkat çekici bir artış gösterdi.

6. Gordon ve Sweet'in retiküler iplik boyası yapılan kesitler incelendiğinde 7. günde retiküler lamina kopuntulu seyrederken, 14. ve 21. günlerde retiküler laminanın kopuntusuz bir şekilde seyrettiği belirlendi.

Bu çalışmada devekuşu yumurta kabuk zarının farklı işlemlere maruz bırakılan formlarının deneysel olarak oluşturulan oral mukoza yaralarının iyileşmesi üzerindeki etkileri; yara örtü materyali olarak en çok tercih edilen kollajen membranla karşılaştırılarak klinik, histolojik ve histomorfometrik yöntemlerle incelendi ve birçok parametrede fark olmadığı bulundu.

Kollajen membranın yurt dışından temin edilmesi ve maliyetinin yüksek olması göz önünde bulundurulursa ülkemiz koşullarında temin edilebilecek biyolojik materyallerin geliştirilmesinin ekonomiye katkı sağlayacağını düşünmekteyiz. Kollajen membranın düşük de olsa hastalık taşıma riskine karşın, hiçbir zoonotik etken taşımayan devekuşu yumurta kabuk zarı mukozal defektlerin kapatılmasında yarayı korumak ve iyileşmeyi desteklemek amaçlı kullanılabilir. Zarın yara örtü materyali olarak kullanılması üzerine literatür bilgileri kısıtlı olduğu için bu anlamda çalışmamız temel oluşturacaktır. Fakat devekuşu yumurta kabuk zarının klinik araştırmalarda yer alabilmesi için farklı süre ve çalışma gruplarını içeren ve fiksasyon problemlerinin elimine edildiği daha fazla çalışmayla desteklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

6. ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Devekuşu Yumurta Kabuk Zarının Tavşanlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Palatinal Mukoza Yaralarının İyileşmesi Üzerindeki Etkisinin Değerlendirilmesi

Ayşe SELÇUK

AĞIZ, DİŞ ve ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ / KONYA – 2013

Bu çalışmanın amacı, devekuşu yumurta kabuk zarının farklı işlemlere maruz bırakılan formlarının tavşanlarda deneysel olarak oluşturulan palatinal mukoza yaralarının iyileşmesi üzerindeki etkisini klinik, histolojik ve histomorfometrik yöntemlerle değerlendirmektir.

Beş aylık, 45 adet beyaz Yeni Zelanda tavşanı çalışmaya dahil edildi. Hayvanlar her birinde 15'er hayvan bulunan kontrol, I. deney ve II. deney grubu olmak üzere üç gruba ayrıldı. Genel anestezi altında palatinal bölgede oluşturulan yaralar, I. deney grubunda glutaraldehidle tespit edilip otoklav yardımıyla steril edilen devekuşu yumurta kabuk zarlarıyla, II. deney grubunda tripsinin sudaki çözeltisinde inkübe edilen ve etilen oksit sterilizasyonu yapılan devekuşu yumurta kabuk zarlarıyla, kontrol grubunda ise kollajen membranla kapatıldı. Her bir gruptaki beşer tavşanın yara bölgelerinden 7., 14. ve 21. günlerde doku örnekleri alındı. Hematoksilen eozin, Crossman'ın üçlü boyası, Gordon ve Sweet'in retiküler iplik boyası ve Verhoeff'un elastik iplik boyası ile boyanan kesitlerde materyalin rezorbsiyonu, doku reddi reaksiyonunun gelişip gelişmediği, retiküler ipliklerin bazal membrandaki devamlılığı, elastik ve kollajen iplik oranları, epitel ve keratin kalınlıkları belirlendi. Yara bölgelerinden sakrifikasyondan sonra alınan dijital fotoğraflar, görüntü analiz programıyla değerlendirilerek yara kapanma oranları incelendi. İstatistiksel analiz için One- Way ANOVA, Mann Whitney-U, Kruskal-Wallis ve Tukey testleri yapıldı.

Çalışmanın sonunda, II. deney grubundaki bir tavşan anesteziye bağlı kaybedildi. Gruplar arasında yara kapanma oranları açısından 7., 14. ve 21. günlerde istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Kollajen membranın devekuşu yumurta kabuk zarlarına göre daha hızlı rezorbe olduğu görüldü. Hiçbir grupta 7. günde bazal membranda retiküler iplik devamlılığı ve epitel oluşumu izlenmedi. 14. ve 21. günlerde epitel kalınlıkları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). 14. günde kontrol grubundaki keratin kalınlığı I. deney grubundakine göre istatistiksel olarak önemli bir farkla daha fazlayken ($p<0,05$), 21. günde gruplar arasında fark yoktu ($p>0,05$). Kollajen ve elastik iplik oranlarında 7., 14. ve 21. günlerde istatistiksel olarak önemli bir fark olmamakla beraber kollajen iplik oranları tüm gruplarda 14. günde dikkat çekici bir artış gösterdi. Hiçbir grupta materyale karşı olumsuz bir reaksiyon gelişmedi.

Bu çalışmanın sınırları içinde düşük maliyetli ve hiçbir zoonotik etken taşımayan devekuşu yumurta kabuk zarlarının mukozal defektlerin kapatılmasında alternatif bir yara örtü materyali olabileceği öne sürülebilir.

Anahtar Sözcükler: devekuşu yumurta kabuk zarı; kollajen membran; yara iyileşmesi; yara örtü materyali.

7. SUMMARY

Evaluation of the Effects of Ostrich (Struthio Camelus) Eggshell Membrane on Healing of Experimentally Induced Palatal Mucosa Wounds in the Rabbits

The aim of this study was to evaluate clinically, histologically and histomorphometrically the effects of different forms of ostrich eggshell membrane on healing of experimentally induced palatal mucosa wounds in the rabbits.

Forty five, 5-month old new Zealand rabbits were included in this study. Under general anaesthesia, palatal gingival wounds were created and rabbits were divided into three equal groups. Wounds covered by the ostrich eggshell membranes which were fixed in glutaraldehyde and were sterilized using an autoclave for experimental group I, by the ostrich eggshell membranes which were digested in trypsin and were sterilized using ethylene oxide for experimental group II and by the collagen membrane for control group. Gingival biopsies were taken at days 7, 14 and 21 and stained with Hematoxylin Eosin stain, Crossman's triple stain, Verhoeff's Elastic Stain, Gordon and Sweet's reticulin stain. The resorption of the material, tissue rejection, the percentage of wound closure, continuity of reticular fibers on the basement membrane, rates of elastic and collagen fibers, thickness of the epithelial and keratin layers were determined. One- Way ANOVA, Mann Whitney-U, Kruskal-Wallis and Tukey tests were used for the statistical analysis.

At the end of the study, one rabbit died due to anesthesia in the experimental group II. The results showed that the continuity of reticular fibers on the basement membrane and the epithelial layer were not yet consisted in both control and experimental groups on the 7^{th} day. Ostrich eggshell membranes degrade more slowly than collagen membranes. The percentage of wound closure of the ostrich eggshell membranes applied areas in both experimental groups, compared with the collagen membrane applied areas, were not statistically significant at days 7, 14 and 21 ($p>0,05$). There was no statistically significant differences for thickness of the epithelial layer at day 14 and 21 ($p>0,05$). Thickness of the keratin layer in control group was higher than the thickness in experimental group I at day 14. There was no statistically significant differences for rates of collagen and elastic fibers at day 7, 14 and 21 ($p>0,05$). Higher levels of collagen fiber rates were found at day 14 in all groups. Finally, no infection or rejection developed during healing.

Within the limits of this study, the ostrich eggshell membrane which has no zoonotic effects and low cost, may be an alternative dressing material for mucosal wounds.

Key words: collagen membrane; ostrich eggshell membrane; wound dressing material; wound healing.

8. KAYNAKLAR

1. Abbenhaus JI, MacMahon RA, Rosenkrantz JG, Paton BC. Collagen sheets as a dressing for large excised areas. Surg Forum. 1965;16:477-8.

2. Abraham DJ, Shiwen X, Black CM, Sa S, Xu Y, Leask A. Tumor necrosis factor alpha suppresses the induction of connective tissue growth factor by transforming growth factor-beta in normal and scleroderma fibroblasts. J Biol Chem. 2000;275:15220–5.

3. Adds PJ, Hunt C, Hartley S. Bacterial contamination of amniotic membrane. Br J Ophthalmol. 2001;85:228–30.

4. Ahlborn GJ, Clare DA, Sheldon BW, Kelly RW. Identification of eggshell membrane proteins and purification of ovotransferrin and β-NAGase from hen egg white. Protein J. 2006;25(1):71–81.

5. Akagawa M, Wako Y, Suyama K. Lysyl oxidase coupled with catalase in egg shell membrane. Biochim Biophys Acta. 1999;1434(1):151–160.

6. Akpınar F. Kollajen ve Okside Selluloz Membranların Palatinal Donör Sahaların İyileşmesine Etkileri ve Antibakteriyel Aktiviteleri. Konya, Selçuk Üniversitesi, Doktora Tezi, 1995.

7. Akturk O, Tezcaner A, Bilgili H, Deveci MS, Gecit MR, Keskin D. Evaluation of sericin/collagen membranes as prospective wound dressing biomaterial. J Biosci Bioeng. 2011 Sep;112(3):279-88.

8. Alexander JM, Rabinowitz JL. Microfibrillar collagen (Avitene) as a hemostatic agent in experimental oral wounds. J Oral Surg. 1978 Mar;36(3):202-5.

9. Al-Khateeb TL, Marouf HA, Anwar MM. Modified bovine type I collagen membrane as a wound graft material in oral surgery (an experimental study). J Ir Dent Assoc. 1996;42(3):46-50.

10. Al Ruhaimi KA. Closure of palatal defects without a surgical flap: an experimental study in rabbits. J Oral Maxillofac Surg. 2001 Nov;59(11):1319-25.

11. Alviano F, Fossati V, Marchionni C, Arpinati M, Bonsi L, Franchina M, et al. Term amniotic membrane is a high throughput source for multipotent mesenchymal stem cells with the ability to differentiate into endothelial cells in vitro. BMC Dev Biol. 2007;7:11.

12. Anderson SB, de Souza RF, Hofmann-Rummelt C, Seitz B. Corneal calcification after amniotic membrane transplantation. Br J Ophthalmol. 2003 May;87(5):587-91.

13. Andrade PF, Souza SL, Oliveira Macedo G, Novaes AB Jr, Moraes Grisi MF, Taba M Jr, Palioto DB. Acellular dermal matrix as a membrane for guided tissue regeneration in the treatment of Class II furcation lesions: a histometric and clinical study in dogs. J Periodontol. 2007 Jul;78(7):1288-99.

14. Arai N, Tsuno H, Okabe M, Yoshida T, Koike C, Noguchi M, Nikaido T. Clinical application of a hyperdry amniotic membrane on surgical defects of the oral mucosa. J Oral Maxillofac Surg. 2012 Sep;70(9):2221-8.

15. Arias JL, Carrino DA, Fernández MS, Rodríguez JP, Dennis JE, Caplan AI. Partial biochemical and immunochemical characterization of avian eggshell extracellular matrices. Arch Biochem Biophys. 1992 Oct;298(1):293-302.

16. Arias JL, Fink DJ, Xiao SQ, Heuer AH, Caplan AI. Biomineralization and eggshells: cell-mediated acellular compartments of mineralized extracellular matrix. Int Rev Cytol. 1993;145:217-50.

17. Arias JL, Nakamura O, Fernández MS, Wu JJ, Knigge P, Eyre DR, Caplan AI. Role of type X collagen on experimental mineralization of eggshell membranes. Connect Tissue Res. 1997;36(1):21-33.

18. Arias JI, Gonzalez A, Fernandez MS, Gonzalez C, Saez D, Arias JL. Eggshell membrane as a biodegradable bone regeneration inhibitor. J Tissue Eng Regen Med. 2008 Jun;2(4):228-35.

19. Aroca S, Keglevich T, Barbieri B, Gera I, Etienne D. 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 Periodontol. 2009 Feb;80(2):244-52.

20. Arslan MK. Yara iyilesmesi ve iyilesmeyi etkileyen faktörler. In: Arslan MK, editor. Akut ve Kronik Yara Bakımı, Ankara, Nobel Tıp Kitapevleri, 2003;9-33.

21. Ataoğlu T, Gürsel M. Periodontoloji. 3. Baskı, Konya, Bahçıvanlar Basım ve Sanayi A.Ş. 1999;3-8.

22. Atiyeh BS, Hayek SN, Gunn SW. New technologies for burn wound closure and healing review of the literature. Burns. 2005;31:944–56.

23. Aukhil I, Pettersson E, Suggs C. Guided tissue regeneration. An experimental procedure in beagle dogs. J Periodontol. 1986.

24. Avtan L, Hazar H,Arıcı C, Tuzlalı S, Avcı C. Eksperimental yara iyileşmesinde eksojen kaynaklı kollagenin in vivo etkisinin çift kör kontrollü araştırılması. Ulusal Cerrahi Dergisi. 1996;3(12):175-180.

25. Ayvazyan A, Morimoto N, Kanda N, Takemoto S, Kawai K, Sakamoto Y, Taira T, Suzuki S. Collagen-gelatin scaffold impregnated with bFGF accelerates palatal wound healing of palatal mucosa in dogs. J Surg Res. 2011 Dec;171(2):e247-57.

26. Babu HM, Gujjari SK, Prasad D, Sehgal PK, Srinivasan A. Comparative evaluation of a bioabsorbable collagen membrane and connective tissue graft in the treatment of localized gingival recession: A clinical study. J Indian Soc Periodontol. 2011 Oct;15(4):353-8.

27. Baker JR, Balch DA. A study of the organic material of hen's-egg shell. Biochem J. 1962;82:352–61.

28. Balasubramani M, Kumar TR, Babu M. Skin substitutes: a review. Burns. 2001 Aug;27(5):534-44.

29. Baradaran-Rafii A, Aghayan HR, Arjmand B, Javadi MA. Amniotic membrane transplantation. Iran J Ophthalmic Res. 2007;2:58–75.

30. Barbul A, Purtill WA. Nutrition in wound healing. Clin Dermatol. 1994 Jan-Mar;12(1):133-40.

31. Barrett AW, Beynon AD. A histochemical study on the distribution of melanin in human oral epithelium at six regional sites. Arch Oral Biol. 1991;36:771–74.

32. Barrett AW, Cruchley AT, Williams DM. Oral mucosal Langerhans' cells. Crit Rev Oral Biol Med, 1996;7(1):36-58.

33. Bartee BK. The use of high-density polytetrafluoroethylene membrane to treat osseous defects: clinical reports. Implant Dent. 1995 Spring;4(1):21-6.

34. Bartold PM. Turnover in periodontal connective tissues: dynamic homeostasis of cells, collagen and ground substances. Oral Dis, 1995 Dec;1(4):238-53.

35. Baum BJ, Mooney DJ. The impact of tissue engineering on dentistry. J Am Dent Assoc. 2000 Mar;131(3):309-18.

36. Becker J, Neukam FW, Schliephake H. Restoration of the lateral sinus Wall using a collagen type I membrane for guided tissue regeneration. Int J Oral Maxillofac Surg. 1992 Aug;21(4):243-6.

37. Beghé F, Menicagli C, Neggiani P, Zampieri A, Trallori L, Teta E, Rosini S. Lyophilized non-denatured type-I collagen (Condress) extracted from bovine Achilles' tendon and suitable for clinical use. Int J Tissue React. 1992;14 Suppl:11-9.

38. Benson KF, Ruff KJ, Jensen GS. Effects of natural eggshell membrane (NEM) on cytokine production in cultures of peripheral blood mononuclear cells: increased suppression of tumor necrosis factor-α levels after in vitro digestion. J Med Food. 2012 Apr;15(4):360-8.

39. Bernstein EF, Sullivan FJ, Mitchell JB, Salomon GD, Glatstein E. Biology of chronic radiation effect on tissues and wound healing. Clin Plast Surg. 1993 Jul;20(3):435-53.

40. Bernstein JM, Reddy M. Bacteria-mucin interaction in the upper aerodigestive tract shows striking heterogeneity: implications in otitis media, rhinosinusitis, and pneumonia. Otolaryngol Head Neck Surg. 2000 Apr;122(4):514-20.

41. Bertolami CN, Ellis DG, Donoff RB. Healing of cutaneous and mucosal wounds grafted with collagen-glycosaminoglycan/silastic bilayer membranes: a preliminary report. J Oral Maxillofac Surg. 1988 Nov;46(11):971-8.

42. Bessho K, Murakami K, Iizuka T. The use of a new bilayer artificial dermis for vestibular extension. Br J Oral Maxillofac Surg. 1998 Dec;36(6):457-9.

43. Beurden HE, Snoek PA, Hoff JW, Torensma R, Maltha JC, Kuijpers-Jagtman AM. In vitro migration and adhesion of fibroblasts from different phases of palatal wound healing. Wound Repair Regen. 2006 Jan-Feb;14(1):66-71.

44. Bhola M, Newell DH, Hancock EB. Acellular dermal allograft for vestibuloplasty--an alternative to autogenous soft tissue grafts in preprosthetic surgical procedures: a clinical report. J Prosthodont. 2003 Jun;12(2):133-7.

45. Bishara SE, Zeitler DL, Kremenak CR. Effects of a fibrin-sealant wound dressing on the healing of full-thickness wounds of the hard palate: preliminary report. Cleft Palate J. 1986 Apr;23(2):144-52.

46. Bloom W, Fawcett DW. A Textbook of Histology. Ninth Ed. Philadelphia, W.B Saunders Company,1968.

47. Blumenthal NM. The use of collagen membranes for guided tissue regeneration. Compendium. 1992 Mar;13(3):214-18.

48. Blumenthal NM. A clinical comparison of collagen membranes with e-PTFE membranes in the treatment of human mandibular buccal class II furcation defects. J Periodontol 1993; 64(10):925–33.

49. Bodner L, Dayan D, Oberman M, Hirshberg A, Tal H. Healing of experimental wounds in sialadenectomized rat. J Clin Periodontol. 1992 May;19(5):345-7.

50. Bodner L, Grossman N. Autologous cultured mucosal graft to cover large intraoral mucosal defects: a clinical study. J Oral Maxillofac Surg. 2003 Feb;61(2):169-73.

51. Bornstein MM, Reichart PA, Buser D, Bosshardt DD. Tissue response and wound healing after placement of two types of bioengineered grafts containing vital cells in submucosal maxillary pouches: an experimental pilot study in rabbits. Int J Oral Maxillofac Implants. 2011 Jul-Aug;26(4):768-75.

52. Boucek RJ. Factors affecting wound healing. Otolaryngol Clin North Am. 1984 May;17(2):243-64.

53. Braccini F, Dohan DM. [The relevance of Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) during facial aesthetic lipostructure (Coleman's technique): preliminary results]. Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord). 2007;128(4):255-60.

54. Bradbury P, Gordon C. The Theory and Practice of Histological Techniques, Eds. J.D. Bancroft, A. Stewens, 3rd edition, The Bath Press. Glasgow. 1990:119-42.

55. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: an overview. Plast Reconstr Surg. 2006 Jun;117(7 Suppl):1-32.

56. Brown TM. Wound healing. In: Cummimgs CW, Fredrikson, JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE, editors. Otolaryngology Head and Neck Surgery. Third Ed. Mosby, 1996;187-196.

57. Bukovcan P, Koller J. Treatment of partial-thickness scalds by skin xenografts--a retrospective study of 109 cases in a three-year period. Acta Chir Plast. 2010;52(1):7-12.

58. Bunyaratavej P, Wang HL. Collagen membranes: a review. J Periodontol. 2001 Feb;72(2):215-29.

59. Burns WT, Peacock ME, Cuenin MF, Hokett SD. Gingival recession treatment using a bilayer collagen membrane. J Periodontol. 2000 Aug;71(8):1348-52.

60. Buser D, Dula K, Hirt HP, Schenk RK. Lateral ridge augmentation using autografts and barrier membranes: a clinical study with 40 partially edentulous patients. J Oral Maxillofac Surg. 1996 Apr;54(4):420-32.

61. Buser D, Dula K, Hess D, Hirt HP, Belser UC. Localized ridge augmentation with autografts and barrier membranes. Periodontol 2000.Feb;19:151-63.

62. Busschop J, De Boever J. Clinical and histological characteristics of lyophilized allogenic dura mater in periodontal bony defects in humans. J Clin Periodontol. 1983 Jul;10(4):399-411.

63. Caffesse RG, Becker W. Principles and techniques of guided tissue regeneration. Dent Clin North Am. 1991 July;35(3):479-94.

64. Caffesse RG, Nasjleti CE, Morrison EC, Sanchez R. Guided tissue regeneration: comparison of bioabsorbable and non-bioabsorbable membranes. Histologic and histometric study in dogs. J Periodontol. 1994 Jun;65(6):583-91.

65. Camelo M, Nevins ML, Lynch SE, Schenk RK, Simion M, Nevins M. Periodontal regeneration with an autogenous bone-Bio-Oss composite graft and a Bio-Gide membrane. Int J Periodontics Restorative Dent. 2001 Apr;21(2):109-19.

66. Campos AC, Groth AK, Branco AB. Assessment and nutritional aspects of wound healing. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2008 May;11(3):281-8.

67. Carranza FA, Cabrini RL. Mast cells in human gingiva. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1955 Oct;8(10):1093-9.

68. Carranza FA, McClain P, Schallborn R. Regenerative Osseous Surgery. In: Newman MG, Takei HH Carranza FA. Carranza's Clinical Periodontology. 9th Ed. Philadelphia, W.B Saunders Company, 2002;804-24.

69. Carrino DA, Dennis JE, Wu TM, Arias JL, Fernandez MS, Rodriguez JP, Fink DJ, Heuer AH, Caplan AI. The avian eggshell extracellular matrix as a model for biomineralization. Connect Tissue Res. 1996;35(1-4):325-9.

70. Carter CA, Jolly DG, Worden CE Sr, Hendren DG, Kane CJ. Platelet-rich plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. Exp Mol Pathol. 2003 Jun;74(3):244-55.

71. Cawson RA, Binnie WH, Speight P, Barrett Wright JM, Thorogood P. Lucas's Pathology of Tumors of The Oral. Fifth Ed. Hong Kong, Churchill Livingstone, 1998.

72. Cervelli V, Palla L, Pascali M, De Angelis B, Curcio BC, Gentile P. Autologous platelet-rich plasma mixed with purified fat graft in aesthetic plastic surgery. Aesthetic Plast Surg. 2009 Sep;33(5):716-21.

73. Chandarana SP, Chanowski EJ, Casper KA, Wolf GT, Bradford CR, Worden FP, Eisbruch A, Chepeha DB. Osteocutaneous Free Tissue Transplantation for Mandibular Osteoradionecrosis. J Reconstr Microsurg. 2012 Oct 23.

74. Chen F, Ouyang H, Feng X, Gao Z, Yang Y, Zou X, Liu T, Zhao G, Mao T. Anchoring dental implant in tissue-engineered bone using composite scaffold: a preliminary study in nude mouse model. J Oral Maxillofac Surg. 2005 May;63(5):586-91.

75. Cheung WS, Griffin TJ. A comparative study of root coverage with connective tissue and platelet concentrate grafts: 8-month results. J Periodontol. 2004 Dec;75(12):1678-87.

76. Chhabra V, Gill AS, Sikri P, Bhaskar N. Evaluation of the relative efficacy of copolymerized polylactic-polyglycolic acids alone and in conjunction with polyglactin 910 membrane in the treatment of human periodontal infrabony defects: a clinical and radiological study. Indian J Dent Res. 2011 Jan-Feb;22(1):83-9.

77. Choi MMF, Pang WSH, Xiao D, et al. An Optical Glucose Biosensor with Eggshell Membrane as an Enzyme Immobilisation Platform[J]. Analyst, 2001, 126(9): 1558-63.

78. Choi KS, Kan JY, Boyne PJ, Goodacre CJ, Lozada JL, Rungcharassaeng K. The effects of resorbable membrane on human maxillary sinus graft: a pilot study. Int J Oral Maxillofac Implants. 2009 Jan-Feb;24(1):73-80.

79. Chuang SS, Yang JY. A new biological dressing material, egg membrane, for the wound coverage-the clinical observation in animal model, presented at the 54th General Scientific Meeting, Surgical Association, Taiwan, ROC, Taipei, Veterans General Hospital. 1995; March 24.

80. Chuck RS, Graff JM, Bryant MR, Sweet PM. Biomechanical characterization of human amniotic membrane preparations for ocular surface reconstruction. Ophthalmic Res. 2004 Nov-Dec;36(6):341-8.

81. Chung JH, Cho KH, Lee DY, Kwon OS, Sung MW, Kim KH, Eun HC. Human oral buccal mucosa reconstructed on dermal substrates: a model for oral epithelial differentiation. Arch Dermatol Res. 1997 Nov;289(12):677-85.

82. Chung KM, Salkin LM, Stein MD, Freedman AL. Clinical evaluation of a biodegradable collagen membrane in guided tissue regeneration. J Periodontol. 1990 Dec;61(12):732-6.

83. Chvapil M, Kronenthal L, Van Winkle W Jr. Medical and surgical applications of collagen. Int Rev Connect Tissue Res. 1973;6:1-61.

84. Clark RAF. Biology of dermal wound repair. Dermatol Clin. 1993;11:647–66.

85. Colley HE, Hearnden V, Jones AV, Weinreb PH, Violette SM, Macneil S, Thornhill MH, Murdoch C. Development of tissue-engineered models of oral dysplasia and early invasive oral squamous cell carcinoma. Br J Cancer. 2011 Nov 8;105(10):1582-92.

86. Corinaldesi G, Lizio G, Badiali G, Morselli-Labate AM, Marchetti C. Treatment of intrabony defects after impacted mandibular third molar removal with bioabsorbable and non-resorbable membranes. J Periodontol. 2011 Oct;82(10):1404-13.

87. Cortellini P, Prato GP. Guided tissue regeneration with a rubber dam: a five-case report. Int J Periodontics Restorative Dent. 1994 Feb;14(1):8-15.

88. Cortellini P, Pini Prato G, Tonetti MS. Interproximal free gingival grafts after membrane removal in guided tissue regeneration treatment of intrabony defects. A randomized controlled clinical trial. J Periodontol. 1995 Jun;66(6):488-93.

89. Crouch E, Bornstein P. Characterization of a type IV procollagen synthesized by human amniotic fluid cells in culture. J Biol Chem. 1979 May 25;254(10):4197-204.

90. Crump TB, Rivera-Hidalgo F, Harrison JW, Williams FE, Guo IY. Influence of three membrane types on healing of bone defects. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1996 Oct;82(4):365-74.

91. Culling CFA, Allison RT, Barr WT. Cellular Pathology Technique, Butterworths and Co Ltd, London. 1985.

92. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. Plast Reconstr Surg. 1988 May;81(5):672-6.

93. Dahlin C, Gottlow J, Linde A, Nyman S. Healing of maxillary and mandibular bone defects using a membrane technique. An experimental study in monkeys. Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg. 1990;24(1):13-9.

94. Dale BA, Salonen J, Jones AH. New approaches and concepts in the study of differentiation of oral epithelia. Crit Rev Oral Biol Med, 1990;1(3):167-90.

95. Dean JA. Langers Handbook of Chemistry. 13th ed. New York, McGraw-Hill, 1987;4–33.

96. Deeming DC. The ratite egg. In: Drenowatz C, ed. The ratite encyclopedia. Texas, Ratite Records Inc, 1995;93–101.

97. Deliaert AE, Van den Kerckhove E, Tuinder S, Noordzij SM, Dormaar TS, van der Hulst RR. Smoking and its effect on scar healing. Eur J Plast Surg. 2012 Jun;35(6):421-24.

98. Demirkan F, Colakoglu N, Herek O, Erkula G. The use of amniotic membrane in flexor tendon repair: an experimental model. Arch Orthop Trauma Surg. 2002 Sep;122(7):396-9.

99. Desmoulière A. Factors influencing myofibroblast differentiation during wound healing and fibrosis. Cell Biol Int. 1995 May;19(5):471-6.

100. DeSouza MM, Surveyor GA, Price RE, Julian J, Kardon R, Zhou X, Gendler S, Hilkens J, Carson DD. MUC1/episialin: a critical barrier in the female reproductive tract. J Reprod Immunol. 1999 Dec;45(2):127-58.

101. Diedrich PR. Guided tissue regeneration associated with orthodontic therapy. Semin Orthod. 1996 Mar;2(1):39-45.

102. Dimitriou R, Mataliotakis GI, Calori GM, Giannoudis PV. The role of barrier membranes for guided bone regeneration and restoration of large bone defects: current experimental and clinical evidence. BMC Med. 2012 Jul 26;10:81.

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

104. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). Trends Biotechnol. 2009 Mar;27(3):158-67.

105. Doillon CJ. Porous collagen sponge wound dressings: in vivo and in vitro studies. J Biomater Appl. 1988 Apr;2(4):562-78.

106. Dowell P, Moran J, Quteish D. Guided tissue regeneration. Br Dent J. 1991 Sep 7;171(5): 125-7.

107. Dupoirieux L. Ostrich eggshell as a bone substitute: a preliminary report of its biological behaviour in animals--a possibility in facial reconstructive surgery. Br J Oral Maxillofac Surg. 1999 Dec;37(6):467-71.

108. Dupoirieux L, Pourquier D, Neves M, Téot L. Resorption kinetics of eggshell: an in vivo study. J Craniofac Surg. 2001 Jan;12(1):53-8.

109. Duraine G, Hu J, Athanasoiu K. Bioengineering in the oral cavity: insights from articular cartilage tissue engineering. Int J Oral Maxillofac Implants. 2011;26 Suppl:11-9; discussion 20-4.

110. Durmus E, Celik I, Ozturk A, Ozkan Y, Aydin MF. Evaluation of the potential beneficial effects of ostrich eggshell combined with eggshell membranes in healing of cranial defects in rabbits. J Int Med Res. 2003 May-Jun;31(3):223-30.

111. Duskova M, Leamerova E, Sosna B, Gojis O. Guided tissue regeneration, barrier membranes and reconstruction of the cleft maxillary alveolus. J Craniofac Surg. 2006 Nov;17(6):1153-60.

112. Duteille F, Perrot P. Management of 2nd-degree facial burns using the Versajet(®) hydrosurgery system and xenograft: a prospective evaluation of 20 cases. Burns. 2012 Aug;38(5):724-9.

113. Edel A, Faccini JM. Histologic changes following the grafting of connective tissue into human gingiva. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1977 Feb;43(2):190-5.

114. Ekmektzoglou KA, Zografos GC. A concomitant review of the effects of diabetes mellitus and hypothyroidism in wound healing. World J Gastroenterol. 2006 May 7;12(17):2721-9.

115. Elgendy HM, Norman ME, Keaton AR, Laurencin CT. Osteoblast-like cell (MC3T3-E1) proliferation on bioerodible polymers: an approach towards the development of a bone-bioerodible polymer composite material. Biomaterials. 1993;14(4):263-9.

116. Engin A. Genel cerrahi; tanı ve tedavi ilkeleri. Birinci Baskı, Ankara, Atlas Kitapçılık, 2000;131-44.

117. Ennis WJ, Meneses P. Wound healing at the local level: the stunned wound. Ostomy Wound Manage. 2000 Jan;46(1A Suppl):39-48.

118. Eppley BL, Woodell JE, Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. Plast Reconstr Surg. 2004 Nov;114(6):1502-8.

119. Erdem C. Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi. Birinci Baskı, Ankara, FDD Yayınları, 1996;1-44.

120. Evans BE, Irving SP, Aledort LM. Use of microcrystalline collagen for hemostasis after oral surgery in a hemophiliac. J Oral Surg. 1979 Feb;37(2):126-8.

121. Everson AG. Applied Histochemistry of Simple and Glycosylated Proteins Histocemistry. 4th Edition, Edinburgh, Longman Group Limited. 1985; 538-602.

122. Eyre DR. Crosslink maturation in bone collagen. In Veiss A, editor. The chemistry and biology of mineralized connective tissue. New York, Elsevier NorthHolland, 1981:51-55.

123. Falanga V. Growth factors and wound healing. J Dermatol Surg Oncol. 1993 Aug;19(8):711-4.

124. Fırat OT. Eksojen Kollajenin Yara İyileşmesine Etkisi. Ankara, GATA Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, 1996.

125. Fiorellini JP, Kim DM, Nakajima Y, Weber HP. Osseointegration of titanium implants following guided bone regeneration using expanded polytetrafluoroethylene membrane and various bone fillers. Int J Periodontics Restorative Dent. 2007 Jun;27(3):287-94.

126. Fisher DA, Lakshmanan J. Metabolism and effects of epidermal growth factor and related growth factors in mammals. Endocr Rev. 1990 Aug;11(3):418-42.

127. Fitzgerald J, Bateman JF. A new FACIT of the collagen family: COL21A1. FEBS Lett. 2001 Sep 14;505(2):275-80.

128. Fortier LA. Stem cells: classifications, controversies, and clinical applications. Vet Surg. 2005 Sep-Oct;34(5):415-23.

129. Fowler EB, Breault LG, Rebitski G. Ridge preservation utilizing an acellular dermal matrix allograft and demineralized freeze-dried bone allograft. Part I: immediate endosseous implant placement. J Periodontol. 2000;71:1360–4.

130. Frank RM, Cimasoni G. On the ultrastructure of the normal human gingivo-dental junction. Z Zellforsch Mikrosk Anat, 1970;109(3):356-79.

131. Fullmer HM, Sheetz JH, Narkates AJ. Oxytalan connective tissue fibers: a review. J Oral Pathol, 1974;3(6):291-316.

132. Gajiwala K, Gajiwala AL. Evaluation of lyophilised, gamma-irradiated amnion as a biological dressing. Cell Tissue Bank. 2004;5:73–80.

133. Galgut P, Pitrola R, Waite I, Doyle C, Smith R. Histological evaluation of biodegradable and non-degradable membranes placed transcutaneously in rats. J Clin Periodontol. 1991 Sep;18(8):581-6.

134. Gao ZR, Hao ZQ, Li Y, Im MJ, Spence RJ. Porcine dermal collagen as a wound dressing for skin donör sites and deep partial skin thickness burns. Burns. 1992 Dec;18(6):492-6.

135. Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology. 2nd ed. Philadelphia, W. B. Saunders, 2001.

136. Gatti A, Monari E, Tanza D, Betti V. Evaluation of the biocompatibility of grafts for bone defects. Minerva Stomatol. 1999 Jun;48(6 Suppl 1):47-52.

137. Gautron J, Hincke MT, Panheleux M, et al. Ovotransferrin is a matrix protein of the hen eggshell membranes and basal calcified layer. Conn Tissue Res. 2001;42:255–267.

138. Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. Periodontol 2000. 1997 Jun;14:112-43.

139. German JC, Wooley TE, Achauer B, Furnas DW, Bartlett RH. Porcine xenograft burn dressings. A critical reappraisal. Arch Surg. 1972 Jun;104(6):806-8.

140. Gerstein AD, Phillips TJ, Rogers GS, Gilchrest BA. Wound healing and aging. Dermatol Clin. 1993 Oct;11(4):749-57.

141. Goldman R. Growth factors and chronic wound healing: past, present, and future. Adv Skin Wound Care. 2004 Jan-Feb;17(1):24-35.

142. Gope R. The effect of epidermal growth factor & plateled derived growth factors on wound healing process. Indian J. Med. Res. 2002;116:201-6.

143. Gosain A, DiPietro LA. Aging and wound healing. World J Surg. 2004 Mar;28(3):321-6. Epub 2004 Feb 17.

144. Gottlow J, Nyman S, Lindhe J, Karring T, Wennström J. New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. Case reports. J Clin Periodontol. 1986 Jul;13(6):604-16.

145. Gottlow J, Nyman S, Karring T. Maintenance of new attachment gained through guided tissue regeneration. J Clin Periodontol, 1992;May:19(5):315-7.

146. Gottlow J. Guided tissue regeneration using bioresorbable and non-resorbable devices: initial healing and long-term results. J Periodontol. 1993 Nov;64(11 Suppl):1157-65.

147. Grant ME. From collagen chemistry towards cell therapy - a personal journey. Int J Exp Pathol. 2007 Aug;88(4):203-14.

148. Grigor'ian AS, Grigor'iants LA, Kasparov AS. Experimental-morphological study of the effects of diode laser scalpel with different irradiation parameters (wave length 0.97 mm) on oral mucosa. Stomatologiia (Mosk). 2006;85(1):8-13.

149. Gruber HE, Hoelscher GL, Leslie K, Ingram JA, Hanley EN Jr. Three-dimensional culture of human disc cells within agarose or a collagen sponge: assessment of proteoglycan production. Biomaterials. 2006 Jan;27(3):371-6.

150. Güler R, Ercan MT, Ulutuncel N, Devrim H, Uran N. Measurement of blood flow by the 133Xe clearance technique to grafts of amnion used in vestibuloplasty. Br J Oral Maxillofac Surg. 1997;35:280–3.

151. Güngörmüş M, Kaya O. Evaluation of the effect of heterologous type I collagen on healing of bone defects. J Oral Maxillofac Surg. 2002 May;60(5):541-5.

152. Gürbüzer B, Pikdöken L, Tunali M, Urhan M, Küçükodaci Z, Ercan F. Scintigraphic evaluation of osteoblastic activity in extraction sockets treated with platelet-rich fibrin. J Oral Maxillofac Surg. 2010 May;68(5):980-9.

153. Güven O. Diş Hekimliğinde Maksiller Sinus Problemleri ve Tedavileri. 2nd ed. Ankara, Zafer Matbaacılık, 1998;9-53.

154. Güven O, Keskin A. Çağdaş Preprotetik Cerrahi. İkinci Baskı, Ankara, Özyurt Matbaası, 2001;77-117.

155. Hackam DJ, Ford HR. Cellular, biochemical, and clinical aspects of wound healing. Surg Infect (Larchmt). 2002;3 Suppl 1:23-35.

156. Hacking SA, Khademhosseini A. Applications of microscale technologies for regenerative dentistry. J Dent Res. 2009 May;88(5):409-21.

157. Haigh T, Betts WB. Microbial barrier properties of hen egg shells. Microbios. 1991;68(276-277):137-46.

158. Haim T. Subgingival acellular dermal matrix allograft for the treatment of gingival recession: a case report. J Period-ontal. 1999;70:1118–24.

159. Haines RB, Moran T. Porosity of, and bacterial invasion through, the shell of the hen's egg. J Hyg (Lond). 1940 Jul;40(4):453-61.

160. Hansbrough JF, Mozingo DW, Kealey GP, et al. Clinical trials of a biosynthetic temporary skin replacement, dermagraft-transitional covering, compared with cryopreserved human cadaver skin for temporary coverage of excised burn wounds. J Burn Care Rehabil. 1997;18:43–51.

161. Harrison JW. Healing of surgical wounds in oral mucoperiosteal tissues. J Endod. 1991 Aug;17(8):401-8.

162. Hart J. Inflammation. 1: Its role in the healing of acute wounds. J Wound Care. 2002 Jun;11(6):205-9.

163. Hashemi HM, Parhiz A, Ghafari S. Vestibuloplasty: allograft versus mucosal graft. Int J Oral Maxillofac Surg. 2012 Apr;41(4):527-30.

164. Haubner F, Ohmann E, Pohl F, Strutz J, Gassner HG. Wound healing after radiation therapy: Review of the literature. Radiat Oncol. 2012 Sep 24;7:162.

165. Heijl L, Heden G, Svärdström G, Ostgren A. Enamel matrix derivative (EMDOGAIN) in the treatment of intrabony periodontal defects. J Clin Periodontol. 1997 Sep;24(9 Pt 2):705-14.

166. Heino J. The collagen family members as cell adhesion proteins. Bioessays. 2007 Oct;29(10):1001-10.

167. Heng BC, Cao T, Stanton LW, Robson P, Olsen B. Strategies for directing the differentiation of stem cells into the osteogenic lineage in vitro. J Bone Miner Res. 2004 Sep;19(9):1379-94.

168. Henriques PS, Nunes MP, Pelegrine AA. Treatment of gingival recession in two surgical stages: Free gingival graft and connective tissue grafting. Gen Dent. 2011 Nov-Dec;59(6):238-41.

169. Herford AS, Akin L, Cicciu M, Maiorana C, Boyne PJ. Use of a porcine collagen matrix as an alternative to autogenous tissue for grafting oral soft tissue defects. J Oral Maxillofac Surg. 2010 Jul;68(7):1463-70.

170. Hernández-Alfaro F, Torradeflot MM, Marti C. Prevalence and management of Schneiderian membrane perforations during sinus-lift procedures. Clin Oral Implants Res. 2008 Jan;19(1):91-8.

171. Hillerup S. Preprosthetic mandibular vestibuloplasty with split skin grafts. A 2-year follow up study. Int J Oral Maxillofac Surg. 1987;16:270–8.

172. Hincke MT, Gautron J, Panheleux M, et al. Identification and localization of lysozyme as a component of eggshell membranes and eggshell matrix. Matrix Biol. 2000;19:443–453.

173. Hofmann H, Voss T, Kühn K, Engel J. Localization of flexible sites in thread-like molecules from electron micrographs. Comparison of interstitial, basement membrane and intima collagens. J Mol Biol. 1984 Jan 25;172(3):325-43.

174. Huchzermeyer FW. High mortality in ostrich eggs and hatchlings due to egg-washing. J S Afr Vet Assoc. 1996 Mar;67(1):3.

175. Hunt TK, Knighton DR, Thakral KK, Goodson WH 3rd, Andrews WS. Studies on inflammation and wound healing: angiogenesis and collagen synthesis stimulated in vivo by resident and activated wound macrophages. Surgery. 1984 Jul;96(1):48-54.

176. Hupp JR. Wound repair (Part 1). In: Peterson LJ, Ellis E, Hupp JR, Tucker MR, editors. Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery. Fourth ed. Mosby Co, 2003.

177. Hurzeler MB, Quiñones CR, Schüpbach P. Guided bone regeneration around dental implants in the atrophic alveolar ridge using a bioresorbable barrier. An experimental study in the monkey. Clin Oral Implants Res. 1997 Aug;8(4):323-31.

178. Hurzeler MB, Kohal RJ, Naghshbandi J, Mota LF, Conradt J, Hutmacher D, Caffesse RG. Evaluation of a new bioresorbable barrier to facilitate guided bone regeneration around exposed implant threads. An experimental study in the monkey. Int J Oral Maxillofac Surg. 1998 Aug;27(4):315-20.

179. Hutmacher D, Hurzeler MB, Schliephake H. A review of material properties of biodegradable and bioresorbable polymers and devices for GTR and GBR applications. Int J Oral Maxillofac Implants. 1996 Sep-Oct;11(5):667-78.

180. Iasella JM, Greenwell H, Miller RL, Hill M, Drisko C, Bohra AA, Scheetz JP. Ridge preservation with freeze-dried bone allograft and a collagen membrane compared to extraction alone for implant site development: a clinical and histologic study in humans. J Periodontol. 2003 Jul;74(7):990-9.

181. Ikada Y. Challenges in tissue engineering. J R Soc Interface. 2006 Oct 22;3(10):589-601.

182. In de Braekt MM, van Alphen FA, Kuijpers-Jagtman AM, Maltha JC. Wound healing and wound contraction after palatal surgery and implantation of poly-(L-lactic) acid membranes in beagle dogs. J Oral Maxillofac Surg. 1992 Apr;50(4):359-64.

183. Ino T, Hattori M, Yoshida T, Hattori S, Yoshimura K, Takahashi K. Improved physical and biochemical features of a collagen membrane by conjugating with soluble egg shell membrane protein. Biosci Biotechnol Biochem. 2006 Apr;70(4):865-73.

184. Int Anker PS, Scherjon SA, Kleijburg-Van Der Keur C, de Groot-Swings GMJS, Claas FHJ, Fibbe WE, et al. Isolation of mesenchymal stem cells of fetal or maternal origin from human placenta. Stem Cells. 2004;22:1338–45.

185. Ishikawa S, Suyama K, Arihara K, Itoh M. Uptake and recovery of gold ions from electroplating wastes using eggshell membrane. Bioresour Technol. 2002 Feb;81(3):201-6.

186. Jespersen J. Pathophysiology and clinical aspects of fibrinolysis and inhibition of coagulation. Experimental and clinical studies with special reference to women on oral contraceptives and selected groups of thrombosis prone patients. Dan Med Bull. 1988 Feb;35(1):1-33.

187. Jia J, Guo Z, Yu J, Duan Y. A New Candidate for Guided Tissue Regeneration: Biomimetic Eggshell Membrane. Irn J Med Hypotheses Ideas. 2011;5(20):1-5.

188. Jiang XQ, Sun XJ, Lai HC, Zhao J, Wang SY, Zhang ZY. Maxillary sinus floor elevation using a tissue-engineered bone complex with beta-TCP and BMP-2 gene-modified bMSCs in rabbits. Clin Oral Implants Res. 2009 Dec;20(12):1333-40.

189. Jin QM, Zhao M, Webb SA, Berry JE, Somerman MJ, Giannobile WV. Cementum engineering with three-dimensional polymer scaffolds. J Biomed Mater Res A. 2003 Oct 1;67(1):54-60.

190. Jin X. Recent progress of researches in cartilage tissue engineering. Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi. 2011 Feb;25(2):187-92.

191. Jung RE, Fenner N, Hämmerle CH, Zitzmann NU. Long-term outcome of implants placed with guided bone regeneration (GBR) using resorbable and non-resorbable membranes after 12-14 years. Clin Oral Implants Res. 2012 Jun 15.

192. Junkins-Hopkins JM. Biologic dressings. J Am Acad Dermatol. 2011 Jan;64(1):e5-7.

193. Kadler K. Matrix loading: assembly of extracellular matrix collagen fibrils during embryogenesis. Birth Defects Res C Embryo Today. 2004 Mar;72(1):1-11.

194. Kahnberg KE, Thilander H. Healing of experimental excisional wounds in the rat palate. III. Effects of radiation on wound healing. Swed Dent J.1987;11(1-2):61-70.

195. Kaigler D, Mooney D. Tissue engineering's impact on dentistry. J Dent Educ. 2001 May;65(5):456-62.

196. Kanzler MH, Gorsulowsky DC, Swanson NA. Basic mechanisms in the healing cutaneous wound. J Dermatol Surg Oncol. 1986 Nov;12(11):1156-64.

197. Karring T. Mitotic activity in the oral epithelium. J Periodontal Res Suppl, 1973;13:1-47.

198. Keefe J, Wauk L, Chu S, DeLustro F. Clinical use of injectable bovine collagen: a decade of experience. Clin Mater. 1992;9(3-4):155-62.

199. Kielty CM, Hopkinson I, Grant EM. The collagen family: structure, assembly and organization in the extrazellular matrix. In: Royce P. M. Steinmann B, editors. Connective tissues and its heritable disorders. New York, Wiely-Liss 1993;103-147.

200. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods Theory and Practice 1.Ed. Oxford, Pergamon Press. 1994:92-103.

201. Kim JS, Kim JC, Byoung Kuk Na, et al. Amniotic membrane patching promotes healing and inhibits proteinase activity on wound healing following acute corneal alkali. Burn Exp Eye Res. 2000;70:329–37.

202. Kinner U, Frenkel G. Alternate method for closure of oroantral fistulas. Plastic covering of jaw opening with lyophilized Dura and alcoholic solution of Prolamin. ZWR. 1990 Nov;99(11):890, 892-6.

203. Kirsner RS, Eaglstein WH. The wound healing process. Dermatol Clin. 1993 Oct;11(4):629-40.

204. Kivisaari J, Vihersaari T, Renvall S, Niinikoski J. Energy metabolism of experimental wounds at various oxygen environments. Ann Surg. 1975 Jun;181(6):823-8.

205. Kjaergaard N, Hein M, Hyttel L, Helmig RB, Schonheyder HC, Uldbjerg N, et al. Antibacterial properties of human amnion and chorion in vitro. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2001;94:224–9.

206. Koch M, Foley JE, Hahn R, Zhou P, Burgeson RE, Gerecke DR, Gordon MK. Alpha 1(Xx) collagen, a new member of the collagen subfamily, fibril-associated collagens with interrupted triple helices. J Biol Chem. 2001 Jun 22;276(25):23120-6.

207. Kothari CR, Goudar G, Hallur N, Sikkerimath B, Gudi S, Kothari MC. Use of amnion as a graft material in vestibuloplasty: a clinical study. Br J Oral Maxillofac Surg. 2012 Sep;50(6):545-9.

208. Kozlovsky A, Artzi Z, Hirshberg A, Israeli-Tobias C, Reich L. Effect of local antimicrobial agents on excisional palatal wound healing: a clinical and histomorphometric study in rats. J Clin Periodontol. 2007 Feb;34(2):164-71.

209. Krawczyk WS. Wound healing in oral cavity. In: Shaw JH, Sweeney EA, Cappuccino CC, editors. Textbook of oral biology. Philadelphia, WB Saunders, 1978; 937-54.

210. Krstic RV. Human Microscopic Anatomy. First Ed. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag. 1991;162-80.

211. Kruger GO. Oral and maxillofacial surgery. 6th ed. St Louis, Toronto, Mosbey Company, 1984;128–43.

212. Krych AJ, Jackson JD, Hoskin TL, Dahm DL. A meta-analysis of patellar tendon autograft versus patellar tendon allograft in anterior cruciate ligament reconstruction. Arthroscopy. 2008;24(3):292–8.

213. Kürkcü M, Görmez U. Dental İmplant Çevresinde Cerrahi Olarak Oluşturulan Kemik Defektlerinde Sığır Kaynaklı Laktoferrinin Kemik Rejenerasyonuna Etkisi. Adana, Çukurova Üniversitesi , Doktora Tezi, 2008.

214. Kvam E. Topography of principal fibers. Scand J Dent Res, 1973;81(7):553-7.

215. Lang NP, Hammede CH, Bragger U, Lehman B, Nyman SR. Guided tissue regeneration in jawbone defects prior to implant placement. Clin Oral Implant Res, 1994;5:92-97.

216. Lauer G, Schimming R, Gellrich NC, Schmelzeisen R. Prelaminating the fascial radial forearm flap by using tissue-engineered mucosa: improvement of donör and recipient sites. Plast Reconstr Surg. 2001 Nov;108(6):1564-72.

217. Laurie GW, Leblond CP, Martin GR. Localization of type IV collagen, laminin, heparan sulfate proteoglycan, and fibronectin to the basal lamina of basement membranes. J Cell Biol. 1982 Oct;95(1):340-4.

218. Lee CH, Singla A, Lee Y. Biomedical applications of collagen. Int J Pharm. 2001 Jun 19;221(1-2):1-22.

219. Lee HJ, Choi BH, Jung JH, Zhu SJ, Lee SH, Huh JY, You TM, Li J. 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. 2007 Mar;103(3):329-33.

220. Lee YJ, Kwon YH, Park JB, Herr Y, Shin SI, Heo SJ, Chung JH. Epithelial thickness of the palatal mucosa: a histomorphometric study in Koreans. Anat Rec (Hoboken). 2010 Nov;293(11):1966-70.

221. Levin MP, Tsaknis PJ, Cutright DE. Healing of the oral mucosa with the use of collagen artificial skin. J Periodontol. 1979 May;50(5):250-3.

222. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. Clin Dermatol. 2007 Jan-Feb;25(1):9-18.

223. Lindhe J, Karring T, Lang NP. Clinical Periodontology and Implant Dentistry. Fourth Ed. Copenhagen, Blackwell Publishing Company, 2003;3-24.

224. Lis GJ, Zarzecka J, Litwin JA, Jasek E, Cichocki T, Zapała J. Effect of cultured autologous oral keratinocyte suspension in fibrin glue on oral wound healing in rabbits. Int J Oral Maxillofac Surg. 2012 Sep;41(9):1146-52.

225. Listgarten MA. Normal development, structure, physiology and repair of gingival epithelium. Oral Sci Rev, 1972;1:3-67.

226. Liu YC, Lerner UH, Teng YT. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. Periodontol 2000. 2010 Feb;52(1):163-206.

227. Llambés F, Silvestre FJ, Caffesse R. Vertical guided bone regeneration with bioabsorbable barriers. J Periodontol. 2007 Oct;78(10):2036-42.

228. Loeffelbein DJ, Baumann C, Stoeckelhuber M, Hasler R, Mücke T, Steinsträßer L, Drecoll E, Wolff KD, Kesting MR. Amniotic membrane as part of a skin substitute for full-thickness wounds: an experimental evaluation in a porcine model. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2012 Jul;100(5):1245-56.

229. Long FD, Adams RG, DeVore DP. Preparation of hyaluronic acid from eggshell membrane. US Patent #6946551, September 20, 2005.

230. Luomanen M, Tiitta O, Heikinheimo K, Leimola-Virtanen R, Heinaro I, Happonen RP. Effect of snuff and smoking on tenascin expression in oral mucosa. J Oral Pathol Med, 1997 Aug;26(7):334-8.

231. Maeda K, Sasaki Y. An experience of hen-egg membrane as a biological dressing. Burns Incl Therm Inj. 1982 May;8(5):313-6.

232. Mahajan A, Bharadwaj A, Mahajan P. Comparison of periosteal pedicle graft and subepithelial connective tissue graft for the treatment of gingival recession defects. Aust Dent J. 2012 Mar;57(1):51-7.

233. Markiewicz MR, Margarone JE, Barbagli G, Scannapieco FA. Oral Mucosa Harvest: An Overview of Anatomic and Biologic Considerations. European Association of Urology and European Board of Urology, 2007;5:179-87.

234. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1998 Jun;85(6):638-46.

235. Mattson JS, Gallagher SJ, Jabro MH. The use of 2 bioabsorbable barrier membranes in the treatment of interproximal intrabony periodontal defects. J Periodontol 1999; 70: 510-7.

236. Matzen M, Kostopoulos L, Karring T. Healing of osseous submucous cleft palates with guided bone regeneration. Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg. 1996 Sep;30(3):161-7.

237. May SR. The effects of biological wound dressings on the healing process. Clin Mater. 1991;8(3-4):243-9.

238. McCartney-Francis NL, Wahl SM. TGF-beta and macrophages in the rise and fall of inflammation. In: Breit SN, Wahl SM, editors. TGF-beta and related cytokines in inflammation. First Ed. Birkhauser Basel, 2001;65–90.

239. McGrath MH, Emery JM. The effect of inhibition of angiogenesis in granulation tissue on wound healing and the fibroblast. Ann Plast Surg. 1985 Aug;15(2):105-22.

240. Melcher AH. Healing of wounds in the periodontium. In: Melcher AH, Bowen WH, editors. Biology of the Periodontium. London, Academic Press, 1969; 499-529.

241. Metzler DG, Seamons BC, Mellonig JT, Gher ME, Gray JL. Clinical evaluation of guided tissue regeneration in the treatment of maxillary class II molar furcation invasions. J Periodontol. 1991 Jun;62(6):353-60.

242. Mian E, Martini P, Beconcini D, Mian M. Healing of open skin surfaces with collagen foils. Int J Tissue React. 1992;14 Suppl:27-34.

243. Mihatovic I, Becker J, Golubovic V, Hegewald A, Schwarz F. Influence of two barrier membranes on staged guided bone regeneration and osseointegration of titanium implants in dogs. Part 2: augmentation using bone graft substitutes. Clin Oral Implants Res. 2012 Mar;23(3):308-15.

244. Minabe M. A critical review of the biologic rationale for guided tissue regeneration. J Periodontol. 1991 Mar;62(3):171-9.

245. Mitchell R. A new biological dressing for areas denuded of mucous membrane. A preliminary report. Br Dent J. 1983 Nov 19;155(10):346-8.

246. Mitchell R, Lamb J. Immediate closure of oroantral communications with a collagen implant. A preliminary report. Br Dent J. 1983 Mar 19;154(6):171-4.

247. Mitchell R. The use of collagen in oral surgery. Ann Acad Med Singapore. 1986 Jul;15(3):355-60.

248. Miyashita K, Inuzuka T, Kondo H, Saito Y, Fujita N, Matsubara N, Tanaka R, Hinokuma K, Ikuta F, Miyatake T. Creutzfeldt-Jakob disease in a patient with a cadaveric dural graft. Neurology. 1991 Jun;41(6):940-1.

249. Mundell RD, Mooney MP, Siegel MI, Losken A. Osseous guided tissue regeneration using a collagen barrier membrane. J Oral Maxillofac Surg. 1993 Sep;51(9):1004-12.

250. Muraine M. Amniotic-membrane and limbic stem-cell transplantation in the management of ocular burns. J Fr Ophtalmol. 2004 Dec;27(10):1179-90.

251. Murphy KG. Postoperative healing complications associated with Gore-Tex Periodontal Material. Part I. Incidence and characterization. Int J Periodontics Restorative Dent. 1995 Aug;15(4):363-75.

252. Myllyharju J, Kivirikko KI. Collagens, modifying enzymes and their mutations in humans, flies and worms. Trends Genet. 2004 Jan;20(1):33-43.

253. Nagase M, Chen RB, Asada Y, Nakajima T. Radiographic and microscopic evaluation of subperiosteally implanted blocks of hydroxylapatite-gelatin mixture in rabbits. J Oral Maxillofac Surg. 1989 Jan;47(1):40-5.

254. Nakano T, Ikawa LI, Ozimek N. Extraction of glycosaminoglycans from chicken eggshell. Poult Sci 2001;80:681–4.

255. Nakano T, Ikawa NI, Ozimek L. Chemical composition of chicken eggshell and shell membranes. Poult Sci. 2003 Mar;82(3):510-4.

256. Nanchahal J, Ward CM. New grafts for old? A review of alternatives to autologous skin. Br J Plast Surg. 1992 Jul;45(5):354-63.

257. Narang S, Gupta R. Evaluation of resorbable membrane in treatment of human gingival isolated buccal recession. Indian J Dent Res. 2011 Nov-Dec;22(6):749-54.

258. Needleman IG, Worthington HV, Giedrys-Leeper E, Tucker RJ. Guided tissue regeneration for periodontal infra-bony defects. Cochrane Database Syst Rev. 2006 Apr 19;(2):CD001724.

259. Nerlich A. Morphology of basement membrane and associated matrix proteins in normal and pathological tissues. Veroff Pathol. 1995;145:1-139.

260. Ness KH, Morton TH, Dale BA. Identification of Merkel cells in oral epithelium using antikeratin and antineuroendocrine monoclonal antibodies. J Dent Res, 1987 Jun;66(6):1154-8.

261. Neufeld DA, Aulthouse AL. Association of mesenchyme with attenuated basement membranes during morphogenetic stages of newt limb regeneration. Am J Anat. 1986 Aug;176(4):411-21.

262. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. Oral and Maxillofacial Pathology. Second Ed. Philadelphia, W.B Saunders Company, 2002.

263. Newman MG. The Normal Periodontium. In: Newman MG, Takei HH Carranza FA. Carranza's Clinical Periodontology. 9th Ed. Philadelphia, W.B Saunders Company, 2002;29-49.

264. Niesler CU, Ferguson MWJ. TGF-beta superfamily cytokines in wound healing. In: Breit SN, Wahl SM, editors. TGF-beta and related cytokines in inflammation. First Ed. Birkhauser Basel, 2001;173–98.

265. Nussler AK, Billiar TR. Inflammation, immunoregulation, and inducible nitric oxide synthase. J Leukoc Biol. 1993 Aug;54(2):171-8.

266. Nyman S, Lindhe J, Karring T, Rylander H. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. J Clin Periodontol. 1982 Jul;9(4):290-6.

267. Nyman S. Bone regeneration using the principle of guided tissue regeneration. J Clin Periodontol. 1991 Jul;18(6):494-8.

268. Nys Y, Zawadzki J, Gautron J, Mills AD. Whitening of brown-shelled eggs: mineral composition of uterine fluid and rate of protoporphyrin deposition. Poult Sci. 1991 May;70(5):1236-45.

269. Oh TJ, Meraw SJ, Lee EJ, Giannobile WV, Wang HL. Comparative analysis of collagen membranes for the treatment of implant dehiscence defects. Clin Oral Implants Res. 2003 Feb;14(1):80-90.

270. Oike Y, Ito Y, Maekawa H, Morisada T, Kubota Y, Akao M, Urano T, Yasunaga K, Suda T. Angiopoietin-related growth factor (AGF) promotes angiogenesis. Blood. 2004 May 15;103(10):3760-5.

271. Oksala O, Salo T, Tammi R, Häkkinen L, Jalkanen M, Inki P, Larjava H. Expression of proteoglycans and hyaluronan during wound healing. J Histochem Cytochem, 1995 Feb;43(2):125-35.

272. Oliver RF, Grant RA. Reconstruction of full-thickness loss skin wounds using skin collagen allografts. Br J Plast Surg. 1979 Apr;32(2):87-90.

273. Omura S, Mizuki N, Horimoto S, Kawabe R, Fujita K. A newly developed collagen/silicone bilayer membrane as a mucosal substitute: a preliminary report. Br J Oral Maxillofac Surg. 1997 Apr;35(2):85-91.

274. Ottani V, Raspanti M, Ruggeri A. Collagen structure and functional implications. Micron. 2001 Apr;32(3):251-60.

275. Owens KW, Yukna RA. Collagen membrane resorption in dogs: a comparative study. Implant Dent. 2001;10(1):49-58.

276. Özbayrak S. Ağız Hastalıkları Atlası Tanı Kriterleri, Ayırıcı Tanı ve Tedavi Yaklaşımları. 2. Baskı, İstanbul, Quintessence Yayıncılık Ltd. Şti. 2006;1-2.

277. Page RC, Ammons WF, Schectman LR, Dillingham LA. Collagen fibre bundles of the normal marginal gingiva in the marmoset. Arch Oral Biol, 1974 Nov;19(11):1039-43.

278. Palmieri B. Heterologous collagen in wound healing: a clinical study. Int J Tissue React. 1992;14 Suppl:21-5.

279. Panheleux M, Bain M, Fernandez MS, Morales I, Gautron J, Arias JL, Solomon SE, Hincke M, Nys Y. Organic matrix composition and ultrastructure of eggshell: a comparative study. Br Poult Sci. 1999 May;40(2):240-52.

280. Park SU, Lee BK, Kim MS, Park KK, Sung WJ, Kim HY, Han DG, Shim JS, Lee YJ, Kim SH, Kim IH, Park DH. The possibility of microbial cellulose for dressing and scaffold materials. Int Wound J. 2012 Jul 5.

281. Parrish LC, Miyamoto T, Fong N, Mattson JS, Cerutis DR. Non-bioabsorbable vs. bioabsorbable membrane: assessment of their clinical efficacy in guided tissue regeneration technique. A systematic review. J Oral Sci. 2009 Sep;51(3):383-400.

282. Parsons AH. Structure of the eggshell. Poult. Sci. 1982;61, 2013–21.

283. Patel S, Kubavat A, Ruparelia B, Agarwal A, Panda A. Comparative evaluation of guided tissue regeneration with use of collagen-based barrier freeze-dried dura mater allograft for mandibular class 2 furcation defects (a comparative controlled clinical study). J Contemp Dent Pract. 2012 Jan 1;13(1):11-5.

284. Patino MG, Neiders ME, Andreana S, Noble B, Cohen RE. Collagen as an implantable material in medicine and dentistry. J Oral Implantol. 2002;28(5):220-5.

285. Peacock EE. Wound Healing. In: Peacock EE, Winkle WV, editors. Wound Repair. Third Ed. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1984;1-271.

286. Peebles ED, Brake J, Gildersleeve RP. Effects of eggshell cuticle removal and incubation humidity on embryonic development and hatchability of broilers. Poult Sci. 1987 May;66(5):834-40.

287. Pei HN, Chen XG, Li Y, Zhou HY. Characterization and ornidazole release in vitro of a novel composite film prepared with chitosan/poly(vinyl alcohol)/alginate. J Biomed Mater Res A. 2008 May;85(2):566-72.

288. Peña I, Junquera LM, Meana Á, García E, Aguilar C, Fresno MF. In vivo behavior of complete human oral mucosa equivalents: characterization in athymic mice. J Periodontal Res. 2011 Apr;46(2):214-20.

289. Petrungaro PS. Using platelet-rich plasma to accelerate soft tissue maturation in esthetic periodontal surgery. Compend Contin Educ Dent. 2001 Sep;22(9):729-36.

290. Picard J, Paul-Gardais A, Vedel M. Sulfated glycoproteins from egg shell membranes and hen oviduct. Isolation and characterization of sulfated glycopeptides. Biochim Biophys Acta. 1973;320:427–441.

291. Pieper JS, van der Kraan PM, Hafmans T, Kamp J, Buma P, van Susante JL, van den Berg WB, Veerkamp JH, van Kuppevelt TH. Crosslinked type II collagen matrices: preparation, characterization, and potential for cartilage engineering. Biomaterials. 2002 Aug;23(15):3183-92.

292. Pierce GF, Mustoe TA, Altrock BW, Deuel TF, Thomason A. Role of platelet-erived growth factor in wound healing. J Cell Biochem. 1991 Apr;45(4):319-26.

293. Piette E, Alberius P, Samman N, Linde A. Experience with e-PTFE membrane application to bone grafting of cleft maxilla. Int J Oral Maxillofac Surg. 1995 Oct;24(5):327-32.

294. Pitaru S, Tal H, Soldinger M, Noff M. Collagen membranes prevent apical migration of epithelium and support new connective tissue attachment during periodontal wound healing in dogs. J Periodontal Res. 1989 Jul;24(4):247-53.

295. Poland AL, Sheldon BW. Altering the thermal resistance of foodborne bacterial pathogens with an eggshell membrane waste by-product. J Food Prot. 2001 Apr;64(4):486-92.

296. Polson AM, Southard GL, Dunn RL, Polson AP, Billen JR, Laster LL. Initial study of GTR in class II furcation defects after using a biodegradable barrier. Int J Peridont Res Dent 1995; 15(1):43–55.

297. Ponteriero R, Lindhe J, Nyman S. Guided tissue regeneration in treatment of furcation defects in mandibular molars. J Clin Periodontol 1989; 16: 170-4.

298. Pool JG. Normal hemostatic mechanisms: a review. Am J Med Technol. 1977 Aug;43(8):776-80.

299. Prescott RS, Alsanea R, Fayad MI, Johnson BR, Wenckus CS, Hao J, John AS, George A. In vivo generation of dental pulp-like tissue by using dental pulp stem cells, a collagen scaffold, and dentin matrix protein 1 after subcutaneous transplantation in mice. J Endod. 2008 Apr;34(4):421-6.

300. Proussaefs P, Lozada J, Kim J. Effects of sealing the perforated sinüs membrane with a resorbable collagen membrane: a pilot study in humans. J Oral Implantol. 2003;29(5):235-41.

301. Proussaefs P, Lozada J, Kim J, Rohrer MD. Repair of the perforated sinüs membrane with a resorbable collagen membrane: a human study. Int J Oral Maxillofac Implants. 2004 May-Jun;19(3):413-20.

302. Pruitt BA, Levine NS. Characteristics and uses of biologic dressings and skin substitutes. Arch Surg. 1984 Mar;119(3):312-22.

303. Raghoebar GM, Tomson AM, Scholma J, Blaauw EH, Witjes MJ, Vissink A. Use of cultured mucosal grafts to cover defects caused by vestibuloplasty. An in vivo study. J Oral Maxillofac Surg. 1995;53:872–8.

304. Ralston DR, Layton C, Dalley AJ, Boyce SG, Freedlander E, Mac Neil S. The requirement for basement membrane antigens in the production of human epidermal/dermal composites in vitro. Br J Dermatol. 1999 Apr;140(4):605-15.

305. Ramakrishnan KM, Jayaraman V. Management of partial-thickness burn wounds by amniotic membrane: a cost-effective treatment in developing countries. Burns. 1997 Mar;23 Suppl 1:33-6.

306. Ramasastry SS. Acute wounds. Clin Plast Surg. 2005 Apr;32(2):195-208.

307. Ramel CF, Wismeijer DA, Hämmerle CH, Jung RE. A randomized, controlled clinical evaluation of a synthetic gel membrane for guided bone regeneration around dental implants: clinical and radiologic 1- and 3-year results. Int J Oral Maxillofac Implants. 2012 Mar-Apr;27(2):435-41.

308. Ramieri G, Panzica GC, Viglietti-Panzica C, Modica R, Springall DR, Polak JM. Non-innervated Merkel cells and Merkel-neurite complexes in human oral mucosa revealed using antiserum to protein gene product 9.5. Arch Oral Biol, 1992 Apr;37(4):263-9.

309. Rastogi S, Modi M, Sathian B. The efficacy of collagen membrane as a biodegradable wound dressing material for surgical defects of oral mucosa: a prospective study. J Oral Maxillofac Surg. 2009 Aug;67(8):1600-6.

310. Ravishanker R, Bath AS, Roy R. Amnion Bank the use of long term glycerol preserved amniotic membranes in the management of superficial and superficial partial thickness burns. Burns. 2003;29:369–74.

311. Rheinwald JG, Green H. Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells. Cell. 1975 Nov;6(3):331-43.

312. Ricard-Blum S, Ruggiero F. The collagen superfamily: from the extracellular matrix to the cell membrane. Pathol Biol (Paris). 2005 Sep;53(7):430-42.

313. Ricci JL, Terracio L. Where is dentistry in regenerative medicine? Int Dent J. 2011 Aug;61 Suppl 1:2-10.

314. Richards PD, Richards PA, Lee ME. Ultrastructural characteristics of ostrich eggshell: outer shell membrane and the calcified layers. J S Afr Vet Assoc. 2000 Jun;71(2):97-102.

315. Richards PD, Botha A, Richards PA. Morphological and histochemical observations of the organic components of ostrich eggshell. J S Afr Vet Assoc. 2002 Mar;73(1):13-22.

316. Riminucci M, Bianco P. Building bone tissue: matrices and scaffolds in physiology and biotechnology. Braz J Med Biol Res. 2003 Aug;36(8):1027-36.

317. Rinastiti M, Harijadi, Santoso AL, Sosroseno W. Histological evaluation of rabbit gingival wound healing transplanted with human amniotic membrane. Int J Oral Maxillofac Surg. 2006 Mar;35(3):247-51.

318. Robinson DS, King NR. Mucopolysaccharides of an avian egg shell membrane. J R Microsc Soc. 1968;88(1):13-22.

319. Robson MC, Krizek TJ. The effect of human amniotic membranes on the bacteria population of infected rat burns. Ann Surg. 1973 Feb;177(2):144-9.

320. Robson MC, Steed DL, Franz MG. Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. Curr Probl Surg. 2001 Feb;38(2):72-140.

321. Rosetti EP, Marcantonio E Jr, Zuza EP, Marcantonio RA. Root coverage stability of the subepithelial connective tissue graft and guided tissue regeneration: A 30-month follow-up clinical trial. J Dent. 2012 May 29.

322. Ruben MP, Smukler H, Schulman SM, Kon S, Bloom AA. Healing of periodontal surgical wounds. In: Goldman HM, Cohen DW, editors. Periodontal therapy. 5th Ed, St. Louis, Mosby Co, 1980:640-754.

323. Ruff KJ, DeVore DP, Leu MD, Robinson MA. Eggshell membrane: a possible new natural therapeutic for joint and connective tissue disorders. Results from two open-label human clinical studies. Clin Interv Aging. 2009;4:235-40.

324. Ruszczak Z. Effect of collagen matrices on dermal wound healing. Adv Drug Deliv Rev. 2003 Nov 28;55(12):1595-611.

325. Salama H, Rigotti F, Gianserra R, Seibert J. The utilization of rubber dam as a barrier membrane for the simultaneous treatment of multiple periodontal defects by the biologic principle of guided tissue regeneration: case reports. Int J Periodontics Restorative Dent. 1994 Feb;14(1):16-33.

326. Salgado AJ, Coutinho OP, Reis RL. Bone tissue engineering: state of the art and future trends. Macromol Biosci. 2004 Aug 9;4(8):743-65.

327. Salisbury RE, Wilmore DW, Silverstein P, Pruitt BA Jr. Biological dressings for skin graft donör sites. Arch Surg. 1973 May;106(5):705-6.

328. Samandari MH, Yaghmaei M, Ejlali M, Moshref M, Saffar AS. Use of amnion as a graft material in vestibuloplasty: a preliminary report. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2004 May;97(5):574-8.

329. Sato N. Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu ile Periodontal Rejenerasyon. In: Tuncer Ö, Çintan S (çeviri editörleri). Periodontal Cerrahi: Klinik Atlas. London, Quintessence Yayıncılık, 2006; 179-245.

330. Saygı E. Çekim Sırasında Açılan Sinüs Perforasyonlarının Liyofilize Fibrin Yapıştırma Sistemi ve Kollajen Kullanımı İle Kapatılması. Ege Üniversitesi, Doktora Tezi, 1990.

331. Scattarella A, Ballini A, Grassi FR, Carbonara A, Ciccolella F, Dituri A, Nardi GM, Cantore S, Pettini F. Treatment of oroantral fistula with autologous bone graft and application of a non-reabsorbable membrane. Int J Med Sci. 2010 Aug 11;7(5):267-71.

332. Scheller EL, Krebsbach PH, Kohn DH. Tissue engineering: state of the art in oral rehabilitation. J Oral Rehabil. 2009 May;36(5):368-89.

333. Schlee M, Ghanaati S, Willershausen I, Stimmlmayr M, Sculean A, Sader RA. Bovine pericardium based non-cross linked collagen matrix for successful root coverage, a clinical study in human. Head Face Med. 2012 Mar 5;8:6.

334. Schlegel AK, Möhler H, Busch F, Mehl A. Preclinical and clinical studies of a collagen membrane (Bio-Gide). Biomaterials. 1997 Apr;18(7):535-8.

335. Schliephake H, Neukam FW, Hutmacher D, Becker J. Enhancement of bone ingrowth into a porous hydroxylapatite-matrix using a resorbable polylactic membrane: an experimental pilot study. J Oral Maxillofac Surg. 1994 Jan;52(1):57-63.

336. Schmitz JP, Hollinger JO. The biology of platelet-rich plasma. J Oral Maxillofac Surg. 2001 Sep;59(9):1119-21.

337. Schor SL. Cell proliferation and migration on collagen substrata in vitro. J Cell Sci. 1980 Feb;41:159-75.

338. Schreml S, Szeimies RM, Prantl L, Landthaler M, Babilas P. Wound healing in the 21st century. J Am Acad Dermatol. 2010 Nov;63(5):866-81.

339. Schroeder HE, Theilade J. Electron microscopy of normal human gingival epithelium. J Periodontal Res, 1966;1(2):95-119.

340. Schwarz F, Mihatovic I, Golubovic V, Hegewald A, Becker J. Influence of two barrier membranes on staged guided bone regeneration and osseointegration of titanium implants in dogs: part 1. Augmentation using bone graft substitutes and autogenous bone. Clin Oral Implants Res. 2012 Jan;23(1):83-9.

341. Sciubba JJ, Waterhouse JP, Meyer J. A fine structural comparison of the healing of incisional wounds of mucosa and skin. J Oral Pathol. 1978 Aug;7(4):214-27.

342. Sedlarik KM, Schoots C, Oosterbaan JA, Klopper JP. Healing of a deep skin wound using a collagen sponge as dressing in the animal experiment. Aktuelle Traumatol. 1992 Oct;22(5):219-28.

343. Selvig KA, Nilveus RE, Fitzmorris L, Kersten B, Khorsandi SS. Scanning electron microscopic observations of cell populations and bacterial contamination of membranes used for guided periodontal tissue regeneration in humans. J Periodontol. 1990 Aug;61(8):515-20.

344. Selvig KA, Kersten BG, Wikesjo UM. Surgical treatment of intrabony periodontal defects using expanded polytetrafluoroethylene barrier membranes: influence of defect configuration on healing response. J Periodontol 1993; 64: 730-3.

345. Serino G, Biancu S, Iezzi G, Piattelli A. Ridge preservation following tooth extraction using a polylactide and polyglycolide sponge as space filler: a clinical and histological study in humans. Clin Oral Implants Res. 2003 Oct;14(5):651-8.

346. Seymour GJ and Gemmell E. Cytokines in periodontal disease: where to from here? Acta Odontol Scand. 2001; 59(3): 167-73.

347. Shapiro S, Ulmansky M, Scheuer M. Mast cell population in gingiva affected by chronic destructive periodontal disease. J Periodontol, 1969 May;40(5):276-8.

348. Sheridan RL, Tompkins RG. Skin substitutes in burns. Burns. 1999 Mar;25(2):97-103.

349. Shetty V, Bertolami CN. Wound Healing. In: Miloro M, ed. Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery. Second Ed. London, B.C. Decker Inc, 2004;3-15.

350. Shieh AT, Wang HL, O'Neal R, Glickman GN, MacNeil RL. Development and clinical evaluation of a root coverage procedure using a collagen barrier membrane. J Periodontol. 1997 Aug;68(8):770-8.

351. Silver FH. Biomaterials, Medical Devices and Tissue Engineering: An Integrated Approach. Second Education, London, Chapman and Hall, 1994;46-91.

352. Silverstein LH, Kraft JD, Wand R. Bone regeneration and tissue acceptance of human fascia lata grafts adjacent to dental implants: a preliminary case report. J Oral Implantol. 1992;18(4):394-8.

353. Simion M, Trisi P, Maglione M, Piattelli A. A preliminary report on a method for studying the permeability of expanded polytetrafluoroethylene membrane to bacteria in vitro: a scanning electron microscopic and histological study. J Periodontol. 1994 Aug;65(8):755-61.

354. Simman R, Alani H, Williams F. Effect of mitomycin C on keloid fibroblasts: an in vitro study. Ann Plast Surg. 2003 Jan;50(1):71-6.

355. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. N Engl J Med. 1999 Sep 2;341(10):738-46.

356. Sirousazar M, Kokabi M, Hassan ZM. In vivo and cytotoxic assays of a poly(vinyl alcohol)/clay nanocomposite hydrogel wound dressing. J Biomater Sci Polym Ed. 2011;22(8):1023-33.

357. Soehren SE, Allen AL, Cutright DE, Seibert JS. Clinical and histologic studies of donör tissues utilized for free grafts of masticatory mucosa. J Periodontol. 1973 Dec;44(12):727-41.

358. Sparks NHC, Deeming DC. Ostrich eggshell ultrastructure a study using electron microscopy and x-ray diffraction. In: Deeming DC. ed. Improving our understanding of ratites in a farming environment. Oxford, Proceedings Ratite Conference,1996;164–5.

359. Speroni S, Cicciu M, Maridati P, Grossi GB, Maiorana C. Clinical investigation of mucosal thickness stability after soft tissue grafting around implants: a 3-year retrospective study. Indian J Dent Res. 2010 Oct-Dec;21(4):474-9.

360. Stadelman WJ. Eggs and egg products. In: Francis FJ, Ed. Encyclopedia of Food Science and Technology. Second ed. New York, John Wiley & Sons, 2000; 593–9.

361. Starcher BC, King GS. The presence of desmosine and isodesmosine in eggshell membrane protein. Connect Tissue Res. 1980;8(1):53–55.

362. Stashak TS, Farstvedt E, Othic A. Update on Wound Dressings: Indications and Best Use. Clin. Tech. Equine Pract. 2004;3:148-163.

363. Steed DL. Modifying the wound healing response with exogenous growth factors. Clin Plast Surg. 1998 Jul;25(3):397-405.

364. Steed DL. Wound-healing trajectories. Surg Clin North Am. 2003 Jun;83(3):547-55.

365. Steenfos HH. Growth factors and wound healing. Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg. 1994 Jun;28(2):95-105.

366. Stock SJ, Kelly RW, Riley SC, Calder AA. Natural antimicrobial production by the amnion. Am J Obstet Gynecol. 2007;196:255–6.

367. Sugito T, Kagami H, Hata K, Nishiguchi H, Ueda M. Transplantation of cultured salivary gland cells into an atrophic salivary gland. Cell Transplant. 2004;13(6):691-9.

368. Sukotjo C, Lin A, Song K, Ogawa T, Wu B, Nishimura I. Oral fibroblast expression of wound-inducible transcript 3.0 (wit3.0) accelerates the collagen gel contraction in vitro. J Biol Chem. 2003 Dec 19;278(51):51527-34.

369. Sumi Y, Hata KI, Sawaki Y, Mizuno H, Ueda M. Clinical application of cultured oral epithelium for palatal wounds after palatoplasty: a preliminary report. Oral Dis. 1999 Oct;5(4):307-12.

370. Suyama K, Fukazawa Y, Umetsu Y. A new biomaterial, hen egg shell membrane, to eliminate heavy metal ion from their dilute waste solution. Appl Biochem Biotechnol. 1994;45-46:871-79.

371. Swennen G, Dempf R. Schliephake. Cranio-facial distraction osteogenesis: a review of the literature. Part II: experimental studies, Int J Oral Maxillofac Sur., 2002;31: 123-35.

372. Szpaderska AM, Zuckerman JD, DiPietro LA. Differential injury responses in oral mucosal and cutaneous wounds. J Dent Res. 2003 Aug;82(8):621-6.

373. Takashiba S, Naruishi K, Murayama Y. Perspective of cytokine regulation for periodontal treatment: fibroblast biology. J Periodontol. 2003 Jan;74(1):103-10.

374. Tal H. Subgingival acellular dermal matrix allograft for the treatment of gingival recession: a case report. J Periodontol. 1999 Sep;70(9):1118-24.

375. Tang J, Li J, Kang J, Zhong L, Zhang Y. Preliminary studies of application of eggshell membrane as immobilization platform in sandwich immunoassay. Sensors and Actuators B. 2009;140:200–205.

376. Tanner K. Regulation of the basement membrane by epithelia generated forces. Phys Biol. 2012 Dec;9(6):065003.

377. Tavassoli M. Effect of the substratum on the growth of CFU-c in continuous marrow culture. Experientia. 1983 Apr 15;39(4):411-2.

378. Tawil G, Mawla M. Sinus floor elevation using a bovine bone mineral (Bio-Oss) with or without the concomitant use of a bilayered collagen barrier (Bio-Gide): a clinical report of immediate and delayed implant placement. Int J Oral Maxillofac Implants. 2001 Sep-Oct;16(5):713-21.

379. Tembe S, Kubal BS, Karve M, D'Souza SF. Glutaraldehyde activated eggshell membrane for immobilization of tyrosinase from Amorphophallus companulatus: application in construction of electrochemical biosensor for dopamine. Anal Chim Acta. 2008 Apr 7;612(2):212-7.

380. Temeltaş E. Fetal Yara İyileşmesinin Modulasyonu: Skarlı Ve Skarsız İyileşen Fetal Dokularda Elastin, Hyaluronik Asit Gibi Ekstrasellüler Matriks Elemanlarının Değerlendirilmesi. Ankara, Ankara Üniversitesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, 2010.

381. Testori T, Wallace SS, Del Fabbro M, Taschieri S, Trisi P, Capelli M, Weinstein RL. Repair of large sinus membrane perforations using stabilized collagen barrier membranes: surgical techniques with histologic and radiographic evidence of success. Int J Periodontics Restorative Dent. 2008 Feb;28(1):9-17.

382. Thorat M, Pradeep AR, Pallavi B. Clinical effect of autologous platelet-rich fibrin in the treatment of intra-bony defects: a controlled clinical trial. J Clin Periodontol. 2011 Oct;38(10):925-32.

383. Tian T, Li YC, Zhou B, Zhang PJ. [Experimental study on expanded polytetrafluoroethylene as wound covering]. Zhonghua Shao Shang Za Zhi. 2009 Apr;25(2):133-6.

384. Tinti C, Vincenzi GP. Expanded polytetrafluoroethylene titanium-reinforced membranes for regeneration of mucogingival recession defects. A 12-case report. J Periodontol. 1994 Nov;65(11):1088-94.

385. Tonetti MS, Pini-Prato G, Cortellini P. Periodontal regeneration of human intrabony defects. IV. Determinants of healing response. J Periodontol. 1993 Oct;64(10):934-40.

386. Tosios KI, Economou I, Vasilopoulos NN, Koutlas IG. Elastofibromatous changes and hyperelastosis of the oral mucosa. Head Neck Pathol. 2010 Mar;4(1):31-6.

387. Toygar HU, Kircelli BH. Regeneration of multiple adjacent bone dehiscences with guided tissue regeneration after orthodontic proclination: a corrective treatment approach. Int J Periodontics Restorative Dent. 2010 Aug;30(4):345-53.

388. Tözüm TF, Demiralp B. Platelet-rich plasma: a promising innovation in dentistry. J Can Dent Assoc. 2003 Nov;69(10):664.

389. Tsai WT, Yang JM, Lai CW, Cheng YH, Lin CC, Yeh CW. Characterization and adsorption properties of eggshells and eggshell membrane. Bioresour Technol. 2006 Feb;97(3):488-93.

390. Tullett SG. Egg shell formation and quality. In: Wells RG, Belyavin CG, editors. Egg Quality Current Problems and Recent Advances. London, Butterworths, 1987; 123–146.

391. Turgut M, Vargel İ, Özcan G, Kaynaroğlu V, Benli K, Özcan OE, Sağlam S. Yara İyileşmesi Proçesinin Özellikleri ve Değişik Faktörlerin Bu Proçes Üzerine Olan Etkileri. Yeni Tıp Dergisi. 1995;12(2):142-49.

392. Twohey SM, Mellonig JT, Towle HJ 3rd, Gray JL. Use of a synthetic skin substitute as a physical barrier to enhance healing in human periodontal furcation defects. Int J Periodontics Restorative Dent. 1992;12(5):383-93.

393. Tyagi P, Dhindsa MK. Tissue engineering and its implications in dentistry. Indian J Dent Res. 2009 Apr-Jun;20(2):222-6.

394. Tyler C. Wihhelm von Nathusius 1821–1899 on avian eggshells. UK, University of Reading, 1964.

395. Ueda M, Tohnai I, Nakai H. Tissue engineering research in oral implant surgery. Artif Organs. 2001 Mar;25(3):164-71.

396. Unger MG, Roberts M. Lyophilised amniotic membranes on graft donör sites. Br J Plast Surg. 1976 Jan;29(1):99-101.

397. Urbani G, Canepari P, Lombardo G, Salgarelli C, Santi E. Effect of saliva on resorption time of some resorbable membranes. Minerva Stomatol. 1997 Nov;46(11):569-77.

398. Ushiki T. The three-dimensional ultrastructure of the collagen fibers, reticular fibers and elastic fibers: a review. Kaibogaku Zasshi. 1992 Jun;67(3):186-99.

399. Ushiki T. Collagen fibers, reticular fibers and elastic fibers. A comprehensive understanding from a morphological viewpoint. Arch Histol Cytol. 2002 Jun;65(2):109-26.

400. Van Swol RL, Ellinger R, Pfeifer J, Barton NE, Blumenthal N. Collagen membrane barrier therapy to guide regeneration in class II furcations in humans. J Periodontol 1993;64(7):622–9.

401. Vastardis S, Yukna RA, Mayer ET. Platelet-rich plasma plus AlloDerm for gingival recession treatment. J Dent Res. 2004;83.

402. Visscher SH, van Minnen B, Bos RR. Closure of oroantral communications: a review of the literature. J Oral Maxillofac Surg. 2010 Jun;68(6):1384-91.

403. Vitkus R, Meltzer JA. Repair of a defect following the removal of a maxillary adenomatoid odontogenic tumor using guided tissue regeneration. A case report. J Periodontol. 1996 Jan;67(1):46-50.

404. Vogel WF. Collagen-receptor signaling in health and disease. Eur J Dermatol. 2001 Nov-Dec;11(6):506-14.

405. Von Arx T, Hardt N, Wallkamm B. The TIME technique: a new method for localized alveolar ridge augmentation prior to placement of dental implants. Int J Oral Maxillofac Implants. 1996 May-Jun;11(3):387-94.

406. Vuola J, Pipping D. Maintaining a glycerolized skin bank a practical approach. Burns. 2002;28:31–3.

407. Waldrop TC, Semba SE. Closure of oroantral communication using guided tissue regeneration and an absorbable gelatin membrane. J Periodontol. 1993 Nov;64(11):1061-6.

408. Wang CC, Su CH, Chen CC. Water absorbing and antibacterial properties of N-isopropyl acrylamide grafted and collagen/chitosan immobilized polypropylene nonwoven fabric and its application on wound healing enhancement. J Biomed Mater Res A. 2008 Mar 15;84(4):1006-17.

409. Wang HL, MacNeil RL. Guided tissue regeneration. Absorbable barriers. Dent Clin North Am. 1998 Jul;42(3):505-22.

410. Wang HL, Carroll WJ. Using absorbable collagen membranes for guided tissue regeneration, guided bone regeneration, and to treat gingival recession. Compend Contin Educ Dent. 2000 May;21(5):399-406.

411. Wang HL, Modarressi M, Fu JH. Utilizing collagen membranes for guided tissue regeneration-based root coverage. Periodontol 2000. 2012 Jun;59(1):140-57.

412. Wang Z, Shi B, Lu D, Song Q. A histological study on healing process of palatal wound with denuded bone restored with transplanted buccal or palatal mucosa. Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. 2002 Oct;20(5):326-9.

413. Wara-aswapati N, Pitiphat W, Chandrapho N, Rattanayatikul C, Karimbux N. Thickness of palatal masticatory mucosa associated with age. J Periodontol. 2001 Oct;72(10):1407-12.

414. Waselau M, Sutter WW, Genovese RL, Bertone AL. Intralesional injection of platelet-rich plasma followed by controlled exercise for treatment of midbody suspensory ligament desmitis in Standardbred racehorses. J Am Vet Med Assoc. 2008 May 15;232(10):1515-20.

415. Weber T, Tumani H, Holdorff B, Collinge J, Palmer M, Kretzschmar HA, Felgenhauer K. Transmission of Creutzfeldt-Jakob disease by handling of dura mater. Lancet. 1993 Jan 9;341(8837):123-4.

416. Wei PC, Laurell L, Geivelis M, Lingen MW, Maddalozzo D. Acellular dermal matrix allografts to achieve increased attached gingiva. Part 1. A clinical study. J Periodontol. 2000 Aug;71(8):1297-305.

417. Welch MP, Odland GF, Clark RA. Temporal relationships of F-actin bundle formation, collagen and fibronectin matrix assembly, and fibronectin receptor expression to wound contraction. J Cell Biol. 1990 Jan;110(1):133-45.

418. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. Physiol Rev. 2003 Jul;83(3):835-70.

419. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. J Oral Maxillofac Surg. 1997 Nov;55(11):1294-9.

420. Wiesmann HP, Joos U, Meyer U. Biological and biophysical principles in extracorporal bone tissue engineering. Part II. Int J Oral Maxillofac Surg. 2004 Sep;33(6):523-30.

421. Winning TA, Townsend GC. Oral mucosal embryology and histology. Clin Dermatol, 2000 Sep-Oct;18(5):499-511.

422. Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. Surg Clin North Am. 1997 Jun;77(3):509-28.

423. Xu HH, Zhao L, Weir MD. Stem cell-calcium phosphate constructs for bone engineering. J Dent Res. 2010 Dec;89(12):1482-8.

424. Yang JY, Chuang SS, Yang WG, Tsay PK. Egg membrane as a new biological dressing in split-thickness skin graft donör sites: a preliminary clinical evaluation. Chang Gung Med J. 2003 Mar;26(3):153-9.

425. Yen CA, Griffin TJ, Cheung WS, Chen J. Effects of platelet concentrate on palatal wound healing after connective tissue graft harvesting. J Periodontol. 2007 Apr;78(4):601-10.

426. Yi F, Yu J, Guo Z, Zhang L, Li Q. Natural bioactive material: A Preparation of soluble eggshell membrane protein. Macromol. Biosci. 2003; 3: 234-7.

427. Yi F, Guo ZX, Zhang LX, Yu J, Li Q. Soluble eggshell membrane protein: preparation, characterization and biocompatibility. Biomaterials. 2004 Aug;25(19):4591-9.

428. Yi F, Li Q, Guo ZX, Yu J. Immobilization of Soluble Eggshell Membrane Protein on Polyethylene Film Surface: Effect on the Culture of NIH3T3 in Vitro J Appl Polym Sci, 2006; 99: 1340–5.

429. Yi F, Yu J, Li Q, Guo Z. Soluble Eggshell Mebrane Protein: Antibacterial Property and Biodegradability. Journal of Wuhan University of Technology-Mater. 2007;22: 117-9.

430. Yoshimura K, Dissanayake UB, Nanayakkara D, Kageyama I, Kobayashi K.Morphological changes in oral mucosae and their connective tissue cores regarding oral submucous fibrosis. Arch Histol Cytol. 2005 Sep;68(3):185-92.

431. Yukna CN, Yukna RA. Multi-center evaluation of bioabsorbable collagen membrane for guided tissue regeneration in human Class II furcations. J Periodontol. 1996 Jul;67(7):650-7.

432. Yücetaş Ş. Ağız Mukozası ve Muayene Yöntemleri. In: Yücetaş Ş, editor. Ağız ve Çevre Dokusu Hastalıkları. 1. Baskı, Ankara, Atlas Kitapçılık, 2005;57-8.

433. Zadik Y. Self-treatment of full-thickness traumatic lip laceration with chicken egg shell membrane. Wilderness Environ Med. 2007 Fall;18(3):230-1.

434. Zaner DJ, Yukna RA, Malinin TI. Human freeze-dried dura mater allografts as a periodontal biological bandage. J Periodontol. 1989 Nov;60(11):617-23.

435. Zhang QX, Magovern CJ, Mack CA, Budenbender KT, Ko W, Rosengart TK. Vascular endothelial growth factor is the major angiogenic factor in omentum: mechanism of the omentum-mediated angiogenesis. J Surg Res. 1997 Feb 1;67(2):147-54.

436. Zhang Y, Tangl S, Huber CD, Lin Y, Qiu L, Rausch-Fan X. 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. J Craniomaxillofac Surg. 2012 Jun;40(4):321-8.

437. Zhao S, Pinholt EM, Madsen JE, Donath K. Histological evaluation of different biodegradable and non-biodegradable membranes implanted subcutaneously in rats. J Craniomaxillofac Surg. 2000 Apr;28(2):116-22.

9. EKLER

EK-A: Etik Kurul Kararı

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURUL KARARLARI

Karar Sayısı: 2010-036	**Karar Tarihi: 06/04/2010**

Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalından Prof.Dr.Ercan DURMUŞ, Araş.Gör.Ayşe SELÇUK ve Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalından Prof.Dr.İlhami ÇELİK tarafından sunulan "Devekuşu (Struthio camelus) Yumurta Kabuk Zarının Tavşanlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Palatinal Mukoza Yaralarının İyileşmesi Üzerindeki Etkisinin Değerlendirilmesi" başlıklı tez projesi dokuz üyenin katılımı ile değerlendirildi.

Projede toplam 45 Yeni Zelanda soyu tavşanın kullanılacağı tavşanların yüksek doz anestezi ile sakrifiye edileceği belirtilmiştir.

Projenin deney hayvanlarına ilişkin yönlerinin Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesinin 6ncı maddesinde belirtilen "etik kurallara uygunluk esası" dikkate alınarak hazırlandığı belirlenmiştir.

Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesinde "Başvuru Sahibinin Sorumlulukları" başlığı altında yer alan kurallar ve madde 6da belirtilen "Hayvan Deneyleri ile İlgili Etik İlkeler" saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında "Etik Kurul Yönergesi İlkelerine Uyulduğuna", çalışmanın deneysel kısmını yapacak çalışmacının "Deney Hayvanları Kullanım Sertifikasına" sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etiği açısından "**uygun**" olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Prof.Dr.K.Esra ATALIK Başkan	Prof.Dr.Lema TAVLI Üye	Prof.Dr.Said BODUR Üye	Prof.Dr.Abdulkadir ŞENGÜN Üye-Katılmadı
Prof.Dr.A.Saide ŞAHİN Üye	Doç.Dr.Nilsel OKUDAN Üye	Doç.Dr.H.Serdar GERGERLİOĞLU Üye	Doç.Dr.Mehmet GÜL Üye-Katılmadı
Dr.M.Metin ŞENER Üye	Mehmet ÖZ Üye	Mustafa ŞİRİN Üye	

10. ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Ankara'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Ankara'da tamamladı. 2002 yılında başladığı Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nden 2007 yılında mezun oldu. 2007 yılı güz döneminde Selçuk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nda doktora öğrencisi olarak eğitimine başladı. Halen aynı Anabilim Dalında doktora öğrencisi olarak eğitimine devam etmektedir.