

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DİŞ ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**DENEYSEL OLARAK DİABET OLUŞTURULMUŞ TAVŞANLARDA TROMBOSİT
ZENGİN PLAZMA (TZP) UYGULAMASININ KEMİK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE
ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Dt.Ceyda KOCABAY ÖZKAYNAK

Tez Yöneticisi
Prof.Dr. İhsan Levent ARAL

2007-ANKARA

BU ÇALIŞMA 11/2003-17 KODLU PROJE OLARAK GAZİ ÜNİVERSİTESİ
ARAŞTIRMA PROJELERİ FONU TARAFINDAN DESTEKLENMİŞTİR.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA NO
I. GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER	3
1. Diabetes Mellitus	3
1.1. İnsülin Bağımlı (Tip I) Diabet	3
1.2. İnsülin Bağımsız (Tip II) Diabet	4
1.3. İnsidans	4
1.4. Kalıtım	5
1.5. Çevresel Etkiler	5
1.6. Patogenezis	6
1.6.1. Normal İnsülin Metabolizması	6
1.6.2. Diabetes Mellitus'daki Metabolik Bozukluklar	7
1.6.2.1. Metabolik Bozukluklar	8
1.6.2.2. Damar ve Organ Tutulumları	9
1.7. Deney Hayvanlarında Diabet Modeli Oluşturmak için Kullanılan Kimyasallar	10
1.8. Diabetin Kemik Dokusu Üzerine Etkisi	11
2. Kemik Dokusu	12
2.1. Kemiğin Makroskopik Yapısı	12
2.2. Periosteum ve Endosteum	13
2.3. Kemiğin Mikroskopik Yapısı	14
2.4. Kemik Hücreleri	17
2.4.1. Osteoprogenitör Hücreler	17
2.4.2. Osteoblastlar	18
2.4.3. Osteositler	19
2.4.4. Osteoklastlar	19
2.5. Kemik Oluşumu (Osteogenezis)	20

2.6. Zarlararası Kemikleşme (İntramembranöz Kemikleşme)	21
3. Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Greftler	23
3.1. Otogreftler	24
3.2. Allogreftler	24
3.3. Ksenogreftler	24
3.4. Alloplastikgreftler	25
3.5. Kritik Boyuttaki Defekt	27
4. Trombosit Zengin Plazma	28
4.1. Trombosit Zengin Plazmanın Avantajları	29
4.2. PDGF (Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü)	30
4.3. TGF- β (Transforme Edici Büyüme Faktörü- β)	30
4.4. PDEGF (Trombosit Kaynaklı Epidermal Büyüme Faktörü)	31
4.5. PDAF (Trombosit Kaynaklı Anjiogenezis Faktör)	32
4.6. IGF (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü)	32
4.7. PF-4 (Trombosit Faktör-4)	32
4.8. TZP Kullanımının Olası Riskleri	33
 III. MATERYAL ve YÖNTEM	 34
 IV. BULGULAR	 46
 V. TARTIŞMA	 63
 VI. SONUÇLAR	 79
 VII. ÖZET	 81
 VIII. SUMMARY	 83
 IX. KAYNAKLAR	 85

X. ÖZGEÇMİŞ	102
XI. TEŞEKKÜR	103

Tablo ve Resimler

	Sayfa No
Resim 1 ve Resim 2	38
Resim 3 ve Resim 4	39
Resim 5 ve Resim 6	40
Resim 7 ve Resim 8	41
Resim 9 ve Resim 10	42
Resim 11 ve Resim 12	43
Resim 13 ve Resim 14	44
Resim 15	45
Resim 16 ve Resim 17	51
Resim 18 ve Resim 19	52
Resim 20 ve Resim 21	53
Tablo 1 ve Tablo 2	54
Tablo 3 ve Tablo 4	55
Tablo 5 ve Tablo 6	56
Tablo 7 ve Tablo 8	57
Tablo 9 ve Tablo 10	58
Tablo 11 ve Tablo 12	59
Tablo 13 ve Tablo 14	60
Tablo 15 ve Tablo 16	61
Tablo 17	62

I. GİRİŞ

Diabetes mellitus karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasını etkileyen kronik bir hastalıktır. Karbonhidrat kullanımının, hatalı ya da yetersiz insülin salgılanması sonucu bozulması diabet için karakteristik bulgu olan hiperglisemi ile sonuçlanır.

Uzun süreli idiyopatik diabetes mellitus en önemli etkisini; temel olarak vasküler sistem üzerinde, ateroskleroz ve küçük damar hastalığı olarak gösterir. Bu vasküler sekel yıkıcı sonuçlara yol açar ve hiç bir organ bu sonuçlardan kendini kurtaramaz. Diabetli hastalar mikroanjiopatiden kaynaklanan iskemi, bozulmuş lökosit işlevleri ve yara bölgesinde kan akımının azalmasından dolayı bakteriyel enfeksiyonlara karşı artmış duyarlılığa sahiptirler.

Diabet aynı zamanda hastaların kalsiyum, fosfat ve kemik metabolizmalarında da değişime neden olur. Kemik mineral içeriğinde azalma, osteopeni, kırık oranında artış ve gecikmiş kemik iyileşmesi gibi diabetik kemik hastalıkları ile karakterizedir. Günümüze kadar diabet ve sistemik etkileri üzerine yapılmış pek çok klinik ve deneysel çalışma mevcuttur.

Travma, developmental (gelişimsel) anomaliler, onkolojik rezeksiyonlar, enfeksiyon ve patolojiler kemik iskeletinde defektlere neden olabilirler. Bu kemik defektlerinin rekonstrüksiyonu maksillofasiyal cerrahide ciddi bir problem yaratmaktadır.

Oral ve maksillofasiyal cerrahi, ortopedi, nörocerrahi ve rekonstrüktif cerrahide araştırmacılar, kemik greftleme tekniklerini geliştirmek, daha hızlı ve daha yoğun kemik rejenerasyonu elde edecek bir yöntem geliştirmek için yıllardan beri çalışmaktadırlar. Büyüme faktörleri, Bone Morfogenetik Protein(BMP) ve Trombosit Zengin Plazma (TZP) bu yöntemlerden bazılarıdır.

Trombosit Zengin Plazma; donörden alınan venöz kanın santrifüj işlemlerine tabi tutulması sonucunda trombositlerin kan elemanlarından ayrıştırılması ile

elde edilen, yumuřak ve sert doku iyileřmesinde avantaj sađladıđı dűřűnűlen ve bűyűme faktűrleri ięeren bir ajandır.

ęalıřmamızda, sağlıklı ve deneysel olarak diabet oluşturduğumuz tavşanların kafatasında hazırladığımız kritik boyuttaki defektlerde; her iki grup arasındaki spontan iyileşme dűzeyleri ve deneysel olarak diabet oluşturulan deneklerde kritik boyuttaki defektlere otojen kemik+TZP karışımı ile greft materyali+TZP karışımının eklenmesinin iyileşme űzerine etkilerinin spontan iyileşen defektlerle histopatolojik olarak karşılaştırılması amağlanmıştır.

II. GENEL BİLGİLER

1. DİABETES MELLİTUS

Diabetes mellitus (DM) karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasını etkileyen kronik bir hastalıktır. Karbonhidrat(glukoz) kullanımının hatalı ya da yetersiz insülin salgılanması sonucu bozulması, Diabetes mellitus için karakteristik bulgu olan hiperglisemi ile sonuçlanır. Bu açık belirlemeye aşağıdaki özellikler de eklenmelidir^(28,75).

İdiopatik(genetik) Diabetes mellitus; pankreas adacıklarının iltihabı, cerrahisi, tümörü, demir yüklenmesi(hemokromatozis) ya da endokrinopatisinden (Cushing sendromu, akromegali ve feokromasitoma gibi) kaynaklanan ikincil diabetlerden ayırt edilmelidir. İkincil diabetin patogenezi ve sonuçları idiyopatik diabetten farklıdır^(28,75).

İdiopatik Diabetes mellitus heterojen bir hastalık grubu oluştursa bile genel bulgu olarak hiperglisemi gösterir. Bunlar kalıtım şekli, insüline yanıt ve köken açısından birbirinden ayrılan iki tip oluşturur^(28,75).

1.1. İnsülin Bağımlı (Tip I) Diabet:

Bu tip diabet, ciddi ve mutlak insülin yetmezliğinden kaynaklanır. Plazma insülin düzeyi bu tip hastalığın karakteristiği olan beta hücresi kitlesindeki azalmadan dolayı düşüktür. Bu hastaların yaşayabilmesi için dışarıdan insülin almaları gerekir; bundan dolayı da insüline bağımlı terimi kullanılır⁽⁸²⁾.

Beta hücrelerinin yitimine ne sebep olur? Birbiri içerisine girmiş üç mekanizmanın sorumlu olduğu düşünülmektedir: çevresel etkiler, genetik duyarlılık ve otoimmünite. Ayrıca diabetes mellitusun nedeni olarak yıllarca virüslerden de şüphelenilmiştir. Bu viral enfeksiyonlar içerisinde kabakulak, kızamık, koksaki B, sitomegalovirüs, kızamıkçık, ve enfeksiyöz mononükleoz vardır. Son yıllarda bu gruba

beta hücrelerine tropizm gösteren slow virüsler eklenmiştir. Virüs ve tanımlanamayan diğer çevresel ajanların genetik olarak eğilimi olan kişilerde otoimmün reaksiyonu başlatarak ya da ortaya çıkmasını sağlayarak etki ettiği düşünülmektedir. Tip 1 diabetesin patogenezinde otoimmünitenin rolü oldukça büyüktür. Glukogon fazlalığında DM 'deki metabolik bozukluklara zemin hazırladığına dair görüşlerde mevcuttur^(28,75).

1.2. İnsülin Bağımsız (Tip II) Diabet:

Bu tip diabet, insülin sekresyonundaki gecikme ya da bazı vakalarda glukoz yüklemesine karşı göreceli bir yetmezlik ve buna eklenen periferik dokuların insüline yanıt vermedeki yetmezliği ile ilişkilidir. Tip I diabetesin aksine, insülin yetmezliğinin şiddetli olmadığını ve Tip II diabetesin patogenezinde temel rolü insülin rezistansının oluşturduğunu belirtmek gerekir^(28,75).

Tip II diabet, son organ yanıtında azalma ve bozulmuş insülin sekresyonu ile karakterize karmaşık multifaktöryel bir hastalık olarak tanımlanabilir. İnsülin rezistansı, yüksek insülin ihtiyacını karşılamada beta hücreleri üzerinde sürekli strese ve giderek yetmezliğe neden olabilecek bir insülinizm oluşturabilir. Olasılıkla Tip II Diabetli hastalarda pankreatik beta hücreleri genetik olarak bu tip streslere duyarlıdır. Böylece insülin rezistansı, zamanla yetersiz ya da bozulmuş insülin sekresyon yanıtına yol açabilecek olaylar zincirini başlatabilir^(28,75).

1.3. İnsidans:

Genetik düzeyde saptamak olanak içinde olmadığından dolayı diabetesin gerçek prevalansı saptanamamıştır ve taramalar semptomların varlığına dayandırılmaktadır. Bu sınırlamalar dahilinde yetişkin popülasyonda %1-2 oranında olduğu saptanmıştır^(28,75).

1.4. Kalıtım:

Uzun süreden beri diabetes mellitusun en azından bir oranda ailesel bir hastalık olduğu bilinmektedir. Buna karşın zemin hazırlayan gen ya da genlerin gerçek kalıtım mekanizmaları bilinmemektedir^(28,75).

Hem Tip I ve hem de Tip II diabette genetik faktörlerin bazı rollerini destekleyen bilgilere karşın; hastalığın her iki tipinde de özgül kalıtım şekli bilinmemektedir. Gerçekten otozomal dominant, otozomal resesif ve multifaktöriyel gibi bütün geçiş şekilleri sorumlu tutulmuştur. Günümüzde gerçek favori görüş, her ikisinin de multifaktöriyel hastalık olduğu görüşüdür⁽⁷⁵⁾.

1.5. Çevresel Etkiler:

Bir çok çevresel ve yapısal faktör diabet yapıcı olarak diabetes mellitusa yatkınlık hazırlar ve genetik olarak yatkınlığı olan kişilerde insidansı önemli bir şekilde etkiler. Bunların arasında en önemlisi şişmanlıktır. Tip II diabetli hastaların % 80'i şişmandır ve diğer yandan normalin üzerinde ağırlığı olan kişilerde %60 oranında glukoz tolerans testinde gösterilebilir karbonhidrat intoleransı vardır. Diabetli olmayanlarda kilo kaybı sıklıkla karbonhidrat metabolizmasındaki anormallikleri düzeltir ve diabetiklerde karbonhidrat intoleransını anlamlı şekilde normale doğru çeker^(28,75).

Gebelik bir başka diabet yapıcı etkidir; bunun etkisi insüline karşı direnç gelişmesine ya da insülin etkisinde bazı azalmalara bağlanır⁽⁷⁵⁾.

Kalıtsal eğilimi olanlarda travma, enfeksiyon, hipoksi ve hipertermi gibi bütün stres şekilleri diabeti açığa çıkarabilir. Bütün streslerin özellikle enfeksiyonların, insülin gereksinimini arttırdığı, klinik olarak iyi şekilde gözlenmiştir. Stres belkide etkisini glikojenolizis ve lipolizise neden olan katekolamin salgısını arttırmakla yapmaktadır. Glikojenolizis, beta(β) hücrelerini daha çok yükler ve serbest yağ asitleri insülin antagonisti olarak etki eder. Bunun için her ne kadar diabetik durum genetik eğilim

şeklinde bir kalıtım karakteri gösterse de, bu genotipin ortaya çıkışı çevresel etkiler tarafından düzenlenir⁽⁷⁵⁾.

1.6. Patogenezis

1.6.1. Normal İnsülin Metabolizması:

İnsülinin normal yapısı, biyosentez ve sekresyon temelleri bütün ayrıntıları ile anlaşılmıştır. İnsülin; pankreasın beta hücreleri içerisinde proinsülin den sentez edilmekte ve golgi kompleksinden kaynaklanan membranla çevrili granüller içerisinde depo edilmektedir. Beta hücrelerinden salgılanması insülinin iki kaynağını ilgilendiren iki fazlı bir süreç olarak gelişir. Örneğin glukoz düzeyindeki bir yükselme öncelikle beta granülleri içerisinde depolanmış olan insülinin erken salgılanmasını başlatır. Eğer salgılanma için uyarı devam ederse, bunu aktif insülin sentezini kapsayan gecikmiş ve uzamış yanıt izler. İnsülin salgılanmasını tetikleyen ajanlar olarak bilinen maddelerin içerisinde en önemlisi glukozdur. Glukoz, insülinin hem sentezini hem de salgılanmasını başlatır⁽⁷⁵⁾.

İnsülin temel bir anabolik hormondur:

- 1- Aminoasitler ve glukozun membranlardan geçişi için,
- 2- Karaciğer ve iskelet adelesinde glukojen yapılması için,
- 3- Glikozun trigliseritlere dönüşümü için,
- 4- Nükleik asit sentezi için,
- 5- Protein sentezi için gereklidir.

Temel metabolik işlevi organizmadaki bazı hücrelerin içerisine glikoz taşıma oranını arttırmasıdır. Bu hücreler, çizgili kas hücreleri (miyokard liflerini de içerir), fibroblastlar ve yağ hücreleridir ki, bunlar bir arada bütün vücut ağırlığının 2/3'ünü oluşturur⁽⁷⁵⁾.

İnsülinin hedef hücreleri ile nasıl etkileştiği tam olarak açık değildir. Olay, insülinin bir hücre yüzey reseptörüne bağlanması ile başlar. Hücre yüzeyine bağlanan insülin miktarı, varolan reseptörlerin sayısından etkilendiği için reseptörlerin sayısı ve işlevi, insülin etkisinin düzenlenmesinde önemlidir. Reseptöre bağlanmış insülin, hücre membranının iç yüzünden sitozol içerisine salgılanan bir seri ikincil habercilerin oluşumunu tetikler. Oligopeptid olduğuna inanılan ikincil haberciler, mitokondria, endoplazmik retikulum , nükleus ve diğer hücre içi yerleşimlerde insülin duyarlı enzimleri aktive ya da inaktive etmeye yararlar. İkincil habercilerden kaynaklanan ve insülinin önemli erken etkilerinden birisi, glukozun hücrel tutulumunu sağlayan glikoz taşıyıcı transport biriminin golgi apparatusundan plazma membranına doğru yer değiştirmesini sağlamaktır. Böylece glukozun hücre içine alınışı kolaylaşır⁽⁷⁵⁾.

Normal insülinin salgılanma ve etkisi ile ilgili bu bilgilerin ışığı altında, insülin yetmezliğinin metabolik sonuçlarını tartışabiliriz.

1.6.2. Diabetes Mellitus'daki Metabolik Bozukluklar:

Genetik ve çevresel zeminine ve başlangıç yaşına bakılmaksızın, bütün diabetikler genel bir bulgu olarak, bir oranda ya da tümüyle insülin yetmezliği ya da yetersiz insülin işlevi gösterirler. Glukozun kandan kas ve yağ dokusuna taşınması insüline bağımlı olduğundan diabetikler glukozu yeterince kullanamazlar. Aynı zamanda normalde insülin tarafından inhibe edilen glikojenoliziste de uyarılma oluşur. Her iki bozukluk kanda, böbrek glukoz reabsorbsiyon eşiğini aşan ve glikozüri ile sonuçlanan bir glukoz birikimine(hiperglisemi) yol açar. Yağ dokusunda depolanmış trigliseritlerden serbestleşen yağ asitleri ana enerji kaynağını oluştururlar. Karaciğerde yağ asitleri keton cisimlerine (asetoasetik asit, aseton ve betahidroksi bütirik asit) oksitlenirler ve kas, kalp, böbrek ve beyin tarafından kullanılırlar. Tip I diabette ve çok daha az olarak Tip II diabette keton cisimlerinin oluşum oranı, kullanım oranını aşabilir ve ketozisle birlikte

metabolik asidozis gelişebilir. Dokularda glukoz açığı olduğu için diyetten ve dokudan gelen proteinler, glukoneogenezis için kullanılır. Glikojen, trigliserit ve protein sentezi gibi anabolik süreçler; glikojenolizis, glukoneojenezis ve yağların mobilizasyonu gibi katabolik etkenliklere yer değiştirir. Sonuçta insülin yetmezliği olarak başlayan diabetik durum, sürekli genişleyen bir daireye dönüşür. Diabetin iki büyük alt tipi arasında geniş metabolik farklılıklar varsa da Tip II diabetteki metabolik bozukluklar daha az şiddetlidir ve ketoasidozis daha seyrek. Bu zeminde diabetes mellitusun etiyolojik faktörlerini üç ana alt grupta toplamak olasıdır^(28,75).

- 1- Pankreatik beta hücrelerinin yitiminden sağlam beta hücrelerinin insülin salgılama bozukluğuna kadar değişen anormallikler,
- 2- Dolaşan antiinsülin antikörleri gibi, plazma içi anormallikler,
- 3- İnsülinin hedef hücreler üzerindeki etki anormallikleri

insülin reseptör düzeylerinin azalması ya da bağlanmış insülinin ikincil haberci oluşturmasındaki yetersizlik, plazmadaki anormallikler, seyrek olarak diabetin birincil sebebidir. Fakat diğer iki faktör diabetin patogenezinde son derece önemlidir⁽⁷⁵⁾.

Diabetin klinik tablosu bu hastalığın iki önemli özelliğinden kaynaklanır:

- 1- Metabolik bozukluklar
- 2- Damar ve organ tutulumları

1.6.2.1. Metabolik Bozukluklar:

Özellikle insülin bağımlı diabetes mellitusta(Tip I diabet) bozulmuş olan metabolizma klinikte poliüri, polidipsi, polifaji, kilo kaybı ve zayıflık ile birlikte biyokimyasal hiperglisemi ve glukozüri ile ortaya çıkar. Koma ile birlikte ketoasidozis herhangi bir zamanda gelişebilir. Tip II diabette poliüri ve polidipsi bulunabilir, fakat Tip I diabet'in aksine hastalar sıklıkla yaşlı ve şişmandırlar. Tip II diabette metabolik

bozukluklar gelişirse de bunlar göreceli, hafif şiddette ve kontrol edilebilir olup bu tip diabette enfeksiyonlar ve stres araya girmedikçe ketoasidozis komplikasyonları sık değildir⁽⁷⁵⁾.

1.6.2.2. Damar ve Organ Tutulumları:

Pankreas: Özellikle Tip I diabette adacıklarda iki tip lökosit infiltrasyonu vardır. En sık rastlanan şekil insülitis olarak bilinen; adacıkların içinde ve çevresinde yoğun lenfosit infiltrasyonudur⁽⁷⁵⁾.

Vasküler sistem: Diabet bedelini vasküler sisteme ödetir. Başlangıç yaşı ne olursa olsun 10-15 yıllık hastalık sürecinde, diabetiklerin büyük çoğunluğunda vasküler anormallikler gelişir. Gerçekten diabetiklerin %80'i değişik şekilde kardiyovasküler hastalıklardan ölürlər. Yapılan araştırmalarda diabetiklerde görülen kardiyomiyopati ve IGF-1 arasında bir ilişki olduğu düşünülmektedir^(25,56,88). Diabetiklerin en sık ölüm sebebi koroner arterlerin aterosklerozisinden kaynaklanan miyokard enfarktüsüdür^(88,104).

Böbrekler: Böbrekler diabetin birinci hedefidir. Ölüm nedenleri arasında miyokard enfarktüsünden sonra ikinci sırayı almaktadır⁽⁴¹⁾.

Gözler: Görme kaybı ve hatta kimi zaman total körlük uzun süreli diabetin en çok korkulan sonuçlarından birisidir. Göz tutulumu retinopati, katarakt oluşumu ya da glokom şeklinde olabilir⁽⁷⁵⁾.

Sinir sistemi: Santral ve periferik sinir sistemi de diabetin olumsuz etkisinden kendini kurtaramaz. En sık görülen tutulma şekli, özellikle duyuşal işlevleri

etkileyen, motor bozukluklara da yol açan ve alt ekstremiteleri tutan periferik sistemik nöropatidir⁽⁹²⁾.

Diabetli hastalar mikroanjiopatiden kaynaklanan iskemi, bozulmuş lökosit işlevleri ve yara bölgesinde kan akımının azalmasından dolayı bakteriyel enfeksiyonlara karşı artmış duyarlılığa sahiptirler. Tüm bu etkenlerin birbirine eklenmesi nedeniyle oluşan gangren, bakteriyemi ve pnömoni gibi giderek ölüme yol açan komplikasyonlar dizisinin ilk adımı, ayak başparmağındaki önem verilmeyen bir enfeksiyon bile olabilir^(9,41,43,44,46,63,84,88).

Diabet, hastaların kalsiyum, fosfat ve kemik metabolizmalarında değişime neden olur. Kemik mineral içeriğinde azalma, osteopeni, kırık oranında artış ve gecikmiş kırık iyileşmesi gibi diabetik kemik hastalıkları ile karakterizedir^(38,39,64,79,84).

Tip I diabet ile osteopeni ve azalmış osteoblastik aktivite arasında ilişki olduğuna dair pek çok kanıt mevcuttur. Bununla beraber insülin tedavisinin bozulmuş yara ve kemik iyileşmesini büyük ölçüde restore ettiği düşünülmektedir^(61,79).

1.7. Deney Hayvanlarında Diabet Modeli Oluşturmak İçin Kullanılan

Kimyasallar:

Bu amaçla, alloksan, streptozotosin(STZ), 2,4-dinitrofenol diazoksit, siproheptadin gibi kimyasal ajanlar veya epinefrin , somatotropin, kortikotropin gibi hormonlardan yararlanılmaktadır^(65,101).

Alloksan; 2,4,5,6-tetra oksi primidin yapısında bir siklik üre analogudur. Monohidrat formu sık kullanılır. Aktivite çalışmalarında diabet oluşturmak amacıyla 40-150 mg/kg dozlarda subkütan, intraperitoneal, intravenöz yolla verilir. Alloksan ile kronik diabet oluştururken deney hayvanlarında hipoglisemiye bağlı ölümleri önlemek için alloksan verilmesinden 4-6 saat sonra glikoz çözeltisi verilir. Takip eden 24 saat

boyunca glikoz çözeltisiyle beslenmesi sağlanır. Kan-glukoz konsantrasyonu değerleri 5-8. günlerde ölçülür 150 mg/dl ve üzeri diyabetik grup olarak kabul edilir⁽⁸⁶⁾.

Alloksan, pH=3'ün altında normal koşullarda oda ısısında solüsyon içerisinde stabil, pH=7'de ise asit dönüşümü önlemek için 4°C'de saklanmalıdır. Seçici olarak pankreatik β hücrelerinde yıkıma neden olur ve uzun süreli diyabet oluşturur. Transporte olabilen şekerler alloksanı bloke edemez. Glukoz transportu ile ilgili bölgelere etkili olacağı düşünülür. Glukoreseptör bölgesinde etkili olabilir⁽⁸⁶⁾.

İnorganik fosfatların mitokondrial transport sistemini inhibe eder. İntrasellüler pH düşer ve hücre ölümü görülür. Alloksan da STZ gibi proinsülin sentezini önlemektedir⁽⁸⁶⁾.

1.8. Diabetin Kemik Dokusu Üzerine Etkisi:

Diabetes mellitus gibi bazı sistemik hastalıklar kırık iyileşmesi prosesini önemli ölçüde bozmaktadır. Diabet ve bozulmuş kemik iyileşmesi arasındaki ilişki klinik ve deneysel ortamlarda iyi şekilde dökümanite edilmiştir^(10,74,84,93).

- Biyomekanik özelliklerde bozulma
- Diabetik kırık kallusunda azalmış hücre proliferasyonu
- Kırık iyileşmesinin erken safhasında kollajen sentezindeki azalma^(10,91).

Yukarıdaki etkilerin nedeni tam olarak bilinmemektedir. Ancak insülinin anahtar rol oynadığı düşünülmektedir. Rat osteoblast hücrelerinde insülin reseptörleri tanımlanmıştır ve insülinin osteoblastik hücrelerde nükleotid sentezini stimüle ettiği gösterilmiştir^(10,61).

2. KEMİK DOKUSU:

Kemik dokusu dayanıklılığına ve sertliğine karşın, bireyin ömrü boyunca yıkılıp yeniden yapılan, canlı ve dinamik bir dokudur. Bütün bu özelliklere sahip olan kemik, cerrahi müdahalelerle şekli değiştirilebilen tek dokudur. Endokrin, metabolik ve beslenmeye bağlı olarak belirgin bir şekilde etkilenir^(4,35,90,96).

Kemik, hücreler arası madde üzerine inorganik tuzların çökelmiş olduğu; bu şekilde sağlamlık, esneklik gibi fiziksel özellikler kazanmış bir bağ dokusu çeşididir. İskelet oluşturma ve iskelet kaslarına destek sağlama gibi mekanik görevi yanında bir çok metabolizma olayına girmesiyle önem taşır. Kas ve tendonların yapışma yeri olan kemikler, hareket etmeye yardımcı olur. Kendilerine iletilen kuvveti emerek dağıtır. İç organlarının, baş ve göğüs boşluğundaki organların ve kemik iliğindeki hemopoietik hücrelerinin korunmasından sorumludur. Bu mekanik işlevlerinden başka, organizmanın kalsiyum ve fosfor deposu olarak metabolizmada önemli rol oynar^(35,90).

2.1. Kemiğin Makroskopik Yapısı:

Uzun, kısa, yassı ve düzensiz şekillerde olabilen kemiklerde çıplak gözle veya mercek kullanılarak yapılan incelemelerde süngerimsi kemik (spongiyöz kemik) ve sert kemik (kompakt kemik) olmak üzere iki tip kemik ayırdedilebilir^(4,35,90,96).

Süngerimsi kemik birbiriyle ağzlaşan kemik trabeküllerinde oluşmuştur. Trabeküllerin aralarında, içleri kemik iliğiyle dolu labirent gibi birbirleriyle ilişkili, düzensiz boşluklar vardır. Bu görünümü ile süngere benzer. Sert kemikte ise benzeri boşluklar yoktur. Ancak mikroskopla görülebilen ve kan damarlarını taşıyan kanallar bulunur. Bu kanallar lakünlerden çıkan kanaliküli adı verilen ince kanalcıklardan çok daha kalındır. Bu iki tip kemik birinden diğerine keskin bir hatla ayrılmadan geçiş yapar^(35,90).

2.2. Periosteum ve Endosteum:

Birkaç istisna dışında, kemikler periosteum denen osteojenik potansiyele sahip, özel bir bağ dokusu tabakasıyla örtülüdür. Bu tabakanın kemik oluşturma özelliği vardır ^(4,35,90,96).

Periosteumun bulunmadığı yerlerde, kemik yüzeyiyle ilişkili bağ dokusu osteojenik potansiyelini yitirir ve kemik kırıklarının iyileşmesinde de katkıda bulunmaz. Periosteumda lenf damarları ve duyu sinirlerinden oluşan yoğun bir ağ bulunur ^(35,90).

Lenf damarları, kan damarlarının kemiğin içerisine girdiği kanallar aracılığıyla osteonlara kadar gider. İçinde bulunduğu bu kanallardan lenfi toplar. Duyu sinirleri de kemiği besleyen atardamarlarla birlikte kemiğin içine girerek endosteumu, ilik boşluğunu ve epifiz bölgelerini sinirlendirir. Kemiğin duyu sinirleriyle zengin bir yapıya sahip olması, vurma, çarpma, kırılma vb. durumlarda söz konusu bölgede çok yoğun bir ağrı oluşmasına yol açar. Diafizin ilik boşluğu ve süngerimsi kemiğin boşlukları endosteum denen ince hücresel tabaka ile örtülüdür. Endosteum da periosteum gibi osteojenik özelliğe sahiptir ^(35,90).

Kafatasının yassı kemikleri süngerimsi kemikten oluşmuştur. Diploe denilen ve kalınlığı değişebilen süngerimsi kemik, alt (iç) ve üst (dış) tarafta sert kemik tabakalarıyla örtülüdür. Kafatasının dış yüzeyindeki periosteuma perikraniyum denilirken; iç yüzey duramater ile örtülüdür. Yassı kemiklerin bağ dokusu örtülerine çeşitli terimler verilmesine karşın yapıları ve uzun kemiklerin periosteum ve endosteumlarından osteojenik potansiyelleri açısından bir farklılıkları yoktur ^(35,90).

2.3. Kemiğin Mikroskopik Yapısı:

Mikroskopik incelemelerde kemiğin, primer (nonlamellar, immature veya woven) kemik ve sekonder (lamellar veya matur) kemik olmak üzere iki farklı kemik türü olduğu görülmektedir⁽¹⁶⁾. Eğer uzun bir kemiğin gövde kısmından alınan bir kesit mikroskop altında incelenirse, kemik hücrelerinin, toplam kemik kütlesine göre oldukça az olduğu görülür. Sert kemik fazla miktarda kemik matriksinden oluşmuştur. Diğer destek dokularında zemin maddesi (matriks) sadece organik ögelerden meydana geldiği halde, kemikte hem organik hem de inorganik maddeler bulunur. İnorganik maddeler mineral tuzları halinde kemik matriksinde birikirler. Matriks üzerinde kemik hücrelerinin (osteositler) yer aldığı lakün denilen boşluklar vardır. Lakünler birbirleriyle kanalikülü adı verilen ince kanalcıklarla ilişki kurarlar. Kanaliküliler, aramaddede içine girip komşu lakünlerin kanalikülileriyle anastomoz yaparlar. Böylece birbirlerinden ayrı şekilde yer alan lakünler bu küçük kanalcıkların oluşturduğu ağ ile sürekli ilişki halinde bulunurlar. Bu dar geçitler kemik hücrelerinin beslenmesi için işlev görmektedir. Halbuki, kıkırdakta besin maddeleri matrikste difüzyonla hücrelere ulaşır. Kemiğin zemin maddesinde kalsiyum tuzlarının birikimi böyle bir yayılmayı olanaksız kılar. Ancak, birbiriyle ilişkili kanalikülü sisteminin bulunması hücreler ile en yakın damar etrafı alan arasındaki metabolik ve besin alışverişini olanaklı kılar^(4,35,90,96).

Sert kemikte kemik lamelleri üç ayrı şekilde yerleşmiştir.

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

2.) Havers sistemleri aralarında değişik büyüklükte, düzensiz şekilli ve köşeli lamelli kemik alanları vardır. Bu alanlara ara lamel sistemi (intersistiyal sistem) adı

verilir. Havers sistemi ve ara lamel sisteminin sınırları yapıştırıcı çizgi denilen keskin bir hat ile birbirinden ayrılır.

3.) Sert kemiklerin dış (periosteumun hemen altı) ve iç (endosteumun hemen altı) yüzleri üçüncü tür lamellerle çevrilidir. Bu lameller kemiğin gövdesinin dışında ve içinde iç içe daireler şeklinde uzanır. Bu lamellere dış ve iç çembersel lameller adı verilir ^(35,90).

Sert kemikte iki türlü damar kanalı vardır. Bunlar Havers kanalı ve Volkmann kanalıdır. Havers kanalı, havers sisteminin merkezinde uzunlamasına yer alan kanaldır ^(35,90).

Ayrıca Havers kanallarına dikey veya eğri yönde seyreden Volkmann kanalları denilen kanallar aracılığıyla birbirleriyle sürekli ilişki kurarlar. Volkmann kanalları kemiğin periosteumundan endosteumuna kadar uzanır. Çok ender olarak da kapalı uçlarla sonlanır. Periosteum ve endosteumundan gelen kan damarları Volkmann kanalları aracılığıyla Havers sistemindekilerle ilişki kurar ^(35,90).

Süngerimsi kemik dokusunda lamellerden oluşmuştur. Ancak, bu lameller sert kemik dokusunda olduğu gibi düzenli yapı göstermez. Süngerimsi kemik ince trabeküllerden oluştuğundan bunların içinde Havers ve Volkmann kanalları, dolayısıyla da damarlar hemen hemen hiç bulunmaz. Bunlardaki kemik hücreleri besin maddelerini kanalikülliler aracılığıyla endosteumdan temin ederler ^(35,90).

Periosteumun mikroskobik yapısı işlevsel durumuna göre oldukça değişiklik gösterir. Embriyonik ve doğum sonrası gelişimde, periosteumda osteoblast denen kemik oluşturan hücrelerden meydana gelmiş bir iç tabaka vardır. Bunlar kemik ile doğrudan ilişkilidir. Erişkinlerde, osteoblastlar dinlenme halindeki hücrelere dönüşürler. Bu hücrelere osteoprogenitör hücreler denir. Bu hücrelerin, bağ dokusunun iç şeklindeki diğer hücrelerinden ayırt edilmesi mümkün değildir. Kemikte bir yaralanma

olursa, o zaman bu hücrelerin kemik oluşturma potansiyeli uyarılır; tipik olarak osteoblast görünümüne sahip olarak yeni kemik yapılışına katılırlar. Periosteumun dış tabakası ise nispeten hücresiz bir sıkı bağ dokusundan oluşmuştur ve kan damarları içerir. Bu damarların kolları kemik içinde daha derin tabakalara kadar girer. Volkmann kanalları aracılığıyla da Havers kanallarında bulunan damarlarla ilişki kurarlar. Periosteumdan Volkmann kanallarına giren çok sayıda küçük damar, alttaki kemik dokusu ile ilişkinin sürdürülmesine yardımcı olur^(35,90).

Periosteumun dış tabakasından çıkan kalın kollajen fibril demetleri, içeride kemiğin dış çembersel lamellerine ve ara lamel sistemine kadar girerler. Bu fibrillere Sharpey fibrilleri veya delici fibriller adı verilir. Sharpey fibrilleri, yeni kemik lamellerinin subperiostal (periosteumun altında) oluşumu sırasında yapılan kemik matriksinde biriktirilen kalın kollajen fibril demetlerinin şekillenmesiyle oluşur. Yeni oluşmaları sırasında bu fibrillerin üzerinde kalsiyum tuzları birikmez. Bu yüzden daha rahat bir şekilde kemiğin içine girerler. Düzensiz bir çok kanalı işgal eden bu fibriller kemik lamellerine dikey ve yatay seyreterek ulaşırlar. Kalsifikasyon(kireçlenme) olduğunda, bunlar kemik yüzeyinde düzensiz ışınal çizgiler şeklinde görülür. Periosteumun, alttaki kemiğe tutunmasını sağlar. Sayıları vücudun farklı bölgelerinde değişiklik gösterir. Kafatasının bazı kemiklerinde, uzun kemiklerin periosteumuna kas ve tendonların tutunma bölgelerinde oldukça fazla miktarda bulunur. Kemikte, Sharpey fibrillerine ek olarak çok az sayıda elastik fibril de vardır. Bunlar da Sharpey fibrilleri gibi periosteumdan kemiğin içine doğru girerler. Bazen kollajen fibrillerle birlikte bazen de tek başlarına bulunurlar^(35,90).

Endosteum, içinde kemik iliğini bulunduran kemik boşluklarının duvarlarını döşeyen yassı osteojenik hücrelerin oluşturduğu ince bir tabakadır. Kemik iliği stromasının periferik (dış yüzey veya kenar) tabakası olup, osteojenik potansiyel açısından periosteumu andırır; ancak ondan biraz daha incedir. Tek kat oluşturan

hücreleri genellikle bağ dokusu fibrilleriyle ilişkili değildir. Kemikte bulunan tüm boşluklar, Havers kanalları, Volkmann kanalları ve süngerimsi kemiğin ilik boşlukları tamamen endosteum ile örtülüdür^(35,90,96).

2.4. Kemik Hücreleri:

Aktif olarak büyümekte olan kemiklerde dört çeşit kemik hücresi bulunur. Bunlar: Osteoprogenitor hücreler, osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlardır. Bunlardan ilk üç hücre, osteoklastlardan birçok bakımdan farklılık gösterir. Bu hücrelerin biri diğerine dönüşebilir. Bu yüzden bunlar, aynı hücre tipinin farklı işlevsel evreleri olarak tanımlanabilir. Hücreler geri dönüşümlü küçük değişikliklerle farklı işlevsel evrelerde farklı isimlerle anılırlar. Osteoklastlar ise kemik iliğinden oluşan ve dolaşım kanında bulunan monositlerden köken alır. Böylece köken ve işlevine bağlı olarak sahip olduğu yapısıyla da ilk üç hücre tipinden oldukça farklı bir özelliğe sahiptir^(4,35,90,96).

2.4.1. Osteoprogenitör Hücreler:

Bu hücreler sekonder (ikincil) kemiklerin dış ve iç yüzeylerini örten periosteum ve endosteum zarlarında, bu kemiklerin içerdikleri Havers ve Volkmann kanallarının örtüsünde ve büyüyen kemiklerin metafizindeki kıkırdak matriksinin trabeküllerinde bulunurlar. İnaktif şekillerinin morfolojik yönden tanımlanması güçtür. Bunlar kemik hücresi olma yönünde koşullanmış mezenşim hücrelerdir. Ancak herhangi bir nedenle kemik yapımı uyarıldığında(kemik onarımında olduğu gibi), hem sayıca artmaları hem kemik yapıcı hücrelere dönüşmeleriyle ayırt edilirler⁽⁹⁰⁾.

Osteoprogenitör hücreler kemiklerin normal büyümesi sırasında aktiftirler. Erişkinlerde de yukarıda söz edilen bölgelerde inaktif(hareketsiz) dururken; kemikte yaralanma ve kırıkların iyileşme bölgelerinde ve kemiğin içten yeniden düzenlenmesi sırasında aktive edilerek mitozla bölünüp çoğalırlar. Çoğalan bu

hücrelerin bir bölümü kemiği oluşturan osteoblastlara dönüşür. Osteogenez(kemik yapımı) durduğunda osteoblastlar da osteoprogenitor hücrelere dönüşebilirler ^(35,90).

2.4.2. Osteoblastlar:

Osteoblastlar kemik oluşumundan sorumlu hücrelerdir. Osteoblastlar osteoit maddeyi salgırlar. Kalsifikasyonla da ilişkileri olduğu sanılmaktadır. Morfolojik görünüşleri sentez durumunda olup olmamalarına bağlıdır. Kemikleşme bölgelerinde, gelişmekte olan kemiklerin periosteumunun kemiğe temas eden derin bölgelerinde diziler halinde bulunurlar^(35,90).

Osteoblastlar yüksek seviyede alkalen fosfataz aktivitesi gösterirler. Bu da kemik matriksinde kalsiyum depolanmasını osteoblastların düzenlediğini gösterir. Osteoblastlar PAS pozitif granüller bakımından zengindir. Kemiğin yapımı sırasında bu granüller kemik matriksinin öncülleri olarak kabul edilir ve mikroskopta pembe renkli küçük sitoplazmik vakuoller şeklinde görülür. Bu hücreler kemik matriksinin organik kısmını yani kollajen fibrilleri, proteoglikanları, glikozaminoglikan ve glikoproteinleri salgırlar. Henüz kireçleşmemiş olan bu tür organik maddeye osteoit denir. Osteoblastlar salgıladıkları osteoit içinde gömülü kalır. Yeni aktif kemik oluşumu durduğunda, osteoblastların aktiviteleri önce yavaşlar sonra durur. Şekilleri de yavaş yavaş değişmeye başlar. Osteoblastlar iğ veya mekik şeklindeki hücrelere dönüşür. PAS pozitif granülleri stoplazmalarından yavaş yavaş kaybolur. Hücrelerin fosfataz tepkimesi de hızlı bir şekilde düşer. Sonunda osteosit haline geçerler ^(35,90).

Kemik yapımı sırasında, şekillenmekte olan kemik trabekül ve lamellerinin yüzeylerinde devamlı olarak bir osteoblast sırası bulunur. Bunlar osteoprogenitor hücrelerden farklılaşır. Osteoblastlar bölünmezler^(35,90).

2.4.3. Osteositler:

Kalsiyum tuzlarının birikmesiyle kireçleşmiş kemik matriksi içinde hapsolan osteoblastlara osteosit denir. Dolayısıyla osteositler, tamamen oluşmuş kemikte esas hücrelerdir. Osteositin hücre gövdesi, içinde bulunduğu lakün adı verilen boşluğun şekline uyar. Bu hücreler ince sitoplazmik uzantılara sahiptir. Bu uzantılar kanaliküli denilen küçük kemik kanalcıkları içinden komşu osteositleriyle ilişki kurar^(35,90).

Bu durum, kemik hücrelerinin lakünleri içinde tek başlarına hapsolmadıklarını, hücre-hücre bağlantı özellikleriyle birbirleriyle ilişki halinde olduklarını gösterir⁽³⁵⁾.

Bu bulgu, kemiğin kalsifiye olmuş matriksi içinde gömülü bulunan osteositlerin kan yoluyla gelen hormonlarla nasıl uyarıldığını ve bunlara hücrelerin nasıl yanıt verdiğini izah edebilmektedir⁽³⁵⁾.

Osteositlerin kemiğin diğer hücre tiplerine dönüşebilme özelliği vardır. Öyle ki, kemik yıkımı sırasında içinde bulundukları lakünlerden dışarı çıkınca hemen dinlenme halindeki osteoprogenitor hücrelere, bunlarda osteoblastlara dönüşebilir⁽³⁵⁾.

Osteosit, kendi gelişimi sırasında kemik matriksiyle çevrili bir osteoblasttan başka bir şey değildir. Bulunduğu lakün içinde yavaş yavaş sitolojik değişime uğrarken, aktivitesini de devam ettirir. Osteosit, kendi etrafındaki kemik matriksi üzerine önemli derecede etkide bulunur⁽³⁵⁾.

Osteoliz olayı aktif fizyolojik bir olay olup, osteosit etrafındaki kemik matriksinin değişime uğratılması ve kemik tuzlarının geri emilmesidir⁽³⁵⁾.

2.4.4. Osteoklastlar:

Kemik sürekli olarak yıkılan, yapısal gerilim ve vücudun kalsiyum gereksinimi gibi etkenlerle yeniden yapılanan dinamik bir dokudur. Kemik trabekülleri

yüzeyinde ve çoğunlukla 'Howship' denen boşluklar içinde gözlenir. Osteoklastlar, osteoblastlarla birlikte mekanik streslere bağlı olarak kemiğin şekillenmesine, plastik etkinliğini en iyi şekilde yapabilmesine olanak verirler^(35,90).

Kemiğin yeniden biçimlenme süresince çözünüp çevre dokularca emilmesinden sorumlu çok çekirdekli hücreler olan osteoklastlar, kalsiyumun kemik dokusundan kana salınmasında aktif rol oynayarak, vücut sıvılarında kalsiyum derişiminin homeostatik düzenlemesinde çok önemli rol oynarlar. Özellikle kemik yıkımının olduğu bölgelere yakın bulunan, 20-100 µm çapında ve 50'ye yakın çekirdeği olabilen dev hücrelerdir^(35,90).

Kandaki kalsiyum seviyesinin düzenlenmesi, kemikte birbirine zıt çalışan iki hormonla kontrol edilir. Bunlar paratiroid bezinden salgılanan paratiroid hormonu ve tiroit bezinden salgılanan kalsitonindir. Paratiroid hormonu kemik yıkımını uyarak kalsiyumun kemikten kana geçmesine neden olurken, kalsitonin kalsiyumun kemikten ayrılmasını baskılar⁽³⁵⁾.

2.5. Kemik Oluşumu (Osteogenez):

Kemik her zaman, önceden o bölgede bulunan bir çeşit bağ dokusunun değişikliğe uğramasıyla oluşur. Embriyoda tanımlanan iki tip osteogenez (kemik oluşumu) vardır. Kemik oluşumu, doğrudan bağ dokusunda gerçekleşiyorsa buna zarlararası kemikleşme "intramembranöz kemikleşme"; önceden bulunan kıkırdak dokusu içinde gerçekleşiyorsa buna da kıkırdakiçi kemikleşme "endokondral kemikleşme" adı verilir. Nadiren, patolojik durumlarda kemik dokusu dışındaki dokularda da kemik oluşumu görülebilir. Normal olmayan bu kemik oluşumuna ektopik kemik oluşumu adı verilir^(4,35,90,96).

Kemik remodelasyonu, osteoblastlar tarafından kemik yapımı ve osteoklastlar tarafından kemik yıkımı ile karakterize kemik yenilenmesinin başarılıldığı bir

süreçtir. Bu iki aktivite sistemik olarak hormonlar ve lokal olarak sitokin ve büyüme faktörleri tarafından düzenlenmektedir⁽⁵²⁾.

2.6. Zarlararası Kemikleşme (İntramembranöz Kemikleşme):

Frontal (alın kemiği), parietal (üstkafa kemiği), oksipital (artkafa kemiği) ve temporal (şakak kemiği) kemikler gibi kafatasının bazı yassı kemikleri ile mandibula (altçene kemiği) ve maksillanın (üstçene kemiği) bazı kısımları bu tür kemikleşme ile meydana gelir. Bu yüzden bu kemiklere zar kemikleri denir. Bu yolla kemiğin oluşacağı bölgelerde mezenşim hücreleri yoğunlaşıp uzantılarıyla birbirleri ile ilişki kurarlar. Kan damarları yönünden de zengin olan bu bölgede hücrelerin arasındaki boşluklar ince kollajen fibril demetleriyle doldurulur. Bu bölgede bulunan elemanların düzenlenmesi birkaç tabaka zarımsı yapıların oluşmasına neden olur. Kemik oluşumunun ilk işareti, yoğun eozinofil matrikste ince ipliksi yapıların görünmesidir. Kemik matriksindeki bu ince ipliksi yapılar yanıbaşlarındaki kan damarlarına eşit uzaklıkta birikmeye başlarlar. Damarlar bir ağ oluşturduğundan, ilk oluşan trabeküller de dallanan ve birbiriyle anastomozlaşan bir yapı meydana getirirler. Hücre dışı eozinofilik matrikste kendi kendine oluşan bu ilk şekillenme yanında, civardaki bağ dokusu hücrelerinde de değişiklikler görülmeye başlar. Trabeküllerin yüzeyinde toplanan bu hücreler yavaş yavaş genişleyip büyümeye başlar. Hareketsiz halde kübik veya silindirik olan bu hücreler birbirleriyle çok kısa uzantılarıyla haberleşirler. Boyut ve yapılarındaki sıralı değişikliklerle, hücreler yoğun olarak bazofilik bir karakter kazanır ve sonunda osteoblast haline dönüşür. Osteoblastların bu zarımsı yapılar arasında kemik matriksini oluşturacak maddeleri sentezleme ve salgılama işlevi sürerken osteoit birikimide artar. Böylece trabeküller hem daha uzun, hem de daha kalın olur^(35,90).

Kollajen molekülleri matriksin proteoglikanlarıyla birlikte salgılanır. Hücre dışında, polimerize olan bu fibriller kemik matriksindeki trabeküllerin her tarafında

bol miktarda yer alıp ağısı bir yapı oluştururlar. Kollajen fibrillerin her yöne seyrettiği bu ilk ağımsı yapıdaki kemik, bu görünüm itibarıyla örgüye benzer. Bu yüzden bu kemiğe dokuma kemiği de denir. Lamelli kemikte ise kollajen fibriller çok düzgün paralel ışınsal demetler oluşturur. Dokuma kemiğinde bulunan nispeten geniş eğri-büğrü kanalları, kan damarları ve bağ dokusu doldurur. Osteositler de aynı şekilde dağılırlar; ancak rastgele yönelirler. Lamelli kemikte ise, osteositler Havers kanalları etrafında düzenli bir yerleşim gösterirler⁽³⁵⁾.

Kemik matriksini sentezleyip dışarı veren osteoblastlar, bir süre sonra bu materyal içinde hapsolup kalırlar ve böylece kemik dokusunun olgun hücreleri olan osteositleri oluştururlar. Yeni birikmekte olan matriks içindeki lakünlerde yerleşen osteositler kemik yüzeyindeki osteoblastlarla çok ince uzantıları aracılığıyla ilişki kurar. Kemik kanalcıkları, bu hücrelerin uzantıları etrafında matriks birikimi ile oluşur. Trabekül yüzeyindeki osteoblastların kemiğin içine girmesiyle birlikte sayılarında görülen azalma, civardaki bağ dokusunu farklılaşmamış hücrelerinden yeni osteoblast oluşması ile telafi edilir. Bu öncül hücrelerde mitoz bölünme oldukça sık görülürken, osteoblastlarda pek rastlanmaz. İlerde sert kemiğin oluşacağı yerde bulunan süngerimsi kemik bölgelerindeki trabeküller, kan damarlarının etrafındaki bağ dokusunu daraltarak kalınlaşmalarını sürdürür. Her ne kadar lamelli kemik dokusundaki gibi çok düzenli bir yerleşim göstermezlerse de, trabeküller üzerindeki kemik tabakalarında biriken kollajen fibriller biraz daha düzenli yerleşerek lamelli kemik dokusuna benzer bir yapı oluşturur^(35,90).

Süngerimsi kemiğin sürekli kalacağı bölgelerde, trabeküller artık daha fazla devam etmez; damarlı bağ dokusu da yavaş yavaş kan hücrelerini üretecek olan hemopoietik doku haline dönüşür. Kemiğin büyümekte olan kitlesini saran bağ dokusu ise değişmeden kalarak yoğunlaşır ve periosteumu oluşturur. Kemik gelişimi sırasında yüzeye yakın yer alan osteoblastlar, büyüme durduğu zaman periosteum ve

endosteumda morfolojik olarak fibroblastlara benzeyen osteoprogenitör hücre olarak hareketsiz bekler. Kemik yapımı için bir uyarı geldiğinde, bu hücrelerin kemik yapıcı özellikleri yeniden işlevsel hale gelir ve osteoblastların tüm hücre özelliklerine tekrar sahip olur ^(35,90).

3. MAKSİLLOFASİYAL CERRAHİDE KULLANILAN GREFTLER:

Cerrahi, travma ve/ veya konjenital anomaliler nedeniyle oluşan büyük kemik defektleri önemli rekonstrüktif problemlere neden olmaktadır. Kemik defektleri ve bunların tedavisi ortopedik cerrahi, sinir cerrahisi, maksillofasiyal cerrahi ve rekonstrüktif cerrahide yaygın ve iyi bilinen bir problemdir^(7,29).

Kemik transplantları 70 yıldan beri rutin bir şekilde iskeletsel defektlerin tamirinde kullanılmaktadır^(17,18,19,62). Kandan sonra en sık transplante edilen doku kemik dokusudur⁽¹³⁾.

Kemik transplantasyon sürecinde hasta ve cerrahın pek çok faktörü göz önünde bulundurması gerekmektedir. Otojen kemik transplantlarının, ilave cerrahi insizyon, operasyon sonrasında morbiditede artış, verici kemik alanının zayıflaması ve bu durumlardan dolayı ortaya çıkabilecek potansiyel ciddi komplikasyonları mevcuttur. Alternatif olarak kullanılan materyallerde ise iyileşmeme, yorgunluk kırıkları ve transplante edilen kemiğin rezorbe olması gibi komplikasyonlar vardır⁽¹⁸⁾.

Kemik transplantasyonunda göz önünde bulundurulması gereken diğer faktörler⁽¹⁸⁾;

a-Greftin damarlanma durumu

b-Alıcı ve verici arasındaki immünogenetik özellikler

c-Transplante edilen materyallerin mekanik özellikleri (boyut, şekil, tip)

d-Kemiği korumak için kullanılan tekniktir

3.1. Otogeftler:

- Dokunun aynı bireyde bir yerden başka bir yere transferini ifade eder^(12,18). Otogeftler diğer kemik transplantlarının değerlendirilmesi için altın standart olarak tanımlanmaktadır. Dezavantajları^(18,80);

- Normal iskelet yapısının kaybı
- Morbiditede artış
- Alınabilecek miktarın sınırlı olması
- Verici sahanın mekanik gücünün azalmasıdır.

Otojen transplantlarına alternatif allojenik kaynaklardır.

3.2. Allogreftler:

Aynı türdeki bireyden alınan greftin aynı türden başka bir bireye nakledilmesidir. Dezavantajları^(12,18);

- Dokunun alıcı immünogenetiğine bağlı kabul edilmeme (iyileşmeme) riski vardır.
- Vericiden alıcıya hastalık geçiş riskidir.

3.3. Ksenogreftler:

Dokular iki farklı tür arasında transfer edilir^(12,18).

3.4. Alloplastik greftler:

Cansız sentetik materyallerden elde edilen greftlerdir, implant materyalleri olarakta bilinirler(metaller, seramikler, karbonlar ve kalsiyum fosfatlar gibi) (12,16,102).

İdeal bir greft materyalinde şu özellikler olmalıdır^(16,102);

- 1) Sitotoksik, karsinojen, iritan olmamalı ve allerji yapmamalıdır.
- 2) Biomekanik olarak dokuların fiziksel özelliklerine uyum gösterebilmelidir.
- 3) Mekanik basınçlarla fiziksel değişimlere uğramamalıdır.
- 4) Çevre doku ile uyumları iyi olmalıdır.
- 5) Bioadeziv olmalıdır.
- 6) Biokorozyona karşı dirençli olmalıdır.
- 7) Hafif, dayanıklı, aşınmaya dirençli ve üstün şekillendirme yeteneğine sahip olmalıdır.
- 8) Değişik sistemlerle steril edilebilmelidir.
- 9) Üretimleri ekonomik olmalıdır

Transplant materyali vericisinin, orijini ne olursa olsun kemik transplantının tamirini tanımlamak için kullanılan terim birleşmedir. Birleşme transplant materyalinin alıcı doku ile birleşme sürecidir. Kortikal ve kansellöz kemik için birleşme mekanizması bazı farklılıklara rağmen benzerdir. Otojen ve allojen greftlerin birleşmesinde ise farklılıklar vardır. Greft ile alıcı birleşmesinin insidansı, transplantın biyolojik kabulünü yansıtmaktadır. Daha sonra ana yapının remodelingi ise transplantın fonksiyonel kullanılabilirliğini kesinleştirmektedir. Birleşme süresi her şeyden önce alıcı yatağın işlev görmesine ve greft materyali ile sıkı kontakına bağlıdır⁽¹⁸⁾.

Birleşme için doğal değişkenler;

1-Osteoprogenitör(mezenşimal) hücrelerin proliferatif aktiviteleri

2-Osteokondüksiyon

3-Osteoindüksiyon

4-Greftin ve alıcı sahanın biyomekanik özellikleridir.

Aynı zamanda birleşme, alıcının yaşı ve fizyolojik iskelet metabolizması ile de ilişkilidir⁽¹⁸⁾.

Osteokondüksiyon: Alıcı yatağından transplante edilen materyal içerisine osteoprogenitör(mezenşimal) hücrelerin ve kapillerlerin büyümesidir. Transplante materyaller cam, seramik ve plastik gibi biyolojik olmayan materyaller olabileceği gibi otoklavlanmış, deproteinize, dondurulmuş veya dondurulmuş-kurutulmuş kemik transplantları gibi cansız biyolojik materyaller ya da taze non-vasküler veya vasküler greftler olabilir^(5,18).

Osteoindüksiyon: Kemik matriksi ile temas eden fibroblast benzeri mezenşimal hücrelerin diferansiyasyon sürecidir^(5,18).

Biyomateriyallerin klinik kullanıma geçmeden önce preklinik deneyler ile potansiyellerinin ve güvenilirliklerinin onaylanması gereklidir. Kritik boyuttaki defekt kemik replasman materyallerinin yararlılığının değerlendirilmesi için uygun bir modeldir⁽⁷⁾.

Kraniofasial rekonstrüktif cerrahide greftler ve implantlar gibi osteoindüktif ajanlar devamlı ve devamsız defektlerin tamirinde veya kemik augmentasyonları için kullanılmaktadır⁽⁸³⁾.

İmplantlar ve kemik greftlerinin çeşitliliği üzerine yapılmış pek çok hayvan çalışması olmasına rağmen araştırmacılar arasında uygun hayvan modelleri seçiminde oldukça az miktarda tutarlılık vardır. Hayvanın cinsi, defektin büyüklüğü, hayvanın yaşı gibi pek çok faktör iyileşmeyi(osteogenezisi) etkilemektedir^(30,83).

Sonuç olarak; deneysel olarak oluşturulan yaralarda kontrol olarak seçilen (greft veya implant uygulanması yapılmayan) bölge spontan bir şekilde iyileşebilmektedir^(30,83).

Olgunlaşmamış bir hayvandan alınan örnek erişkin (adult) bir hayvandakine göre daha hızlı iyileşebilmektedir. Bu yüzden kemik tamir materyalleri için yapılacak doğru bir test için seçilen hayvanların erişkin(adult) olmaları gerekmektedir^(30,83).

3.5. Kritik Boyuttaki Defekt(KBD):

Hayvanın hayatı boyunca spontan bir şekilde iyileştiremeyeceği kemik içerisinde oluşturulacak en küçük boyuttaki defekt olarak tanımlanabilir^(1,7,14,26,47,83,100).

Enfekte olmayan ve stabilize bir defekt için^(1,14,30),

1. Hayvanın türü
2. Hayvanın yaşı
3. Deneysel olarak oluşturulan defektin anatomik lokalizasyonu
4. Defektin büyüklüğü
5. Periostun intakt olması önemlidir.

Bir hayvan deneyinde kemik rejenerasyonunun güvenilir bir şekilde test edilebilmesi için⁽¹⁴⁾,

1- Deneysel olarak oluşturulacak kemik defektinin minimal boyutu, her hayvan türü için belirlenmiş kritik boyuttaki kemik defektinden daha küçük olmamalıdır.

2- Deney hayvanları pahalı olmamalıdır.

- 3- Kolay elde edilebilmeli, manuplasyon ve anestezisi kolay olmalıdır.
- 4- İmplant sahası hem kortikal hem de kansellöz kemiği içermelidir.
- 5- Kemik defekti stabil olmalı materyallerin hareketine izin vermemelidir.
- 6- Kırık riski en aza indirilmelidir.
- 7- Deney hayvanlarının takipleri tam ve doğru olarak yapılmalıdır.

4. TROMBOSİT ZENGİN PLAZMA:

Trombosit Zengin Plazma(TZP), donörden alınan venöz kanın santrifüj işlemlerine tabi tutularak kan elemanlarından trombositlerin ayrıştırılmasıyla elde edilen, yumuşak ve sert dokularda hemostaz ve yara iyileşmesinde belirli avantajlar sağlayan bir ajandır. TZP, PDGF ve TGF- β gibi büyüme faktörlerinin otolog olarak elde edilmesi için yaygın olarak kullanılan bir methodtur. Pıhtılaşma sürecinin başlatılması ve trombositlerin α granüllerinden büyüme faktörlerinin salınması için TZP'ye ihtiyaç duyulmaktadır^(57,71,85,94,100).

Trombositler pıhtı formasyonu nedeniyle yara iyileşmesinde gereklidir ve yara iyileşmesini başlatmak ve desteklemek için büyüme faktörlerinin salınmasından sorumludur⁽⁷¹⁾. Cerrahiden sonra, trombositler bölgede kalıcı(sağlam) bir kan pıhtısı oluştururlar. Doku oluşumu, iyileşmenin desteklenmesi ve artırılması için büyüme faktörlerinin salınımı başlar. Diğer kemiklerde olduğu gibi maksillofasiyal bölgenin gelişmesinde hormonların ve büyüme faktörlerinin çok önemli rolleri vardır. Kemik ve yumuşak doku metabolizması üzerinde sistemik hormonların ve büyüme faktörlerinin etkilerini gösteren pek çok çalışma mevcuttur^(15,21,22,23,27,33,40,48,50,66,67,71,80,81,97,107).

Yaralanma sonucunda damarsal yapıların bozulmasını trombosit aggregasyonu(bir araya toplanması) ve fibrin formasyonu(oluşması) takip eder. Yaralanmadan sonra trombositler ve yakın olan komşu hücrelerden doku içerisine çok sayıda büyüme faktörü salınmaya başlar.

Trombositlerdeki büyüme faktörleri etkilerini spesifik hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak göstermektedir. TZP'nin osteojenik hücrelerin proliferasyonunu artırarak kemik formasyonu ve rejenerasyonu üzerinde güçlü bir stimülatör olabileceği düşünülmektedir^(71,89).

Büyüme faktörlerinin lokal uygulanması özellikle rejenerasyon olmak üzere iyileşmeyi arttırmaktadır. TZP' nin içerisinde PDGF, TGF- β ve IGF-I bulunduğunu gösteren pek çok çalışma vardır. Bu faktörlerin yara iyileşmesi üzerindeki etkilerinden dolayı, kullanımı umut vaat etmektedir⁽⁹⁹⁾.

4.1. Trombosit Zengin Plazmanın Avantajları;

- 1- Alıcı ve verici alanda operasyon sırasında ve sonrasında kanamanın azalması
- 2- Yumuşak doku iyileşmesinin hızlandırılmasına yardımcı olması
- 3- Adeziv (Yapıştırıcı) etkisi sayesinde alıcı sahadaki greft materyalinin stabilitesini artırması
- 4- Büyüme faktörleri sayesinde iyileşmekte olan dokuların vaskülarizasyonunun hızlandırılması
- 5- Kemik replasman materyalleri ile kombine kullanılarak rejenerasyonun arttırılmasını sağlaması
- 6- Toksik olmaması
- 7- Orijinal donörden alındığında otojen materyal olduğu için immün reaksiyona sebep olmaması

- 8- Operasyon sırasında veya öncesinde kısa sürede hazırlanması
(Operasyon sırasında zaman kaybına neden olmaz.)
- 9- Doku uyumlu olması
- 10- Enfeksiyöz hastalıkların geçiş riskinin bulunmaması^(37,99).

PDGF, TGF- β , PDEGF, IGF I ve PF-4 trombositlerden salınan faktörlerdir. Büyüme faktörleri trombositlerin α (alfa) granüllerinden salınırlar^(24,57,60,78,85,89).

4.2. PDGF(Platelet-derived Growth Factor = Trombosit Kaynaklı

Büyüme Faktörü):

PDGF'ler trombositlerin α (alfa) granüllerinde bulunurlar ve pıhtılaşma sırasında salınırlar. Aynı zamanda monositler, makrofajlar, düz kas hücreleri ve endotel hücrelerinde de bulunurlar. Mezenşimal hücreler, düz kas hücreleri ve fibroblastlar için güçlü bir mitojenik etki gösterirler^(57,78,89).

PDGF' nin etkisi diğer büyüme faktörlerinin varlığına bağlıdır. Aynı zamanda lökositler, makrofajlar, fibroblastlar ve düz kas hücreleri için güçlü bir kemoatraktandır^(57,78,89).

Bunlara ek olarak, anjiojenik özellikleri sayesinde kollajen ve matriks formasyonunu stimüle eder⁽⁸⁹⁾.

4.3. TGF- β (Transforming Growth Factor- β =Transforme Edici

Büyüme Faktörü-Beta):

Moleküler ağırlığı 25.000 daltondur. İki polipeptit zincirinin disülfat bağı ile bağlanması ile meydana gelmiştir. TGF- β_1 , TGF- β_2 ve TGF- β_3 olmak üzere üç farklı gen yapısında bulunur. Bunlardan TGF- β_1 'in trombositlerde ve kemikte yüksek

konsantrasyonlarda bulunduğu bildirilmiştir. TGF- β otokrin ve parakrin mekanizmalar ile etki gösteren önemli düzenleyici bir moleküldür⁽⁷⁸⁾.

TGF- β 'nın faaliyetleri sadece lokal ve çevresel etkilerle sınırlı değildir. Günümüzde, TGF- β 'ların endokrin sirkülasyonunun otoimmün hastalıklar ve kronik fibrotik patolojilerde önemli bir payı olduğu anlaşılmıştır. Günümüzde de atherosklerozis ve karsinogenezisi de içeren pek çok hastalıkta prognostik marker olarak kullanılmaktadır. Makrofajlar veya trombositler tarafından salınan TGF- β 'lar etkilerini yakındaki fibroblastlar, kemik iliği kök hücreleri, endotelial hücreler ve preosteoblastlar üzerinde gsterirler^(57,78).

TGF- β 'lar anjiogenezisi, konnektif dokudaki fibronektin, glikozaminoglikan ve kollajen yapımını stimüle ederler. TGF- β 'nın en önemli fonksiyonlarından biri de osteoblast prekürsörlerinin mitojenezi ve kemotaksisidir^(57,78).

Bu polipeptit aynı zamanda osteoklast yapımını ve rezorpsiyonu inhibe ederek de kemik oluşumunu arttırır^(57,78).

TGF- β in vitro olarak PDGF ile birlikte fibroblastların büyümesini stimüle ederken epidermal büyüme faktörü ile birlikteyken inhibe etmektedir⁽⁷⁸⁾.

4.4. PDEGF (Platelet-Derived Epidermal Growth Factor=Trombosit Kaynaklı Epidermal Büyüme Faktörü):

Cohen tarafından 1962'de keşfedilmiştir ve tanımlanan ilk büyüme faktörüdür. Keratinositlerin ve dermal fibroblastların proliferasyonunu stimüle ederek, epidermal rejenerasyonu ve yara iyileşmesini hızlandırır. Bunun yanı sıra diğer büyüme faktörlerinin üretimini ve etkilerini arttırır⁽⁷⁸⁾.

4.5. PDAF (Platelet-derived Angiogenesis Factor =Trombosit

Kaynaklı Anjiogenezis Faktör):

Deneyisel olarak PDAF'nin vaskülarizasyonu(damarlanmayı) artırıcı etkiye sahip olduğu gösterilmiştir^(78,106). Vasküler endotelial hücreleri direkt veya indirekt yoldan etkilerler. Devaskülarize dokularda yeni kan damarlarının gelişmesini sağlarlar. Bazı sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin düzenlenmesi PDAF tarafından yapılır. Bunlar, IGF-I, TGF α ve β , PDGF, temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF), PDEGF ve interlökin 1 β (IL-1 β) dir. Bu faktör hipoksi durumunda oldukça hızlı bir şekilde bölgede yerini alır⁽⁷⁸⁾.

4.6. IGF-I (Insulin-like Growth Factor-I=İnsülin benzeri büyüme

faktörü):

Ağırlığı 7.500 dalton olan tek zincirli polipeptit bir hormondur. IGF-I insülin ile %47 homoloji(benzerlik) gösterir. Kıkırdak büyümesini, kemik matriks oluşumunu, preosteoblast ve osteoblastların replikasyonunu stimüle eder^(22,51,78). IGF-I hücreleri direkt olarak stimüle edebilir. Osteoblastik hücrelerdeki alkalen fosfataz aktivitesini artırır ve aktive eder (otokrin etki)^(51,78).

IGF-I transkriptleri yaradaki makrofajlardan izole edilmiştir. Bu da bu büyüme faktörlerinin lokal haberci (parakrin etki) olarak hareket edebileceğini düşündürmektedir. IGF-I in PDGF ile kombinasyonu yara iyileşmesinin kalite ve kantitesini artırabilir⁽⁷⁸⁾.

4.7. PF-4 (Platelet Factor 4=Trombosit faktör 4):

Trombositlerin α granüllerinden salınan PF-4 nötrofiller ve fibroblastlar için bir kemoatraktandır. Aynı zamanda güçlü bir antiheparin ajandır⁽⁷⁸⁾.

Kanno ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada TZP uygulamasının, doz ve zamana bağlı bir modelde osteoblast benzeri hücrelerin 2 farklı tipinde proliferasyonu önemli oranda arttırdığını göstermişlerdir⁽⁵⁷⁾.

4.8. TZP Kullanımının Olası Riskleri:

Elde edilen TZP'nin jel haline getirilmesi için kalsiyum klorid veya topikal bovin trombin (TBT) kullanılmaktadır. TBT nin kullanımı ile ilgili olarak hayatı tehdit etme riski olan koagülopatilere neden olabilecek faktör 5, 11 ve trombin antikorlarını harekete geçirebileceği rapor edilmiştir^(60,78).

TBT ürünleri yabancı protein ile ortaya çıkan ve immün sistem reaksiyonuna neden olabilecek faktör 5 içermektedir. Kardiyovasküler cerrahi hastalarında tekrarlayan TBT temasında TBT'nin meydana getirdiği koagülopatilerle ilgili yayınlanmış 32 vaka raporu vardır⁽⁷⁸⁾. Ancak son yıllarda buna ITA jelleştirici ajan (Natrex Technologies Inc. Greenville NC) eklenmiştir⁽⁶⁰⁾.

Landesberg ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada TZP jel elde etmede 2 farklı yöntemi ve her bir yöntemde elde edilen PDGF ve TGF- β miktarını karşılaştırmışlardır. TZP jel, santrifüj yoluyla elde edilen TZP'ye trombin ve kalsiyum klorit eklenerek veya ITA jelleştirici ajan kullanımı ile pıhtılaştırılarak hazırlanmıştır. Her iki metod ile TZP jel elde edilmesi 30 dakikadan az bir süre almıştır. ITA jelleştirici ajan kullanıldığında bovin trombine gerek kalmadan yeterli miktarda jel başarıyla elde edilmiştir. Ayrıca her iki metodlarda aynı miktarda PDGF ve TGF- β elde edilmiştir. Araştırmacı, jel hazırlanması için ITA jelleştirici ajan kullanımının kalsiyum klorit ve trombin ile aynı miktarda jel elde edilmesini sağladığını da eklemiştir. Otöre göre bu teknik özel bir ekipman gerektirmemekte ve koagülopati riskini ortadan kaldırmaktadır⁽⁶⁰⁾.

III. MATERYAL ve YÖNTEM:

Çalışmamız, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul raporu ve Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deney Hayvanları Etik Kurul raporu alındıktan sonra Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deney Hayvanları Laboratuvarında gerçekleştirildi. Tümü sağlıklı, erişkin, erkek ve ağırlıkları ortalama 3250 gr. olan 24 adet Yeni Zelanda tavşanı çalışmamıza dahil edildi. Çalışmamız süresince deneklere standart besin rejimi uygulandı.

Araştırmada kullanılan denekler her grupta 8 tavşan olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Bu gruplar;

1.grup diabetik 1.defekt boş(kontrol) ve 2.defekt otojen greft+TZP

1.a) 6.hafta (4 denek sakrifiye edildi.)

1.b) 12.hafta (4 denek sakrifiye edildi.)

2.grup diabetik 1.defekt boş(kontrol) ve 2.defekt Bio-gen® greft+TZP

2.a) 6.hafta (4 denek sakrifiye edildi.)

2.b) 12.hafta (4 denek sakrifiye edildi.)

3.grup sağlıklı (diabet oluşturulmayan) 1.defekt boş(kontrol) ve 2.defekt otojen greft+TZP

3.a) 6.hafta (4 denek sakrifiye edildi.)

3.b) 12.hafta (4 denek sakrifiye edildi.)

Deneyel olarak diabet oluşturmak amacıyla Alloksan (Ünitay Lab.San. A.Ş.) 100mg/kg tavşanların kulak veninden intravenöz olarak verildi. Ani glukoz düşüşünü önlemek amacıyla ilk 24 saat tavşanlara oral olarak %5'lik dekstroz çözeltisi verildi. Tüm

gruplarda deneyden önce ve alloksan verilmesini takip eden 5. ve 8. günlerde kan şekeri ölçüm cihazı ve stripleri kullanılarak kan-glukoz konsantrasyonu ölçüldü. Kan-glukoz konsantrasyonu 200 mg/dl ve üzeri olan tavşanlar diabet olarak kabul edildi.

Trombosit Zengin Plazma kiti ve santrifüj cihazı (RA Tıbbi Cihazlar San. Ve Tic. A.Ş.) kullanılarak elde edilecek TZP için her operasyondan önce TZP kitinin vakumlu tüpüne cerrahi işlem yapılacak olan tavşanın kulak veninden 9 cc kan alındı (Resim 1,2,3,4). Alınan kan 10 dakika süreyle 2400 rpm de santrifüje edilip trombosit içeren plazmadan alyuvar ve akyuvarlar ayrıştırıldı (Resim 5). Toplanan trombosit içeren plazma 15 dakika 3600 rpm de tekrar santrifüje tabi tutuldu

Santrifüj işleminden sonra tüpün üst bölümünde toplanan trombosit fakir plazma (TFP) enjektör yardımıyla alınıp atıldı, alt bölümde kalan trombosit zengin plazma ise steril TZP çekme şırıngasıyla dikkatli bir şekilde toplandı (Resim 6 ve 7). Operasyon sırasında TZP hazırlandığı için cerrahi süresinde herhangi bir uzama ve zaman kaybı yaşanmadı.

Araştırmada kullanılan deneklerin anestezisi için Xylazine HCl (Alfazyne®) 5mg/kg ve ketamin HCl (Alfamine®) 35mg/kg kombinasyonu intramuskuler olarak uygulandı. Gerekli asepti-antisepti kurallarına bağlı kalınarak steril ortam hazırlandı. Yeterli anestezi derinliği elde edildikten sonra deneklerin kafatası bölgesi %10'luk povidine iyot solüsyonu (Betadine®, Kansuk lab.,İst.) ile temizlenip traşlandı ve temiz cilde ulaşıldı.

Kafatasının orta bölgesinden kemik teması alınarak anteroposterior yönde midsagittal insizyon yapıldı ve tam kalınlık flep kaldırılarak kemik yüzeye ulaşıldı. Tavşan kafatasında kritik defekt boyutu olan 15 mm steril kalem ve kumpas yardımıyla kemik üzerine işaretlendi ve rond frez ile serum soğutması altında işaretlenen bölgeler birleştirildi (Resim 8 ve 9). Periost elevatörü yardımı ile kemik dikkatli bir şekilde beyin ve duraya zarar verilmeden çıkartılarak steril beher içinde küçük parçalara ayrıldı. Hazırlanmış olan TZP ile karıştırılarak bekletildi (Resim 10). Aynı şekilde frontal kemikte

de kritik boyutta 2. defekt hazırlandı. Birinci ve üçüncü gruplarda defektlerden birine rastgele olarak TZP+otojen kemik grefti karışımı yerleştirdi (Resim 11). Diğer defekt ise kontrol defekti olarak boş bırakıldı. 2.gupta ise defektlerden bir tanesine Bio-gen® greft+TZP uygulanırken diğer defekt kontrol için boş bırakıldı (Resim 12 ve 13). (Bio-Gen® (Stab. Prod.str. Buttiglieria, 26 10020 Riva Presso Chieri (TO) Bioteck) granüler mix greft tamamen absorbe edilebilir özellik taşıyan ürün, kollajen olmayan, antijenden arındırılmış ve hayvan kemiğinden elde edilen, geçirgen doğal kemik malzemesidir. Bio-Gen® maksimum 130 C⁰ sıcaklıkta nemli ortamda gerçekleşen fiziksel ve kimyasal işlemlerden meydana gelen üretim işlemleri içerisinde, kalsifikasyon işlemi bulunmamaktadır. Karışım 0.5 mm'lik kortikal taneleri ve 1 mm'lik spongy tanelerinin oluşturduğu kalibre edilmiş kortikal ve spongiöz kemik dokusu karışımından meydana gelir). Periost 4.0 vikril ile cilt ise 3.0 ipek ile suture edildi (Resim 14 ve 15). Tüm deneklere operasyondan sonra 5 gün prokain penisilin G (İecilline flakon 800.000 İ.E. Ulagay) intramuskuler olarak verildi.

Denekler 6. ve 12. haftalarda literatürlerle uyumlu olarak kurban edildi. Defekt bölgesi çıkartılarak histopatolojik incelemesinin yapılması için %10'luk formol solüsyonu içerisine yerleştirildi.

Histopatolojik incelenme:

Alınan biyopsi örnekleri %10'luk tamponlanmış formol solüsyonunda tespit edildikten sonra tüm örneklerin, %10'luk formik asit ile, solüsyon 3-4 günde bir yenilenerek dekalsifikasyonu sağlandı. Vertikal olarak ikiye bölünen, defekt alanı ve sağlıklı doku da içeren örnekler 24 saat akar suda yıkandıktan sonra Shandon Citadel 1000 marka otomatik doku takip cihazına alındı. Dokular sırasıyla birer kez 80°, 90°, 3 kez 96° alkollerden, izopropilalkolden, 2 kez ksilolden ve 2 kez sıcak parafinden geçirildi. Parafin bloklara gömülen dokulardan Lecia SM 2000 R marka mikrotomda 5-6 mikronluk histolojik kesitler

elde edildi. Kesitler rutin hematoksilin & eozin boyası(HE) ve van gieson trichrome ile boyandı. Tüm değerlendirmeler Nikon Eclipse E600 marka ışık mikroskobunda yapıldı.

Yeni kemik oluşumu ve inflamasyon dereceleri aşağıda belirtilen kriterlere göre değerlendirilerek skorlandı.

Yeni kemik oluşumu derecelendirilmesi:	İnflamasyon derecelendirilmesi:
0: Hiç kemik oluşumu yok	0: hiç inflamasyon yok
1: %20 den az kemik oluşumu	1: hafif inflamasyon
2: %20-%50 arası kemik oluşumu	2: orta inflamasyon
3: %50-%100 arası kemik oluşumu	3: yoğun inflamasyon

Tümü incelenen örnekler, yeni kemik oluşumu, inflamatuvar infiltrat, yabancı cisim reaksiyonu ve kollajenizasyon açısından değerlendirilmiştir.



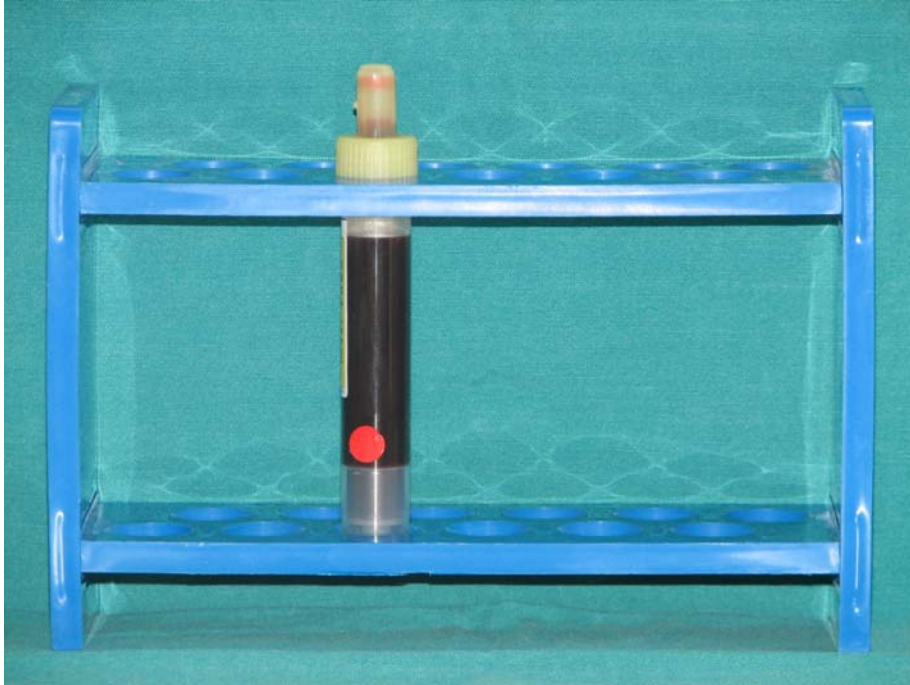
Resim 1: TZIP santrifüj cihazı



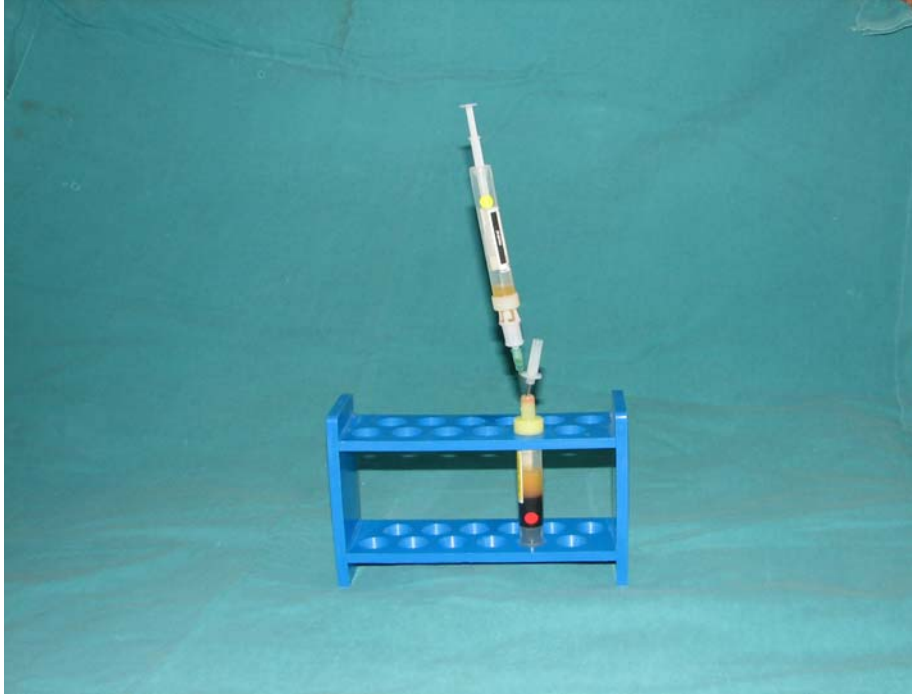
Resim 2:TZIP kiti



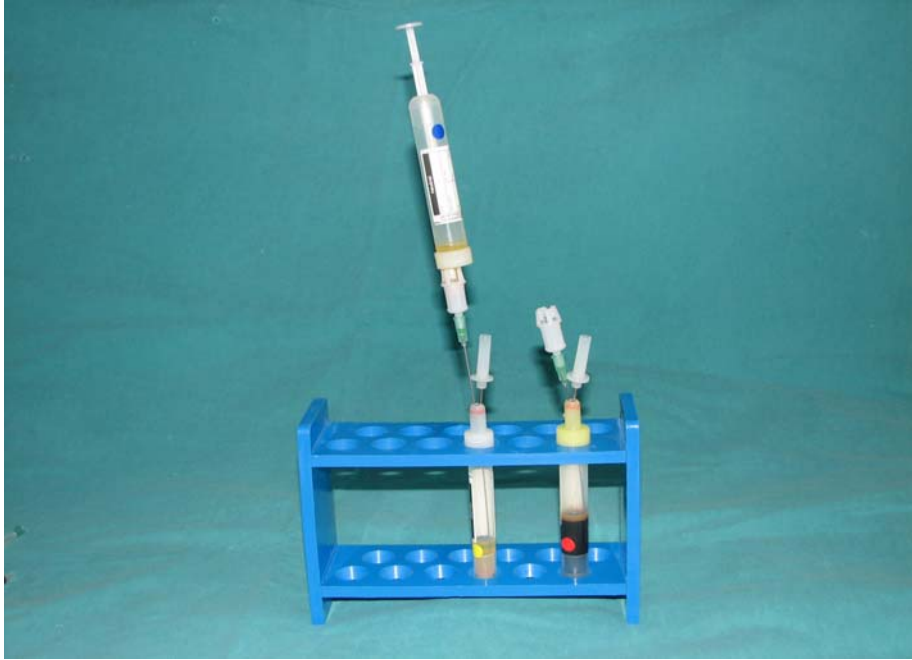
Resim 3: Kulak veninden kan alınması



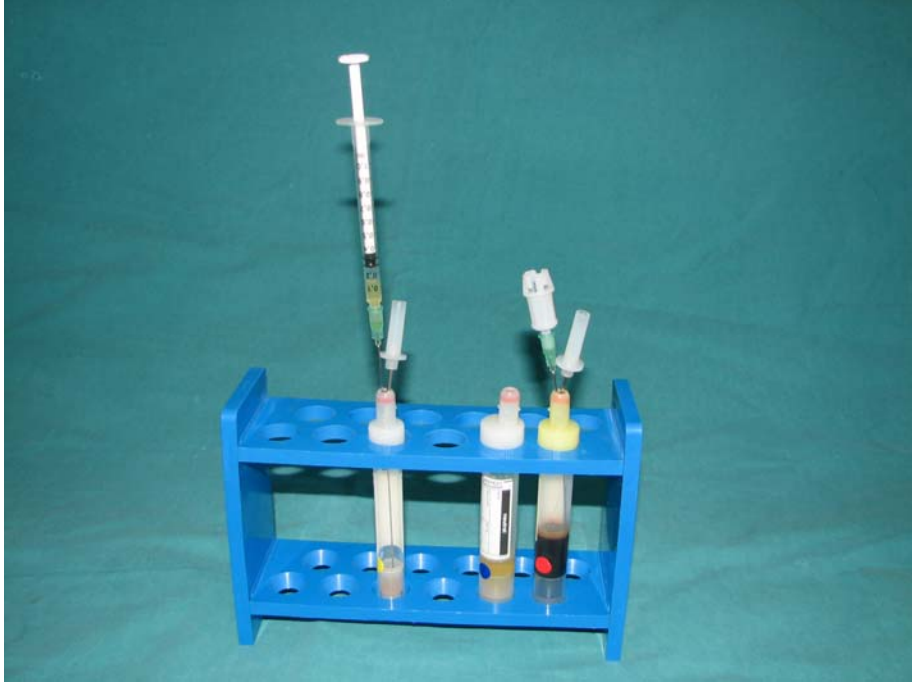
Resim 4: TZP hazırlanması için alınan kan



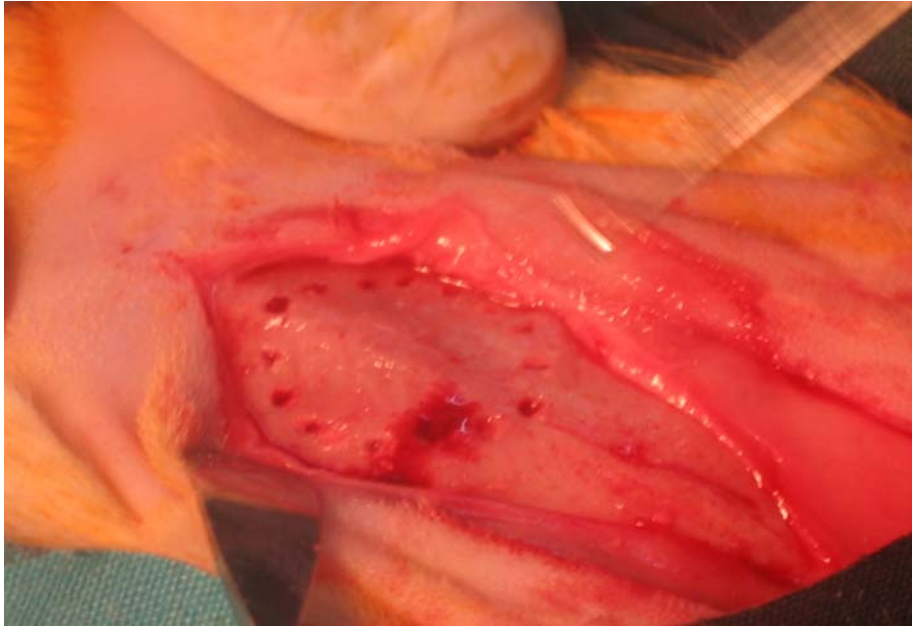
Resim 5: TZP'nin hazırlanması



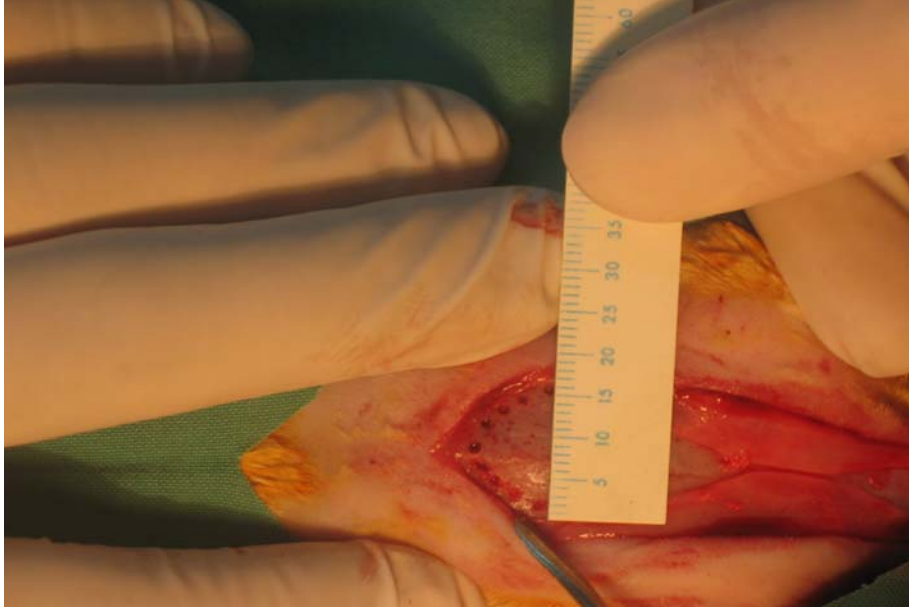
Resim 6: TZP nin hazırlanması



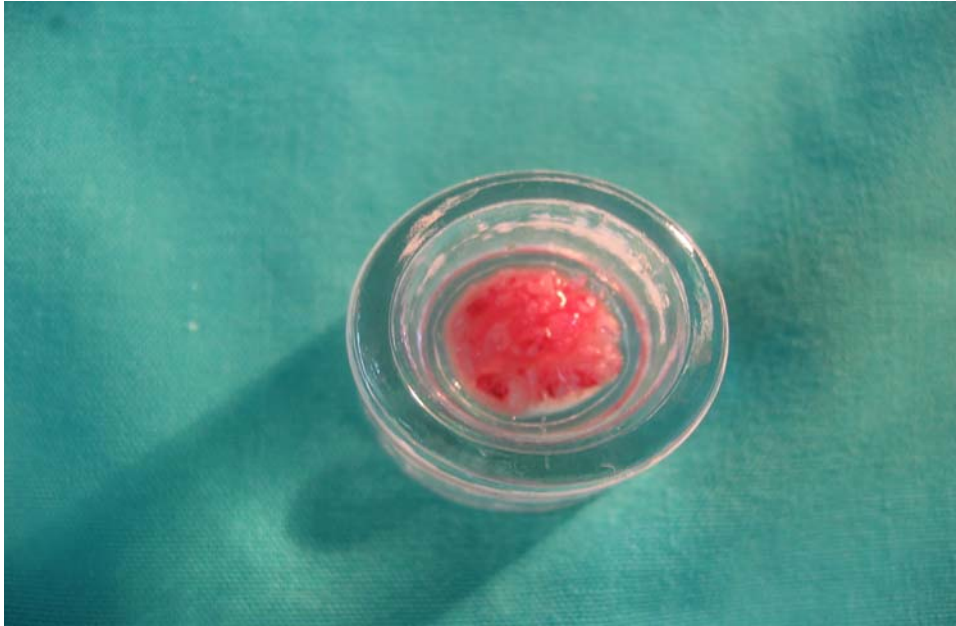
Resim 7: TzP nin hazırlanması



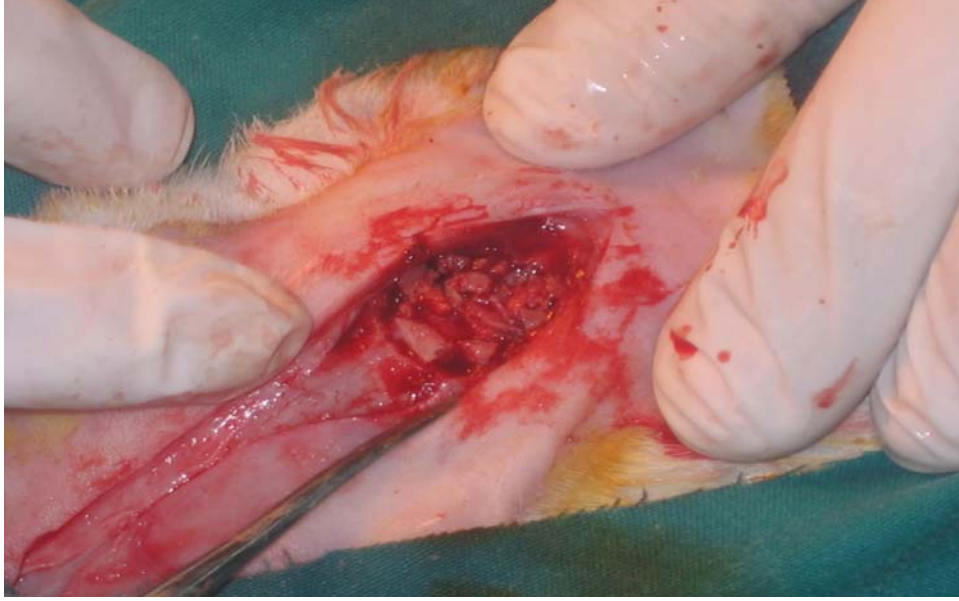
Resim 8: Kritik boyutta defektin hazırlanması



Resim 9: Kritik boyuttaki defektin hazırlanması



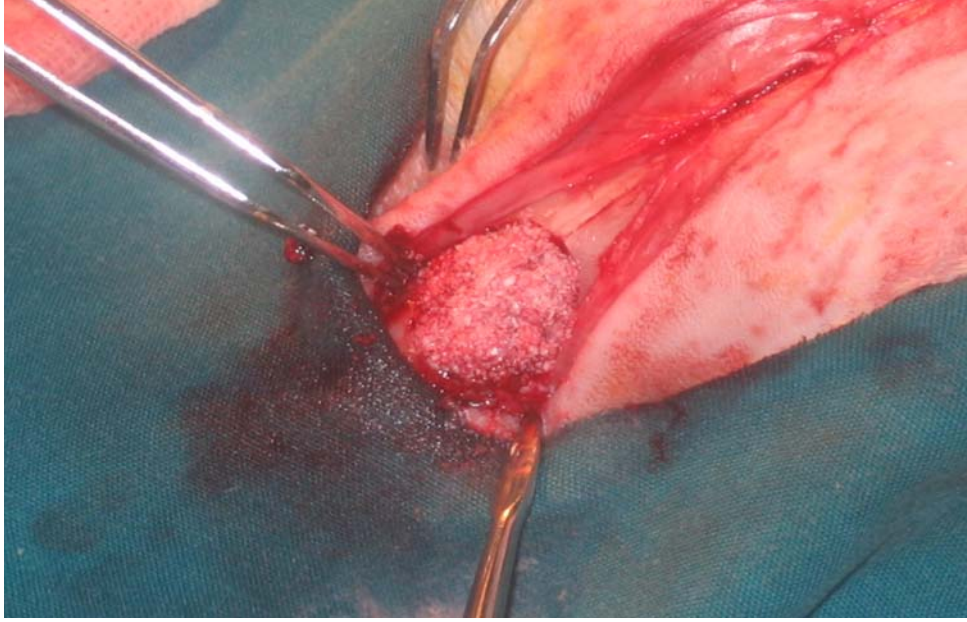
Resim 10: Otojen kemik grefti ve TSP karışımı



Resim 11: Otojen kemik ve TZP karışımının defekt bölgesine uygulanması



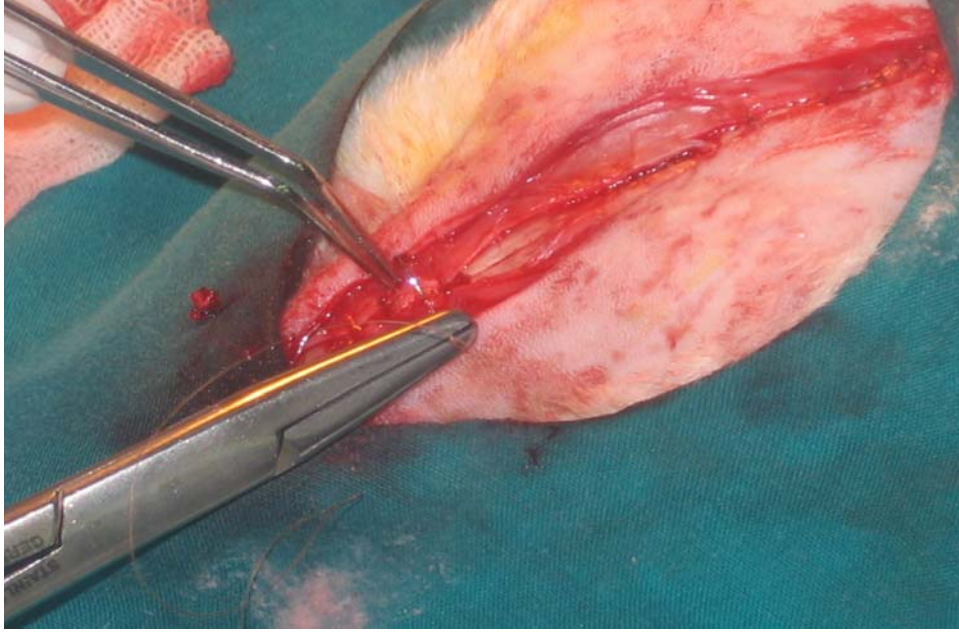
Resim 12: Bio-Gen® greft materyali ve TZP karışımı



Resim 13: Bio-Gen® greft ve TZP karışımının defekt bölgesine uygulanması



Resim 14: TZP nin uygulanması



Resim 15: Bölgenin suture edilmesi

IV. BULGULAR:

Deneyisel çalışmamız süresince tavşanların cerrahi işlemi iyi tolere ettiği ve operasyona bağlı herhangi bir enfeksiyon gelişmediği görülmüştür. 6. ve 12. haftalarda sakrifiye edilecek tavşanlar rastgele olarak seçilmiştir. Elde edilen materyaller deneyimli tek bir patolog tarafından önceden belirlenen kriterlere (sayfa 37) uygun olarak yorumlanmıştır. (Tablo 1)

Kollajenizasyon değerlendirmesinde tüm örneklerdeki yeni kemik yapıları çevresinde kollajenin daha genç, orta kalınlıktaki demetlerden oluştuğu, kemik dolumunun olmadığı alanlarda ise kollajen liflerinin disorganize ve daha ince yapıda olduğu izlenmiştir.

6.hafta yeni kemik oluşumu değerlendirmeleri:

Altıncı haftada sakrifiye edilen deneklerin yapılan histopatolojik değerlendirmesi sonucunda diabetik grupta spontan iyileşen ve otojen greft+TZP uygulanan defektlerde yeni kemik oluşumu dağılımı karşılaştırıldığında, spontan iyileşmeye bırakılan defektlerdeki diabetik grupta yeni kemik oluşumu %37,5 inde %20 den az, %25 inde %20-%50 arasında, %37,5 inde %50-%100 aralığında görülmüştür. Otojen greft+TZP uygulanan diabetik grupta ise defektlerin %25 inde %20 den az, %25 inde %20-%50 arasında, %50 sinde ise %50-%100 aralığında görülmüştür (tablo 2 ve Resim 16, 17, 18).

Diabetik grupta spontan iyileşen ve bio-gen greft+TZP uygulanan defektlerde 6.haftada yeni kemik oluşumu dağılımı karşılaştırıldığında spontan iyileşmeye bırakılan grupta defektlerin %37,5 inde %20 den az, %25 inde %20-%50 arasında, %37,5 inde %50-%100 aralığında görülmüştür. Bio-gen greft+TZP uygulanan diabetik grupta ise %25 inde hiç kemik yokken, %25 inde %20 den az , %50 sinde ise %50-%100 aralığında görülmüştür (tablo 3 ve Resim 19, 20).

Diabetik grupta ve sağlıklı grupta spontan iyileşmeye bırakılan defektlerdeki 6.haftadaki yeni kemik oluşumu dağılımı karşılaştırıldığında diabetik olup spontan iyileşmeye bırakılan grupta defektlerin %37,5 inde %20 den az, %25 inde %20-%50 arasında, %37,5 inde %50-%100 aralığında görülmüştür. Sağlıklı olup spontan iyileşmeye bırakılan grupta ise defektlerin %25 inde hiç kemik yokken, %25 inde %20 den az , %50 sinde ise %20-%50 aralığında görülmüştür (tablo 4).

Diabetik grupta otojen greft+TZP uygulanan defektlerde ve sağlıklı grupta otojen greft+TZP uygulanan defektlerde 6 haftadaki yeni kemik oluşumu dağılımı karşılaştırıldığında diabetik grupta otojen greft+TZP uygulanan defektlerde %25 inde %20 den az, %25 inde %20-%50 arasında, %50 sinde ise %50-%100 aralığında görülmüştür. Sağlıklı grupta otojen greft+TZP uygulanan defektlerde ise %25 inde %20 den az, %75 inde %50-%100 aralığında görülmüştür (tablo 5 ve Resim 21).

6.hafta inflamasyon değerlendirmeleri:

Diabetik ve sağlıklı grupta otojen greft+TZP uygulanan defektlerde defektlerde inflamasyon değerleri dağılımı karşılaştırıldığında, diabetik ve sağlıklı grupta otojen greft+TZP uygulanan defektlerde inflamatuvar reaksiyon arasında anlamlı bir bağımlılık görülmemiştir($p=0,429>0,05$ Fishers Exact ki-kare testi). Sağlıklı grupta otojen greft+TZP grubunda deneklerin tamamında inflamasyon hiç yokken, diabetik grupta otojen greft+TZP uygulanan grupta %50 sinde hiç inflamasyon yokken, %50 sinde hafif inflamasyon görülmüştür (tablo 6).

Diabetik ve sağlıklı gruptaki spontan iyileşen defektlerdeki inflamatuvar reaksiyon değerleri karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir bağımlılık görülmemiştir($p=0,515>0,05$ Fishers Exact ki-kare testi). Sağlıklı grupta deneklerin tamamında inflamatuvar reaksiyon hiç yokken, diabetik grupta %75 inde hiç inflamasyon yokken, %25 inde hafif inflamatuvar reaksiyon görülmüştür (tablo 7).

Diabetik grupta spontan iyileşen ve otojen greft+TZP uygulanan defektlerde 6.haftadaki inflamatuvar reaksiyon dağılımı incelendiğinde, diabetik grupta spontan iyileşen ve otojen greft+TZP uygulanan defektlerde inflamatuvar reaksiyon açısından anlamlı bir bağımlılık görülmemiştir($p=0,547>0,05$ Fishers Exact ki-kare testi). Diabetik grupta otojen greft+TZP uygulanan deneklerin %50 sinde inflamasyon hiç yokken, %50 sinde hafif inflamasyon görülmüştür. Diabetik grupta spontan iyileşen defektlerin %75 inde hiç inflamasyon olmadığı, %25 inde ise hafif inflamasyon olduğu görülmüştür (tablo 8).

Diabetik grupta 6.haftada spontan iyileşen ve bio-gen greft+TZP uygulanan defektlerdeki inflamatuvar reaksiyon dağılımı incelendiğinde, diabetik grupta spontan iyileşen defektlerin %75 inde hiç inflamatuvar reaksiyon yokken, %25 inde hafif inflamatuvar reaksiyon görülmüştür. Diabetik grupta Bio-gen greft+TZP uygulanan grupta %50 sinde hiç inflamatuvar reaksiyon yokken, %25 inde hafif , %25 inde de orta derecede inflamatuvar reaksiyon görülmüştür (tablo 9).

12.hafta yeni kemik oluşumu değerlendirmeleri:

Onikinci haftada sakrifiye edilen deneklerin yapılan histopatolojik değerlendirmesi sonucunda diabetik grupta spontan iyileşen ve otojen greft+TZP uygulanan defektlerde yeni kemik oluşumu dağılımı karşılaştırıldığında, spontan iyileşmeye bırakılan defektlerdeki diabetik grupta yeni kemik oluşumu %62,5 inde %20 den az, %12.5 inde %20-%50 arasında, %25 inde %50-%100 aralığında görülmüştür. Otojen greft+TZP uygulanan diabetik grupta ise defektlerin %50 sinde %20-%50 arasında, %50 sinde ise %50-%100 aralığında görülmüştür (tablo 10).

Diabetik grupta spontan iyileşen ve bio-gen greft+TZP uygulanan defektlerde 12.haftada yeni kemik oluşumu dağılımı karşılaştırıldığında spontan iyileşmeye bırakılan grupta defektlerin %62,5 inde %20 den az, %12.5 inde %20-%50 arasında, %25 inde %50-%100 aralığında görülmüştür. Bio-gen greft+TZP uygulanan diabetik grupta ise

%25 inde hiç kemik yokken, %50 inde %20-%50 arasında, %25 sinde ise %50-%100 aralığında görülmüştür (tablo 11).

Diabetik grupta ve sağlıklı grupta spontan iyileşmeye bırakılan defektlerdeki 12.haftadaki yeni kemik oluşumu dağılımı karşılaştırıldığında diabetik olup spontan iyileşmeye bırakılan grupta defektlerin %62,5 inde %20 den az, %12.5 inde %20-%50 arasında, %25 inde %50-%100 aralığında görülmüş ancak %100 kemik yapımı gösteren defekt saptanamamıştır. Sağlıklı olup spontan iyileşmeye bırakılan grupta ise defektlerin %50 sinde %20 den az , %50 sinde ise %20-%50 aralığında görülmüştür (tablo 12).

Diabetik grupta otojen greft+TZP uygulanan defektlerde ve sağlıklı grupta otojen greft+TZP uygulanan defektlerde 12 haftadaki yeni kemik oluşumu dağılımı karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir bağımlılık görülmemiştir($p=1,0>0,05$ Fishers Ki-kare testi). Diabetik grupta otojen greft+TZP uygulanan defektlerde %50 inde %20-%50 arasında, %50 sinde ise %50-%100 aralığında görülmüştür. Sağlıklı grupta otojen greft+TZP uygulanan defektlerde ise %75 inde %20 den az, %25 inde %50-%100 aralığında görülmüştür (tablo 13).

12 hafta inflamasyon değerlendirmeleri:

Diabetik ve sağlıklı grupta otojen greft+TZP uygulanan defektlerde defektlerde inflamasyon değerleri dağılımı karşılaştırıldığında, diabetik ve sağlıklı grupta otojen greft+TZP uygulanan defektlerde inflamatuvar reaksiyon arasında anlamlı bir bağımlılık görülmemiştir($p=1,0>0,05$ Fishers Exact ki-kare testi). Sağlıklı grupta otojen greft+TZP grubunda deneklerin %75 inde inflamasyon hiç yokken, %25 inde hafif inflamasyon görülmüştür. Diabetik grupta otojen greft+TZP uygulanan grupta %75 sinde hiç inflamasyon yokken, %25 inde hafif inflamasyon görülmüştür (tablo 14).

Diabetik ve sağlıklı gruptaki spontan iyileşen defektlerdeki 12.hafta inflamatuvar reaksiyon değerleri karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir bağımlılık

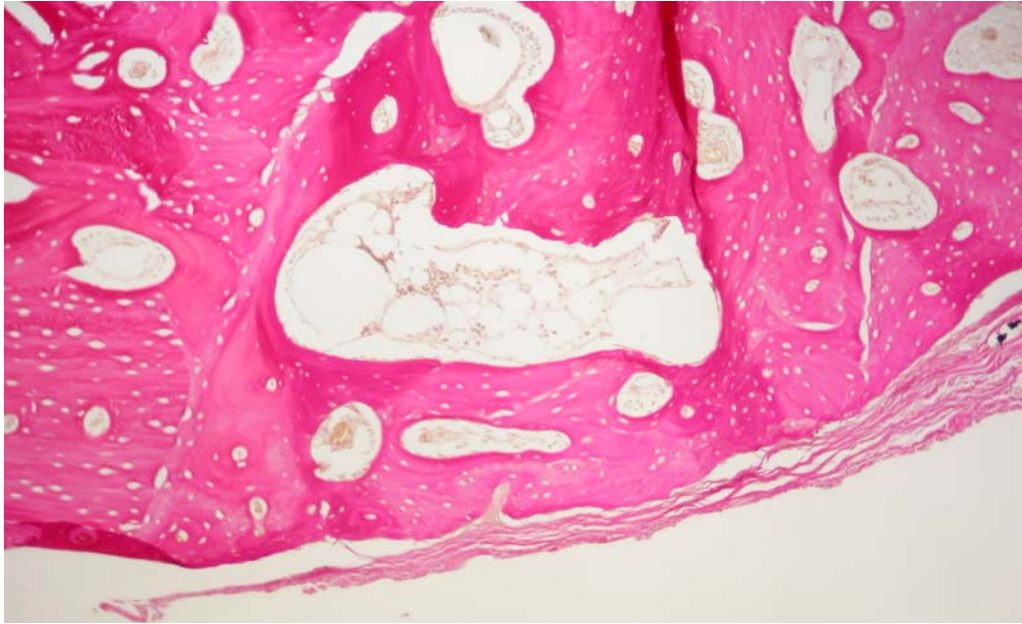
görülmemiştir($p=0,491>0,05$ Fishers Exact ki-kare testi). Sağlıklı grupta deneklerin tamamında inflamatuvar reaksiyon hiç yokken, diabetik grupta spontan iyileşmeye bırakılan defektlerin %62.5 inde hiç inflamasyon yokken , %37.5 inde hafif inflamatuvar reaksiyon görülmüştür (tablo 15).

Diabetik grupta spontan iyileşen ve otojen greft+TZP uygulanan defektlerde 12.haftadaki inflamatuvar reaksiyon dağılımı incelendiğinde, diabetik grupta spontan iyileşen ve otojen greft+TZP uygulanan defektlerde inflamatuvar reaksiyon açısından anlamlı bir bağımlılık görülmemiştir($p=1,0>0,05$ Fishers Exact ki-kare testi). Diabetik grupta otojen greft+TZP uygulanan deneklerin %75 sinde inflamasyon hiç yokken, %25 inde hafif inflamasyon görülmüştür. Diabetik grupta spontan iyileşen defektlerin %62.5 inde hiç inflamasyon olmadığı, %37.5 inde ise hafif inflamasyon olduğu görülmüştür (tablo 16).

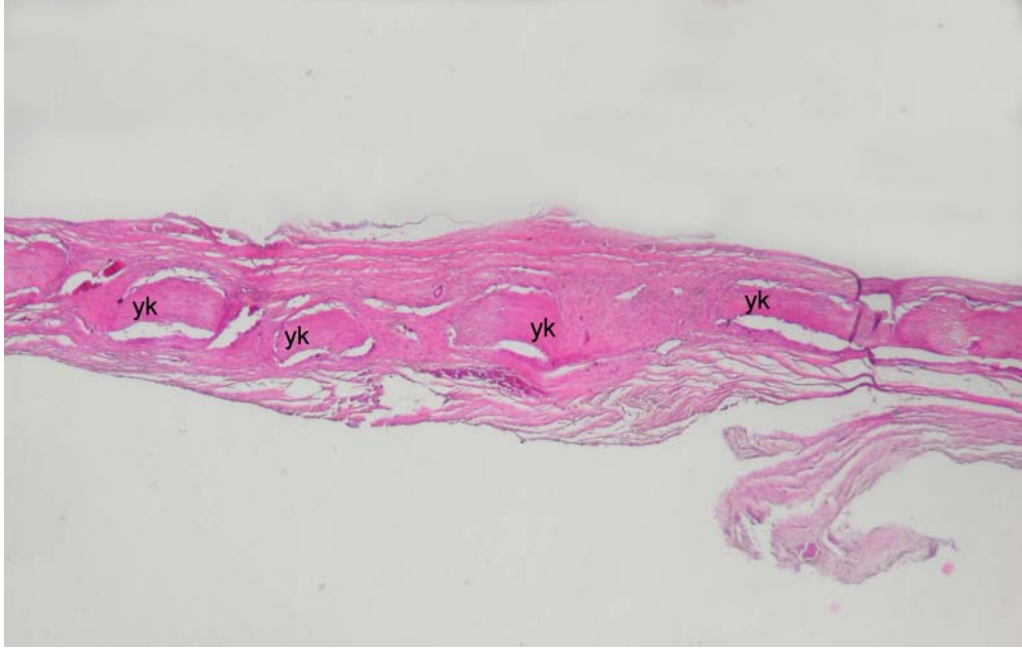
Diabetik grupta 12.haftada spontan iyileşen ve bio-gen greft+TZP uygulanan defektlerdeki inflamatuvar reaksiyon dağılımı incelendiğinde aralarında anlamlı bir bağımlılık görülmemiştir($p=1,0>0,05$ Fishers Exact ki-kare testi). Diabetik grupta spontan iyileşen defektlerin %62.5 inde hiç inflamatuvar reaksiyon yokken, %37.5 inde hafif inflamatuvar reaksiyon görülmüştür. Diabetik grupta Bio-gen greft+TZP uygulanan defektlerde ise %75 inde hiç inflamatuvar reaksiyon yokken, %25 inde inflamatuvar reaksiyon görülmüştür (tablo 17).



Resim 16: 6. haftada otojen kemik grefti konulan diabetik tavşanlardaki yeni kemik oluşumu(yk) (H&E x20).



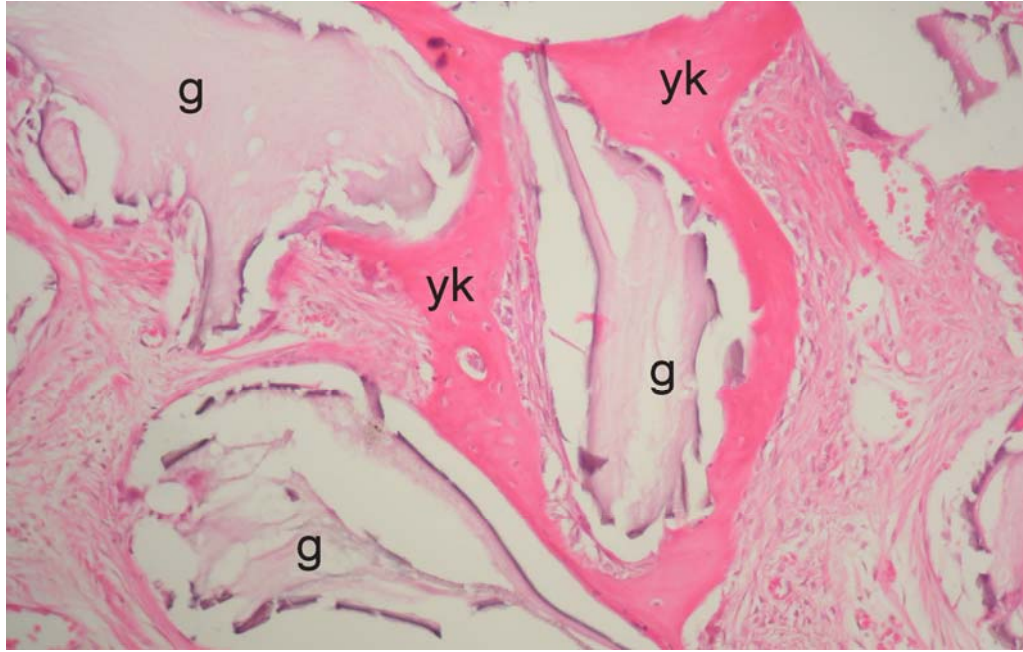
Resim 17: Boş lakünlerle karakterize rezorbe olmamış otojen kemik grefti (Van Gieson's Trichrome x400). (6. hafta)



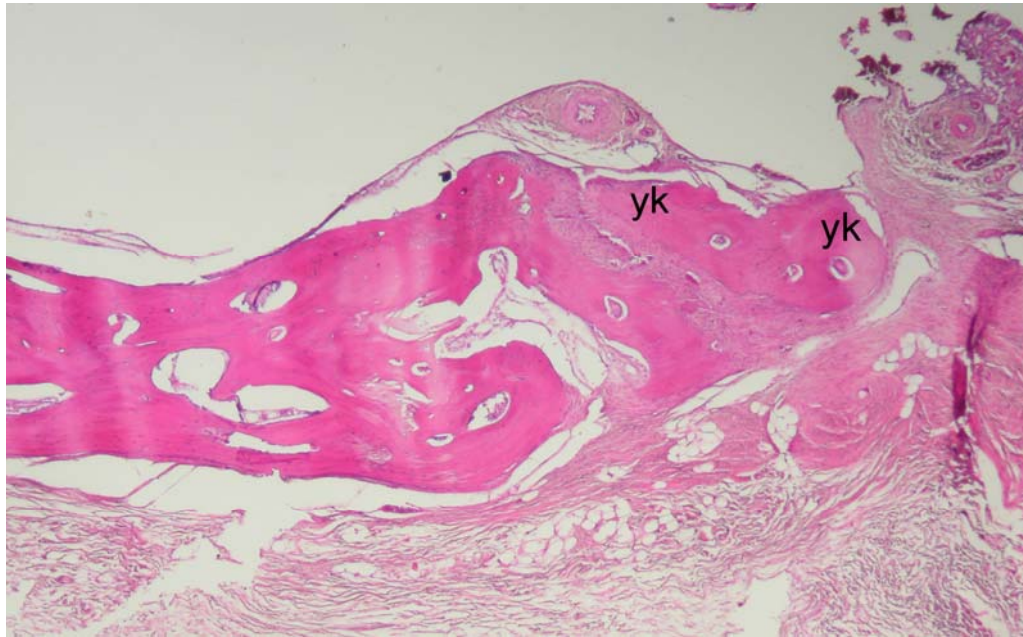
Resim 18: 12. haftada spontan iyileşmeye bırakılan diabetik tavşanlarda defekt bölgesindeki yeni kemik oluşumu (yk) (H&E x20)



Resim 19: 6. haftada defekt bölgesine yerleştirilen greft materyali(g) ve yeni kemik oluşumu (yk) (H&E x20)



Resim 20: 6. haftada rezorbe olmamış Bio-Gen® greft materyali (g) komşuluğundaki yeni kemik(yk) oluşumu (H&E x200)



Resim 21: 12. haftada spontan iyileşmeye bırakılan sağlıklı tavşanda yeni kemik oluşumu (yk) (H&E x40)

	1. Grup (Diabetik -Otojen)		2. Grup (Diabetik+ Bio-Gen®)		3. Grup (Sağlıklı-Otojen)	
	1.Defekt	2.Defekt	1.Defekt	2.Defekt	1.Defekt	2.Defekt
1.5 Ay	Spontan	Otojen+TZP	Spontan	Bio-gen greft+TZP	Spontan	Otojen+TZP
Tavşan 1	Yk:2	Yk:3	Yk:1	Yk:1	Yk:2	Yk:3
	İnf:0	İnf:1	İnf:1	İnf:0	İnf:0	İnf:0
Tavşan 2	Yk:1	Yk:1	Yk:2	Yk:0	Yk:2	Yk:3
	İnf:0	İnf:1	İnf:0	İnf:2	İnf:0	İnf:0
Tavşan 3	Yk:1	Yk:2	Yk:3	Yk:3	Yk:1	Yk:1
	İnf:0	İnf:0	İnf:1	İnf:0	İnf:0	İnf:0
Tavşan 4	Yk:3	Yk:3	Yk:3	Yk:3	Yk:0	Yk:3
	İnf:0	İnf:0	İnf:0	İnf:1	İnf:0	İnf:0
3 Ay						
Tavşan 5	Yk:3	Yk:2	Yk:2	Yk:3	Yk:1	Yk:2
	İnf:0	İnf:0	İnf:0	İnf:0	İnf:0	İnf:1
Tavşan 6	Yk:3	Yk:3	Yk:1	Yk:2	Yk:2	Yk:2
	İnf:0	İnf:0	İnf:0	İnf:0	İnf:0	İnf:0
Tavşan 7	Yk:1	Yk:3	Yk:1	Yk:2	Yk:2	Yk:3
	İnf:0	İnf:0	İnf:1	İnf:0	İnf:0	İnf:0
Tavşan 8	Yk:1	Yk:2	Yk:1	Yk:0	Yk:1	Yk:2
	İnf:1	İnf:1	İnf:1	İnf:1	İnf:0	İnf:0

Tablo: 1 Yk: Yeni Kemik oluşumu skorları
İnf: İnflamasyon skorları

			YK			Total
			%20 DEN AZ	%20-%50	%50-%100	
YK	Diabet spontan	N	3	2	3	8
		%YK	37,5%	25,0%	37,5%	100,0%
	Diabet otojen greft+TZP	N	1	1	2	4
		%YK	25,0%	25,0%	50,0%	100,0%
Total		N	4	3	5	12
		%YK	33,3%	25,0%	41,7%	100,0%

Tablo 2: Diabetik grupta spontan iyileşen ve otojen greft+TZP uygulanan defektlerde 6. haftadaki yeni kemik dağılımı

			YK				Total
			HiÇ KEMİK YOK	%20 DEN AZ	%20-%50	%50-%100	
YK	Diabet spontan	N	0	3	2	3	8
		%YK	,0%	37,5%	25,0%	37,5%	100,0%
	Diabet Graft+ TZP	N	1	1	0	2	4
		%YK	25,0%	25,0%	,0%	50,0%	100,0%
Total		N	1	4	2	5	12
		%YK	8,3%	33,3%	16,7%	41,7%	100,0%

Tablo 3: Diabetik grupta spontan iyileşen ve bio-gen greft+TZP uygulanan defektlerde 6.haftada yeni kemik dağılımı

			YK				Total
			HİÇ KEMİK YOK	%20 DEN AZ	%20-%50	%50-%100	
YK	Diabet spontan	N	0	3	2	3	8
		%YK	,0%	37,5%	25,0%	37,5%	100,0%
	Sağlıklı spontan	N	1	1	2	0	4
		%YK	25,0%	25,0%	50,0%	,0%	100,0%
Total		N	1	4	4	3	12
		%YK	8,3%	33,3%	33,3%	25,0%	100,0%

Tablo 4: Diabetik grup ve sağlıklı grupta 6. haftada spontan iyileşen defektlerdeki yeni kemik dağılımı

			YK			Total
			%20 DEN AZ	%20-%50	%50-%100	
YK	Diabet otojen greft+TZP	N	1	1	2	4
		%YK	25,0%	25,0%	50,0%	100,0%
	Sağlıklı otojen greft+TZP	N	1	0	3	4
		%YK	25,0%	,0%	75,0%	100,0%
Total		N	2	1	5	8
		%YK	25,0%	12,5%	62,5%	100,0%

Tablo 5: Diabetik otojen greft+TZP uygulanan defektlerde ve sağlıklı otojen greft+TZP uygulanan defektlerde 6.haftadaki yeni kemik dağılımı

			İnf		Total
			HİÇ YOK	HAFİF	
INF	Diabet otojen greft+TZP	N	2	2	4
		%INF	50,0%	50,0%	100,0%
	Sağlıklı otojen greft+TZP	N	4	0	4
		%INF	100,0%	,0%	100,0%
Total		N	6	2	8
		%INF	75,0%	25,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	P
Fisher's Exact Test	,429

Tablo 6: Diabetik grupta otojen greft+TZP uygulanan ve sağlıklı grupta otojen greft+TZP uygulanan defektlerdeki 6. hafta inflamasyon değerlendirmesi

			İnf		Total
			HİÇ YOK	HAFİF	
INF	Diabet spontan	N	6	2	8
		%INF	75,0%	25,0%	100,0%
	Sağlıklı spontan	N	4	0	4
		%INF	100,0%	,0%	100,0%
Total		N	10	2	12
		%INF	83,3%	16,7%	100,0%

	P
Fisher's Exact Test	,515

Tablo 7: Diabetik ve sağlıklı gruptaki spontan iyileşen defektlerde 6.haftadaki inflamatuvar reaksiyon dağılımı

			İnf		Total
			HİÇ YOK	HAFİF	
INF	Diabet spontan	N	6	2	8
		%INF	75,0%	25,0%	100,0%
	Diabet otojen greft+TZP	N	2	2	4
		%INF	50,0%	50,0%	100,0%
Total		N	8	4	12
		%INF	66,7%	33,3%	100,0%

Chi-Square Tests

	P
Fisher's Exact Test	,547

Tablo 8: Diabetik grupta spontan iyileşen ve otojen greft+TZP uygulanan defektlerde 6.haftadaki inflamatuvar reaksiyon dağılımı

			İnf			Total
			HİÇ YOK	HAFİF	ORTA	
INF	Diabet spontan	N	6	2	0	8
		%INF	75,0%	25,0%	,0%	100,0%
	Diabet Greft+ TZP	N	2	1	1	4
		%INF	50,0%	25,0%	25,0%	100,0%
Total		N	8	3	1	12
		%INF	66,7%	25,0%	8,3%	100,0%

Tablo 9: Diabetik grupta 6.haftada spontan iyileşen ve bio-gen greft+TZP uygulanan defektlerdeki inflamatuvar reaksiyon dağılımı

			YK			Total
			%20 DEN AZ	%20-%50	%50-%100	
YK	Diabet spontan	N	5	1	2	8
		%YK	62,5%	12,5%	25,0%	100,0%
	Diabet otojen greft+TZP	N	0	2	2	4
		%YK	,0%	50,0%	50,0%	100,0%
Total		N	5	3	4	12
		%YK	41,7%	25,0%	33,3%	100,0%

Tablo 10: Diabetik spontan iyileşen ve diabetik otojen greft+TZP uygulanan defektlerde 12. haftadaki yeni kemik dağılımı

			YK				Total
			HiÇ KEMİK YOK	%20 DEN AZ	%20-%50	%50-%100	
YK	Diabet spontan	N	0	5	1	2	8
		%YK	,0%	62,5%	12,5%	25,0%	100,0%
	Diabet Graft+ TZP	N	1	0	2	1	4
		%YK	25,0%	,0%	50,0%	25,0%	100,0%
Total		N	1	5	3	3	12
		%YK	8,3%	41,7%	25,0%	25,0%	100,0%

Tablo 11: Diabetik grupta spontan iyileşen ve bio-gen greft+TZP uygulanan defektlerde 12.haftada yeni kemik dağılımı

			YK			Total
			%20 DEN AZ	%20-%50	%50-%100	
YK	Diabet spontan	N	5	1	2	8
		%YK	62,5%	12,5%	25,0%	100,0%
	Sağlıklı spontan	N	2	2	0	4
		%YK	50,0%	50,0%	,0%	100,0%
Total		N	7	3	2	12
		%YK	58,3%	25,0%	16,7%	100,0%

Tablo 12: Diabetik grup ve sağlıklı grupta 12. haftada spontan iyileşen defektlerdeki yeni kemik dağılımı

			YK		Total
			%20-%50	%50-%100	
YK	Diabet otojen greft+TZP	N	2	2	4
		%YK	50,0%	50,0%	100,0%
	Sağlıklı otojen greft+TZP	N	3	1	4
		%YK	75,0%	25,0%	100,0%
Total		N	5	3	8
		%YK	62,5%	37,5%	100,0%

Chi-Square Tests

	P
Fisher's Exact Test	1,000

Tablo 13: Diabetik otojen greft+TZP uygulanan defektlerde ve sağlıklı otojen greft+TZP uygulanan defektlerde 12.haftadaki yeni kemik dağılımı

			İnf		Total
			HİÇ YOK	HAFİF	
INF	Diabet otojen greft+TZP	N	3	1	4
		%INF	75,0%	25,0%	100,0%
	Sağlıklı otojen greft+TZP	N	3	1	4
		%INF	75,0%	25,0%	100,0%
Total		N	6	2	8
		%INF	75,0%	25,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	P
Fisher's Exact Test	1,000

Tablo 14: Diabetik grupta otojen greft+TZP uygulanan ve sağlıklı grupta otojen greft+TZP uygulanan defektlerdeki 12. hafta inflamasyon değerlendirmesi

			İnf		Total
			HİÇ YOK	HAFİF	
INF	Diabet spontan	N	5	3	8
		%INF	62,5%	37,5%	100,0%
	Sağlıklı spontan	N	4	0	4
		%INF	100,0%	,0%	100,0%
Total		N	9	3	12
		%INF	75,0%	25,0%	100,0%

	P
Fisher's Exact Test	,491

Tablo 15: Diabetik ve sağlıklı gruptaki spontan iyileşen defektlerde 12.haftadaki inflamatuvar reaksiyon dağılımı

			İnf		Total
			HİÇ YOK	HAFİF	
INF	Diabet spontan	N	5	3	8
		%INF	62,5%	37,5%	100,0%
	Diabet otojen greft+TZP	N	3	1	4
		%INF	75,0%	25,0%	100,0%
Total		N	8	4	12
		%INF	66,7%	33,3%	100,0%

	P
Fisher's Exact Test	1,000

Tablo 16: Diabetik grupta spontan iyileşen ve otojen greft+TZP uygulanan defektlerde 12.haftadaki inflamatuvar reaksiyon dağılımı

			İnf		Total
			HİÇ YOK	HAFİF	
INF	Diabet spontan	N	5	3	8
		%INF	62,5%	37,5%	100,0%
	Diabet Greft+ TZP	N	3	1	4
		%INF	75,0%	25,0%	100,0%
Total		N	8	4	12
		%INF	66,7%	33,3%	100,0%

Chi-Square Tests

	P
Fisher's Exact Test	1,000

Tablo 17: Diabetik grupta 12.haftada spontan iyileşen ve biotek greft+TZP uygulanan defektlerdeki inflamatuvar reaksiyon dağılımı

V. TARTIŞMA

İnsüline bağımlı diabetes mellitus (insülin dependent diabetes mellitus,IIDM),Tip I, Jüvenil başlangıçlı diabet ve ketozise yakın diabet olarak da adlandırılan birinci tip, bütün idiyatik diabetiklerin %10'unda görülür. Geriye kalan %90'ı diğer tipi oluşturur ve insüline bağımlı olmayan diabetes mellitus olarak bilinir (non insülin dependent diabetes mellitus,NIDDM). Bu tip hastalık sıklıkla yetişkin yaşamda ortaya çıkar ve bunun için kimi zaman adult başlangıçlı ya da Tip II diabet olarak bilinir.

Uzun süreli idiyatik diabetes mellitus en önemli etkisini temel olarak vasküler sistem üzerinde; atheroskleroz ve küçük damar hastalığı (mikroanjiopati) olarak gösterir. Bu vasküler sekel yıkıcı sonuçlara yol açar ve hiçbir organ bu sonuçlardan kendini kurtaramaz.

Diabetes mellitusun, hastaların kalsiyum, fosfat ve kemik metabolizmalarında değişime neden olduğu ve kemik mineral içeriğinde azalmanın, osteopeni, kırık oranında artış ve gecikmiş kırık iyileşmesi gibi diabetik kemik hastalıkları ile karakterize olduğu düşünülmektedir^(49,53,59,79).

Bizde çalışmamızda diabetin yukarıda belirtilen etkilerini göz önüne alarak; deneysel olarak oluşturduğumuz diabetik tavşanlardaki spontan kemik iyileşme düzeylerinin sağlıklı tavşanlardaki iyileşmeye göre farklılıklarını histopatolojik olarak araştırdık. Yine branşımızla ilgili bu konudaki literatür bilgilerini incelediğimizde, çalışmamızda kullanılan ksenogreft materyali ile ilgili çalışmaların azlığı bu açıdan bakıldığında çalışmamızı bilimsel literatüre sağlayabileceği olası katkılarından dolayı önemli kılmaktadır.

İnsanlarda tip 1 diabetin kemik hacminde azalma ve gecikmiş kırık iyileşmesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir^(53,59,84).

Ivers ve arkadaşları tip 1 ve tip 2 diabet ve fraktür arasındaki ilişkiyi incelemeye yönelik yaptıkları geniş çaplı prospektif çalışmada fraktür oranının Tip 1 diabette Tip 2 diabete göre daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Aynı zamanda kan-glikoz seviyesi, diabetin süresi ve tedavi tipi ile kırık arasında da bir ilişki mevcuttur. Yazar, kırık oranındaki artış nedeninin kemikte diabetin metabolik (asidoz ve hiperkalsiüri gibi) etkilerinin olabileceğini düşünmektedir⁽⁵³⁾.

Krakauer ve arkadaşlarının yaptıkları 12 yıllık bir çalışmada normal bireyler ile karşılaştırıldığında diabetik insanlardaki kemik formasyonunun azalmış olduğu gösterilmiştir⁽⁵⁹⁾.

Literatürlerle uyumlu olarak alloksan ile oluşturduğumuz deneysel diabet modeli Tip 1 diabetes mellitus ile benzerlik göstermektedir. Deneysel olarak diabet modeli oluşturularak yapılmış pek çok hayvan çalışması vardır. Bu çalışmalarda deneysel olarak diabet oluşturulmasında streptozotosin kullanılmıştır^{79,87,98,109)}. Bizde çalışmamızı planlarken hayvan modeli olarak seçtiğimiz tavşanlarda diabet oluşturabilmek için streptozotosin uygulamasını tercih etmiştik. Ancak bu çalışmayı yapabilmek için izin almamız gereken Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik kurulu diabet oluşturulması için alloksan kullanılmasını uygun görmüştür.

Topping ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, normal hayvanlar ile karşılaştırıldığında kemik formasyonunun endokondral periyodu boyunca tip 10 kollajen üretiminin diabetiklerde %60-70 oranında azaldığı gösterilmiştir⁽⁹⁸⁾. Kollajen konnektif dokuların majör protein komponentidir⁽⁸¹⁾. Bu da göstermektedir ki diabetik hayvanlarda matriks proteinlerinin üretiminde azalmaktadır⁽⁹⁸⁾.

Santana ve arkadaşları, Tip 1 diabetin kemik iyileşmesi ve kemik formasyonu üzerine etkisini incelemek için yaptıkları çalışmada streptozotosin ile diabet

modeli oluşturulmuş farelerde kafatasında standart defektler hazırlamışlardır. Çalışma sonucunda Tip 1 diabetin intramembranöz kemik iyileşmesini bozduğunu ve diabetik hayvanların diabetik olmayan hayvanlara oranla %40 oranında daha az iyileşme gösterdiğini bildirmişlerdir⁽⁷⁹⁾.

Kollajen formasyonunun, kapiller dolaşımın ve konak defans mekanizmasının bozulması ile bakteriyel invazyonun, şiddetli diabetik ratlardaki yara iyileşmesi disorganizasyonunun nedenleri olduğu düşünülmektedir^(87,98,109).

Devlin ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada deneysel olarak diabet oluşturulan ratlarda diş çekimi soketlerindeki iyileşmeyi incelemişlerdir. Streptozotosin kullanılarak deneysel diabet oluşturulan ratlar diabetik, insülin tedavisi gören diabetik ve sağlıklı kontrol grubu olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Tüm ratlardan genel anestezi altında maksiller molar diş çekimi yapılmış ve iyileşmenin değişik zaman aralıklarında denekler sakrifiye edilmiştir. Elde edilen örnekler HE ve periyodik asit schiff (PAS) ile boyanarak değerlendirilmiştir⁽³¹⁾.

Yapılan değerlendirme sonucunda, diş çekiminde 10 gün sonra kontrol grubu ve insülin tedavisi uygulanan diabetik grupta soketteki kollajen liflerin kalın, diabetik soketteki kollajen liflerin ise ince ve yetersiz olduğu özellikle apikal bölgede sınırlı miktarda olduğu görülmüştür. Araştırmacı, kontrol altında olmayan insülin bağımlı diabetiklerde , kollajen çatı oluşumunun diş çekimi soketinde bozulduğu, bu durumun da gecikmiş iyileşme ve artmış alveoler yıkım ile sonuçlandığını bildirmiştir⁽³¹⁾.

El-Hakim, sağlıklı(normal) ve kontrol altında olmayan diabetik ratlarda fibrin stabilize edici faktörün mandibuler kemik defekti iyileşmesi üzerine etkisini değerlendirmek amacıyla yaptığı çalışmaya 80 adet rat dahil etmiştir. Denekleri 40 adet sağlıklı ve 40 adet diabetik olmak üzere 2 gruba ayırmış, bu 2 grubu da kendi içinde deney(fibrin stabilize edici faktör ile tedavi edilen) ve kontrol(saline solüsyonu ile tedavi edilen) grubuna ayırmıştır. Denekler 1., 2., 4. ve 6. haftalarda sakrifiye edilmiş, elde edilen örnekler HE ve Van-Gieson

boyaları ile boyanarak değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirme sonrasında araştırmacı, kontrol altında olmayan diabetik ratlarda fibrin stabilize edici faktörün kollajen depozisyonunu arttırdığını ve lifleri daha düzenli hale getirdiğini bildirmiştir⁽³⁴⁾.

Diabet ile osteopeni ve azalmış osteoblastik aktivite arasında ilişki olduğuna dair pek çok görüş mevcuttur. Ancak, bütün bu çalışmalara ve elde edilen sonuçlara rağmen diabet varlığı ile kemik iyileşmesi arasında kesin bir ilişkinin varlığı hala tartışmalıdır. Tip 1 diabet kemik mineral yoğunluğunda azalma ile ilişkili iken, tip 2 diabet aksine artmış kemik mineral yoğunluğu ile karakterizedir. Artmış kemik mineral yoğunluğuna rağmen kemik kalitesinin düşük olduğu düşünülmektedir. Bununla beraber insülin tedavisinin bozulmuş yara ve kemik iyileşmesini büyük ölçüde restore ettiği de düşünülmektedir^(10,45,79,84,87).

Nevins ve arkadaşlarının streptozotosin ile deneysel olarak oluşturulan diabetin osseointegrasyon üzerine etkisini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmaya 20 adet rat dahil edilmiştir. 10 adet rat diabetik ve 10 adet rat kontrol grubu olarak ayrılmış, tüm ratların femur kemiğine implantlar diabet modeli oluşturulmasından 14 gün sonra yerleştirilmiştir. Denekler implantasyonu takiben 28. ve 56. günlerde sakrifiye edilmiş, elde edilen örnekler histometrik olarak değerlendirilmiştir. Araştırmacı, kontrol grubu ve diabetik grup ratlar arasında kemik oluşumu miktarı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamadıklarını ancak diabetik ratlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha az kemik-implant kontağı oluştuğunu bildirmiştir⁽⁷⁰⁾.

Alkan ve arkadaşlarının, sağlıklı ve deneysel olarak diabet oluşturulmuş ratlarda tibial kemik defekti üzerinde sistemik doksisisiklin uygulamasının etkisini değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada diabetik, diabetik+doksisisiklin, kontrol ve kontrol+doksisisiklin olmak üzere 4 grup oluşturulmuştur⁽⁶⁾.

Operasyon sonrası 10. ve 30. günlerde sakrifiye edilen deneklerden elde edilen örnekler histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir. Operasyon sonrası 10. günde

diabetik grupta sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha az miktarda yeni kemik oluşumu olduğu, ancak 30. günde tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı bildirilmiştir⁽⁶⁾.

Bizim çalışma sonuçlarımıza göre de deneysel olarak diabet oluşturulmuş ve sağlıklı(diabet oluşturulmamış) tavşanlarda spontan iyileşmeye bırakılan defektlerin 6. ve 12. haftadaki histopatolojik değerlendirmelerinde kafatasındaki kritik boyuttaki defektlerde yeni kemik oluşumu açısından anlamlı bir fark görülmemiştir. Bunun nedeni olarak da deneysel olarak oluşturulan diabetin sağlıklı tavşanda oluşturulması ve bu açıdan bakıldığında spontan diabetle farklılık göstermesinden kaynaklanabileceği düşüncesindeyiz. Klasik ve literatür bilgileri incelendiğinde diabetin kemik iyileşmesi üzerindeki etkisinin tartışmalı olduğu görülmektedir. Bu açıdan bakıldığında ileride bu konuda yapılacak olan çalışmaların spontan diabetik deney hayvanları üzerinde yapılmasının daha net sonuçlar verebileceği ve bu konuda yapılan tartışmalara ışık tutacağı kanısındayız.

Bizim çalışmamızda spontan diabetik deney hayvanlarını kullanamamamız bu tür deney hayvanlarının çok zor bulunmaları ve ekonomik açıdan da pahalı olmalarıdır..

Travma, developmental(gelişimsel) anomaliler, onkolojik rezeksiyonlar, enfeksiyon ve patolojiler kemik iskeletinde defektlere neden olabilirler^(80,100). Mandibular kemikte geniş defektlerin meydana gelmesi oral fonksiyonların bozulmasına ve hastanın görünüşünün değişmesine sebep olur. Bunun sonucunda hastanın hayat kalitesi ve sosyal yaşantısı büyük ölçüde etkilenir. Hastaların fonksiyonel rehabilitasyonunun ve estetiğinin tekrar sağlanabilmesi için araştırmacılar çok sayıda çalışma yapmışlar ve halen yapmaktadırlar. Sert ve yumuşak doku rekonstrüksiyonu için insanda kullanılacak materyallerin önce deneysel hayvan çalışmalarıyla denenmesi, etkisinin ve güvenilirliğinin kritik boyuttaki defektlerde test edilmesi gerekmektedir.

Dodde ve arkadaşlarının, tavşan modelinde kafatası kritik boyut defektini saptamak amacıyla yaptıkları çalışmaya 18 adet dişi Yeni Zellanda tavşanı dahil edilmiştir. Çalışmada tavşan kafatasında 0.5-1.5 cm. çapında oluşturulan defektler spontan iyileşmeye bırakılmış ve denekler 9. ve 18. haftalarda sakrifiye edilmiştir. Örneklerdeki kemik iyileşmesi tayini, CT (bilgisayarlı tomografi) görüntüleme ve histolojik değerlendirme ile yapılmıştır. Araştırmacılar 1.5 cm.'den büyük defektlerin spontan olarak iyileşemediği ve tavşan modelinde kafatasında kritik boyut defektinin 1.5 cm olduğu sonucuna varmışlardır⁽³²⁾.

Vikjær ve arkadaşlarının kafatasında oluşturulan defektlerde trombosit kaynaklı büyüme faktörü-BB(TKBF-BB)'nin kemik iyileşmesi üzerine etkisini değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmaya 16 adet Yeni Zellanda tavşanı dahil edilmiştir. Çalışmada kritik boyutta hazırlanan 8 defekte tek doz 50µg/ml TKBF-BB ile metilselülöz jel diğer 8 defekte sadece metilselülöz jel uygulanmıştır. Deneklerin tümü 8 hafta sonra sakrifiye edilmiş, elde edilen örnekler histomorfometrik ve radyografik olarak değerlendirilmiştir⁽¹⁰⁵⁾.

Değerlendirme sonucunda TKBF-BB ile tedavi edilen defektlerdeki yeni kemik oluşumu 51.8 ± 7.1 iken kontrol defektlerinde bu oran 30.5 ± 3.3 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca TKBF-BB uygulanan grupta mineralizasyonun %112, kemik iliği miktarının ise %75 daha fazla olduğu kaydedilmiştir. Araştırmacı ve arkadaşları, tek doz TKBF-BB'nin kafatasında kritik boyuttaki defektlerde kemik oluşumunu stimüle ettiği sonucuna varmışlardır⁽¹⁰⁵⁾.

İyileşmenin miktarı oluşturulacak defektin büyüklüğüne de bağlıdır. Spontan iyileşmeyi engellemek için yeterli büyüklükte bir defekt oluşturulması kemik defektinin deneysel olarak tamirinin değerlendirilebilmesi için şarttır. Bu nedenden dolayı biz de yaptığımız çalışmada tavşan kafatasında kritik boyutta defekt olarak kabul edilen 15 mm çapında standart defektler kullandık. Böylece implantın veya greftin osteojenik

potansiyelinin daha kesin olarak değerlendirilebilmesini amaçladık. Literatürlerle uyumlu olarak biz de yapmış olduğumuz çalışmamızda, spontan iyileşmeye bırakılan defektlerin hiçbirinde tam kemik dolumu olmadığını gördük.

Jan ve arkadaşlarının oksijen terapisinin tavşan modelinde kafatasındaki kritik boyuttaki defektlerin spontan iyileşmesine etkisini değerlendirdikleri çalışmaya 20 adet Yeni Zellanda tavşanı dahil edilmiştir. Çalışmada kullanılan tavşanların 10'u deney grubu ve 10'u kontrol grubu olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Tüm deneklere 15 mm ve 18 mm çapında olacak şekilde iki defekt hazırlanmıştır. İyileşmeyi takip eden ilk 20 gün boyunca 1. gruba hiperbarikoksijen(HBO) uygulaması yapılmış, 2. grup ise kontrol grubu olarak kabul edilmiş ve herhangi bir uygulama yapılmamıştır. 6. ve 12. haftalarda her gruptan 5 denek sakrifiye edilmiş ve elde edilen örnekler radyografik ve histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda araştırmacı, HBO terapisinin kritik boyut ve üzerindeki defektlerde iyileşmeyi arttırdığı sonucuna varmıştır⁽⁵⁵⁾.

Moghadam ve arkadaşlarının, 30 adet matür Yeni Zellanda tavşanı ile yaptıkları çalışmalarında tavşanların kafatasında oluşturdukları 15 mm çapındaki defektlere DBM(Demineralize Bone Matrix) jel, CaOH ilave edilmiş DBM ve kalsiyum fosfat yerleştirmişlerdir. 6. ve 12. haftalarda sakrifiye ettikleri tavşanlardan alınan örnekler histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Araştırmacı ve arkadaşları, DBM jel kemik greftinin kritik boyuttaki defektlerde belirgin olarak diğer materyallerden daha fazla kemik oluşumu sağladığını bildirmişlerdir⁽⁶⁹⁾.

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

bizde literatürlerle uyumlu olarak matür Yeni Zelanda tavşanlarının kafatası bölgelerinde çalışmamızı yaptık.

Oral ve maksillofasiyal cerrahide araştırmacılar sürekli olarak kemik greftleme tekniklerini geliştirmek,daha hızlı ve daha yoğun kemik rejenerasyonu elde edecek bir yöntem geliştirmek için çalışmaktadırlar⁽⁷³⁾. TZP, yara iyileşmesini ve rejenerasyonu arttırmak için baş boyun cerrahisi, oral ve maksillofasiyal cerrahi, plastik cerrahi ve kardiyovasküler cerrahi gibi pek çok cerrahi alanda kullanılmaktadır.

Marx ve arkadaşlarının, benign ve/veya malign lezyon eksizyonu yapılmış fakat radyoterapi uygulanmamış 5 cm. ve daha büyük mandibula defektine sahip 88 hasta üzerinde yaptıkları araştırmada 44 defektin tedavisinde posterior iliak bölgeden alınan otojen kemik grefti TZP ile beraber kullanılırken, diğer 44 hasta sadece otojen kemik grefti kullanılarak kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Radyografik sonuçlar incelendiğinde TZP kullanılan bölgelerde kemik maturasyonunun TZP kullanılmayan bölgelere oranla 1.62 den 2.16' ya kadar değişen oranlarda daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu hastalarda yapılan histomorfometrik ölçümlerde, TZP eklenen bölgelerde kemik yoğunluğu ortalama %74 iken, TZP eklenmeyen bölgelerde bu oran %55.1 olarak bildirilmiştir⁽⁶⁸⁾.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre TZP eklenmesi kemik formasyonunun oranını ve kemik grefti içinde kemik oluşumunun derecesini en azından ilk 6 ay boyunca hızlandırmaktadır⁽⁶⁸⁾.

Oyama ve arkadaşlarının, alveoler kemik greftleme prosedüründe otolog iliak kansellöz kemik ile TZP karışımının kemik rejenerasyonu üzerine etkisinin değerlendirilmesi amacıyla yaptıkları çalışmada, daimi dentisyona sahip (yaş ortalaması:16.1 yıl) olan 7 alveoler kleft hastasını çalışmaya dahil etmişlerdir. Rejenere kemik miktarının değerlendirilmesi 3 boyutlu bilgisayarlı tomografi kullanılarak yapılmış ve kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Alveoler kleft hastalarında ortalama rejenere

kemik hacmi, TZP kullanılanlarda TZP kullanılmayanlara oranla daha yüksek bulunmuştur. Bu artmış sonuç istatistiksel olarak da anlamlıdır ($P < .05$)⁽⁷²⁾.

Araştırmacı, yarık damak ve dudak hastalarında TZP'nin osteogenezisi arttırdığını ve ortodontik tedaviden sonra alveoler kemik greftlemesi prosedüründe kullanılabilecek güvenilir, kolay ve ucuz bir yöntem olduğunu bildirmiştir⁽⁷²⁾.

Butterfield ve arkadaşları, sinüs augmentasyonu sırasında otojen kemik remodelasyonu üzerinde TZP'nin etkisini değerlendirmek amacıyla tavşanlar üzerinde bir çalışma yapmışlardır. Ağırlıkları 3-3.5 kg. arasındaki Yeni Zellanda tavşanlarından genel anestezi altında sağ iliak krestten alınan otojen kemik grefti ile bilateral sinüs augmentasyonu yapılmıştır. Tavşanlardan alınan otolog kandan santrifüj yoluyla elde edilen TZP topikal bovin trombin ve kalsiyum klorit ile karıştırılmış, elde edilen jelde otojen kemik grefti ile karıştırılarak sinüs augmentasyonu için kullanılmıştır. Kontrol tarafına ise sadece otojen kemik grefti uygulanmıştır. Hayvanlar 2., 4., 8. haftalarda sakrifiye edilmiş ve tüm örnekler peripheral quantitative computed tomography (pQ-CT), statik ve dinamik histomorfometrik analiz ile incelenmiştir. PQ-CT, statik ve dinamik histolojik kriterler kullanılarak yapılan karşılaştırma sonucunda TZP'nin, maksiller sinüs augmentasyonunda kemik grefti iyileşmesi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır⁽²⁰⁾.

Fennis ve arkadaşları, bir mandibular rekonstrüksiyon metodunu değerlendirmek amacıyla yaptıkları deneysel hayvan çalışmasında, 28 keçiye angulus rezeksiyonu uygulamışlardır. İlk rekonstrüksiyon özel olarak dizayn edilmiş osteosentez plak ve vidaları kullanılarak yapılmıştır. Rezeke edilen kortikal parça çıkarılmış ve üzerine rond frez kullanılarak delikler açılmıştır. Defekt rekonstrüksiyonu orijinal kortikal yapı iskeleti kullanılarak yapılmış ve boşluklar iliak krestten alınan otojen kortikokansellöz kemik grefti ile doldurulmuştur. Kemik iyileşmesini hızlandırmak için 14 hayvanda partikül kemik greftleri TZP ile karıştırılarak uygulanmıştır. Osteosentez plak

ve vidaları, 3 haftadan 3 aya kadar değişen periyotta immedat yüklemeye dayanmış ve herhangi bir komplikasyon ile karşılaşılmamıştır⁽³⁶⁾.

Değerlendirmeler radyolojik ve klinik olarak yapılmış ilk radyografi ameliyattan hemen sonra alınmıştır. Denekler sırasıyla 3., 6. ve 12. haftalarda sakrifiye edilmiştir. Bağımsız 2 gözlemci skorlama yöntemiyle, hangi hayvanın TZP ile tedavi edildiğini bilmeden değerlendirme yapmışlardır. Skorlama parametreleri, anterior ve posterior osteotomi bölgesindeki kemik boşlukları, frez ile hazırlanan perforasyonlar, anterior ve posterior osteotomi bölgesindeki kallus oluşumu, santral rezorbsiyon(internal rezorbsiyon) ve angular rezorbsiyon(eksternal rezorbsiyon) değişkenlerini içermiştir. Yapılan klinik ve radyografik değerlendirme sonucunda, TZP ile tedavi edilen grupta kemik iyileşmesinin önemli ölçüde daha hızlı olduğu sonucuna varılmıştır⁽³⁶⁾.

Robiony ve arkadaşları, şiddetli atrofik mandibulası olan hastaların tedavisi için yeni bir metodu değerlendirmek amacıyla distraksiyon osteogenezisi sırasında TZP kullanmışlardır. Şiddetli atrofik mandibulası olan ve total dişsiz 2'si erkek toplam 5 hasta yeni bir distraksiyon prosedürü ile tedavi edilmiştir. Cerrahi sırasında, iliak kemikten alınan otojen kemik grefti TZP'den elde edilen otolog platelet konsantrasyonu ile karıştırılarak distraksiyon boşlukları doldurulmuştur. Otolog kemik ve TZP'den oluşan bu karışım, distraksiyon rejenerasyonu için kullanışlı bir yapı iskeleti yaratmıştır. Latent periyot için 15 gün beklendikten sonra, distraksiyon hızı günde 0.5 mm. olacak şekilde ayarlanmıştır. Konsolidasyon periyodu için 60 gün beklendikten sonra distraktörler çıkarılmış ve aynı seansta implantlar yerleştirilmiştir. Tedavi edilen tüm hastalarda, planlanan distraksiyon yüksekliği kemik rejenerasyonundaki önemli artış ile başarılmış ve bütün hastalara planlanan zamanda implant yerleştirilmesi mümkün olmuştur⁽⁷⁶⁾.

Araştırmacı, bu yeni kombinasyonun şiddetli atrofik mandibuların restorasyonunda mükemmel çözüm sunan bir yöntem olacağını düşündüğünü bildirmiştir⁽⁷⁶⁾.

Aghaloo ve arkadaşları, kemik iyileşmesi üzerinde TZP'nin etkisini değerlendirmek amacıyla 15 tavşanda randomize, kör ve prospektif bir çalışma planlamışlardır. Kiloları 2,8 ve 4 kg. arasında değişen 15 adet erkek Yeni Zellanda tavşanında 8 mm.'lik 4 kafatası defekti hazırlamışlardır. Hazırlanan 3 defekte otojen kemik, yalnız TZP ve otojen kemik ile TZP uygulanmış, bir defekt ise kontrol için boş bırakılmıştır. Defektler 1., 2. ve 4. aylarda histomorfometrik, histolojik ve step-wedge kalibrasyon ile dijital subtraksiyon radyografi analizi ile değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, boş bırakılan ve yalnız TZP uygulanan defektlerle karşılaştırıldığında otojen kemik ve TZP eklenmiş otojen kemik örneklerinde radyografik kemik densitesi ve histomorfometrik kemik alanında anlamlı artış olduğu görülmüş, ancak otojen kemiğe TZP eklenmesinin anlamlı bir fark yarattığı gösterilememiştir. Aynı şekilde kontrol defekti ve yalnız TZP uygulanan defektler arasında da anlamlı bir farka rastlanmamıştır⁽³⁾.

Biz de yaptığımız çalışmada hem diabet oluşturulmuş, hem de sağlıklı (diabet oluşturulmamış) tavşanlarda kafatasındaki kritik boyutta defektlerde 6. ve 12. hafta değerlendirmelerinde yeni kemik oluşumu açısından otojen kemik grefti+TZP eklenen defektlerin spontan iyileşen defektlerden histopatolojik olarak daha iyi iyileştiğini gözlemledik.

Jaksen ve arkadaşları, koyunlarda maksiller sinüs duvarı augmentasyonu yapmışlar otojen kemik+TZP ve sadece otojen kemiği karşılaştırmışlar sonuçta TZP'nin rejeneratif kapasitesinin düşük olduğunu belirtmişlerdir⁽⁵⁴⁾.

Fürst ve arkadaşları da ratlarda kortikal mandibuler defektlerin kemik rejenerasyonunda plateletlerden salınan büyüme faktörlerinin etkisi üzerine yaptıkları çalışmada anlamlı bir fark bulamamışlardır⁽⁴²⁾.

Belli ve arkadaşları, yayınladıkları vaka raporunda geniş mandibular kistik lezyonun tedavisinde lezyonun eksizyonunu takiben sığırdan elde edilmiş granül formunda hidroksiapatit ve TZP karışımını kullanmışlardır. Yazar, hastadan 4 ay sonra alınan radyografide kemik içi defekt bölgesinde yüksek oranda remineralizasyon izlediklerini ve operasyondan sonra herhangi bir komplikasyon ile karşılaşmadıklarını bildirmiştir⁽¹¹⁾.

Kassolis ve arkadaşlarının, sinüs elevasyonu ve/veya alveoler kret augmentasyonu için dondurulmuş-kurutulmuş kemik allogreftleri(DKKA) ve TZP kombinasyonu ile tedavi edilen 15 hastanın klinik ve radyolojik sonuçlarını sundukları vaka serisinde DKKA ve TZP (0.5g./2cc.) karıştırılarak kompozit greft materyali olarak yerleştirilmiştir. Jel formu otolog trombin zengin plazma ve TZP (1:4oranında) karıştırılarak elde edilmiştir. Biyopsi örnekleri, implant uygulaması sırasında implant yuvası hazırlanırken alınmış ve histolojik olarak incelenmiştir. Yerleştirilen 36 implanttan 32'si başarılı bir şekilde iyileşirken 4'ü mobilite nedeniyle çıkartılmak zorunda kalmıştır.

Araştırmacı, klinik ve histolojik sonuçlara dayanarak sinüs yükseltilmesi ve kret augmentasyonunda DKKA ve TZP karışımının implant yerleştirilmesinden önce kullanılabilecek alternatif bir yöntem olduğunu bildirmiştir⁽⁵⁸⁾.

Camargo ve arkadaşlarının, periodontal cerrahide kemik içi defektler için 2 farklı rejeneratif tekniğin etkinliğinin klinik olarak karşılaştırılması amacıyla yaptıkları çalışmaya 18 hasta katılmıştır. Interproksimal kemik defektlerinde, absorbe olabilen polilaktik asit membran tek başına yönlendirilmiş doku rejenerasyonu için veya TZP, bovin poröz kemik allogrefti(BPKA)(Bio-Oss®,Geistlich, Wolhousen, Switzerland) ve membran(Atrisorb®, Atrix Laboratories, Fort Collins, CO,USA)YDR kombinasyonu uygulanmıştır⁽²¹⁾.

Her iki tedavi yönteminde de başlangıç değerleriyle karşılaştırıldığında önemli miktarda cep derinliğinde azalma ve klinik ataşman kazancı olmuştur. Ancak iki

grup arasındaki bütün değişkenler istatistiksel olarak anlamlı derecede TZP+BPKA+YDR grubunun lehine bulunmuştur⁽²¹⁾.

Aghaloo ve arkadaşlarının, dondurulmuş-kurutulmuş kemik grefti ile TZP kombinasyonunun etkisini değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada, 15 adet Yeni Zelanda tavşanında 8.mm'lik 4 adet kafatası defekti oluşturmuşlardır. Hazırlanan defektlere randomize, kör ve prospektif olarak dondurulmuş-kurutulmuş mineralize kemik(DKMK), DKMK+TZP, dondurulmuş-kurutulmuş demineralize kemik(DKDK) ve DKDK+PRP uygulanmış, 1., 2. ve 4. aylarda histomorfometrik ve radyografik olarak değerlendirme yapılmıştır. Radyografik olarak, DKMK ve DKDK greftlerine TZP eklenmesinin kemik yoğunluğunda artışa neden olduğu, ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı sonucuna varmışlardır⁽²⁾.

Histomorfometrik olarak da, DKMK'e TZP eklenmesinin kemik alanlarında 1. ve 4. aylarda, DKDK'e TZP eklenmesinin ise 1. ve 2. aylarda artışa neden olduğu, ancak bu sonuçlarında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı sonucuna varmışlardır⁽²⁾.

Biz de yapmış olduğumuz çalışmada diabetik tavşanlarda 6. haftada Bio-Gen+TZP uygulanan defektlerle spontan iyileşmeye bırakılan defektler arasında yeni kemik oluşumu açısından histopatolojik olarak belirgin bir fark gözlemlemedik, ancak 12. haftada Bio-Gen+TZP uygulanan defektlerdeki yeni kemik oluşumunun histopatolojik olarak spontan iyileşen defektlerden daha iyi olduğunu gözlemledik.

Zechner ve arkadaşları, mini pigler üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada dental implantlardaki kemik iyileşmesi üzerinde TZP'nin etkisini değerlendirmişlerdir. Yetişkin 12 adet mini pigde mandibular premolar dişler cerrahi olarak çekilmiş ve implant yerleştirilmeden önce otojen TZP sol bölgedeki çekim soketlerine aşılanmıştır. Sağ bölgedeki soketler ise kontrol grubu olarak ayrılmıştır. Denekler 3., 6. ve 12. haftalarda sakrifiye edilmiş ve örnekler histomorfometrik olarak

incelenmiştir. Yapılan histomorfometrik değerlendirmede, erken iyileşme döneminde(6.hafta) topikal TZP uygulanan bölgelerde kemik–implant kontağının önemli oranda arttığı gösterilmiştir. 12. haftada ise 2 grup arasında anlamlı bir farka rastlanmamıştır. Araştırmacı ve arkadaşları, topikal TZP uygulamasının erken iyileşme periyodunda implant bölgesindeki kemik rejenerasyonunu arttırdığı sonucuna varmışlardır⁽¹¹⁰⁾.

Anitua ve arkadaşlarının, implant uygulanacak bölgelerin hazırlanması üzerine yaptığı bir araştırmada 20 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. İmplant öncesinde çekim yapılan hastalarda çekim boşluklarının bir kısmı TZP ile tedavi edilirken bir kısmı kontrol grubu olarak spontan iyileşmeye bırakılmıştır. TZP eklenen çekim boşluklarında, kontrol grubuyla kıyaslandığında bukko-lingual kemik genişliğinde ve kemik yoğunluğunda artış izlenirken, aynı zamanda yumuşak doku iyileşme sürecinde de kısalma meydana geldiği görülmüştür⁽⁸⁾.

İmplant yerleştirilecek alanların hazırlanmasında TZP kullanımının, yumuşak doku iyileşmesini hızlandırma ve kemik rejenerasyonunu artırma gibi avantajlar sağladığını bildirmişlerdir⁽⁸⁾.

1994 yılında ilk kez Tayapongsak ve arkadaşları, mandibuler devamlı defektlerin rekonstrüksiyonlarında kansellöz kemiğe otolog fibrin adeziv (AFA) eklenmesi fikrini ortaya atmışlardır. Yaptıkları çalışma ile 33 vakada erken radyografik kemik konsolidasyonu olduğunu bildirmişlerdir. Artmış osteokondüksiyonun AFA tarafından geliştirilen fibrin ağın greft içerisindeki osteokompetent hücreleri etkilemesinden dolayı olduğu düşünülmüştür. Aynı zamanda, greft yerleştirilmesi sırasında kansellöz marrow partiküllerin birbirine bağlayıcı dikkate değer bir adeziv etkisi olduğunu rapor etmişlerdir⁽⁹⁵⁾.

Biz de çalışmamızda kullandığımız, Bio-Gen greft materyaline TZP eklendiğinde TZP'nin greft materyali üzerinde adeziv bir etkisi olduğunu gördük.

Litertürlerde TZP ile ilgili farklı alanlarda yapılmış olan çalışmalarda mevcuttur.

Man ve arkadaşları, 20 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, otolog fibrin yapıştırıcı ve platelet jel kullanımının kosmetik cerrahi prosedürlerde (face lift, mamoplasti, abdominoplasti gibi) pek çok avantajının olduğunu göstermişlerdir⁽⁶⁶⁾.

Bu avantajlar, operasyon süresinin kısılması, dren ihtiyacının eliminasyonu, baskılı bandaj ihtiyacının azalması, operasyon sonrası şişlik ve ağrıda azalma ve yara iyileşmesindeki artış ile iyileşme süresinde kısalmaya olarak bildirilmiştir⁽⁶⁶⁾.

Valle ve arkadaşlarının, oral antikoagülan terapisi gören hastalarda, diş çekiminden sonra kanamanın kontrolünde TZP etkinliğinin değerlendirilmesi amacıyla yaptıkları çalışmalarında mekanik kalp kapağı replasmanı yapılmış ve oral antikoagülan kullanan 40 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Araştırmacı, varfarin kullanmaya devam eden hastalarda INR(International Normalized Ratio) değeri normal sınırlarda tutulduğu sürece TZP kullanımının güvenli ve gelişmiş bir prosedür olduğunu, TZP'nin kanama ve tromboemboli riskini engellediğini belirtmiştir⁽¹⁰³⁾.

Sammartino ve arkadaşları, 20 yaş dişlerinin çekiminden sonra periodontal dokular üzerinde otolog TZP'nin etkisi üzerine bir çalışma yapmışlar, mandibular 2.molar dişin distalinde 7.5 mm ve daha fazla cep derinliği olan ve ataşman seviyesi 6 mm ve üstü olan hastaları çalışmaya dahil etmişlerdir. Her hastadan toplam 40 ml kan, içinde % 10 trisodyum sitrat antikoagülan solüsyon olan 4 cam tüpe alınmış, tüpler 15 dakika 1200 rpm de santrifüj edilmiş ve en üstte TFP, ortada TZP, en altta kırmızı kan hücreleri olmak üzere 3 bölüme ayrılmıştır. En üstte yer alan 2 ml'lik TFP pastör pipet ile alınmış ve atılmış, altta kalan kısım 1,2 ml kırmızı kan hücresi ile birlikte toplanmıştır. TZP jeli 1 ml batroksobin(batroxobine) ve 1 ml 446 mEq kalsiyum glukonat ile steril tüpte 30 sn karıştırılarak elde edilmiştir. Sağlıklı 18 genç hastada yaptıkları

Çalışmada cerrahiden 12 hafta sonra inceleme yapılmış, kemik defekti içerisinde yeni kemik oluşumunda ve ataşman seviyesinde artış, cep derinliğinde dikkate değeri bir azalma olduğunu saptamışlardır.Araştırmacı, TZP'nin derin gömölü mezioanguler 3. molar dişlerin cerrahi çekiminden sonra mandibuler 2. molar dişin distal kökünde oluşacak periodontal defektlerin tedavisinde, kemik rejenerasyonunu sağlamada ve hızlandırmada etkili olduğu sonucuna varmıştır⁽⁷⁷⁾.

Bizde çalışmamızın sonucunda, bu konuda ileride yapılacak çalışmalarda daha fazla sayıda denek ve spontan diabet olan hayvan modellerinin kullanımının daha net sonuçlar vereceği görüşündeyiz.

VI. SONUÇLAR

Deneysel olarak diabet oluşturulan tavşanlar ve sağlıklı(diabet oluşturulmayan) tavşanların kafatasında hazırladığımız 15 mm. çapındaki kritik boyutta defektlerde spontan iyileşme düzeyleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmek bununla birlikte kritik boyuttaki defetlere otojen kemik veya greft materyali ile TZP karışımının eklenmesinin etkilerinin spontan iyileşen defektlerle histopatolojik olarak karşılaştırılması amacıyla yaptığımız bu çalışmada;

1. Deneysel olarak diabet oluşturulmuş ve sağlıklı (diabet oluşturulmamış) tavşanlarda kritik boyutta hazırlanmış kafatası defektlerinde 6. ve 12. haftalarda spontan iyileşmeye bırakılmış defektlerde yeni kemik oluşumu açısından histopatolojik olarak anlamlı bir fark olmadığı,
 2. Tavşan kafatasındaki 15. mm çapında hazırlanan ve spontan iyileşmeye bırakılan defektlerde kemik dokusunun kendini rejenere etme ve yeniden şekillendirme özelliği ile yeteri derecede iyileşme göstermediği,
 3. Hem deneysel olarak diabet oluşturulmuş hemde sağlıklı (diabet oluşturulmamış) grupta otojen greft+TZP uygulanan defektlerin, spontan iyileşmeye bırakılan defektlerden histopatolojik olarak daha iyi iyileştiği,
 4. Bio-Gen greft materyalinin herhangi ciddi bir inflamatuvar reaksiyona sebep olmadığı,
 5. Diabetik tavşanlarda 6. haftada Bio-Gen+TZP uygulanan defektlerle spontan iyileşmeye bırakılan defektler arasında yeni kemik oluşumu açısından histopatolojik olarak belirgin bir fark yokken, 12. haftada Bio-Gen+TZP uygulanan bölgede yeni kemik oluşumunun daha iyi olduğu,
 6. Diabetik grupta otojen greft+TZP uygulanan defektlerin iyileşme potansiyelinin Bio-Gen+TZP uygulanan defektlere oranla daha iyi olduğu,
- sonuçlarına varılmıştır.

Bu sonuçlar gözönüne alındığında, sağlıklı bireylerde ve diabetik hastalarda altın standart olarak kabul edilen otojen kemik greftlerinin ve TZP uygulamasının, defekt tamiri ve rekonstrüksiyon işlemlerinde iyileşme potansiyeli açısından önemli avantajlar sağladığı ve eğer mümkünse tedavide ilk seçenek olarak düşünülmesi gerektiği söylenebilir. Ancak morbiditede artış ve komplikasyon riskinin artma ihtimaline karşılık Bio-Gen+TZP uygulaması da spontan iyileşmeye alternatif bir yöntem olarak kabul edilebilir. İleride yapılacak çalışmaların spontan diabetik hayvanlarda ve daha fazla sayıda denek grubu ile yapılmasının uygun olacağı düşüncesindeyiz.

VII. ÖZET

Deneyisel olarak diabet oluşturulmuş ve sağlıklı(diabet oluşturulmayan) tavşanların kafatasında hazırlanan 15 mm. çapındaki kritik boyutta defektlerde spontan iyileşme düzeyleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmek bununla birlikte kritik boyuttaki defetlere otojen kemik veya greft materyali ile TZP karışımının eklenmesinin etkilerinin spontan iyileşen defektlerle histopatolojik olarak karşılaştırılması amacıyla yaptığımız çalışmaya 24 adet matür ve erkek Yeni Zellanda tavşanı dahil edilmiştir.

Araştırmada kullanılan denekler her grupta 8 tavşan olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Bu gruplar; 1.grup diabetik 1.defekt boş(kontrol) ve 2.defekt otojen greft+TZP, 2.grup diabetik 1.defekt boş(kontrol) ve 2.defekt Bio-Gen greft+TZP, 3.grup sağlıklı (diabet oluşturulmayan) 1.defekt boş(kontrol). ve 2.defekt otojen greft+TZP. Her gruptan 4 denek 6. ve 12. haftalarda sakrifiye edilmiş ve elde edilen örnekler histopatolojik olarak değerlendirilmiştir.

Yapılan histopatolojik değerlendirme sonucunda, deneyisel olarak diabet oluşturulmuş ve sağlıklı tavşanlar arasında spontan iyileşmeye bırakılan defektlerde yeni kemik oluşumu açısından 6. ve 12 . haftada anlamlı bir fark görülmemiştir. Heriki grupta da otojen kemik ile TZP karışımı uygulanan defektlerin spontan iyileşmeye bırakılan defektlerden yeni kemik oluşumu açısından daha başarılı olduğu, Bio-Gen ile TZP uygulanan defektlerle spontan iyileşmeye bırakılan defektler karşılaştırıldığında ise 6. haftada anlamlı bir fark görülmezken, 12. haftada yeni kemik oluşumunun Bio-Gen+TZP lehine olduğu bulunmuştur.

Bu sonuçların ışığı altında altın standart olarak kabul edilen otojen kemik greftlerinin ve TZP uygulamasının, defekt tamiri ve rekonstrüksiyon işlemlerinde iyileşme potansiyeli açısından önemli avantajlar sağladığı ve eğer mümkünse tedavide ilk seçenek olarak düşünülmesi gerektiği söylenebilir. Ancak morbiditede artış ve komplikasyon riskinin

artma ihtimaline karşılık Bio-Gen+TZP uygulaması da spontan iyileşmeye alternatif bir yöntem olarak kabul edilebilir.

VIII. SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the correlation between the spontaneous healing levels of critical size (15 mm) defects prepared on skulls of healthy and experimentally Diabetes Mellitus(DM) induced rabbits. 24 mature male New Zealand rabbits were included in the study, and the effects of autologous bone and graft material-Platelet Rich Plasma (PRP) mixture was compared histopathologically.

The rabbits used in this study were gathered in 3 groups of 8 rabbits in each group. These groups were as listed below:

1. group- diabetic (1.st defect control –not filled, 2.nd defect autologous bone graft+PRP)
2. group- diabetic (1.st defect control, 2.nd defect Bio-Gen grafts+PRP)
3. group- healthy (1.st defect control, 2.nd defect autologous bone graft+PRP)

4 animals from each group were sacrificed on the 6th and 12th weeks of the study, and the specimen obtained were evaluated histopathologically.

The histopathological examinations revealed that on the 6th and 12th weeks, there was no significant difference in bone healing levels of the defects prepared on skulls of experimentally DM induced rabbits and healthy rabbits and left to heal spontaneously afterwards. In both groups, the bone healing process in defects filled with autologous bone-PRP mixture was more successful compared to the defects left empty for spontaneous healing.

On the other hand, the comparison of healing process in defects filled with Bio-Gen-PRP mixture and the ones that spontaneously healed revealed no significant difference on the 6th week, but on the 12th week, the bone healing at the site filled with Bio-Gen-PRP mixture was better.

These results show that the autologous bone grafts, which are agreed to be the golden standart for grafts, have many advantages in bone healing and reconstruction processes, and therefore, should be considered as the first treatment option . But due to the increase in morbidity and the possibility of complications, Bio-Gen+PRP mixture may also be considered as an alternative for spontaneous bone healing

KAYNAKLAR

- 1.AABOE M., PINHOLT E., HJORTING-HANSEN E.: Unicortical Critical Size Defect of Rabbit Tibia is Large Than 8 mm.; The Journal of Craniofacial Surgery.,5(3),201-3.(1994)
- 2.AGHALOO T.L., MOY P.K., FREYMILLER E.G.: Evaluation of platelet rich plasma in combination with freze-dried bone in the rabbit cranium: a pilot study; Clin. Oral Impl. Res., 16,250-257.(2005)
- 3.AGHALOO T.L., MOY P.K., FREYMILLER E.G.: Investigation of Platelet-Rich Plasma in Rabbit Cranial Defects: A Pilot Study; J Oral Maxillofacial Surg., 60,1176-1181.(2002)
- 4.AKAY M.T.: Genel Histoloji, Palme yayıncılık, Ankara, (1975)
- 5.ALBREKTSSON T., JOHANSSON C.: Osteoinduction, osteoconduction and osseintegration; Eur. Spine J., 10,96-101. (2001)
- 6.ALKAN A., ERDEM E., GÜNHAN Ö., KARASU C.: Histomorphometric evaluation of the effect of doxycycline on the healing of bone defects in experimental diabetes mellitus: a pilot study; J Oral Maxillofacial Surg., 60(8),898-904. (2002)
- 7.ANDERSON M., DHERT W., BRUIJN J., DALMEIJER R., LEENDERS H., BLITTERSWIJK C., VERBOUT J.: Critical Size Defect in the Goat's Os Ilium A Model to Evaluate Bone Grafts and Substitutes: Clinical Orthopaedics and Related Research.,364,231-239.(1999)

8.ANITUA E.: Plasma Rich in Growth Factors: Preliminary Results of Use in the Preparation of Future Sites for Implants; Int. J. Oral and Maxillofacial Implants., 14,529-535.(1999)

9.BALSELLS M., VIADE J., MILLAN M., GARCIA J.R., GARCIA-PASCUAL L., DEL POZO C.: Prevalence of osteomyelitis in non-healing diabetic foot ulcers:usefulness of radiologic and scintigraphic findings; Diabetes Research and Clinical Practice.,38,123-127.(1997)

10.BEAM H., PARSONS R.,LIN S.: The effect of blood glucose control upon fracture healing in the BB Wistar rat with diabetes mellitus; Journal of Orthopaedics Research., 20,1210-1216.(2002)

11.BELLÌ E., LONGO B., BALESTRA F.M.: Autogeneous Platelet-Rich Plasma in Combination With Bovine Derived Hydroxyapatite Xenograft for Treatment of a Cystic Lesion of the Jaw; The Journal of Craniofacial Surgery., 16(6),978-980 (2005)

12.BERNARD G.W.: Healing and Repair of Osseous Defects; Dental Clinics of North America.,35(3),469-77.(1991)

13.BETZ R.R.: Limitations of Autograft and Allograft: New Synthetic Solutions; Orthopedics., 25(5), 561-570.(2002)

14.BOSCH C., MELSEN B., VARGERVIK K.; Importance of the Critical Size Bone Defect in Testing Bone-Regenerating Materials; The Journal of Craniofacial Surgery.,9(4),310-316.(1998)

15.BOYNE P.J.: Application of Bone Morphogenetic Proteins in the Treatment of Clinical Oral and Maxillofacial Osseous Defects; The Journal of Bone and Joint Surgery.,83,146-150.(2001)

16.BOZKAYA S.:Deproteinize ve Demineralize Kemik Greftlerinin Kemik İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Deneyisel Olarak İncelenmesi, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, Ankara (2005).

17.BRUCE R.A., DZIEWIATKOWSKI D.D.: Differentiation of the Organic Matrix in Bone Repair; J Oral Maxillofac Surg.,45,939-944.(1987)

18.BURCHARDT H.: Biology of Bone Transplantation; Orthopedic Clinics of North America., 18(2), 187-96.(1987)

19.BURCHARDT H.: The Biology of Bone Graft Repair; Clinical Orthopaedics and Related Research.,174,28-42.(1983)

20.BUTTERFIELD K.J., BENNETT J., GRONOWICZ G., ADAMS D.: Effect of Platelet Rich Plasma with Autogenous Bone Graft for Maxillary Sinus Augmentation in a Rabbit Model; J Oral Maxillofacial Surg.,63,370-376.(2005)

21.CAMARGO P.M., LEKOVIC V., WEINLAENDER M., VASILIC N., MADZAREVIC M., KENNEY E.B.: Platelet-Rich Plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans; J. Periodont. Res., 37,300-306.(2002)

- 22.CANALIS E., MCCARTHY T., CENTRELLA M.: Isolation and Characterization of Insulin-Like Growth Factor I (Somatomedin-C) from Cultures of Fetal Rat Calvariae; Endocrinology.,122(1), 22-27.(1988)
- 23.CARLSON N.E., ROACH R.B.: Platelet-rich plasma Clinical applications in dentistry;J.A.D.A., 133,1383-1386.(2002)
- 24.CHOI B.H., ZHU S.J., KIM B.Y., HUH J.Y., LEE S.H., JUNG J.H.: Effect of platelet rich plasma(PRP) concentration on the viability and proliferation of alveolar bone cells: an in vitro study; Int. J. Oral and Maxillofac. Surg., 34, 420-424.(2005)
- 25.CLARKE M., BRAYER J., HEINTZ K., NAGASHIMA H., CHA S., OXFORD G., NANNI J., PECK A., ZELLES T., HUMPHREYS-BEHER M.: Differential absorption and distribution of epidermal growth factor in diabetic NOD mice; Journal of Diabetes and Its complications.,15,103-111.(2001)
- 26.CLOKIE C., MOGHADAM H., JACKSON M., SANDOR G.: Closure of Critical Size Defects with Allogenic and Alloplastic Bone Substitutes ; The Journal of Craniofacial Surgery.,13(1),111-121.(2002)
- 27.COOK S.D., BAFFES G.C., WOLFE M.W., SAMPATH T.K., RUEGER D.C., WHITECLOUD T.S.: The Effect of Recombinant Human Osteogenic Protein-1 on Healing of Large Segmental Bone Defects; The Journal of Bone and Joint Surgery.,74(6),827-838.(1994)

28.DAMBRO M.R.: Griffith's 5 Minute Clinical Consultant Williams&Wilkins, Rose Tree Corporate Center, USA.(1995)

29.DEATHERAGE J.R., MATUKAS V.J., MILLER E.J.: A review of matrix-induced osteogenesis with special reference to its potential use in cranio-facial surgery, *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 17,395-399.(1988)

30.DEVELİOĞLU H.: Kritik Boyutlu ve Kritik Boyutlu Olmayan Defektler, *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 6(1), 60-63.(2003)

31.DEVLIN H, GARLAND H, SLOAN P: Healing of tooth extraction sockets in experimental diabetes mellitus; *J Oral and Maxillofac Surg*, 54(9), 1087-91.(1996)

32.DODDE R, YAVUZER R, BIER U, ALKADRI A, JACKSON I: spontaneous Bone Healing in the Rabbit ; *The Journal of Craniofacial Surgery.*, 11(4), 346-349.(2000)

33.DUGRILLON A., EICHLER H., KERN S., KLUTER H.: Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration: *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*,31, 615-619.(2002)

34.EL-HAKİM İ.E.: The effect of fibrin stabilizing factor (FXIII) on healing of bone defects in normal and uncontrolled diabetic rats: *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*,28,304-308.(1999)

35.ERKOÇAK A.: Genel Histoloji, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, (1975)

36.FENNIS J.P.M., STOELINGA P.J.W., JANSEN J.A.: Mandibular reconstruction: A clinical and radiographic animal study on the use of autogenous scaffolds and platelet-rich plasma; Int. J. Oral and Maxillofacial Surg., 31,281-286.(2002)

37.FERREIRA C.F., CARRIEL GOMES M.C., FILHO J.S., GRANJEIRO J.M., OLIVEIRA SIMOES C.M., MAGINI R.S.: Platelet-rich plasma influence on human osteoblasts growth: Clin. Oral Impl. Res., 16,456-460.(2005)

38.FOLLAK N., KLOTING I., WOLF E., MERK H.: Histomorphometric evaluation of the influence of the diabetic metabolic state on bone defect healing depending on the defect size in spontaneously diabetic BB/OK rats; Bone., 35,144-152.(2004)

39.FOLLAK N., KLOTING I., WOLF E., MERK H.: Improving metabolic control reverses the histomorphometric and biomechanical abnormalities of an experimentally induced bone defect in spontaneously diabetic rats; Calcif Tissue Int., 74,551-556.(2004)

40.FREYMILLER E.G., AGHALOO T.L.: Platelet-Rich Plasma:ready or not? J Oral Maxillofac Surg., 62,484-488.(2004)

41.FRYKBERG R., PIAGGESI A., DONAGHUE V., SCHIPANI E., HABERSHAW G., NAVALESI R., VEVES A.: Difference in treatment of foot ulcerations in Boston, USA and Pisa Italy; Diabetes Research and Clinical Practice.,35,21-26.(1997)

42.FURST G., GRUBER R., TANGL S., SANROMAN F., WATZEK G.: Effects of fibrin sealant protein concentrate with and without platelet-released growth factors on bony

healing of cortical mandibular defects. An experimental study in minipigs. *Clinical Oral Implants Research.*,15,301-307.(2004)

43.GALIANO R., TEPER O., PELO C, BHATT K., CALLAGHAN M, BASTIDAS N, BUNTING S., STEINMETZ H., GURTNER G.: Topical Vascular Endothelial Growth Factor Accelerates Diabetic Wound Healing through Increased Angiogenesis and by Mobilizing and Recruiting Bone Marrow-Derived Cells; *American Journal of Pathology.*,164,1935-1947.(2004)

44.GERRITSEN M., LUTTERMAN J.A., JANSEN J.A.: Wound healing around bone-anchored percutaneous devices in experimental diabetes mellitus; *J Biomed. Mater. Res.*,53,702-709.(2000)

45.GOODMAN W., HORI M.: Diminished bone formation in experimental diabetes. Relationship to osteoid maturation and mineralization.; *Diabetes.*, 33,825–831.(1984)

46.GOODSON W.H., HUNT T.K.: Wound healing and diabetic patient; *Surgery,Gynecology Obstetrics.*,149,600-607.(1979)

47.GOSAIN A., SONG L., YU P., MEHRARA B., MAEDA C., GOLD L., LONGAKER M.: Osteogenesis in Cranial Defects: Reassessment of the Concept of Critical Size and the Expression of TGF-B Isoforms; *Plastic and Reconstructive Surgery.*,106(2),360-72.(2000)

48.GRAGEDA E., LOZADA J., BOYNE P., CAPLANIS N., MCMILLAN P.: Bone Formation in the Maxillary Sinus by using Platelet Rich Plasma: An Experimental Study in Sheep; *J.Oral Implantology.*,31(1),2-17.(2005)

49.HE H., LIU R., DESTA T., LEONE C., GERSTENFELD L., GRAVES D.: Diabetes Causes Decreased Osteoclastogenesis, Reduced Bone Formation, and Enhanced Apoptosis of Osteoblastic Cells in Bacteria Stimulated Bone Loss;Endocrinology.,145(1),447-452.(2004)

50.HECKMAN J.D., BOYAN B.D., AUFDEMORTE T.B., ABBOTT J.T.: The Use of Bone Morphogenetic Protein in the Treatment of Non-Union in a Canine Model: The Journal of Bone and Joint Surgery.,73(5),750-764.(1991)

51.HOCK J.M., CENTRELLA M., CANALIS E.: Insulin-Like Growth Factor I Has Independent Effects on Bone Matrix Formation and Cell Replication, Endocrinology.,122(1),254-260. (1988)

52.IRIE K., IRIE F.H., OZAWA H., YAJIMA T.: Calsitonin Gene-Related Peptide (CGRP) – Containing Nerve Fibers in Bone Tissue and Their Involvement in Bone Remodeling; Microscopy Research and Technique.,58,85-90.(2002)

53.IVERS R., CUMMING R., MITCHELL P., PEDUTO A.: Diabetes and Risk of Fracture Diabetes Care. 24,1198-1203.(2001)

54.JAKSEN., TANGL S., GILLI R., BERGHOLD A., LORENZONI M., ESKICI A., HAAS R., PERTL C.: Influence of PRP on autologous sinus grafts. An experimental study on sheep; Clinical Oral Implants Research.,14,578-583.(2003)

55.JAN A, SANDOR G, IERA D, MHAWI A, PEEL S, EVANS W, CLOKIE C: Hyperbaric oxygen results in an increase in rabbit calvarial critical sized defects; Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 101;144-149.(2006)

56.KAJSTURA J., FIORDALISO F., ANDREOLI A.M., LI B., CHIMENTI S., MEDOW M.S., LIMANA F., GINARD B.N., LERI A., ANVERSA P.: IGF-1 Overexpression Inhibits the Development of Diabetic Cardiomyopathy and Angiotensin II-Mediated Oxidative Stress: Diabetes.,50, 1414-1424.(2001)

57.KANNO T., TAKAHASHI T., TSUJISAWA T., ARIYOSHI W., NISHIHARA T.: Platelet Rich Plasma Enhances Human Osteoblast-Like Cell Proliferation and Differentiation; J Oral Maxillofac Surg., 63,362-369.(2005)

58.KASSOLIS J., ROSEN P., REYNOLDS M.: Alveolar Ridge and Sinus Augmentation Utilizing Platelet Rich Plasma in Combination with Freeze-Dried Bone Allograft: Case Series; J Periodontol.,71(10),1654-1661.(2000)

59.KRAKAUER J., MCKENNA M., BURDERER N., RAO D., WHITEHOUSE F., PAFITT A.: Bone loss and bone turnover in diabetes.;Diabetes., 44,775–782.(1995)

60.LANDESBURG R., ROY M., GLICKMAN R.S.: Quantification of Growth Factor Levels Using a Simplified Method of Platelet-Rich Plasma Gel Preparation; J Oral Maxillofac Surg., 58,297-300.(2000)

61.LESLIE R.D.G., POZILLI P.: An introduction to new advances in diabetes; Diabetes Metab. Res. Rev.,18(suppl 1),1-6.(2002)

62.LINDSEY R.W., GROBMAN J., LEGGON R.E., PANJABI M., FRIEDLAENDER G.E.: Effects of Bone Graft and Electrical Stimulation on the Strength of Healing Bony Defects in Dogs; Clinical Orthopaedics and Related Research.,222,275-280.(1987)

63.LOBMANN R., PITTASCH D., MUHLEN I., LEHNERT H.: Autologous human keratinocytes cultured on membranes composed of benzyl ester of hyaluronic acid for grafting in nonhealing diabetic foot lesions: A pilot study; Journal of Diabetes and Its complications.,17,199-204.(2003)

64.LU H., KRAUT D., GERSTENFELD L., GRAVES D.: Diabetes Interferes with the Bone Formation by Affecting the Expression of Transcription Factors that Regulate Osteoblast Differentiation; Endocrinology.,144(1), 346-352.(2003)

65.LUKIC N.L., STOSIC-GRUJICIC S., OSTOJIC N., CHAN W.L., LIEW F.Y.: Inhibition of nitric oxide generation affects the induction of diabetes by streptozocin in mice; Biochemical and Biophysical Research Communication.,178(3),913-919.(1991)

66.MAN D., PLOSKER H., WINLAND-BROWN J.E.: The Use of Autologous Platelet Rich Plasma(Platelet Gel) and Autologous Platelet Poor Plasma(Fibrin Glue) in Cosmetic Surgery; Plast. Reconstr. Surg., 107,229-239.(2001)

67.MARUKAWA E., ASAHINA I., ODA M., SETO I., ALAM MD., ENOMOTO S.; Functional reconstruction of the non-human primate mandible using recombinant human bone morphogenetic protein-2; Int. J. Oral Maxillofacial Surgery., 31,294-302.(2002)

68.MARX R.E., CARLSON E.R., EICHSTAEDT R.M., SCHIMMELE S.R., STRAUSS J.E., GEORGEFF K.R.: Platelet-rich plasma Growth factor enhancement for bone grafts:Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.,85,638-646.(1998)

69.MOGHADAM H G, SANDOR G K, HOLMES H H, CLOKIE CM: Histomorphometric Evaluation of Bone Regeneration Using Allogeneic and Alloplastic Bone Substitues ; JOMS, 62;202-213.(2004)

70.NEVINS M L, KARİMBUX N Y, WEBER H P, GIANNOBİLE W V, FİORELLİNİ J P: Wound healing around endosseous implants in experimental diabetes; Int J Oral Maxillofacial Implants, 13(5), 620-629.(1998)

71.OGINO Y., AYUKAWA Y., TSUKIYAMA Y., KOYANO K.: The effect of platelet-rich plasma on the celluler response of rat bone marrow cells in vitro: Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol Endod.,100,302-307.(2005)

72.OYAMA T., NISHIMOTO S., TSUGAWA T., SHIMIZU F.: Efficacy of Platelet Rich Plasma in Alveolar Bone Grafting; J Oral Maxillofacial Surg.,62,555-558.(2004)

73.RAGHOEBAR G.M., SCHORTINGHUIS J., LIEM R.S.B., RUBEN J.L., VAN DER WAL J.E., VISSINK A.: Does platelet-rich plasma promote remodelling of autologous bone grafts used for augmentation of the maxillary sinus floor?: Clin. Oral Impl. Res.,16,349-356.(2005)

74.REDDY G.K., STEHRO-BITTEL L., HAMADE S., ENWEMEKA C.S.: The biomechanical integrity of bone in experimental diabetes; Diabetes Research and Clinical Practice.,54,1-8.(2001)

75.ROBBINS S.L., KUMAR V.: Basic Pathology, Fourth Ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia PA 19105,(1987).

76.ROBIONY M., POLINI F., COSTA F., POLITI M.: Osteogenesis Distraction and Platelet-Rich Plasma for Bone Restoration of the Severely Atrophic Mandible: Preliminary Results; J Oral Maxillofacial Surg.,60,630-635.(2002)

77.SAMMARTINO G., TIA M., MARENZI G., ESPEDITO DI LAURO A., D'AGOSTINO E., CLAUDIO P.R.: Use of Autologous Platelet-Rich Plasma (PRP) in Periodontal Defect Treatment After Extraction of Impacted Mandibular Third Molars: J. Oral Maxillofac. Surg., 63,766-770.(2005)

78.SANCHEZ A.R., SHERIDAN P.J., KUPP L.I.: Is Platelet Rich Plasma the Perfect Enhancement Factor? A Current Review; Int. J. Oral Maxillofac. Implants.,18,93-103.(2003)

79.SANTANA R., XU L., CHASE H., AMAR S., GRAVES D., TRACKMAN P.: A Role for Advanced Glycation End Products in Diminished Bone Healing in Type 1 Diabetes; Diabetes., 52,1502-1510.(2003)

80.SCHELIEPHAKE H., LAGNER M.: Reconstruction of the mandible by prefabricated autogenous bone grafts; Int. J. Oral Maxillofac. Surg., 26, 244-252.(1997)

81.SCHELIEPHAKE H.: Bone Growth Factors in Maxillofacial Skeletal Reconstruction; Int. JOMS., 31(5),469-484.(2002)

82.SCHLOOT N.C., HANIFI-MOGHADDAM P., GOEBEL C., SHATAVI S.V., FLOHE S., KOLB H., ROTHE H.: Serum IFN- γ and IL-10 levels are associated with disease progression in non-obese diabetic mice;Diabetes Metab. Res. Rev.,18,64-70.(2002)

83.SCHMITZ J., HOLLINGER J.: The Critical Size Defect as an Experimental Model for Craniomandibulofacial Nonunions;Clinical Orthopaedics and Related Research.,205,299-308.(1986)

84.SCHWARTZ A.V.: Diabetes Mellitus: Does it Affect Bone?; Calcif. Tissue Int.,73,515-519.(2003)

85.SEHER A., AXMANN D., GEIS-GERSTORFER J., WEBER H., SCHEIDELER L.: Stimulation of Cell Proliferation by Platelet Rich Plasma(PRP); Internationales Symposium 'Interface Biology of Implants' am 15./16.Mai 2003 in Rostock

86.SEPİCİ A.: Türkiye'de Halk Arasında Diabetes Mellitus Hastalığının Tedavisinde Kullanılan Mersin Uçucu Yağı (Myrtu Oleum) Üzerine Biyokimyasal Çalışmalar, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara (2000).

87.SHYNG Y.C., DEVLIN H., SLOAN P.: The effect of streptozotosin induced experimental diabetes mellitus; İnt. J. Oral and Maxillofac. Surg.,30,70-74.(2001)

88.SOBOL A., WATALA C.: The role of platelets in diabetes-related vascular complications; Diabetes Research and Clinical Practice.,50,1-16.(2000)

89.SOFFER E., OUHAYOUN J.P., ANAGNOSTOU F.: Fibrin sealants and platelet preparations in bone and periodontal healing; Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod., 95,521-528.(2003)

90.SOYDAN N.: Genel Histoloji, İstanbul,(1992)

91.SPANHEIMER R.G., UMMIERREZ G.E., STUMPF V.: Decreased collagen production in diabetic rats; Diabetes.,37,371-76.(1988)

92.SYROID D.E., ZORICK T.S., ENGELS C.A., KILPATRICK T.J., ECKHART W., LEMKE G.: A Role for Insulin-Like Growth Factor-I in the Regulation of Schwann Cell Survival; The Journal of Neuroscience., 19(6), 2059-2068.(1999)

93.TAKESHITA F., IYAMA S., AYUKAWA Y., KIDO M., MURAI K., SUETSUGU T.: The effects of diabetes on the interface between hydroxyapatite implants and bone in rat tibia;J. Periodontol.,68,180-185.(1997)

94.TASSANI P., OTTO D., SZEKELY A., MEISER B., UBERFUHR P., PFEIFFER M., JAENICKE U.: Transfusion of Platelet Rich Plasma from the Organ Donor during Cardiac Transplantation: J. Clin Anesth., 9,409-414.(1997)

95.TAYAPONGSAK P., O'BRIEN D.A., MONTEIRO C.B., ARCEO-DÍAZ L.Y.: Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow; J. Oral and Maxillofac. Surg.,52(2),161-165.(1994)

96.TEKELİOĞLU M.: Genel Tıp Histolojisi, I. Baskı, Beta Basım Yayım A.Ş., Ankara. (1989)

97.TERMAAT M.F., DEN BOER F.C., BAKKER F.C., PATKA P., HARMAN T.J.: Current Concepts Review Bone Morphogenetic Proteins; The Journal of Bone and Joint Surgery.,87(6),1367-1376.(2005)

98.TOPPING R., BOLANDER M., BALIAN G.: Type X collagen in fracture callus and the effects of experimental diabetes. Clin Orthop., 308,220–228.(1994)

99.TOZUM T.F., DEMIRALP B.: Platelet-Rich Plasma: A Promising Innovation in Dentistry; J. Can. Dent. Assoc., 69(10),664.(2003)

100.TURK A., ISHIDA K., JENSEN A., WOLLMAN J., MILLER T.: Enhanced Healing of Large Cranial Defects by an Osteoinductive Protein in Rabbits; Plastic and Reconstructive Surgery.,92(4),593-600.(1993)

101.TURK J., CORBETT J., RAMANADHAM S., BOHRER A., MCDANIEL M.: Biocemical evidence for nitric oxide formation from streptozotocin in isolated pancreatic islets; Biochemical and Biophysical Research Communication.,197(3),1458-1464.(1993)

102.TÜRKER M., YÜCETAŞ Ş.: Ağız, Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi, Atlas Kitapçılık Ltd Şti.,Ankara. (1999)

103.VALLE A.D., SAMMARTINO G., MARENZI G., TIA M., LAURO A.E., FERRARI F., MUZIO L.: Prevention of Postoperative Bleeding in Anticoagulated Patients Undergoing

Oral Surgery: Use of Platelet-Rich Plasma Gel; J. Oral Maxillofac Surg.,61,1275-1278.(2003)

104.VINIK A., FLAMMER M.: Diabetes and macrovascular disease; Journal of Diabetes and Its complications., 16,235-245.(2002)

105.VIKJÆR D, BLOM S, HJORTING-HENSEN E, PØNHOLT E M: Effect of platelet-derived growth factor-BB on bone formation in calvarial defects: an experimental study in rabbits; Eur J Oral Sci, 105;59-66.(1997)

106.WANG F.S., KUO Y.R., WANG C.J., YANG K.D., CHANG P.R., HUANG Y.T., HUANG H.C., SUN Y.C., YANG Y.J., CHEN Y.C.: Nitric oxide mediates ultrasound-induced hypoxia-inducible factor-1 α activation and vascular endothelial growth factor-A expression in human osteoblasts: Bone., 35,114-123.(2004)

107.YASKO A.W., LANE J.M., FELLINGER E.J., WOZNEY J.M., WANG E.A.: The Healing of Segmental Bone Defects, Induced by Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein (rhBMP-2) ; The Journal of Bone and Joint Surgery.,74(5),659-670.(1992)

108.YAZAWA M., OGATA H., NAKAJIMA T., WATANABE N.: Influence of Antiplatelet Substances on Platelet Rich Plasma; J Oral Maxillofac Surg.,62,714-718.(2004)

109.YU Z., RAMAMURTHY S., LEUNG M., CHANG K.M., MCNAMARA T.F., GOLUB L.M.: Chemically-modified tetracycline normalizes collagen metabolism in diabetic rats:a dose-response study; J. Periodont. Res.,28,420-428.(1993)

110.ZECHNER W., TANGI S., TEPPER G., FURST G., BERNHART T., HAAS R.,
MAILATH G., WATZEK G.: Influence of Platelet-rich Plasma on Osseous Healing of Dental
Implants: A Histologic and Histomorphometric Study in Minipigs; Int. J. Oral and
Maxillofacial Implants.,18,15-22.(2003)

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler:

Ad-Soyad: Ceyda KOCABAY ÖZKAYNAK

Doğum tarihi: 03/12/1977

Doğum yeri: Ankara

Uyruğu: T.C.

Medeni Hali: Evli

Yabancı Dili: İngilizce (ÜDS: 65)

Öğrenim Bilgileri:

İlkokul: 1983-1988.....Maltepe İlkokulu

Ortaokul: ...1988-1991..... Anıttepe Lisesi

Lise: 1991-1994.....Anıttepe Lisesi

Üniversite: .1994-1999.....Gazi Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi

Doktora:.....2000-..... Gazi Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi A.D.Ç.H. ve

Cerrahisi Anabilim Dalı

2005- Araştırma Görevlisi

Rotasyonlar: 2002..... Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon A.D

ve Algoloji B.D

2002..... Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak-Burun-Boğaz A.D

2002.....Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi A.D

TEŞEKKÜR

Bugünlere gelmemde verdikleri emek ve özveri nedeniyle aileme, bu tez çalışmasının deney çalışması bölümünde yardımlarını esirgemeyen T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deney Hayvanları Laboratuvarının(DHL) çalışanları Hüsnü SAKAL ve Öner BIYIK'a, histopatolojik değerlendirmelerinin yapılmasında gösterdikleri yakın ilgi ve özverili yardımlarından ötürü Gazi Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Oral Patoloji Bilim Dalı öğretim üyesi sayın Yrd. Doç. Dr. Benay TOKMAN ve Araş. Gör. Defne AKPINAR'a, çalışmalarım süresince anlayışlarını benden esirgemeyen tüm klinik asistanı arkadaşlarıma, klinik hemşirelerine, bölüm hocalarıma ve doktora çalışmalarım boyunca destek ve yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Levent İhsan ARAL'a teşekkürlerimi sunarım.