



T.C.

**ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

**Deneyisel Periodontal Kemik İçi Defektlerin Rejenerasyonunda
Nano Yaklaşımlar: X-Ray Mikro tomografik, Histolojik ve
Histomorfometrik İnceleme**

Dt. Olgu ALPERAT KILIÇ

**PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

TEMMUZ 2016

BOLU



T.C.

**ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

**DeneySEL Periodontal Kemik İçi Defektlerin Rejenerasyonunda
Nano Yaklaşımlar: X-Ray Mikro tomografik, Histolojik ve
Histomorfometrik İnceleme**

Dt. Olgu ALPERAT KILIÇ

**PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. İsmet DURAN

**Bu çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.**

(Proje numarası: 2015. 06. 05. 903)

TEMMUZ 2016

BOLU

ONAY SAYFASI

Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi'ne

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Periodontoloji Anabilim Dalı'nda
Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İsmet DURAN (imza)
(Periodontoloji Anabilim Dalı, Selçuk Üniversitesi)

Prof. Dr. Sema HAKKI (imza)
(Periodontoloji Anabilim Dalı, Selçuk Üniversitesi)

Yrd. Doç Dr. Muhsin ÖZDEM (imza)
(Periodontoloji Anabilim Dalı, A.İ.B.Ü Üniversitesi)

Tarih 01/07/2016

Bu tez ile Abant İzzet Baysal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji
Anabilim Dalı Olgu ALPERAT KILIÇ'ın Uzmanlık derecesini onaylamıştır.

Prof. Dr. Hasan ORUÇOĞLU (imza)

DEKAN V.

ÖZET

DENEYSEL PERİODONTAL KEMİK İÇİ DEFİKTLERİN REJENERASYONUNDA NANO YAKLAŞIMLAR: X-RAY MİKROTOMOGRAFİK, HİSTOLOJİK ve HİSTOMORFOMETRİK İNCELEME

Amaç: Travma, periodontal hastalık ve enflamasyon sebebiyle oluşmuş kemik defektlerinin tedavisi araştırmacı ve klinisyenleri en çok zorlayan konulardan biridir. Çeşitli greft materyalleri ve yapı iskeleleriyle kemik rejenerasyonu oluşturulmaya çalışılsa da bu konu ile ilgili veriler halen daha tatmin edici boyutta değildir. Bu sebeple çalışmamızda; hegzagonal bor nitrür (hBN) ile güçlendirilmiş NkHA greft materyalinin üç duvarlı kemik içi defektlerin rejeneratif tedavisindeki etkinliğinin kanıtlanması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Üç duvarlı kemik içi defektler, maksiller birinci moların mezialine çift taraflı olarak daha önceden tarif edildiği şekilde oluşturulmuştur. Split mouth çalışma dizaynına göre defektler test (n=12) ve kontrol (n=12) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Her bir zaman diliminde yüksek doz anestezi madde ile 12 sıçan ($n_{\text{test}}:6$, $n_{\text{kontrol}}:6$) kurban edilmiştir. Greftleme işleminden 4 ve 12 hafta sonra yeni kemik oluşumu, kalan greft miktarı ve epitelyal ataçmanın seviyesi histolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir. Kemik iyileşmesinin üç boyutlu rekonstrüksiyonu ve yoğunluk analizi ise mikro tomografik olarak yapılmıştır.

Bulgular: Hemotoksilen - eozin boyaması ve mikro tomografi sonuçlarına göre 4. ve 12. haftada test grubunda oluşan yeni kemik miktarı açısından normal kemik değerlerine benzer bir iyileşme göstermiş ve aralarında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir. Kontrol grubunda ise normal kemik değerlerine kıyasla azalmış kemik hacmi ve trabeküler sayı ile daha ince trabeküller bulunmaktadır.

Sonuç: Nano kristalin HA greft materyalinin hBN ile güçlendirilmesinin üç duvarlı defektlerin tedavisinde etkili olduğu ve tek başına NkHA kullanılmasına kıyasla daha iyi sonuçlar ortaya koyduğu gözlenmiştir. Bu sebeple hBN'nin klinik uygulamalarda kullanımı umut vaat etmektedir.

Anahtar Sözcükler: Hegzagonal Bor Nitrür, Kemik İçi Defekt, Mikro tomografi, Nano-Kristalin Hidroksiapatit



ABSTRACT

Aim: The repair of alveolar bone defects caused by trauma, periodontal diseases and inflammation is still a challenge for both researchers and clinicians. Although there are many attempts to regenerate bone based on different graft material and scaffolds, the results are still unsatisfactory. This study aims to clarify whether it could be efficient to reconstruct the three-walled bone defects by nanocrystallin hydroxyapatite graft reinforced with hexagonal boron nitride.

Material and Methods: The bilaterally intrabony three-wall periodontal defects were prepared mesially at both maxillary first molar as described previously. Thereafter, defects were filled with the constructs in split mouth design. Each time interval 12 rats (test:6 ; control:6) were sacrificed by injection of high dose of anaesthetics. Histological and histomorphometric analysis were made to evaluate the new bone formation, amount of non resorbed graft material and epithelial attachment level 4 and 12 weeks after transplantation. Micro-CT was also used to estimate the bone healing through three-dimensional reconstruction and the bone density analysis.

Results: Hematoxylin - eosin staining and microcomputed tomography showed that at 4 and 12 weeks, test graft material produced a similar result compared to normal bone measurement and there were no statistically significant differences. Control group compared to normal bone measurement demonstrated a significantly reduced bone volume and trabecular number as well as thinner trabeculae in osseous defects.

Conclusion: Our results suggest that the strategy of combining NcHA with hBN is effective in the repair of three-walled bone defects and the NcHA bone graft in combination with hBN demonstrated clinical advantages beyond that achieved by the NcHA alone. That's way its clinical application is promising.

Keywords: Hexagonal Boron Nitride, Microtomography, Nano-crystallin Hydroxyapatite, Periodontal Defect

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince ideallerimi gerçekleştirmem konusunda ufkumu açan, bilgi ve becerilerimi arttırmam için desteğini, bilgi ve deneyimleriyle yol göstericiliğini, hoşgörüsünü ve sabrını benden hiçbir zaman esirgemeyen, öğrencisi olmaktan her zaman büyük gurur duyacağım değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. İsmet DURAN'a,

Asistanlığım boyunca kendilerinden çok şey öğrendiğim, bilgi ve deneyimlerini hiçbir zaman esirgemeyen, tecrübelerini disiplin ve mükemmeliyetçilikle birleştirip aktaran ve uzmanlık eğitimim boyunca her zaman desteklerini hissettiğim Yrd. Doç. Dr. Şadiye COŞKUNER ve Muhsin ÖZDEM'e,

Tezimin laboratuvar kısmının yürütülmesindeki yardımlarından ve gösterdikleri dostluktan ötürü Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Edebiyat Anorganik Kimya Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Sayın Erkam GÜLLÜOĞLU'na,

Beraber klinikte çalışmayı keyifli hale getirdiğimiz, hastane içerisinde ve dışarısında güzel paylaşımlarımız olan, tez çalışmamda desteklerini benden esirgemeyen, yaşadığım her zorlukta sıkılmadan yardımına koşan ve artık ikinci ailem haline gelen sevgili arkadaşlarım Tuğçe Duygu KORUCUOĞLU, Tuğçe PAKSOY, Özge GÜNGÖR, Deniz ÖNAL, Zuhul ULUSOY ve Hüsniye BİLGE'ye,

Hayatım boyunca her anımda yanımda olan, her zaman beni destekleyen ve cesaretlendiren ve seven, onlara sahip olduğum için kendimi dünyadaki bütün insanlardan daha şanslı hissettiğim, hayattaki en değerli varlıklarım babam Çetin ALPERAT, annem Günnur ALPERAT, ağabeyim Anıl ALPERAT, bu tezin yazılma aşamasında sevgisiyle, sabrıyla ve teknolojik desteğiyle her zaman yanımda olan ve bana huzurlu sıcacık bir yuva sağlayan biricik eşim Ahmet KILIÇ, son olarak tezim esnasında aramıza katılan ve tez çalışmam süresince sürekli yanımda olup beni hiç yalnız bırakmayan, varlığıyla bana güç veren, kalbimi sonsuz sevgi ve umutla dolduran dünya tatlısı kızım İpek KILIÇ'a

SONSUZ TEŞEKKÜRLER...

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar	ix
ŞEKİLLER	x
GRAFİKLER	xi
RESİMLER	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Periodonsiyum.....	5
2.2. Periodontal Hastalık	5
2.3. Kemik Defektlerinin Sınıflandırılması	6
2.4. Kemik Defektlerinin Tedavisi	10
2.5. Kemik Defektlerinin Tedavisinde Kemik Greftleri.....	12
2.5.1. Otojen Kemik Greftleri	15
2.5.2. Allojenik Kemik Greftleri (Allogreftler)	16
2.5.3. Ksenogreftler (Heterogreftler)	17
2.5.4. Alloplastikler.....	18
2.5.4.1. Trikalsiyum Fosfat Greft Materyali	19
2.5.4.2. Hidroksiapatit Greft Materyali	20
2.6. Nano Yapılar	22
2.6.1. Nano Hidroksiapatit	24
2.6.2. Bor.....	26
2.6.2.1. Bor İhtiyacı ve Kaynakları	26
2.6.2.2. Bor Metabolizması	26

2.6.2.3. Bor ve İmmun Cevap	27
2.6.2.4. Borun Metabolizma Üzerine Etkileri	28
2.6.2.5. Bor ve Kemik Metabolizması.....	29
2.6.2.6. Alveolar Kemik Rejenerasyonu	31
2.6.3. Bor Nitrür	34
2.6.2.1. Hegzagonal Bor Nitrür	34
2.6.3. Bor Nitrür Nano Yapıların Biyouyumluluğu	35
2.6.4. Bor Nitrür Nanotüplerin Osteoblastlar Üzerindeki Etkileri	40
3. GEREÇ VE YÖNTEM	44
3.1. Deney Hayvanları	44
3.2. Hegzagonal Bor Nitrür Eldesi	44
3.3. Elde Edilen Hegzagonal Bor Nitrürlerin Hidroksiapatit ile Muamelesi	46
3.4. Cerrahi Prosedür	49
3.5. X-Ray Mikro Tomografi (M-CT) Değerlendirmeleri	54
3.6. Histolojik Kesitlerin Eldesi	61
3.7. Histomorfolojik Analiz.....	64
3.8. İstatiksel Analiz	64
4. BULGULAR	66
4.1. Deney Hayvanlarının Genel Bulguları	66
4.2. Mikro tomografik Verilerin Değerlendirilmesi	67
4.3. Histolojik Değerler İle İlgili Bulgular	74
4.4. Histomorfometrik Değerler İle ilgili Bulgular	75
5. TARTIŞMA	76
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	102
7. KAYNAKÇA	104
8.ÖZGEÇMİŞ.....	119

TABLÖLAR

Tablo	Sayfa
Tablo 4.1. KMY ölçümünün grup içi ve gruplararası karşılaştırılması	68
Tablo 4.2. TV ölçümünün grup içi ve gruplararası karşılaştırılması	69
Tablo 4.3. BV ölçümünün grup içi ve gruplararası karşılaştırılması	70
Tablo 4.4. BV/TV ölçümünün grup içi ve gruplararası karşılaştırılması	71
Tablo 4.5. Tb.Th, Tb.N ve Tb.Sp ölçümünün grup içi ve gruplararası karşılaştırılması	74

ŞEKİLLER

Şekiller	Sayfa
Şekil 2.1. Kemik Defektlerinin Sınıflandırılması	8
Şekil 2.2. Horizontal Sınıflandırma	8
Şekil 2.3. Vertikal Sınıflandırma	8
Şekil 2.4. Kemik İçi Defektlerin Sınıflandırılması	9
Şekil 2.5. Kemik Greftlerinin Sınıflandırılması	14
Şekil 2.6. Nano Boyutlu Malzeme Çeşitleri	22
Şekil 2.7. Kemik Dokusunun Makro, Mikro ve Nano Yapısı	23
Şekil 2.8. Toz Bor Nitür	34
Şekil 2.9. Hegzagonal Bor Nitür	34
Şekil 2.10. Hücre İçerisine Girmiş BNNT	37
Şekil 2.11. BNNT Üzerindeki Apatit Formasyonu	40
Şekil 3.1. Hegzagonal Bor Nitür SEM Görüntüleri	46
Şekil 3.2. Çalışma Şeması	53
Şekil 3.3. Kesitlerden Alınan DICOM Uyumlu Görüntüler	55
Şekil 3.4. Kesitlerin Yapılandırma Öncesi N Recon Programıyla Elde Edilmiş Görüntüsü	56
Şekil 3.5. SkyScan Data Viewer Programı ile Görüntülerin Uzayın Üç Düzleminde Yeniden Konumlandırılması	56
Şekil 3.6. CTAN Programında Bölgesel Ayrıştırmanın Yapılması	57
Şekil 3.7. Defekt ve Sağlam Kemik Alanlarından 1 x 1 mm'lik Kesitlerin Eldesi	57
Şekil 3.8. Siyah Beyaz Sayfasında Uygun Tresholding Değerinin ve Kemik Mineral Yoğunluğunun Belirlenmesi	58
Şekil 3.9. Morfometrik Verilerin Elde Edilmesi	59
Şekil 3.10. CT VOL Programı Yardımıyla Radyolojik Görüntülerin 3 Boyutlu Elde Edilmesi	60

GRAFİKLER

Grafikler	Sayfa
Grafik 4.1. Zamana Göre Sıçanların Ağırlık Değişimi	67
Grafik 4.2. Zamana Göre KMY Değişimi	68
Grafik 4.3. Zamana Göre BV ve BV/TV Değişimi	71
Grafik 4.4. Zamana Göre Tb.Th ve Tb.N Değişimi	73



RESİMLER

Resimler	Sayfa
Resim 3.1. hBN'lerin Agat Havanda Dövülmesi	47
Resim 3.2. hBN'nin Tartılıp Aseton ile Karıştırılması	47
Resim 3.3. HA'nın Ölçülüp Ultrasonik Banyoda Bekletilmesi	48
Resim 3.4. Hazırlanmış HA - %4 hBN Eldesi ve Kurutma İşlemi	49
Resim 3.5. Elde Edilmiş Örneğin FT-IR İncelemesi	49
Resim 3.6. Cerrahi Prosedür	51
Resim 3.7. Cerrahi Prosedür (Devam)	52
Resim 3.8. Mikro tomografi Cihazı	54
Resim 3.9. Etanol içeren alkol havuzları	61
Resim 3.10. Technovit ve alkol içeren havuzlar	62
Resim 3.11. Polimerizasyon İşlemi	62
Resim 3.12. Technovit 7210 VLC	63
Resim 3.13. Exakt 300 CL ve Exakt 400 CS	63
Resim 4.1. (A) NkHA uygulanan 1 aylık grupta osteoblast (*) ve osteoklast (ok) ve yeni alveolar kemikleşme alanları 20x (200 kez büyütülmüş veya bar 100mm), (B) 3 aylık NkHA grubunda kemikleşme alanları	75
Resim 4.2. (A) 1 aylık hBN+NkHA uygulanan kemik boşluklarında PMNL hücreleri, (B) 3 aylık hBN+NkHA grubunda kemikleşme alanları x10 (100 kat büyütme)	75

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
ark.	: Arkadaşları
B	: Bor
BNNT	: Bor Nitrür Nano Tüpler
BTF	: Bifazik Trikalsiyum Fosfat
C	: Karbon
DDKKA	: Demineralize Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogreftleri
DKA	: Dondurulmuş Kemik Allogreftleri
DKKA	: Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogreftleri
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EMD	: Emdogain
GK	: Glikol Kitosan
GPa	: Gigapaskal
HA	: Hidroksiapatit
hBN	: Hegzagonal Bor Nitrür
ICAM-1	: Hücreler Arası (İntersellüler) Adezyon Molekülü-1
kg	: Kilogram
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
NHA	: Nanoyapılı Hidroksiapatit
NkHA	: Nanokristalin Hidroksiapatit
nm	: nanometre
O	: Oksijen
PEI	: Polietilenimin
PLK	: Polilaktikapolaktan
PLL	: Poli-l-lizin
Runx-2	: Runt ilişkili Transkripsiyon Faktörü-2

SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscopy)
SKK	: Sıgır Kaynaklı Ksenogreft
TEM	: Geçirmeli (Transmission) Elektron Mikroskobu
Tf	: Transferrin
TKF	: Trikalsiyum Fosfat
TPa	: Terapaskal
VCAM-1	: Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1
W	: Watt
WST-1	: 4-[3-4-iodophenyl]-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio)-1,3,- benzene disulfonate
β -TKF	: Beta Trikalsiyum Fosfat
μ g	: mikrogram
μ m	: mikrometre

1.GİRİŞ

Periodontitis, gingival dokuların enflamasyonu ile birlikte periodontal ligament ataşmanının ve kemik desteğinin ölçülebilir bir şekilde kaybı olarak tanımlanmaktadır (1). Periodontal hastalık sonucu çeşitli tiplerde kemik defektleri oluşabilmekte ve periodontal kemik defektlerinin tedavisi klinisyenler için zorlayıcı durumlardan bir tanesini oluşturmaktadır (2).

Periodontal tedavi, hastalık ilerlemesini sınırlandırmayı ve hastalık sonucu kaybedilmiş yapıların rejenerasyonunu hedeflemektedir (3, 4). Periodontal rejenerasyon; hastalıklı diş yüzeyinin tedavisinden sonra yeni sement, alveolar kemik ve fonksiyonel periodontal ligamentin oluşumu olarak tanımlanmaktadır (5). Açık flep operasyonu gibi konvansiyonel cerrahi yaklaşımlar kök yüzeylerinin detoksifiyesi ve değerlendirmesi için kritik ulaşım sağlamakta ve periodontal dokuların tekrar oluşumunda kısıtlı potansiyele sahiptir (6). Bu sebeple periodontal defektleri çeşitli greft materyalleri ile doldurularak kayıp periodontal ataşmanın rejenerasyonunun sağlanması hedeflenmektedir (7).

Çeşitli tedavi seçenekleri arasında biyo/kemik materyallerinin kullanımı, derin kemik içi defektlerin tedavisinde kayıp ataşmanın yeniden oluşturulmasında daha başarılı yaklaşımlardır (8). Kemik greftleri; intra-oral veya ekstra-oral otogreftler, allogreftler, ksenogreftler (9) ve alloplastik greftlerden oluşmaktadır (10). Otojen kemik greftleri en tahmin edilebilir sonuçlar ile altın standart olarak kabul edilmesine rağmen ikinci bir cerrahi alan gereksinimi mevcuttur (11). Otojen kemik greftlerine alternatif olarak ksenogreftler ve allogreftler kemik yerine kullanılabilecek uygun greftlerdir (12-14). Buna rağmen bu materyallerin tamamlanmamış rezorpsiyonları gözlenebilmekte ve hastalık bulaş riski bulunmaktadır (15, 16). Son dönemde otojen greftlerin, allogreftlerin ve ksenogreftlerin bu gibi dezavantajlarından ve alloplastik greftlerin kolay ulaşılabilirlik gibi avantajlardan dolayı alloplastik greftler sıklıkla tercih edilmektedir.

Alloplastik materyaller; sentetik, inorganik, biyouyumlu veya biyoaktif kemik greftleridir ve kolay ulaşılabilirlikleri sebebiyle sıklıkla kullanılan greftlerdendir (17). Ayrıca biyolojik fonksiyonları otojen kemiklere benzemektedir. Otojen greftler gibi ikinci bir verici alana ihtiyacın olmaması ve allogreft-ksenogreftlerde gözlenebildiği gibi hastalık bulaş riskinin olmaması bu greftlerin en büyük avantajlarından (18-20). Bu greftler periodontal ligament hücreleri ve alveolar kemik hücreleri üzerinde etki göstererek mitojenik ve kemotaktik etkinlik ile rejeneratif iyileşmede rol almaktadır. Bu etkinlik sayesinde kalsiyum fosfat temelli biyoseramikler gibi biyoaktif ajanların kullanılması ile açık flep operasyonlarına kıyasla daha iyi klinik ataşman kazancı ve cep derinliği azalması gibi klinik sonuçlar meydana gelmektedir (21, 22).

Kalsiyum fosfat seramikler kemik içi periodontal defektlerin tedavisinde sıklıkla kullanılan bir kemik greftidir (23-25). Beş yıllık bir çalışmanın sonuçlarına göre biyoseramik greftler klinik olarak başarılı sonuçlar ortaya koymakta ve zaman içerisinde bu sonuçlar değişmeden kalabilmektedir (26). Kalsiyum fosfat kemik greftleri; hidroksiapatit (HA) ve trikalsiyum fosfat (TKF) greftler olmak üzere çeşitli formlarda bulunmaktadır (10). Her iki form da toksik, antijenik, karsinojenik değildir ve sterilizasyondan sonra sabit yapıya sahiptir (27). Hidroksiapatit ve trikalsiyum fosfat greftler ile ilgili yapılmış çalışmalar bu greft materyallerinin periodontal defektlerin tamirinde diğer greft materyallerinden daha iyi sonuçlar ortaya koyduğunu göstermişlerdir (23-26, 28).

Birçok greft materyali periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde değişen başarı düzeyleri ile kullanılmışlardır, fakat günümüzde vücudun kendisi gibi nano boyutta bir yapılanmaya sahip olan yüzeylere verdiği cevabın konvansiyonel malzemelere göre çok daha farklı olduğu bilindiği için nano partiküllere sahip greft materyalleri piyasaya sürülmüştür (29). Deneysel ve klinik çalışmalar nano yapıli seramiklerin gelişmiş osseoentegre özelliklerinden dolayı umut vadeden greft materyali sınıfında olduğunu göstermektedir (30). Nano yapıli greftlerden de nano kristalin hidroksiapatit (NkHA) greft materyali son yıllarda ilgi odağı haline gelmiştir.

Nano kristalin HA kemik greftleri; osteokondüktivite, biyorezorpsiyon ve yakın temas gibi avantajlarından dolayı kemik içi defektlerin agumentasyonunda tercih edilebilmektedir (31). Son dönemlerde NkHA'in kemik rejenerasyonundaki umut vaadeden sonuçlarından yola çıkarak doku uyumlu çeşitli materyaller ile sentetik HA'lerin birlikte kullanımı sert doku mühendisliğinde sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır (32, 33). Bu konuda umut vaadeden materyallerden bir tanesi de hegzaonal bor nitrürlerdir. Hegzaonal bor nitrürler (hBN) fraktür veya yaralanma durumlarında kemik rejenerasyonu amacıyla etkili bir biçimde kullanılabilir. Mükemmel elastik modülü, gerilme gücü ve yüksek şekil değiştirebilirliği ile hBN kemikteki kollajen lifleri taklit edebilme yeteneğine sahiptir. Hegzaonal bor nitrür üç boyutlu yapı iskelesi HA'nın mineralizasyonu için kullanılabilir ve bu sebeple kemik rejenerasyonu sağlayabileceği düşünülmektedir.

İki boyutlu hegzaonal bor nitrür nano tabakadan fiziksel ve kimyasal özellikleri hegzaonal bor nitrüre benzer bor nitrür nano tüpler (BNNT) oluşturulabilmektedir. Tübüler ve delik nano yapıda bulunan BNNT'ler; yeni ve güvenilir ilaç taşıma sistemleri olarak son günlerde ilgi odağı olmuştur. Bu nano tüpler yapısal olarak karbon nano tüplerin analogudur ve karbon atomları yerine B ve N atomları geçmesi ile yüksek yapısal stabilite, anti-oksidatif yetenek ve iyi kimyasal duraganlık sağlanmış olmaktadır. Bor nitrür nano tüpler mükemmel elastik modüle (750-1200 GPa) ve gerilme gücüne (>24 GPa) sahiptir. Bor nitrür nano tüpler ayrıca ortopedik implantlar ve yapı iskelesi için biyoseramiklerin ve biyopolimerlerin güçlendirilmesi içinde uygun potansiyele sahiptir.

İnsan vücudu nano yapıda bulunan bir mühendislik harikasıdır. Günümüzde kaybedilen dokuların yerine konulması için insan dokularına uyumlu nano boyutlu partiküllerin kullanılması tercih edilmekte ve uygulanan bölge ile hücre uyumlu olması tercih edilmektedir. Bor nitrür nano tüplerin osteoblastlar ve makrofajlar için sitotoksik olmadığı yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (34). Biyoyumluluklarının yanı sıra BNNT'ler daha elastik ve esnektir. Bor nitrür nano tüplerin elastik modülü 1.22 TPa'dır. Bu sayede yapısal değişime uğramadan kuvvetli deformasyonlara dayanabilmekte ve bu yüzden güçlendirici olarak potansiyel aday olarak düşünülmektedir. Ayrıca BNNT yüzeyine protein adhezyonu

için doğal bir afiniteye sahiptir ve kemik içi defektlerin rejeneratif tedavisinde bor nitrür nano tüplerin  nc  molekülü olan hegzagonal bor nitrür ile güçlendirilmiş hidroksiapatit greft kullanıldığında osteoblast hücrelerin proliferasyonunu arttıracadı, rejeneratif iyileşmeyi indükleyerek doğal kemiğe yakın bir iyileşmenin oluşacağı ve literatürde henüz incelenmemiş olan bu greft materyalinin değerlendirilmesinin literatüre katkı sağlacadı düşünülmektedir.

Bu bakış açısıyla bu çalışmada; üç duvarlı kemik içi defektlerin tedavisinde olumlu etkileri bilinen NkHA greft materyali ile NkHA greft materyalinin hBN ile güçlendirilerek elde edilmiş greft materyali uygulamalarına dayanan tedavi modelinin etkinliğinin deneysel kemik içi defektlerin tedavisinde x-ray mikro tomografik, histolojik ve histomorfometrik olarak karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Periodonsiyum

Periodonsiyum; dişeti, periodontal ligament, sement ve alveolar kemikten oluşmakta ve dişlerin fonksiyonda kalması için yeterli desteği sağlamaktadır. Periodonsiyumun her bir parçası lokasyon, doku mimarisi, biyokimyasal ve kimyasal kompozisyon olarak ayrı özellik göstermesine karşın hepsi bir bütün olarak fonksiyon görmektedir (35). Periodonsiyumun temel görevi diş kemik dokusuna bağlamak ve oral kavitedeki çiğneyici mukozanın devamlılığını sağlamaktır. Periodonsiyum ayrıca yaş, fonksiyonel değişimler ve oral çevredeki değişimlere bağlı morfolojik değişimler ile birlikte farklılık göstermektedir (36). Periodonsiyumda morfolojik değişimler dışında, konak-oral mikroorganizma dengesi de değişebilmekte ve periodontal hastalık oluşabilmektedir (37). Dünya Sağlık Örgütü (WHO), periodontal hastalığı ‘etiyojisine bakılmaksızın periodonsiyuma veya periodonsiyumun herhangi bir komponentine özgü her türlü hastalık’ şeklinde tanımlamıştır (38). Günümüzde periodontal hastalıklar insanlarda en sık gözlenen kronik hastalıklardan biridir.

2.2. Periodontal Hastalık

Periodontal hastalık dişeti marjın seviyesindeki veya daha altındaki diş yüzeylerinde mikroorganizmaların kolonize olması ile oluşan enfeksiyonlardır. Ağızda 700 farklı türün kolonize olabildiği saptanmıştır. Yaşam boyunca dişeti seviyesindeki veya dişetin altındaki diş yüzeyinde sürekli bakteri kolonizasyonu olmasına rağmen bazı bireylerde destekleyici periodontal dokularda yıkım olmadığı gözlenmektedir. Bu çıkarım periodontal mikrobiota ile konak cevabı arasındaki ekolojik ilişkinin önemini ortaya koymaktadır (39).

Periodontal mikrobiota ile konak cevabı arasındaki denge bozulduğu zaman destekleyici dokularda yıkım meydana gelmektedir. Periodontal hastalıkta kemik yıkımının temel sebebi marjinal dişetindeki enflamasyonun destekleyici periodontal dokulara yayılmasıdır. Bu ilerleme sonucu meydana gelen kemik yıkımının şekli bazı anatomik faktörlerden etkilenir.

Bu faktörler:

- Dişler arasındaki kemiğin (interdental septa) kalınlığı, genişliği ve eğimi
- Fasiyal ve lingual yüzlerdeki alveol kemiğin kalınlığı □
- Fenestrasyon ve dehiscens varlığı
- Dişlerin dizilimi
- Kök ve kök gövdesinin anatomisi
- Alveol kemiği içinde kökün pozisyonu
- Diğer kök yüzeyi ile olan yakınlık

olarak sayılabilir (40).

Bu anatomik farklılıklara bağlı olarak kemik defektleri çeşitlilik göstermekte ve tedavi planı oluşturabilmemiz için defektlerin sınıflandırılması önem kazanmaktadır.

2.3. Kemik Defektlerinin Sınıflandırılması

Periodontal kemik lezyonları, periodontitisin apikal yayılımına bağlı anatomik sekel göstermesinden ve özellikle lokal anatomi ile alan spesifik ilerleme arasındaki etkileşimden dolayı bu lezyonların morfolojisi çeşitli faktörler tarafından belirlenmektedir. Bu faktörler;

- Kök yüzeyindeki zararlı mikroorganizmaların lokasyonu
- Alveolar kemik kalınlığı
- Kökün kemik içerisindeki pozisyonu
- Komşu periodontal lezyon ile yapısal ilişki olarak sıralanabilir.

Papapanou ve Tonetti (2000)'nin belirttiğine göre Goldman & Cohen sınıflamanın ilk aşamasında defektleri kemik altı, kemik üstü ve interradiküler veya furkasyon defektleri olmak üzere üç gruba ayırmıştır (Şekil 2.1). Buna göre;

1. Kemik üstü defektler, cep tabanının alveolar kret tepesinin koronalinde yer aldığı defekt tipidir.
2. Kemik altı defektler, cep tabanının kalan alveolar kret tepesinin apikalinde yer aldığı defekt tipini ifade etmektedir. Kemik altı defektlerde kendi

içerisinde kemik içi defektler ve kraterler olarak ikiye ayrılmaktadır. Kemik içi defektlerde, defektin kemik altında kalan kısmı bir diş ile ilişkili iken; krater şeklindeki defektlerde, komşu iki kök yüzeyine de aynı yayılım gözlenmektedir.

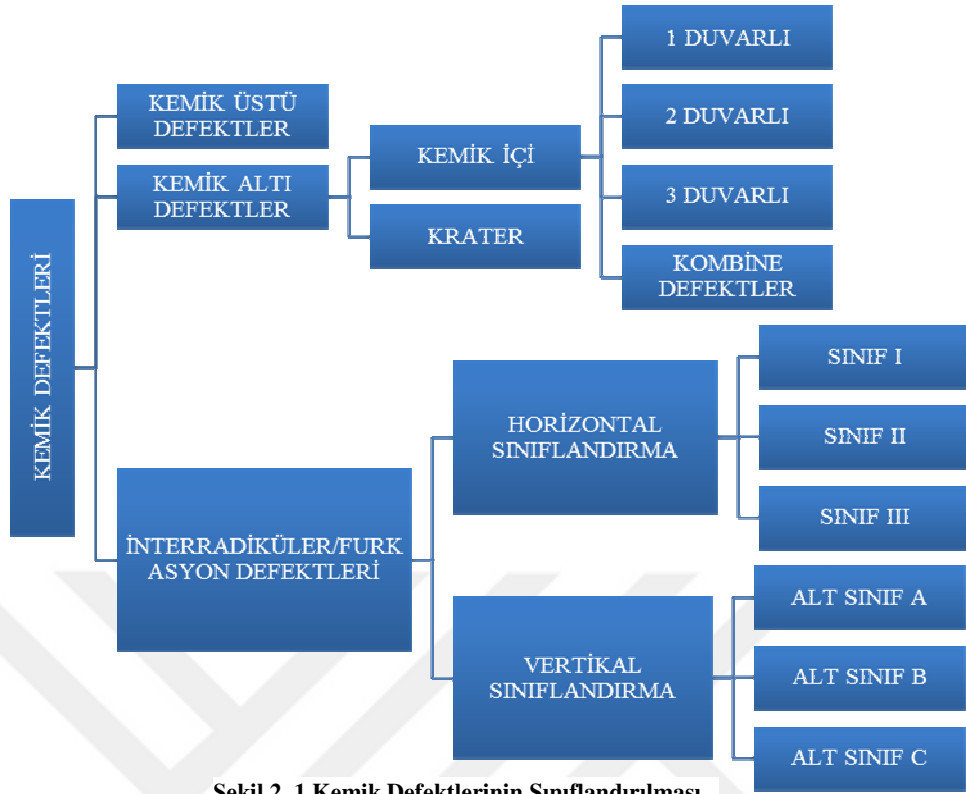
3. İnterradiküler veya furkasyon defektleri, çok köklü dişlerin furkasyon alanlarındaki kemiğin patolojik yıkımını ifade etmektedir. Bu defektlerde kendi aralarında horizontal ve vertikal olarak ikiye ayrılmaktadır.

a) Horizontal yıkımın sınıflandırılmasında;

- Sınıf I: Minimal furkasyon tutulumu ile furkasyon alanındaki fark edilebilir kemik kaybını (Şekil 2.2.A),
- Sınıf II: Tüm furkasyonu içermeyen, sınıf I'den fazla, değişen derecede kemik kaybını (Şekil 2.2.B),
- Sınıf III: Kemik rezorpsiyonunun tüm furkasyonu içerdiği tipte kemik kaybını (Şekil 2.2.C) tanımlamaktadır.

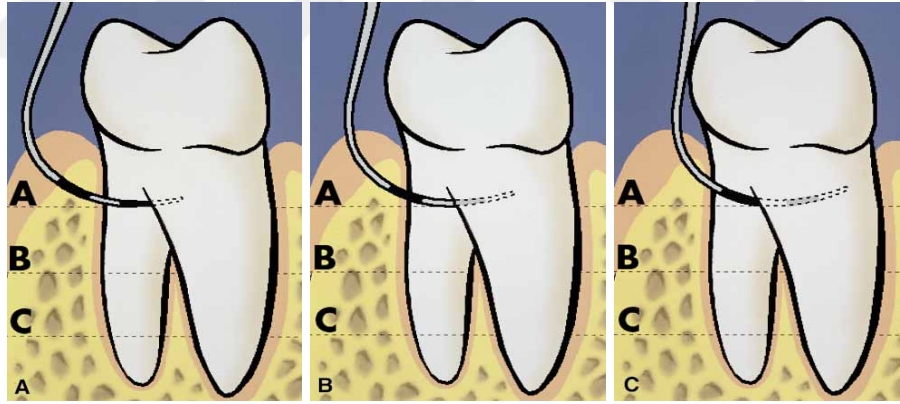
b) Vertikal yıkımın sınıflandırılması ise;

- Alt Sınıf A: Vertikal kemik kaybı 3 mm veya daha az (Şekil 2.3.A),
- Alt Sınıf B: Vertikal kemik kaybı 4-6 mm olan (Şekil 2.3.B),
- Alt Sınıf C: Vertikal kemik kaybı 7 mm veya daha fazla olan furkasyon tutulumları olarak ifade edilmektedir (Şekil 2.3.C).

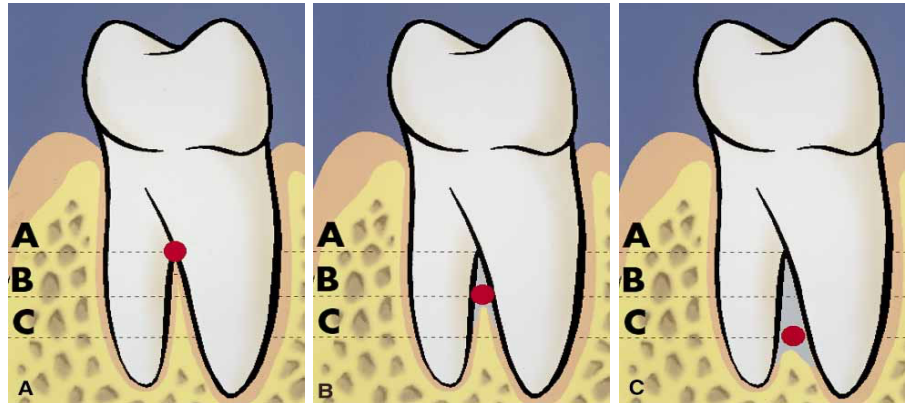


Şekil 2. 1 Kemik Defektlerinin Sınıflandırılması

A



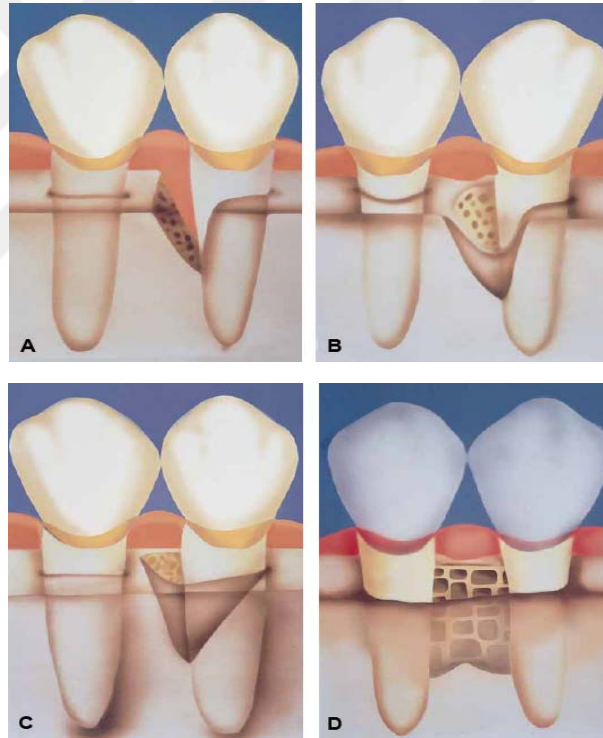
Şekil 2. 2 Horizontal Sınıflandırma (Papapanou ve Tonetti (2000)'den alınmıştır.)



Şekil 2. 3 Vertikal Sınıflandırma (Papapanou ve Tonetti (2000)'den alınmıştır.)

Kemik içi defektler; kalan kemik duvarı, defektin genişliği (radyografik olarak) ve diş etrafındaki topografik yayılımı gibi morfolojiye bağlı olarak da sınıflandırılmaktadır (Şekil 2.4.) Kalan kemik duvarı sayısına göre kemik içi defektler; üç duvarlı, iki duvarlı ve bir duvarlı defektler olmak üzere sınıflandırılmaktadır.

- Bir duvarlı defektlerin bazıları hemisepta olarak da adlandırılırlar. Defekt tek bir kemik duvarı tarafından çevrenirken, fasiyal ve palatinal/lingual tarafta defekti çevreleyen kemik duvarı bulunmaz (Şekil 2.4.A).
- İki duvarlı kemik defektlerinde hemiseptal defektten farklı olarak bukkal veya palatinal/lingual kısımda da kemik duvarı mevcuttur. Defekt iki kemik duvarı tarafından çevrilir (Şekil 2.4.B).



Şekil 2.4. Kemik İçi Defektlerin Sınıflandırılması. (Papapanou ve Tonetti (2000)'den alınmıştır.)

- Üç duvarlı kemik defektlerinde ise defektin bir duvarını diş oluştururken, defektin etrafı tamamen kemik ile çevrilidir (Şekil 2.4.C).
- Dişler arasındaki mesafe kısa olduğunda ya da aynı interproksimal alana bakan her iki kökü de ilgilendiren bir kemik yıkımı olduğunda,

interproksimal kemik tamamen yıkılacağından kemik içi defekt oluşumundan söz etmek mümkün olmayacaktır. Bu tip defektler interproksimal krater olarak adlandırılırlar (Şekil 2.4.D) (41).

Hastaların dentisyonlarındaki etkilenmiş spesifik dişlere bağlı gelişen defektlerin her biri benzersiz anatomi göstermektedir. Sınıflama genel olarak spesifik morfolojik kriterlere bağlı olarak gerçekleştirilmekte ve klinisyenlere tanı, tedavi ve prognoz için yardımcı olmayı amaçlamaktadır. Bütün tanımlamalar radyografik değerlendirilmeye dayanmakta ve defektlerin gerçek morfolojileri ancak flep kaldırıldıktan sonra belirlenebilmektedir. Bununla beraber flep kaldırılmadan önce defektin şeklinin mümkün olduğu kadar belirlenmesi doğru tedavi planının yapılabilmesi bakımından önemlidir (41).

2.4. Kemik Defektlerinin Tedavisi

Periodontal tedavinin en önemli bölümü kişisel plak kontrolünün en üst düzeyde yapılması, dişetin üzerindeki ve altındaki sert ve yumuşak eklentilerin profesyonel olarak uzaklaştırılmasından oluşmaktadır. Oral hijyen uygulamaları ve dişetin üzerindeki plak kontrolü sık ceplere sahip gingivitisli hastaların tedavisinde oldukça başarılı iken, daha ileri periodontal lezyonlara sahip hastaların tedavisinde daha farklı tedaviler gerekebilmektedir (2).

Kornman ve Robertson'a (2000) (42) göre kemik defektlerinin başarılı bir şekilde tedavi edilebilmesi bazı temel faktörlerin yerine getirilmesine bağlıdır. Bu faktörler;

- Bakteriyel kontaminasyon
- Kalıtsal yara iyileşme potansiyeli
- İlgili alanın karakteristiği
- Cerrahi prosedür

Bütün bu faktörleri göz önünde bulundurarak periodontal tedavinin amacı; spesifik patojen mikroorganizmaların sebep olduğu dişeti iltihabının ortadan kaldırılması, hastalık sonucu kaybedilmiş periodontal dokuların hastalık öncesindeki

konumunda yeniden oluşturulması ve korunması, cep derinliklerinin azaltılmasıyla ağız hijyeninin idamesinin kolaylaştırılması ve hastanın sağlıklı ve fonksiyonel olarak kendi doğal dişlerinin ağızda tutulmasının sağlanmasıdır (4, 35, 43). Bu amaçla periodontal hastalıkların cerrahi tedavisinde öncelikle rezektif cerrahi teknikler geliştirilmiştir. Bu tekniklerin yardımıyla bozulan alveolar kemiğin morfolojisinin düzeltilmesi ve dişeti dokularıyla tekrar uyumlu hale gelmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, cebin kemik duvarları ortadan kaldırılmakta ve kemikte meydana gelmiş deformite ve değişiklikler fizyolojik şekle dönüştürülerek kemik yeniden şekillendirilmekteydi. Bu cerrahi teknikler kemik içi defektlerin tedavisinde enfeksiyonun kontrol altına alınmasında ve cep derinliklerinin azaltılmasında etkili olmuşsa da özellikle ön bölgelerde estetik problemlerin oluşmasına ve tedavi sonrası ağız hijyenin iyi olmadığı durumlarda kalan ceplerin ortaya çıkmasına sebep olmuştur. Ayrıca dokuların rejenerasyonunun sağlanmasında da istenilen düzeyde başarılı olamadığı gözlenmiştir (4).

Rezektif kemik cerrahisinin uygulanması son derece dikkatli bir değerlendirme gerektirir. Elde edilmek istenilen sonuçlara ulaşmak için uzaklaştırılacak olan kemiğin miktarı ve yeri son derece önemlidir. Gerektiğinden fazla miktarda kemiğin uzaklaştırılması veya inceltilmesi ek periodontal sorunlara yol açabilir. Ayrıca cerrahinin estetik açıdan sorun yaratmaması ve dişin mobilitesini arttırmaması gerekir. Tüm bu tanımlamalar, uygulanan cerrahi teknik ve klinik tecrübe dikkate alındığında sadece ≤ 3 mm derinliğe sahip kemik içi ya da hemisepta defektlerin rezektif kemik cerrahisi işlemleri için uygun olduğu sonucu ortaya çıkmaktadır. Elde edilecek sonuçlar düşünüldüğünde daha derin defektlerde rejeneratif tekniklerin kullanılması önerilmektedir (44).

Periodontal tedavi, sadece iltihabın kontrolünü değil aynı zamanda cep derinliğinin azalmasını ve bununla ilişkili olan kemik defektlerinin düzeltilmesini de içerir. Orta dereceden ileri dereceye kadar olan kemik defektlerinde, ilgili diş ve komşu dişlerin kemik desteğini tehlikeye atmadan rezektif tedavi yapmak sıklıkla mümkün değildir. Uygun vakalarda, kayıp kemik ve ataşmanın rejenerasyonunun sağlanması dişin desteğini ve prognozunu olumlu yönde etkileyecektir (45). Bu noktada rezektif tedavilerden çok kemik grefti, yönlendirilmiş doku rejenerasyonu ve büyüme faktörleri uygulamaları gibi rekonstrüktif ve rejeneratif teknikler üzerine

yoğunlaşmıştır (44). Araştırmacılar öncelikle greft materyalleri üzerinde araştırma yapmaya başlamışlardır.

2.5. Kemik Defektlerinin Tedavisinde Kemik Greftleri

Hasara uğrayan bir dokunun tedavisi için hasar bölgesine yerleştirilen maddeler greft olarak adlandırılırlar. Kemik greftleri, kemik oluşumunu ve periodontal rejenerasyonu sağlamak için yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Kemik greft materyalleri defekt bölgesinde kemik oluşumunu desteklemek amacıyla; pıhtı gelişimi, olgunlaşması, yeniden şekillenmesi ve osteoblastların ataşmanı ve proliferasyonu için yapı iskelesi ve matriks görevi görmektedir (46).

Periodontal tedavi, sadece enflamasyon kontrolünün değil cep derinliğinin de azaltılması, bununla ilişkili kemik defektlerinin düzeltilmesini ve fonksiyonel ataşmanın rejenerasyonunu da amaçlar. Ayrıca periodontal kemik defektlerinin tedavisinde kullanılacak greftlerin biyolojik olarak doku tarafından kabul edilebilir olması, uygulanmasının kolay olması ve kesin sonuçlar vermesi, uygulama sırasında dokuda meydana getirdiği zararın ve uygulama sonrasında dokuda bıraktığı sekelin en az olması ve uygulamanın hasta tarafından kabul edilebilir olması gerekmektedir (47). Periodontal hastalık sonucu oluşan kemik defektlerinin tedavisinde kemik greftlerinin kullanımı 1923 yılına kadar uzanmaktadır (48). İdeal kemik greft materyallerinin bir takım temel özelliklere sahip olması gerekmektedir. Bu niteliklerden en fazlasını taşıyan materyal en uygun ve en fazla kullanılabilir materyal olacaktır.

Rosenberg ve Rose (1998) ideal kemik greftinde bulunması gereken özellikleri şu şekilde özetlemiştir;

- Karsinojenik ve toksik olmamalı,
- Antijenik özellik taşımamalı,
- Enfeksiyona dayanıklı olmalı,
- Kök rezorpsiyonu veya ankiloza neden olmamalı,
- Yapısal olarak güçlü ve dayanıklı olmalı,
- Yeterli destek ve stabiliteyi sağlayabilmeli,
- Kolay uygulanabilmeli ve istenilen forma kolayca getirilebilmeli,
- Minimal cerrahi gerektirmeli,

- Hızlı ve yeterli miktarda elde edilebilmeli,
- Maliyeti ucuz olmalı,
- Yeni atışman oluşumunu uyarmalıdır (49).

Bu özelliklere sahip greft materyalleri ayrıca uygulandıkları bölgede kemik oluşumunu da uyarmalıdır. Kemik greft materyalleri uygulandıkları bölgede, dört farklı mekanizma ile kemik oluşumunu sağlarlar. Bunlar şu şekilde sıralanabilir;

1. Osteogenez: Greft materyalinin içindeki osteoblast ya da progenitör hücrelerin yeni kemik oluşturabilme özelliği (45),
2. Osteoindüksiyon: Çevre dokulardaki yüksek farklılaşma özelliğine sahip kök hücrelerinin osteoblast hücrelerine farklılaşmasını indükleyici özellik (50),
3. Osteokondüksiyon: Greft matriksinin bir iskelet görevi görmek suretiyle komşu hücrelerin greft materyaline penetre olup yeni kemik oluşturma özelliği (50),
4. Osteoentegrasyon: Greftin arada fibröz doku tabakası olmadan kimyasal olarak kemik yüzeyine tutunabilme özelliği (51) olarak tanımlanmaktadır.

Bu özelliklerin tümüne sahip greft materyali sadece otogreftlerdir. Allogreftler ise osteoentegrasyon özelliği, osteokondüktif ve bazen osteoindüktif özellik gösterebilse de canlı hücresel komponenti olmadığından osteogenez özelliğine sahip değildir. Ksenogreftler de osteokondüktif ve kısmen osteoindüktif özelliğe sahiptir. Sentetik greft materyalleri ise sadece osteoentegrasyon ve osteokondüktif özelliklere sahiptir (Şekil 2.5)(52). Tarihsel olarak bakıldığında otojen kemik greftleri periodontal uygulamalarda kullanılan ilk kemik greft materyalidir (45).

BİYOMATERYALLER

A. Kemik Kaynaklı Biyomateriyaller

- a) Otojen kemik grefti (Otogreft)
 - I-Kortikal kemik
 - II-Kansellöz kemik
 - 1) Ağız içi kaynaklı
 - 2) Ağız dışı kaynaklı
 - III-Kortikal ve kansellöz kemik
- b) Homojen kemik grefti (Homogreft)
 - I-İzogreft: taze kansellöz kemik iliği
 - II-Allogreft
 - 1) Taze Dondurulmuş kemik
 - 2) Dondurulmuş kurutulmuş kemik
 - 3) Demineralize dondurulmuş kurutulmuş
- c) Heterojen kemik grefti (Ksenogreft)
 - I- Demineralize edilmiş kemik
 - II- Proteini çıkarılmış kemik

B. Kemik Kaynaklı Olmayan Biyomateriyaller (Alloplastlar)

- a) Biyoseramikler
 - I- Trikalsiyum fosfatlar
 - II- Hidroksilapatitler (HA)
 - 1) Yoğun, poröz olmayan, rezorbe olmayan HA
 - 2) Poröz, rezorbe olmayan HA
 - 3) Düşük ısıda üretilen rezorbe olan HA
- b) Biyoaktif Camlar
- c) Polimerler
 - I- Polimetilmetakrilat
 - II- Proplast
 - III- Slikonlar
 - IV- Polietilenler
 - V- Politetrafloroetilen
- d) Doku kaynaklılar
 - I- Dentin
 - II- Sklera
 - III- Kıkırdak
 - IV- Sement
 - V- Durameter
- e) Metaller
- f) Jelatin film
- g) Kalsiyum sülfat
- h) Kalsiyum karbonat

Şekil 2.5. Kemik Greftlerinin Sınıflandırılması

2.5.1. Otojen Kemik Greftleri

Hastanın kendi vücudundan elde edilen en ideal greft materyalidir. Canlı osteoblast ve osteoprogenitör kök hücreler içerdiğinden osteogenezis, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon özelliklerine sahiptir (50). Ayrıca otojen kemik greftleri immun reaksiyonlara sebep olmaması, alıcı sahada minimal antikor cevabı oluşturması, greft partikülleri etrafında kısa sürede yüksek oranlarda damarlanma meydana getirmesi ve bu nedenle defekt bölgesinde artmış osteoblastik aktivite, karsinogenezis riski taşımaması gibi özelliklerinden dolayı altın standart olarak kabul edilmektedir (53, 54).

Otojen kemik greftleri ağız içi veya ağız dışı kaynaklı olabilir. Ağız içi kemik greft kaynakları ise alt çenenin uç kısmı (simfiz bölgesi), gövdesi ya da ramus bölgesi, iyileşen çekim soketleri, dişsiz alveolar bölgeler, toruslar, maksiller tüber bölgesidir. Sıklıkla tercih edilen ağız dışı kemik grefti kaynakları ise iliak kemik, tibia ve kraniyumdur (45, 55-57).

Ağız dışı kaynaklı otojen kemik greftleri daha çok ileri derecede rezorbe olmuş maksilla ve mandibulada dental implant uygulaması öncesinde kullanılmaktadır. Bu yöntemle geniş defektler için yeterli miktarda greft alınabilmekte ve alınan greftler daha sonra kullanmak için saklanabilmektedir (58). Ağız dışı kaynaklardan elde edilen otojen kemik grefti miktarı, ağız içi kaynaklardan elde edilenden daha fazla olsa da hastane şartları ve genel anestezi gereksinimi, alınan kemiğin korunma zorluğu, verici alanın morbidite riskinin yüksek oluşu, hasta tarafından kabulünün zor olması, özellikle direkt transplantasyonda lojistik problemlerin söz konusu olabilmesi, ortopedik cerrah veya hematolog gerektirmesi ve taze materyal kullanım sonrası kök rezorpsiyonunun oluşması ağız içi kaynakların tercih edilmesine neden olmuştur (47, 59).

Ağız içindeki defektlerde kullanılacak olan greftlerin ağız içi kaynaklı olması defekt ve uygulanacak madde aynı embriyonik kökene sahip olduğu ve hastalık taşıma riski olmadığı için avantajlıdır (4). Ağız içi otojen kemik greftlerinin açılmal kemik defektlerinde kullanımı genellikle periodontal rejenerasyon ile sonuçlansa ve halen daha altın standart olarak kabul edilse bile (56), ek bir cerrahi işleme ihtiyaç duyması ve hastada ikinci bir operasyon sahasının açılması, ilave zaman gerektirmesi, yeterli miktarda greftin elde edilme gücü, kemik alınabilecek

bölgelerin sınırlı olması ve hastada operasyon sonrasında komplikasyonlar oluşması ve morbidite artışı görülmesi, operasyon sonrasında oluşabilecek rezorpsiyon miktarının önceden tahmin edilememesi gibi dezavantajlara sahip olması nedeniyle periodontal defektlerde diğer greft materyallerinin kullanımını zorunlu kılmıştır (45, 59, 60). Otojen kemik greftlerindeki bu sınırlamalar allogreftler, ksenogreftler ve alloplastikler gibi greft materyallerinin kullanımını gündeme getirmiştir.

2.5.2. Allojenik Kemik Greftleri (Allogreftler)

Allogreftler, aynı türün farklı genetik yapıdaki bireylerinden alınan greftlerdir (61). Çok sayıdaki periodontal defekti tedavi etmek amacıyla ikinci bir cerrahi bölgeye ihtiyaç duymadan yeterli miktarda kemik greft materyali toplama ihtiyacına yanıt olarak allogreftlerin kullanımı gündeme gelmiştir (62). Allojenik kemik greftleri temel olarak dondurulmuş kemik allogreftleri (DKA), dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftleri (DKKA) ve demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftleri (DDKKA) olarak bulunurlar (50). Her bir allogreft tipi kortikal granüller, kortikal blok ve kansellöz pudra olarak hazırlanabilmektedir (61).

- Dondurulmuş kemik allogreftleri, antijenik özelliklerinin eliminasyonundaki güçlükler ve hastalık transfer riski nedeniyle periodontal cerrahide kullanılmamaktadırlar (45).
- Dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftlerin elde edilmesinde kullanılan dondurarak kurutma işlemi taze kemikteki antijenik etki ve hastalık transferi gibi riskleri önemli ölçüde ortadan kaldırmakta fakat tümüyle yok etmemektedir. Dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftleri, indüktif proteinler içeriyor olmalarına rağmen, bu proteinler kemiğin inorganik matriksi ile örtülü olduğundan dolayı osteokondüktif etki göstermektedir (61).
- Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftlerin elde edilmesinde kullanılan hidroklorik asit ile demineralizasyon işlemi sonucunda kemik rejenerasyonunu uyaran ve arttıran kemik morfojenik proteinleri açığa çıkmaktadır (63). Bu greftlerin elde edildikleri kadavranın yaşı, cinsiyeti, geçirmiş olduğu hastalıklar, kullanmış olduğu ilaçlar, saklanma koşulları ve doku bankasının greft üretim yöntemi gibi birçok

faktör greftin özelliklerini etkilenmektedir. Allogreftlerin viral hastalık transfer risklerini azaltmak için yapılan işlemler bu riski azaltmakta fakat mekanik ve biyolojik özelliklerini de önemli miktarda azaltmaktadır (51).

Hastalık bulaş riski, immun reaksiyon meydana gelme ihtimali, maliyetleri ile dini ve finansal nedenlerden dolayı dünya çapında yaygın olmamaları bu greftlerin kullanım alanını kısıtlamakta ve diğer greft materyallerinin araştırılmasına neden olmaktadır (64).

2.5.3. Ksenogreftler (Heterogreftler)

Ksenogreftler ya da diğer adıyla heterogreftler farklı türden bir vericiden alınan greft materyallerini ifade etmektedir (61). Klinikte partiküllü kemik grefti olarak kullanılan ve ticari olarak bulunan iki ksenogreft kaynağı vardır. Bunlar sığır kemiği ve doğal mercandır (46). En çok kullanılanı sığır kemiğidir (61). Sığır kaynaklı ksenogreftler (SKK), sığır kansellöz ya da kortikal kemiğinin tam olarak deproteinize edilmesi ile elde edilirler (7). Deproteinizasyon sonrasında meydana gelen kemik; mineral matriksi, mineral kompozisyonu ve mikroporoz yapı olarak doğal insan kemiğine benzemektedir (7, 46). Bu greft materyalleri, sığır kemiğinin bütün hücre ve protein yapısının uzaklaştırılmasına bağlı olarak üzerinde revaskülarizasyonun, osteoblast migrasyonunun, woven kemik oluşumunun meydana geldiği düşünülen inert, absorbe olabilen kemik iskelesi şeklinde olduklarından dolayı inorganik kemik olarak da adlandırılmaktadırlar (65). Protein yapının çıkartıldığı bu greft tipi osteokondüktif etkiye sahiptir (66). Sığır kaynaklı ksenogreftlerin periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde klinik ve radyografik olarak başarılı sonuçlar verdiğini gösteren çalışmalar (67, 68) ve periodontal rejenerasyona ait bulguların elde edildiğini bildiren insan histolojik çalışmalar mevcuttur (69-71).

Sığır kaynaklı ksenogreftlerin en önemli dezavantajı, tam olarak rezorbe olup olmadığının ve kemik dokusuyla tam olarak yer değiştirip değiştirmediğinin bilinmemesidir (61). Ksenogreftler, osteoklastlar tarafından kademeli olarak rezorbe edilirler (45). Ancak bazı çalışmalarda bu rezorpsiyonun çok yavaş olduğu belirtilmiştir. Schlegel ve Donath (72) yaptıkları klinik çalışmada alt çenedeki kemik defektlerini %100 SKK ile doldurmuşlar ve bu işlemten 6 yıl sonra bile greft

materyallerinin önemli ölçüde var olduğunu göstermişlerdir. Sartori ve ark. (73) SKK ile maksiller sinus agumentasyonu yapılan bir hastayı 10 yıl boyunca takip etmişlerdir. Rezorpsiyon hızını ikinci yıla kadar aylık %3.55 olarak gözlemlemişlerdir. Bunu takip eden 8 yıl boyunca bu değer düşerek ilk rezorpsiyon hızından 6.12 kat daha yavaş gerçekleşmiş ve %0.58 olarak bulunmuştur. Görüldüğü gibi ksenogreftler, diğer greftlerden farklı olarak tamamen rezorbe olmadan etrafında yeni kemik oluşumunu sağlamaktadır.

2.5.4. Alloplastikler

İnsanoğlunun gereksinimlerine paralel olarak gelişen medikal teknoloji, özellikle rekonstrüktif cerrahiye yeni bir boyut kazandırmıştır. Otojen greftler günümüzde hala altın standart olarak kabul görse de; elde edilişindeki zorluk, ikinci bir cerrahi travma, tedavi zamanında ve maliyetindeki artış gibi dezavantajlarından dolayı periodontal cerrahide alloplastik biyomateriyallerin kullanımı yaygınlaşmıştır (74).

Alloplastik greft materyalleri; biyouyumlu, inorganik, sentetik kemik greftleridir. Günümüzde periodontal tedavide kullanılmak üzere piyasaya sunulan alloplastikler; biyoseramikler ve polimerler olmak üzere temel olarak iki sınıfa ayrılmaktadırlar (46);

1. Biyoseramikler

- Trikalsiyum Fosfat (TKF)
- Hidroksiapatit (HA)
- Biyoaktif camlar

2. Polimerler

Kompozisyonları, morfolojileri ve yüzey özelliklerine bağlı olarak kemik oluşumu için osteokondüktif etki gösterirler (46). İstenilen miktarda, büyüklükte ve şekilde elde edilebilmesi, kolaylıkla uygulanabilmesi, hastalık taşıma riskinin bulunmaması ve ikinci operasyon bölgesi gerektirmemesi ve operasyon zamanını kısaltması diğer greft materyallerine göre alloplastik greftlerin avantajları olarak sayılabilmektedir (50, 75). Günümüzde bu amaçla kullanılan en yaygın alloplastik

kemik greft materyalleri hidroksiapatitler, trikalsiyum bileşikleri ve bu materyallerin gözenekli formlarının çeşitli oranlardaki kombinasyonlarıdır (76).

2.5.4.1. Trikalsiyum Fosfat Greft Materyali

Trikalsiyum fosfat (TKF) greftler, biyoseramik greftlerin bir grubunu oluşturmakta ve kemik dokusunun inorganik komponentine benzeyen ve çeşitli nedenlerle kaybedilmiş kemiğin tedavisinde kullanılabilen kristal yapıda bir biyomateriyaldir. Ayrıca TKF'ler implante edildiği dokuda kısmen biyoçözünmektedir (77). Trikalsiyum fosfatın kimyasal kompozisyonu $[Ca_3(PO_4)_2]$ ve kalsiyum fosfat oranı 1.5'tir (78). Klinik çalışmalar yüksek oranda saflaştırılmış beta-trikalsiyum fosfat (β -TKF) greft materyalinin biyouyumlu, biyoçözünebilir ve osteokondüktif özelliklere sahip olduğunu göstermişlerdir (79). Beta trikalsiyum fosfat kemiğin yeniden şekillenme sürecinde çözünmekte ve olgun yeni kemik ile yer değiştirmektedir (80).

Trikalsiyum fosfat greftlerin, kemik greft materyalleri olarak en erken kullanılmaya başlanan kalsiyum fosfat bileşiği oldukları bilinmektedir. Yapılarındaki kalsiyum-fosfat oranının doğal kemik mineraliyle yakın değerlerde olması trikalsiyum fosfat greft materyali için bir avantaj oluşturmaktadır. Beta trikalsiyum fosfat kemik grefti porlu veya solid formda, hem granüler hem de blok halinde bulunabilir. Porlu β -TKF, baskı ve çekme direnci açısından kansellöz kemik ile benzerlik taşır ve basınç yüklemesine karşı dirençli oldukları bildirilmektedir. Yapılan çalışmalarda, TKF greft materyalinin implante edilmesini takiben 2 aylık süreçte rezorbe olmaya başladığı bildirilmiştir (81-83).

Beta trikalsiyum fosfat uygulaması sonrasında rezorpsiyonun granül yüzeyleri içerisine doğru gelişen küçük lakunalar ile başladığı ve bu lakunaların osteoklastik aktivite sonucunda kemikte oluşan Howship lakunalarıyla aynı morfolojik yapıda olduğu izlenmiştir. Bu lokalize yüzey rezorpsiyonunu, greft materyali etrafında yeni kemik formasyonunun takip ettiği ve bu nedenle β -TKF'nin osteokondüksiyonla yeni kemik oluşumunu stimüle ettiği bildirilmektedir (83, 84). Beta trikalsiyum fosfat partiküllerinin yüzeyinin, kalsifiye olabilen matriks ve kollajen fibrillerin üzerine tutunduğu bir tabaka ile kaplandığı, bu bağlanma

noktalarının da matriks depozisyonu ve farklılaşması için potansiyel indükleyici alanlar olduğu düşünülmektedir (83-85).

Günümüz periodontal cerrahi prosedürlerinde HA ve β -TKF bileşikleri yüksek osteokondüktif özellikleri ve düşük maliyetlerinden dolayı çeşitli oranlarda kombine edilerek veya tek başına dentoalveolar bölgeyi ilgilendiren defektlerde sıklıkla kullanılmaktadır (77, 86, 87).

2.5.4.2. Hidroksiapatit Greft Materyali

Hidroksiapatit biyomateryali kimyasal kompozisyonu $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ ile kemik mineralini taklit eden kompleks kalsiyum fosfat yapıdadır ve kalsiyum fosfat oranı 1.67'dir (78). İnsan kemiğinde ise bu oran 1.58 ile 1.70 arasında değişen bir değerde bulunmaktadır. İnsan kemiği ile yakın değerde olan kalsiyum-fosfat oranı nedeniyle HA'nın uygun bir alloplastik greft materyali olduğu düşünülmektedir (88). Hidroksiapatitin; HA sement, poroz olmayan HA, poroz HA, nano-yapılı HA gibi çeşitleri bulunmaktadır. Hidroksiapatit, bağ dokusuna ve kemik dokusuna implante edildiğinde çok az enflamatuvar yanıt oluşturmaktadır. Bu alloplastik greft materyali, kemik mineral kristallerinin direkt olarak implante edilmiş apatit partiküllerinin yüzeyinde birikebilen yüksek biyouyumluluğa sahiptir (8, 76, 89, 90). Ayrıca çok yavaş rezorbe olarak ortama kalsiyum ve fosfat iyonları salmakta ve bu iyonlar yeni kemik oluşumunda ve biyomineralizasyonda görev almaktadır (91).

Yüksek derecede kristalize olan HA, stabil bir bileşiktir ve yılda %3-15 hızıyla rezorbe olmaktadır. Yapılan çalışmalarda kristalize HA greftlerin öncelikle fibrovasküler doku ile sarıldığı ve zamanla bu dokunun genç lameller kemiğe dönüştüğü gösterilmiştir. Hidroksiapatitin osteokondüktif özellikleri uygulandığı defekt bölgesindeki sağlıklı kemiğe sıkı yapışmasına da olanak sağlar. Ayrıca HA'nın lokal büyüme faktörlerine, özellikle kemik morfojenik proteinlere karşı kuvvetli kimyasal bağlanma eğiliminde olduğu yapılan çeşitli araştırmalarda gösterilmiştir. Kemik gelişmesinde ve mineralizasyonunda hiç bir olumsuz etkisi olmayan HA kemik grefti uygulandığı bölgede osteokondüktif bir özellik göstererek yeni kemik oluşumuna yardımcı olmaktadır (28, 88, 90, 92).

Periodontal rejeneratif tedavi için bu kalsiyum fosfat temelli greft materyallerinin karışımı olan yeni bir materyal piyasaya sürülmüştür. Tamamen sentetik olan bu greft materyali tamamen kristal yapıda olan %60 HA ve %40 β formunda TKF içermektedir (93). Bu grefti (Bifazik trikalsiyum fosfat=BTF) açık flep operasyonu ile karşılaştıran bir klinik çalışmanın sonuçlarına göre konvansiyonel greft materyallerine alternatif olabileceği ortaya koyulmuştur (6). Hayvan çalışmalarının sonuçlarına göre %60 HA ve %40 β -TKF oranı greft materyalinin rezorpsiyonunun daha iyi kontrol edilebilmesine imkan tanımakta ve hızlanmış yeni kemik oluşumu ile sonuçlanmaktadır (94, 95). Kontrollü klinik bir çalışmanın 12 aylık verilerine göre BTF greftin otogreft ile benzer klinik iyileşme sağladığı ve açık flep operasyonlarından üstün olduğu ortaya koyulmuştur (96). Çok merkezli randomize kontrollü klinik bir çalışmada emdogain (EMD) ile kombine kullanımının etkinliği araştırılmış ve ilave bir avantajı olmadığı görülmüştür (97, 98). Kontrollü başka bir klinik çalışmada EMD+BTF'nin kombine kullanımının kemik içi defektler üzerindeki etkinliği 4 yıl takip edilmiş ve takip süresi boyunca kombine kullanımının istatistiksel bir farklılık yaratmadığı gözlenmiştir (99).

Kalsiyum fosfat temelli biyoseramikler kemik cerrahisinde sıklıkla tercih edilen greft materyallerinden olmasına rağmen sinterleme işleminin yüksek sıcaklıkta yapılması materyal yoğunluğunun artmasına ve porozitenin azalmasına sebep olmaktadır. Bu faktörler osteokondüktiviteyi ve rezorpsiyonu negatif yönde etkilediği gibi bu biyoseramikler daha uzun rezorpsiyon süresine sahip olabilmekte ve kronik enflamatuvar süreci uyarabilmektedir (100).

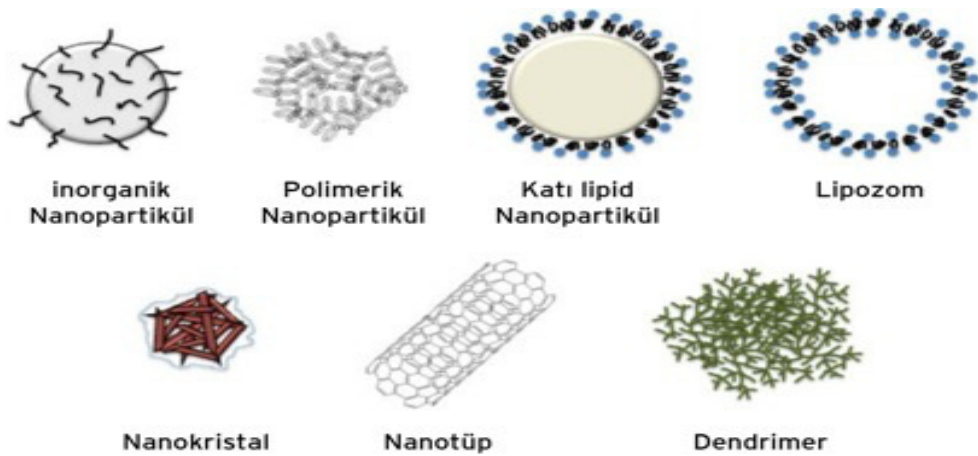
Kullanılan HA greft materyallerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri, greft materyalinin rezorpsiyon oranını ve klinik kullanım alanlarını belirler. Greftin büyük boyutlu partiküllerden oluşması daha geç rezorbe olmasını sağlar. Materyalin porozitesi arttıkça yeni kemik oluşumu için daha fazla destek sağlanır ve greft daha kolay rezorbe olur. Kristalize yapıdaki greftler ise daha geç rezorbe olmaktadır. Bu sebeple amorf yapıdaki greft materyalleri kristalize yapıda olanlara göre daha çabuk rezorbe olmaktadır. Katı, yoğun HA blokları sıkıştırıcı kuvvetlere karşı yüksek dayanıklılık göstermekle birlikte kırılgan bir yapıya sahiptirler. Gözenekli yapıdaki greft materyallerinin genel bir dezavantajı ise gözenek sayısındaki artışla birlikte

greftin dayanıklılığının azalmasıdır (28, 92). Hidroksiapatit greft materyali biyokompabilitesi yüksek bir alloplastik greft materyali olmasına rağmen yapısal özellikleri nedeniyle biyodegradasyonları yani uygulandıkları bölgede maruz kaldıkları fiziksel kuvvetler karşısında kırılabilirlikleri fazladır.

Birçok greft materyali periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde değişen başarı düzeyleri ile kullanılmışlar, fakat günümüzde vücudun kendisi gibi nano boyutta bir yapılanmaya sahip olan yüzeylere verdiği cevabın konvansiyonel malzemelere göre çok daha farklı olduğu bilindiği için nano partiküllere sahip greft materyalleri piyasaya sürülmüştür (29).

2.6. Nano Yapılar

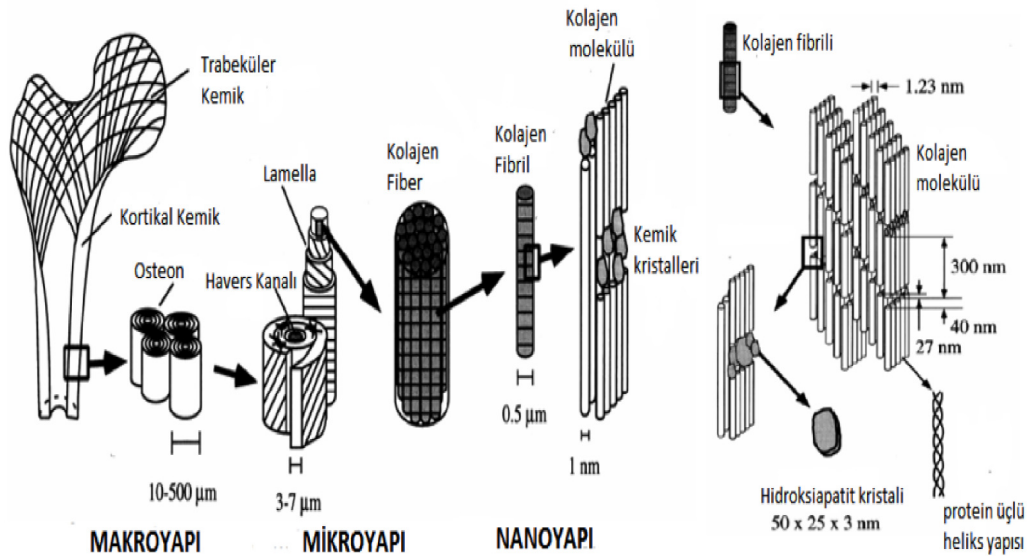
Nanoteknoloji çok hızlı bir şekilde gelişmekte olan araştırma alanlarının başında gelmektedir. Nanoteknoloji, mevcut teknolojilerin küçültülerek daha ileri düzeyde duyarlı sistemlerin oluşmasına imkan vermektedir. Nanomalzemelerin yükselişi disiplinler arası çalışmaların sonucudur. Özellikle tıp ve biyoteknolojik alanlarda kullanılmak üzere çeşitli özelliklerde nanoboyutlarda nanomalzemeler sentezlenmeye başlanmıştır. Nanoboyutlu malzeme olarak tanımlanan yapılar; nanokristaller, nanopartiküller, nanotüpler, nanoteller, nanoçubuklar gibi farklı sınıflara ayrılmaktadır (Şekil 2.6.). Temel olarak tümüne nanopartiküller sistemler denilmektedir. Nanopartiküller 1-100 nm boyutlarında olan kolloidal yapılardır. Sentetik veya doğal kaynaklı bir makromolekülden meydana gelirler (101).



Şekil 2.6. Nano Boyutlu Malzeme Çeşitleri. (Nanobülten'den alınmıştır.)

Nanoteknoloji ya da boyutları 100 nm'den daha küçük dediğimiz nanomalzemeler doğal dokunun özelliklerini (örneğin topografi, enerji) taklit edebilmektedirler. Bu sebepten dolayı geleneksel doku mühendisliği materyallerinin iyileştirilmesi açısından nanomalzemeler büyük umut vaat etmektedir. Nanomalzemeler konvansiyonel materyallere kıyasla (mikron boyutlu yapılar) mekanik, elektriksel, optik, manyetik, katalitik açıdan daha üstün özelliklere sahip olmakla birlikte hücresel biyouyumlulukları daha yüksektir (102).

Nanomateriyalin biyoaktif yüzeyi doğal kemiği taklit etmektedir. Örneğin kemik protein bazlı yumuşak hidrojel (kollajen, laminin, fibronektin gibi non-kollajen proteinler) ve sert inorganik componentler içeren (hidroksiapatit) içeren bir nanokompozittir. Kemik matriksinin yüzde 70'ini oluşturan hidroksiapatit 20-80 nm uzunluğunda ve 2-5 nm kalınlığındadır. Bu nedenlerden dolayı protein adsorbsiyonu ve yeni kemik oluşumunu stimüle etmesi açısından nano yapıdaki malzemeler konvansiyonel materyallere kıyasla daha yeteneklidirler ve deneysel çalışmalar nano yapıli seramiklerin gelişmiş osseoentegre özelliklerinden dolayı umut vadeden greft materyali sınıfında olduğunu göstermektedir (30) (Şekil 2.7.).



Şekil 2.7. Kemik Dokusunun Makro, Mikro ve Nano Yapısı. (Nanobülten'den alınmıştır.)

2.6.1. Nano Hidroksiapatit

Nanoyapılı HA (NHA)'ler son dönemlerde ilgi odağı haline gelmiştir. Periodontal kemik defektlerinin tedavisinde NHA greft kullanımı ilk olarak Kasaj ve arkadaşlarının çalışmasında rapor edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre açık flep operasyonuna kıyasla bu greft materyali belirgin daha iyi klinik sonuçlar ortaya koymuştur (103). Ayrıca sinüs yükseltme operasyonları (104), kret agumentasyonu (105) ve peri-implant defektlerin tedavisi için NHA kullanılan vaka raporlarında yeterli klinik iyileşmenin sağlandığı gözlenmiştir (28, 106, 107). İlave olarak periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde de NHA greft kullanılmış iki randomize kontrollü klinik çalışma yayınlanmış ve sonuçlarına göre açık flep operasyonuna kıyasla daha iyi klinik iyileşme sağlandığı rapor edilmiştir (103, 108). Nano HA greftler ile rejeneratif cerrahiyi takiben periodontal kemik içi defektlerin iyileşme potansiyelleri histolojik bir çalışma ile değerlendirilmiştir. Bu çalışmanın histolojik sonuçlarına göre iyileşmenin çoğunlukla uzun birleşim epiteli ile olduğu ve limitli periodontal rejenerasyon kapasitesine sahip olduğu ortaya koyulmuştur (109).

Rejeneratif periodontal tedavide NHA ve β -TKF greftlerin klinik ve radyografik sonuçları değerlendirilmiş ve her iki greft materyalinin de kemik içi defektlerin tedavisinde iyi sonuçlar ortaya koyduğu gözlenmiştir. İlave olarak NHA greft grubunda 3 ay sonra daha fazla cep derinliğinde azalma, klinik ataşman kazancı ve defekt dolumu gözlenmiş ve 6 ay sonra istatistiksel olarak belirgin olmasa da NHA greftler daha iyi sonuçlar ortaya koymuştur (10).

Greft materyallerinin nanopartiküler yapıda olması ile iyi klinik sonuçlar elde edilebilmesine rağmen nanopartiküllerin kristal ya da amorf yapıda olması da klinik sonuçlar üzerinde etki gösterebilmektedir. Kemik grefti olarak kristal yapıda HA (NkHA) greft materyali kullanıldığı zaman kritik boyuta sahip defektlerde hızlı bir iyileşme olduğu klinik ve deneysel çalışmalarla gösterilmiştir. Nano-kristalin HA, kemiğe bağlanmakta ve osteoblastik aktiviteyi stimüle ederek kemik iyileşmesini hızlandırmaktadır (110).

Bu materyalin kemik defektlerindeki rejeneratif potansiyellerini otojen kemik greftleri ile karşılaştıran bir hayvan çalışması yayınlanmıştır. Bu çalışmada sadece otojen kemik grefti, sadece NkHA ve NkHA ile %25 otojen kemik greftinin kombine

kullanımının yeni kemik oluşumu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Test edilmiş materyallerin rejeneratif potansiyelleri karşılaştırılmış ve NkHA greft ve otojen ile kombine NkHA greft grubunun mineralizasyon oranının sadece otojen greft materyali kullanılan gruptan belirgin düşük olmadığı gözlenmiştir. Histolojik olarak bakıldığında nanopartiküllerin tam rezorpsiyonunun 12 haftada tamamlandığı ve klinik ihtiyaçları karşılayabilecek bir greft materyali olduğu ortaya koyulmuştur (28). Nano-kristalin HA ile otojen kemik grefti karşılaştırıldığı klinik çalışmanın sonuçlarına göre; cerrahiden 6 ay sonra her iki greft materyali de istatistiksel belirgin cep derinliğinde azalma, klinik ataşman kazancı ve defekt dolumu sağladığı ortaya koyulmuştur (111).

Kemik içi defektlerin tedavisinde NkHA greft materyalinin açık flep operasyonuna kıyasla klinik ve radyografik etkinliği karşılaştırılmıştır. On dört hastanın 18 kemik içi defekti tedavi edilmiş ve plak indeksi, gingival indeks, sondlama cep derinliği, klinik ataşman kazancı ve dişeti çekilmesi başlangıçta ve 6 ay sonra değerlendirilmiştir. Değerlendirme aralıklarında NkHA'nın açık flep operasyonuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı cep derinliğinde azalma, klinik ataşman kazancı ve kemik dolumu sağlandığı gözlenmiştir (105).

Sonuç olarak NkHA kemik greftleri; osteokondüktivite, biyorezorpsiyon ve yakın temas gibi avantajlarından dolayı kemik içi defektlerin agumentasyonunda tercih edilebilmektedir (31). Son dönemlerde NkHA'nın kemik rejenerasyonundaki umut vaadeden sonuçlarından yola çıkarak doku uyumlu çeşitli materyaller ile sentetik HA'ların birlikte kullanımı sert doku mühendisliğinde sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır (32, 33). Bu konuda umut vadeden materyallerden bir tanesi de hegzagonal bor nitrürlerdir. Hegzagonal bor nitrürler (hBN) fraktür veya yaralanma durumlarında kemik rejenerasyonu amacıyla etkili bir biçimde kullanılabilir. Mükemmel elastik modülü, gerilme gücü ve yüksek şekil değiştirebilirliği ile hBN kemikteki kollajen lifleri taklit edebilme yeteneğine sahiptir. Hegzagonal bor nitrür üç boyutlu yapı iskelesi HA'nın mineralizasyonu için kullanılabilir ve bu sebeple kemik rejenerasyonu sağlayabilmektedir.

2.6.2. Bor

Bor, yer kabuğunun bileşiminde bulunan ve diğerleri kadar yaygın olmayan periyodik cetvelin 3A grubunda bulunan bir elementtir. Atom numarası 5, atom ağırlığı 10.82, erime noktası 2190 ± 20 °C'dir. Elli birinci yaygın element olarak yer kabuğunda boratlar ve borasilikatlar halinde bulunan bor elementi, 150'den fazla mineralin bileşiminde yer almasına rağmen oksijene karşı ilgisi nedeniyle doğada serbest olarak değil, oksijenle bağlanmış bileşikler halinde bulunur.

Bor; yeryüzünde toprak, kayalar ve suda yaygın olarak bulunan bir elementtir. Borun element olarak kullanılışı daha az yaygın olup, yenidir. Oysa borun en çok kullanılan türü olan boraks binlerce yıldan beri bilinmekte ve en bol bulunan bor bileşiği borik oksit (B_2O_3) ile beraber borakstır ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$) (112, 113).

Bor, bitkilerin büyüme ve gelişmesinde gerekli mikro besleyici bir elementtir. Doğrudan proton verici rolü üstlenerek, hücre zarı yapısı ve fonksiyonlarına etki ederek canlı sistemlere katkıda bulunduğu da tespit edilmiştir. Bor dokularda sentezlenememekte ve alınan miktar azaldığında gelişimsel bozukluklar gözlenmektedir (114). Bu sebeple borun kemik (115) ve mineral (116) metabolizması için esansiyel olabileceği düşünülmektedir.

2.6.2.1. Bor İhtiyacı ve Kaynakları

Dünya Sağlık Örgütü'nün kullandığı hayvan ve insan araştırmalarına göre yetişkinler için, bor tüketiminin kabul edilebilir güvenlik aralığı 1-13 mg/gün olarak belirtilmiştir (117). Borun optimal dozu uygun fizyolojik fonksiyonlar için 3-6 mg/gün' dür. Bu doz; bol sebze, meyva, kurubaklagil ve sert kabuklu meyvalardan sağlanabilmektedir. Diyetlerinde yeterli ölçüde bu maddeleri tüketmeyenlerin günde 3 mg bor almaları gerekmektedir.

2.6.2.2. Bor Metabolizması

Borik asit olarak bor, aldığımız gıdalarda ppm seviyelerinde bulunmakta ve insan doku ve sıvılarında da ppm konsantrasyonunda gözlenmektedir. Sindirim sistemine giren bor hızlıca absorbe edilmekte ve idrarla birlikte atılmaktadır. Bor elementi yumuşak dokularda birikmemekte ve yumuşak doku ve kan dolaşımında

bulunan seviyelerinden daha fazla düzeyde kemik dokularında birikim göstermektedir. Yumuşak doku, idrar ve kanda bulunan bor seyileri normalde 0.05 ppm ve 10 ppm arasında değişiklik göstermektedir. Fakat zehirlenme durumunda beyin ve karaciğer dokularında 2000 ppm'e ulaşmaktadır (118). Vücuda alınan borun %90'dan fazlası idrarla atılmakta ve yarılanma ömrü 24 saatten az olmaktadır (119).

2.6.2.3. Bor ve İmmun Cevap

Diyetsel borun immün cevabı etkileyebileceği düşünülmektedir (120, 121). Armstrong ve arkadaşları 2.2 mg B/kg içeren bazal diyetle eklenen 5 mg B/kg'ın enflamatuvar cevabı azalttığını rapor etmişlerdir. Ayrıca diyetel bor alımı 2.2 mg B/kg'dan 7.2 mg B/kg'a çıkartıldığı zaman Tümör Nekroz Faktörü - alfa (TNF- α) üretiminde de artış gözlenmektedir (122). Doza bağımlı bir şekilde diyetel bor alımı arttıkça serum bor seviyesi artış göstermektedir. Bazal diyetle (13.3 mg B/kg içeren) 5 veya 15 mg B/kg eklendiği zaman bor immün yanıtta görev alamamaktadır. Bunun sebebinin bazal diyetdeki yüksek bor içeriğine bağılı olarak borun immünsüpresif özellik gösterememesine bağlanabilmektedir (123).

Diyete ilave 100 mg/kg bor ilavesi lipid peroksidasyon (LPO) seviyelerini azalmakta ve antioksidan savunma mekanizmaları ve vitamin durumu güçlenmektedir. Borik asit ve boraks içerikleri arasında oksidan/antioksidan denge ve biyokimyasal parametreler açısından farklılık bulunmamaktadır. Borik asit ve boraksın sıçanlarda yaşam ömrünü arttırabileceği ve yaşam kalitesini kuvvetlendireceği düşünülmektedir (124). Siklofosamid ile indüklenmiş lipid peroksidasyon (LPO), antioksidan durum, DNA hasarı ve histopatolojik değişiklikler intra-peritonel olarak uygulanmış bor solüsyonu ile engellenebilmektedir. Borun bu koruyucu etkisi hem antioksidan savunma sistemi aktivitesini arttırması ile hem de lipid peroksidasyonu önlemesiyle ortaya çıkmaktadır. Ayrıca bor, hücreleri korumakta ve hücrelerin proliferasyonu sıçanlardaki doku hasarından sonra rejenerasyonun kuvvetlenmesi ile sonuçlanmaktadır (125). Borik asit ve 2-aminoetoksidifenil borat (2 - APB)'ın oksidatif stres ve enflamasyon üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışmada, glutatyon tüketiminde azalma ve antioksidan savunma mekanizmasında bir kuvvetlenme olduğu gözlenmişken total antioksidan

durum üzerinde hiçbir etkisi olmadığı ortaya koyulmuştur. Borik asit hipoksi ve hipotermi ile indüklenmiş IL - 6 ve TNF - alfa artışını da engellemektedir (126).

2.6.2.4. Borun Metabolizma Üzerine Etkileri

Borun; üreme ve embriyogenez (127, 128), yara iyileşmesinin geliştirilmesi, kalsiyum modifikasyonu ve kemik metabolizması üzerinde bilinen etkileri rapor edilmiştir (129). Tavuk embriyosunun pelvik kıkırdakları veya kültüre insan fibroblastları üzerinde yapılan çalışmalar sonucu borun ekstraselüler matriks turnoverını düzenlediği, Tümör Nekroz Faktör - alfa gibi bazı büyüme faktörlerinin mRNA sentezini stimüle ettiği, hücrelerde ve kültür ortamında bu faktörlerin seviyelerini arttırdığı gözlenmiştir (130, 131). Bor zaman bağımlı bir biçimde fibroblastların toplam RNA seviyelerini arttırmakta ve maksimum seviyesine inkübasyondan 6 saat sonra ulaşmaktadır (130). Plasenta nükleusu kullanılarak gerçekleştirilen bir çalışmada borun RNA transkripsiyonu üzerinde, anjiyogenez ve yara tamirinde rol oynayan büyüme faktörlerini kodlayan mRNA translasyonunda direkt bir etkiye sahip olduğu gözlenmiştir (132).

Bor, kalsiyum ve fosfor metabolizmasını da etkileyebilmektedir. Nielsen ve arkadaşları (1987) 3 mg B/gün bor kullanımının idrarla atılan kalsiyum ve fosfor miktarını azalttığını göstermişlerdir (133). Diyetel borun büyüme performansı, kemik mekanik özellikleri ve kalsiyum ve fosfor metabolizması üzerindeki etkisi 36 domuz üzerinde yürütülen bir çalışmada araştırılmıştır. Düşük bor içerikli bazal diyet, bazal diyet + 5 mg B/kg diyet ve bazal + 15 mg B/kg diyet olmak üzere üç grup oluşturulmuştur. Çalışma sonucuna göre diyetel borun, kalsiyum ve fosfor metabolizmasını belirgin bir şekilde etkilemeden büyümeyi ve kemik gücünü arttırdığı gözlenmiştir (120).

Fizyolojik sınırlarda diyetel bor alımı hem enerji kullanımını hem de mineral metabolizmasını düzenlemektedir. Vitamin D3'de enerji kullanımını düzenlemekte ve bunun bir parçası olarak kıkırdak mineralizasyonunda rol oynamaktadır. Vitamin D3 eksikliğinde gözlenen mineral metabolizmasındaki bozulma diyetel bor takviyesi ile hafifletilebilmektedir. Ayrıca bor ve vitamin D3 lokal enerji kullanımı

üzerinde aynı etkiye sahiptir. Bu sebeple yeterli miktarda diyetel D3 vitamini alındığı zaman diyetel borun bazı etkileri gölgelenebilmektedir (134).

Mineralizasyon bozukluğu olan durumlarda ise borun kemik mineral homeostazı üzerinde tek başına etkisinin bulunmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Overleri çıkarılmış dişi sıçanlar üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada kemik mineralizasyon dengesi üzerinde borun 17β -östradiol (E2) ve paratiroid hormon (PTH) etkisini kuvvetlendirip kuvvetlendirmediği araştırılmıştır. Bor ve E2'nin birlikte kalsiyum (Ca), fosfor (P) ve magnezyum (Mg) absorpsiyonunu belirgin bir şekilde iyileştirdiği gözlenmiştir. Ayrıca kombine tedavinin Ca ve Mg retansiyonunu ve serum Ca ve Mg seviyelerini arttırdığı gözlenmiştir. Sonuç olarak borun E2 ile kombine kullanımının overleri çıkartılmış sıçanlar üzerinde Ca ve Mg homeostazını sinerjik olarak kuvvetlendirdiği ortaya koyulmuştur (135). Aynı grubun diğer bir çalışmasında borun E2 ve PTH birlikte kemik kalitesi üzerindeki etkinliği araştırılmıştır. Bu çalışma ile borun E2'nin etkisini kuvvetlendirdiği PTH'in etkinliğinde ise herhangi bir değişim yaratmadığı ortaya koyulmuştur. Hem PTH hem de E2 kemik Ca, Mg, P içeriğini, trabeküler kemik hacmini, kemik yüzey alanının hacmine oranını, trabeküler plaka yoğunluğunu ve kalınlığını arttırmakta iken trabeküler seperasyonu azaltmaktadır. E2 ve bor birlikte kullanıldığında bu etki artmakta; PTH ve bor birlikte kullanıldığında ise ilave bir etki gözlenmemektedir (136). Bu çalışmaların aksine yaşlı dişi sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada borun tek başına veya bor + E2'nin kombine kullanımının overektomi ile stimule edilmiş osteopeniye karşı hiçbir koruyucu etkisi olmadığı ortaya koyulmuştur (137).

2.6.2.5. Bor ve Kemik Metabolizması

Bordan yetersiz diyetin ve yağ kaynaklarının kemik metabolizması üzerindeki etkisi dişi sıçanlar üzerinde araştırılmıştır. Gruplara 0,1 mg B/kg (yetersiz), 3 mg B/kg (yeterli) ve yağ kaynağı olarak 75 g yalancı safran yağı/kg veya 65 g balık yağı/kg ile 10 g linoleik asit/kg içeren diyetler verilmiştir. Bordan yoksun diyetin kemik hacmini azalttığı ve trabeküler boşlukları arttırdığı gözlenmiştir. İlave olarak bordan yoksun diyet femur kemiğini kırmak için gereken maksimum gücüde azaltmaktadır. Balık yağı yerine yalancı safran yağı ile beslenme bordan yoksun diyetle beslenen grupta vertebralardaki bağlanabilirlik yoğunluğunu da

azaltmaktadır. Bu sonuçlar bor ve balık yağının, kortikal kemik gücü ve trabeküler kemik mikro-mimarisi için gerekli olduğunu göstermiştir. Ayrıca rasyonel bor ile balık yağı birlikte kullanıldığında kemik metabolizması üzerinde yararlı etkilerinin arttığı gözlenmiştir (138). Son çalışmalarda borun kemik oluşumu ve idamesinde önemli rol oynadığı gösterilmesine rağmen kemik metabolizmasında borun etki mekanizması halen daha tam olarak anlaşılamamıştır (138-140).

Borun etki mekanizmasının açıklanabilmesi için; hücre canlılığı, proliferasyonu ve morfolojisi, hücre mineralizasyonu, mineralize doku ile ilişkili proteinlerin mRNA ekspresyonu ve kemik morfojenik protein - 4, - 6 ve - 7 seviyeleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Değişik bor konsantrasyonlarının (0, 1, 10, 100 ve 1000 ng/ml) hücre canlılığı üzerindeki etkileri 2, 5 ve 14. günlerde değerlendirilmiş olup 1000 ng/ml konsantrasyonda ve yukarısında kısa dönemde hücre canlılığının azaldığı ve uzun dönemde ise belirgin istatistiksel farklılığın olmadığı gözlenmiştir. Özellikle 1 ve 10 ng/ml gruplarında mineralize nodullerde ve osteoblastik fonksiyon açısından kollajen tip 1, Osteopontin, kemik sialoprotein, osteokalsin ve RunX2 mRNA ekspresyonu bor ile tedavi görmüş grupta artış göstermektedir. Ayrıca 0.1, 1, 10 ve 100 ng/ml bor konsantrasyonlarında artmış kemik morfojenik protein - 4, - 6 ve - 7 seviyeleri tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre borun kemik metabolizması üzerinde önemli rol oynadığı ve rejeneratif tip alanında da kullanılabileceği düşünülmektedir (141).

Borun osteojenik farklılaşma üzerindeki etkileri tam olarak bilinmemektedir. Bu mekanizmayı açıklamak üzere insan kemik iliği stromal hücrelerinin osteojenik farklılaşması üzerinde farklı konsantrasyonlardaki (0, 1, 10, 100 ve 1000 ng/ml) bor solüsyonun etkisi hücre kültürü çalışmasıyla araştırılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre 1, 10 ve 100 ng/ml'nin proliferasyon üzerinde kontrol grubundan farklı bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Bunun aksine 1000 ng/ml'de 4., 7. ve 14. günlerde kemik iliği stromal hücrelerin proliferasyonu inhibe olmaktadır. Ayrıca alkalen fosfataz (ALP) boyaması ile 10 ve 100 ng/ml konsantrasyonlarda daha yüksek ALP aktivitesi olduğu ve ALP, osteokalsin, kollajen tip 1 ve kemik morfojenik protein - 7'nin mRNA ekspresyonunu arttığı gözlenmiştir. Kalsiyum depozisyonlarının 1 ve 10 ng/ml bor gruplarında artış gösterdiği de ortaya koyulmuştur (142).

Bor; mineralizasyon ve kemik metabolizmasında, oksidatif stres belirteçleri ve immun yanıtta bilinen etkilerinden dolayı periodontal hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır. Ayrıca kronik süperatif orta kulak iltihabında da ototoksisiteye sebep olmadan güvenli bir biçimde borik asit solusyonu kullanılabildiği (143) ve kandida türleri üzerinde de etkisi bulunduğu (144) cerrahi veya cerrahi olmayan periodontal tedavide anti-mikrobiyal ajan olarak borun kullanılabileceği düşünülmektedir. Periodontolojide bor kullanımı ile çok fazla yayın bulunmamakla birlikte rapor edilmiş bütün durumlar borun periodontoloji alanında etkin bir şekilde kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.

2.6.2.6. Alveolar Kemik Rejenerasyonu

Alveolar kemik; mandibula ve maksilanın özelleşmiş bir kısmı olup dişler için temel desteği oluşturmaktadır. Sistemik değişkenler ve/veya ilgili faktörler osteojenik aktiviteyi değiştirerek periodontal alveolar kemiğin yapım-yıkım sürecini etkileyebilmektedir (145). Borun kemik oluşumunda ve idamesinde anahtar rol oynadığı gösterilmiştir. Diş çekimi sonrası borun kemik metabolizması üzerindeki etkilerini inceleyen bir çalışma yürütülmüştür. Bir gruba 3 mg/kg bor içeren diyet verilirken diğer gruba 0.07 mg/kg bor içeren diyet verilmiştir. Sıçanların diş çekiminden 7 ve 14 gün sonra hayvanlar sakrifiye edilmiş ve histometrik değerlendirmeleri gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre yetersiz bor tüketimi ile osteogenezde belirgin bir azalma ve kemik iyileşmesinde değişim gözlenmektedir (140). Aynı grubun diğer bir çalışmada ise üç grup kullanılmış ve 9 haftalık çalışma süresinin bitiminde fareler sakrifiye edilmişlerdir. Histomorfometrik analiz sonucunda diyetsel bor eksikliğinin kemik oluşumunu engelleyerek periodontal alveolar yapım ve yıkım süreçlerini değiştirdiği gözlenmiştir (139).

Alveolar kemik kaybı üzerindeki sistemik bor kullanımının histopatolojik ve morfometrik etkileri değerlendirilmiştir. Çalışmada 24 adet sıçan üç gruba ayrılmıştır. Grup 1’de ligatür bağlanmamış, grup 2’de sadece ligatür bağlanmıştır ve grup 3’te ise ligatür bağlanarak 11 gün boyunca 3 mg/kg sistemik borik asit uygulanmıştır. Ligatür grubunda enflamatuvar hücre infiltratlarının ve osteoklast sayısının diğer gruplardan daha fazla ve osteoblastik aktivitenin ise daha az olduğu

gözlenmiştir. Ayrıca alveolar kemik kaybı bu grupta diğer gruplara kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçlarına göre sistemik borik asit alımının periodontal enflamasyonu ve alveolar kemik kaybını azalttığı gözlenmiştir (115).

Son zamanlarda yayınlanan bir çalışmada sistemik borik asit kullanımının reseptör aktivatör nükleer kappa B ligand (RANKL) ve osteoprotegerin (OPG) ekspresyon seviyeleri üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Yirmi dört sıçan 3 gruba ayrılmış ve test grubuna 11 gün boyunca günde 3 mg/kg borik asit gavaj ile verilmiştir. Alveolar kemik kaybının, enflamatuvar infiltratların ve osteoklastların sayısının diğer gruplara kıyasla sadece ligatür bağlanan grupta daha fazla olduğu gözlenmiştir. Ayrıca RANKL - pozitif hücrelerin sadece ligatür grubunda ve OPG - pozitif hücrelerin borik asit grubunda belirgin yüksek sayıda bulunduğu ortaya koyulmuştur. Bu yayınlanan çalışma ile borik asitin sistemik kullanımının RANKL/OPG dengesini etkileyerek periodontitisli sıçanlarda alveolar kemik kaybını azaltabileceği rapor edilmiştir (146).

Bor içerikli yeni bir anti-bakteriyel ve anti-enflamatuvar (AN0128) bileşiğin periodontal hastalığın tedavisindeki etkinliğini test etmek amacıyla bir çalışma planlanmıştır. Ligatür bağlanarak deneysel periodontitis oluşturulan sıçanlarda AN0128 topikal olarak uygulanmıştır. AN0128 bor içerikli bileşiklerle tedavi edilen sıçanlarda, topikal olarak taşıyıcı ile tedavi edilen ve tedavi edilmeyen sıçanlara göre önemli derecede daha az kemik kaybı ve daha az enflamatuvar infiltrat rapor edilmiştir. Sıçanlardaki azı dişleri arasındaki alveolar kemik alanı histolojik olarak incelendiğinde, AN0128 grubunda alveolar kemik alanında % 50 kemik oluşumu gözlenmiş olup, bu sonuç alveolar kemik alanında sırasıyla % 33 kemik oluşumu gözlenen tetrasiklin ve % 40 kemik oluşumu gözlenen klorheksidin ile kıyaslanabilir bulunmuştur. Ayrıca AN0128 bor içerikli bileşiğin, taşıyıcı ile tedavi edilen gruba göre enflamatuvar infiltratı % 42 oranında azalttığı rapor edilmiştir (147).

Borun kemik metabolizması üzerindeki sistemik etkilerinin dışında biyoaktif camların yapısına eklenerek lokal etkileri olduğu da ortaya koyulmuştur (148). Hücre kültür çalışmasında osteoblastik hücrelerin proliferasyonunda ve hidroksiapatit dönüşümünde farklı bor içerikli biyoaktif camların etkisi araştırılmıştır. İçeriğindeki silika miktarı kadar bor oksit (B_2O_3) ile değiştirilmiştir. Borat camlar 4 günden az bir

sürede neredeyse tamamen hidroksiapatite dönüşmekteyken 45S5 camların yaklaşık %50'sinin hidroksiapatite dönüştükten sonra durduğu ve 70 gün kadar sürdüğü gözlenmiştir. Artan borat oranı ile statik durumdaki hücre kültüründe hücre proliferasyonunun inhibe olduğu gözlenmiştir. Eğer hücre kültürü ortamında borat iyon konsantrasyonu eşik değerin altında tutulursa hücre proliferasyon inhibisyonu aza inmektedir. 45S5 cam içeriğindeki yaklaşık 1/3'den az silisyum (SiO_2) oranı B_2O_3 ile değiştirilirse, kültür ortamı statik durumda değilde dinamik durumda tutulursa ve ya hücre kültüründen önce borat camlar kısmen hidroksiapatite dönüştürülürse kültür ortamı eşik değerin altında tutulabilmektedir (149). Bor modifiye biyoaktif camların biyolojik performansı da değerlendirilmiştir. Sıçan tibiası kullanılan bu çalışmada biyoaktif camın içeriğine %2 wt bor oksit (45S5.2B) eklenmiştir. Cerrahiden 15 gün sonra alınan histolojik kesitlerde Bor modifiye biyoaktif camların etrafında belirgin daha fazla yeni oluşmuş kemik dokusu gözlenmişken 30 gün sonra bu istatistiksel farklılık ortadan kalkmıştır. Osseoentegre dokuların kalınlığına bakıldığı zaman bütün kontrol zamanlarında bor ile modifiye camların etrafında belirgin daha fazla doku kalınlığı gözlenmiştir. Ayrıca cerrahiden 15 gün sonra 45S5.2B partiküllerinin etrafındaki yeni oluşmuş kemikte Ca:P oranında artış olmaktadır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre bor modifiye 45S5 BC (45S5.2B) partiküllerin kemik oluşumunu güçlendirdiği kanıtlanmıştır (148).

Biyoaktif camlar aynı zamanda terapötik iyonların ve ilaç/büyüme faktörlerinin etkili salınımı için de kullanılabilir (150). Bu amaçla osteomyelit tedavisinde ve kemik defektlerinin tamirinde vankomisin salınan çözülebilir biyoaktif borat camlar kullanılabilir. Tavşan modelinde metisilin dirençli *Stafilokok aureus* enjekte edilerek kemik enfeksiyonu oluşturulmuştur. Üç hafta sonra tavşanlar; sadece debridman yapılan, saf borat camlar, vankomisin yüklü kalsiyum sülfat, vankomisin yüklü borat camlar ile tedavi edilen 4 gruba ayrılmıştır. Sekiz hafta sonra radyolojik, bakteriyolojik ve histopatolojik değerlendirme yapılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre vankomisin yüklü borat camların yabancı cisim reaksiyonu oluşturmada mükemmel biyouyumluluğa sahip olduğu ve osteomyeliti ortadan kaldırarak aynı zamanda da kemik rejenerasyonu sağladığı ortaya konulmuştur (151).

2.6.3. Bor Nitrür

Bor bileşikleri günümüzde yaygın olarak yeni kullanım alanları bulmaktadır. Bu bileşikler yüzyıla damgasını vuracak değerdedir ve en büyük hammadde kaynağına sahip olan Türkiye için çok büyük önem arz etmektedir. Türkiye'nin refahı için bu kaynakların rasyonel olarak değerlendirilmesi geleceğimiz için çok önemlidir (152) (Şekil 2.8.).

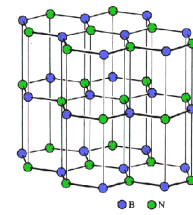


Şekil 2. 8. Toz Bor Nitrür

Bor Nitrür, bor ve azot elementlerinin oluşturduğu, kimyasal formülü BN olan, kimyasal metotlarla üretilen bir bileşiktir (153). Düşük reaktiviteye sahip ve birçok alanda kullanılan inorganik bir malzemedir. En sert insan yapısı malzemelerden bir tanesidir. Isıl, elektriksel, mekanik ve fiziksel özellikler gibi çok geniş bir malzeme nitelikleri dizisine sahip olması nedeniyle, bir çok uygulama alanı mevcuttur. Farklı uygulamalar ile kullanılmasını sağlayacak şekilde bu niteliklerin çok çeşitli kombinasyonlarını içerir (154). Bor nitrürlerin hegzagonal, kübik ve turbostatik bor nitrür gibi çeşitleri bulunmaktadır. Bor nitrürün en stabil formların biri hegzagonal bor nitrürdür. Hegzagonal bor nitrür, günümüzde beyaz grafit adı ile anılmakta ve yüksek sıcaklığa dayanıklı oksidasyon direnci yüksek bir malzemedir.

2.6.2.1. Hegzagonal Bor Nitrür

Hegzagonal bor nitrür beyaz renkli olup alüminaya, yapısal yönden grafit benzeyen, zehirsiz, geçirimsiz ve kaygan bir malzemedir. Seramik malzemeler içinde en düşük yoğunluklu olanıdır (2,27 g/cm³). Hegzagonal bor nitrür tozları dokununca ipeksi dokunuş hissettirir (Şekil 2.9.).



Şekil 2. 9. Hegzagonal Bor Nitrür

Hegzagonal bor nitrür inert bir malzemedir, kimyasal tepkimeye girmez ve toksik değildir. Çok yüksek sıcaklıklara dayanıklıdır. Hegzagonal bor nitrür 1000 °C'ye kadar normal atmosferde, 1400 °C'ye kadar ise vakum ortamında, 2000 °C'ye kadar argon atmosferinde, 2400 °C'ye kadar ise azot atmosferinde kullanılabilen bir

malzemedir. Isıl şoklara karşı kararlı oluşunun yanısıra mükemmel elektrik yalıtkanlığı, bakır kadar iyi ısı iletkenliği ve UV ışınları yansıtma özelliği bulunmaktadır (153).

İki boyutlu hegzagonal bor nitrür nano tabakadan fiziksel ve kimyasal özellikleri hegzagonal bor nitrüre benzer bor nitrür nano tüpler (BNNT) oluşturulabilmektedir. Tübüler ve delik nanoyapıda bulunan BNNT'ler; yeni ve güvenilir ilaç taşıma sistemleri olarak son günlerde ilgi odağı olmuştur. Bu nano tüpler yapısal olarak karbon nano tüplerin analogudur ve karbon atomları yerine B ve N atomları geçmesi ile yüksek yapısal stabilite, anti-oksidatif yetenek ve iyi kimyasal duraganlık sağlanmış olmaktadır. Bor nitrür nano tüpler mükemmel elastik modülüse (750-1200 GPa) ve gerilme gücüne (>24 GPa) sahiptir. Bor nitrür nano tüpler ayrıca ortopedik implantlar ve yapı iskelesi için biyoseramiklerin ve biyopolimerlerin güçlendirilmesi içinde uygun potansiyele sahiptir (155).

2.6.3. Bor Nitrür Nano Yapıların Biyoyumluluğu

İnorganik materyallerin biyoyumluluğu ve biyoygulanımı son yıllarda en çok ilgi çeken alan olmuştur. Ciofani ve arkadaşları bu alanın öncüleri olarak sayılmaktadır. Bor nitrür nano tüplerin yüzeyini glikol-kitosan polimeri ile kaplayarak aköz ortamda çok iyi stabilite ve *in vitro* yüksek sitouyumluluk elde etmişlerdir (156). Başka bir çalışmada BNNT'ler polietilenimin ile kaplanarak *in vitro* insan nöro-blastoma hücre dizileri üzerinde test edilmiş ve 100 µg/mL konsantrasyonuna kadar çok iyi hücre canlılığı gözlemlendiği görülmüştür (157). Chunyi Zhi ve arkadaşları bor nitrür nano tüplerin biyoyumluluğunu ve biyoygulanımını içeren şimdiye kadar ki gelişmelerin üzerinden geçtikleri çalışmada nanomateryallerin doğal karmaşıklığına bağlı olarak aynı çeşit materyalin kullanıldığı farklı araştırmalarda farklı sonuçların ortaya koyulduğunu tespit etmişlerdir (158).

Ciofani ve arkadaşları 2008 yılında BNNT'nin biyomedikal kullanımının gerekliliğini göstermek adına bir çalışma planlamışlardır. Düşük konsantrasyonlarda kullanıldığında sitouyumlu polietilenimin (PEI) ile BNNT'ler kaplanmıştır. Polietilenimin, özellikle DNA transfeksiyonu ve hücre geçirgenliği için

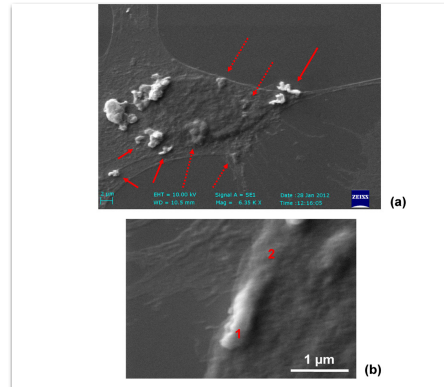
kullanılmaktadır. Bu çalışmada %10 PEI-BNNT (BNNT test) ortamı, %10 PEI (PEI test) ortamı ve %10 fosfatla tamponlanmış solüsyon içeren ortam 72 saat nöroblastamo hücreleri ile kültüre edilmiştir. Hücre morfolojisi ve sayısı açısından gruplar arasında farklılık gözlenmemiş ve hücre sayıları açısından da 24, 48 ve 72 saatlik zaman dilimleri arasında belirgin farklılık bulunmamıştır. Tatminkar metabolik aktivite gözlenmiş ve test gruplarında metabolik aktivite kontrol grubunun %75'i kadardır. Yazarların eski çalışmalarında da belirtildiği gibi bu orta düzeyli toksisite PEI kaplamanın endozom/lizozom kompleksini ve plazma membranın geçirgenliğini bozmasıyla oluştuğu düşünülmektedir. Yetmiş iki saat sonra BNNT, neredeyse tamamlanmış iki replikasyon döngüsüne girdiği için hücresel replikasyonu ve bu zaman dilimi boyunca metabolik aktiviteyi etkilemediği görülmüştür. Bu yüzden 5.0 µg/mL PEI-BNNT'nin hücresel proliferasyonu ve metabolizmayı etkilemediği ortaya koyulmuştur. Bu çalışma ile ilk defa BNNT'lerin nöroblastoma hücreleri üzerindeki etkisi incelenmiş ve canlılık, metabolizma ve replikasyon üzerinde herhangi bir yan etkisi olmadığı gözlenmiştir. Bu çalışmanın ikinci amacı PEI-BNNT'lerin endositoz mekanizmasının incelenmesi ve testler ortama endositoz inhibitörü eklenmesiyle gerçekleştirilmiştir. Testler sonucu hücre içine alımın enerji bağımlı başladığı ve klasik endositoz yolağı ile devam ettiği gözlenmiştir. Bütün bu sonuçlar gözönünde bulundurulduğunda BNNT'ler nanovektör olarak biyomedikal ve klinik uygulamalarda kullanılabilir (157).

Aynı grubun yayınladığı diğer bir çalışmada glioblastamo multiforme hücrelerinin selektif endositozu için poli-L-lizin (PLL) kaplı BNNT'leri folik asit ile fonksiyonelize edilmiştir. Günümüze kadar folat; tümör görüntülenmesi ve kemoterapi için hedef ligand olarak kullanılmıştır. Folat konjugasyonu; PLL'nin amino grubu ile folatın gama karboksilik grubunun bağlanması ile sağlanmakta ve folat reseptör ilişkisini içermemektedir. Bu çalışmada hedef hücre glioblastamo ve kontrol olarak primer fibroblast hücreleri kullanılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına baktığımız zaman yazarların bir önceki çalışması gibi bu çalışmada da PLL-BNNT'lerin glioblastoma ve primer fibroblast hücre canlılığı açısından fark gözlenmemiştir. İnkübasyondan 90 dak sonra folat ile konjuge PLL-BNNT'ler glioblastamo hücreleri tarafından endositoza uğrarken kontrol olarak kullanılan normal kültüre edilmiş fibroblastlar tarafından hücre içine alınmamıştır. Bu çalışma

ile nano tüp vektörlerin güçlü ve selektif endositozunun sağlanabildiği gösterilmiştir. Bu sayede BNNT'leri folik asit veya peptidler gibi daha spesifik moleküller ile kaplayarak istediğimiz dokuda birikmesini sağlayabilmekteyiz (159).

Ciofani ve arkadaşları 2010 yılında poli-l-lizin kaplı BNNT ile kas hücrelerini taklit eden C2C12 hücreleri arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Sıfır (kontrol), 5, 10 ve 15 $\mu\text{g/mL}$ PLL-BNNT konsantrasyonunda inkübasyondan 24, 48 ve 72 saat sonra canlılık testleri yapılmıştır. Canlı yoğunluğu açısından PLL-BNNT içermeyen kontrol grubuna göre farklılık gözlenmemişken bütün durumların hücre canlılığı $> \%90$ olarak bulunmuştur. Yetmiş iki saat sonraki verilere bakıldığında BNNT'lerin hücresel replikasyonu etkilemediği, bu süre boyunca üç kez tam replikasyon siklusü gözlemlendiği ortaya koyulmuştur. On $\mu\text{g/mL}$ PLL-BNNT konsantrasyonuna ve 72 saatlik kültür zamanına kadar mükemmel proliferasyon ve metabolik aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Bu konsantrasyonlarda apoptotik, nekrotik ve membran geçirgenliği fenomeni gözlenmemektedir. C2C12 hücrelerin farklılaşmasının ve miyotüp formasyonunun, 72 saatlik BNNT modifiye kültür ortamından belirgin bir şekilde etkilenmediği kanıtlanmıştır. Farklılaşmış hücrelerin protein içeriği kontrol grubuyla karşılaştırılabilir veya daha üstün olduğunu ve C2C12 hücre farklılaşmasında ciddi bir yan etki göstermediği doğrulanmıştır (160).

Ciofani ve arkadaşları 2012 yılında; insan transferrin ile kovalent BNNT kaplamanın (tf-BNNT) özelliklerini ve epitelyal hücreler ile olan ilişkisini ortaya koymuşlardır. Taramalı (Scanning) elektron mikroskopisinde 200 nm çapında 1 μm uzunluğunda tf-BNNT'ler gözlenmiştir. Transferrin kaplı BNNT'lerin WST-1 testi ile 100 $\mu\text{g/mL}$ 'ye kadar hücrelerde iyi metabolik aktivite gösterdiği ortaya koyulmuş ve tedaviden 24 saat sonra herhangi bir yan etki gözlenmemiştir. Yüz $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda canlılıkta yaklaşık $\%15$ 'lik azalma gözlenmiştir. Taramalı (scanning) elektron mikroskopisinde oldukça çok



Şekil 2. 10. Hücre İçerisine Girmiş BNNT (Ciofani ve ark.'dan alınmıştır.)

miktarda tf-BNNT'lerin hücre membranına güçlü atışmanı ve büyük gruplar halinde agregasyonu gözlenmiştir. Transferrin ile bağlı BNNT demetleri ayrıca hücre içinde ve hücre membranının altında da gözlenmiştir. Ayrıca ilginç olarak bu çalışmada nano tüplerin hücre membranını nasıl geçtiği de gözlenmiştir. Bu sebeple EDS analizi yapılmıştır (Şekil 2.10.). Nano tübün parlak kısmı hücre dışında bulunmakta ve %35.3 B, %22.4 C, %23.4 N ve %13 O'den oluşmaktadır. Karanlık kısım ise hücre tarafından içeri alınan kısım ve %13.6 B, %47.3 C, %7.7 N ve %23 O'den oluşmaktadır. Bor ve N sinyallerinin daha zayıf yoğunlukta olması ve diğer yandan C ve O artışının olduğu alanların bulunması sitoplazmik membranın nano tüplerin etrafını sardığını ve tf-BNNT'nin hücre içerisine alındığının bir göstergesidir. İnkübasyondan 24 saat sonra 20 µg/mL tf-BNNT modifiye ortamda endotel hücreleri tarafından tf-BNNT'lerin hücre içerisine alındığı gözlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada ortam modifiye nano tüplerin uygulanımından önce transferrine doyurularak da hücrel cevap incelenmiştir. Sonuç olarak, ortam kullanılan kaplama maddesi ile doyurulduğunda hücreler tarafından tf-BNNT'lerin hücre içerisine alınmadığı ve böylelikle fonksiyonel nano tüplerin hücre içerisine alınmasının kontrol edilebileceği ortaya konulmuştur (161).

Aynı grubun başka bir çalışmasında BNNT'leri glikol kitosan (GK) ile kaplayarak tavşanlarda bu materyalin sitotoksitesini araştırılmıştır. Beş adet tavşan; kontrol grubu (n:2) ve deney grubu (n:3) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Her bir gruptaki tavşanlara sabah saatlerinde intravenöz olarak 1mg/kg sadece GK ve GK kaplı BNNT uygulanmıştır. Başlangıçta, 2 saat, 24 saat ve 72 saat sonra alınan kan örnekleri kullanılarak klinik ve biyokimyasal parametreler değerlendirilmiştir. Klinik ve biyokimyasal parametreler analiz edildiği zaman her iki grupta da tek sefer uygulanan yüksek dozun 72 saatlik gözlem sürecinde herhangi bir toksisite oluşturmadığı gözlenmiştir. Az sayıda hayvan kullanıldığı için bu çalışma ön çalışma olarak düşünülmesine rağmen kan parametrelerinde negatif etki gözlenmemesi ve karaciğer-böbrek fonksiyonlarında umut vadeden sonuçlar ortaya koyduğundan ileri çalışmalara ışık tutmaktadır (162).

Ciofanni ve arkadaşları 2013 yılında 9 tavşan üzerinde yaptıkları çalışmada BNNT'lerin *in vivo* toksikolojisini incelemişlerdir. Aynı grubun yukarıda

bahsettiğimiz *in vivo* çalışmasında 1 mg/ kg'a kadar tavşanlarda herhangi bir yan etki gözlenmediği ve 72 saate kadar mükemmel hematolojik parametreler gözleendiği için bu çalışmalarında enjekte edilen dozu 5 ve 10 mg/kg'a yükseltmişler ve 7 gün boyunca hematolojik verileri gözlemişlerdir. Bor nitrür nano tüpler, non-kovalent olarak glikol kitosan ile fonksiyonelize edilmiştir. Tavşanlar; (i) 5 mg/kg tekli intravenöz doz, (ii) 10 mg/ kg tekli intravenöz doz ve (iii) 3 gün boyunca 5 mg/ kg tekrarlayan dozlar uygulanan üç gruba ayrılmıştır. Bütün dozların tavşanlar tarafından çok iyi tolere edildiği ve kan, karaciğer veya böbreklerde birikmeyi içeren herhangi bir yan etki gözlenmediği ortaya koyulmuştur (163).

In vitro BNNT ve nöroblastoma, kas hücreleri, embriyonik böbrek, murin alveolar makrofaj ve embriyonik fibroblast hücreleri gibi hücrelerle etkileşimini araştıran çalışmalar çelişkili sonuçlar ortaya koymaktadır. Hücre tipine, lokalizasyonuna ve fiziksel rolüne göre nano tüplerin etkisi değiştiğinden nano tüpleri çeşitli hücrelerde incelemek çok önemlidir. Endotelial hücre ile nano tüp arasındaki etkileşimi incelemek nano tüplerin alınımından sonra karşılaştığı ilk doku epitel hücreleri olduğu için önem taşımaktadır.

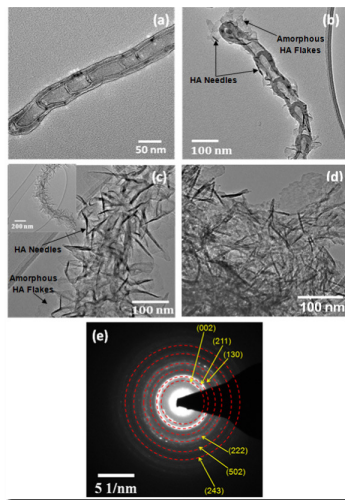
Del Turco ve arkadaşları 2013 yılında insan endotel hücreleri üzerinde glikol kitosan (GK) kaplı BNNT'lerin sitouyumluluğunu değerlendirdikleri bir çalışma yayınlamışlardır. Geçirmeli (Transmission) elektron mikroskopisi sonucunda iki tip GK-BNNT konfigürasyonu olduğu gözlenmiştir. Bunlardan birincisi en iyi bilinen bambu şekli iken ikincisi devamsız duvarlı ve düzgün yığılmanın olmadığı tipidir. Nano tüplerin duvarları kristalin yapıdadır ve 100 µg'a kadar hücre canlılığı etkilenmemektedir. Yetmiş iki saat sonra 5-50 µg aralığında toksisite bulunmamasına rağmen 50 µg'da hücre canlılığında %16 azalma gözlenmiştir. Hücre proliferasyonunu da değerlendirmek amacıyla DNA sentezi üzerindeki etkileri araştırılmış ve 50 µg'a kadar gruplar arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir. Yalnızca 48 ve 72 saat sonra 100 µg'da proliferasyonda orta dereceli bir azalma gözlenmiştir. Ayrıca GK-BNNT'lerin etrafında iskeletsel elementler gözlenmiştir. Kullanılan konsantrasyonlarda ICAM-1 ekspresyonunda indüklenme olmazken VCAM-1 ekspresyonunda artış sadece 100 µg'da gözlenmiştir ve 100 µg'da endotelin fizyolojik dengesi değişerek proenflamatuvar duruma yatkın hale gelmektedir. Sonuç

olarak; sitotoksikoloji, hücre aktivasyonunun ve proliferasyonun inhibisyonu üzerindeki olası etkileri düşünüldüğünde optimal doz aralığı 5-50 µg olmalıdır. Ayrıca BNNT'lerin tek başına endotel hücrelerin survivalı ve fonksiyonu üzerinde zararlı bir etkiye sahip olmadığı gözlenmiştir (164).

Sonuç olarak BNNT'nin sitotoksitesisi üzerine sınırlı çalışma mevcut olmasına rağmen hiç bir çalışmada çeşitli hücre tipleri üzerinde bile olsa sitoksisite göstermediği görülmüştür (165). Kemik içi defetlerin rejeneratif tedavisi için kullanılan greft materyallerinin osteoblast hücrelerinin canlılığı ve proliferasyonu üzerindeki etkileri önem kazanmaktadır. Bu sebeple bor nitrür nanotüplerin osteoblastlar üzerindeki etkileri araştırılmalıdır.

2.6.4. Bor Nitrür Nanotüplerin Osteoblastlar Üzerindeki Etkileri

Kemik rejenerasyonu için BNNT yüzeyinde apatit oluşma yeteneği önem kazanmaktadır. Bor nitrür nano tüpler fraktür veya yaralanma durumlarında kemik rejenerasyonu amacıyla etkili bir biçimde kullanılabilir. Mükemmel elastik modülüsü, gerilme gücü ve yüksek şekil değiştirebilirliği ile BNNT'ler kemikteki kollajen lifleri taklit edebilme yeteneğine sahiptir. Bor nitrür nano tüplerin üç boyutlu yapı iskelesi HA'nın mineralizasyonu için kullanılabilir ve bu sebeple *in vitro* ve *in vivo* kemik rejenerasyonu sağlayabilmektedir. Bu apatit formasyon kapasitesine ulaşmak için yüzey özellikleri belirleyici faktör olmaktadır (166).



Şekil 2. 11. BNNT Üzerindeki Apatit Formasyonu. (Lahiri ve ark.'dan alınmıştır.)

Bu sebeple vücut sıvılarını taklit eden sıvıya batırılmış BNNT yüzeylerindeki apatit formasyonunu araştıran bir yayın rapor edilmiştir. Yedi gün sonra BNNT üzerinde kar tanesi gibi hidroksiapatit çökmesinin başladığı, 14 gün sonra bu birikintilerin hacim olarak arttığı ve kalınlaşmaya başlayarak BNNT'lerin üzerini kaplamaya başladığı gözlenmiştir. Yirmi sekiz gün sonra

tipik iğne şekilli apatit kristalleri küresel şekilde aglutine olarak tamamen olgunlaşmışlar (Şekil 2.11.) ve BNNT yüzeyinin fizyolojik solüsyonlarda apatit formasyonunu indüklediği gözlenmiştir. Sonuç olarak HA birikintileri zamanla artış göstermekte ve BNNT üzerinde HA birikmesi için ortalama 4.6 günlük inkübasyon süresi gerekmektedir (167).

Bor nitrür nano tüpler dokuya girdiğinde ilk olarak makrofajlarla karşı karşıya gelmektedirler. Makrofajlar dolaşımdaki yabancı cisimleri fagosite ederek herhangi bir zararlı reaksiyonu önlemiş olurlar. Bu sebeple BNNT'lerin makrofajlar üzerindeki sitotoksik testleri çok önemlidir.

Lahiri ve arkadaşları 2010 yılında polilaktikapolakton (PLK) kopolimeri ile güçlendirilmiş BNNT'lerin osteoblastlar ve makrofajlar ile biyouyumluluğunu ve mekanik özelliklerini değerlendirdikleri bir çalışma yayınlamışlardır. Polilaktikapolakton elastik modülüsü ve gerilme gücü kemik veya kırık dokuya benzememesine rağmen bu çalışmada kemik ve kırık dokuya rejenerasyonu için PLK kopolimerleri kullanılmıştır. Bu çalışmada hem çıplak BNNT'nin osteoblastlar ve makrofajlar üzerindeki sitotoksitesi hem de PLK-BNNT kompozitlerin osteoblastlarla etkileşimi değerlendirilmiştir. Polilaktikapolaktan kaplı %5 BNNT (PLK-5BNNT)'nin elastik modülüste %1370 iyileşme gösterdiği ve PLK-BNNT'nin gerilme gücünü %109 arttırdığı ortaya konulmuştur. Herhangi bir yan etki gözlenmeden elastisite %240 uzama göstermektedir. Polilaktikapolaktone BNNT ilavesiyle hücre canlılığı da %30 oranında artmaktadır. Kompozit filmde büyüyen osteoblast hücrelerin gen ekspresyon çalışmasında *Runx-2* transkripsiyon faktöründe PLK-2BNNT konsantrasyonunda 4 kat ve PLK-5BNNT'de 7 kat arttığı gözlenmiştir. BNNT'lerin proteinler için doğal afinitesi olması nedeniyle BNNT varlığında osteoblast farklılaşması ve büyümesi hızlanmaktadır (34).

Lahiri ve arkadaşları 2010-2011 yıllarında biyoçözülebilir polilaktikapolakton (PLK) kopolimeri ve hidroksiapatit (HA)'leri BNNT ile güçlendirmenin etkinliğini araştırmışlardır. Kopolimerlerin gerilme güçleri BNNT ilavesi ile %109 artmaktadır. Ayrıca PLK kopolimerine BNNT ilavesi osteoblast proliferasyonun ve farklılaşmasının iyileşmesini sağlamaktadır. Benzer gözlem HA-BNNT nano tüplerinde de gözlenmiştir. Fraktür dayanıklılığında %86 ve HA'nın

kullanım dayanıklılığında %75 iyileşme gözlenirken osteoblast canlılığı ve proliferasyonunda da iyileşme olduğu gözlenmiştir (166).

Lahiri ve arkadaşları 2010 yılında bor nitrür nano tüplerini HA ile güçlendirerek osteoblastlar üzerindeki biyouyumluluğunu araştırmışlardır. Nano tüplerin uzunluğu 0.43-5.8 μm ve dış çapı 10-145 nm arasında değişmektedir. Osteoblast hücrelerinin proliferasyonu ve canlılığı *in vitro* kültürde 1., 3. ve 5. günlerde değerlendirilmiştir. Osteoblast hücreleri ilk olarak greft materyalinin yüzeyine yapışmakta ve yeni kemik oluşumunda rol oynamaktadır. Sonrasında HA-BNNT yüzeyleri üzerinde apatit kristalleri birikmektedir. Bu yüzden greft yüzeylerinde osteoblast hücrelerinin proliferasyonu ve büyümesi kemik oluşumu ve entegrasyon için büyük önem taşımaktadır. Çalışma süresince hücreler normal hücre büyümesi özelliği göstermişlerdir ve osteoblast popülasyonu 1. günden itibaren artmaya başlamıştır. Bu gözlem HA ve HA-BNNT yüzeylerinin osteoblast proliferasyonu için uygun bir yüzey olduğunu göstermektedir ve kültürden 3 gün sonra HA-BNNT yüzeyinde daha yoğun osteoblast popülasyonu gözlenmiştir. Sonuç olarak HA-BNNT'nin osteoblast proliferasyonunu ve canlılığını negatif etkilemediği sonucuna varılmıştır (166).

İnsan vücudu nano yapıda bulunan bir mühendislik harikasıdır. Günümüzde kaybedilen dokuların yerine konulması için insan dokularına uyumlu nano boyutlu partiküllerin kullanılması tercih edilmekte ve uygulanan bölge ile sitouyumlu olması tercih edilmektedir. Bor nitrür nano tüplerin osteoblastlar ve makrofajlar için sitotoksik olmadığı gözlenmiştir (34). Biyouyumluluklarının yanı sıra BNNT'ler daha elastik ve esnektir. Bor nitrür nano tüplerin elastik modülüsü 1.22 TPa'dır. Bu sayede yapısal değişime uğramadan kuvvetli deformasyonlara dayanabilmekte ve bu yüzden güçlendirici olarak potansiyel aday olarak düşünülmektedir. Ayrıca BNNT yüzeyine protein yapışması için doğal bir afiniteye sahiptir.

Periodontal hastalık sonucu kaybedilmiş dokuların rejeneratif iyileşmesini sağlamak için çeşitli greft materyalleri kullanılmaktadır. Hegzagonal bor nitrür enflamatuvar yanıt oluşturmada kemik rejenerasyonu için yeterli olan sürede ortamdan uzaklaştırılarak yerini olgunlaşmış kemik dokusuna bırakabilmektedir. Bu sayede konvansiyonel greft materyallerine kıyasla tedavi süremiz kısalmakta ve

yeterli rejeneratif iyileşmeyi sağlamış olmaktadır. Bor nitrür nano tüplerin yukarıda bahsettiğimiz bütün bu olumlu özelliklerinden yola çıkarak kemik içi defektlerin rejeneratif tedavisinde bor nitrür nano tüplerin öncü molekülü olan hegzagonal bor nitrür ile güçlendirilmiş hidroksiapatit greft materyali kullanıldığında osteoblast hücrelerinin proliferasyonunu arttıracığı, rejeneratif iyileşmeyi indükleyerek doğal kemiğe yakın bir iyileşmenin oluşacağı ve literatürde henüz incelenmemiş olan bu greft materyalinin değerlendirilmesinin literatüre katkı sağlacağı düşünülmektedir.

Bu bakış açısıyla bu çalışmada; üç duvarlı kemik içi defektlerin tedavisinde olumlu etkileri bilinen NkHA greft materyali ile NkHA greft materyalinin hBN ile güçlendirerek elde edilmiş greft materyali uygulamalarına dayanan tedavi modelinin etkinliğinin deneysel kemik içi defektlerin tedavisinde x-ray mikro tomografik, histolojik ve histomorfometrik olarak karşılaştırılması amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmaya ait belgelerin Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Etik Kurul'u tarafından incelenmesi sonucu 13/05/2015 tarihinde 2015/35 karar numarası ile araştırmanın gerçekleştirilmesinde etik yönden sakınca olmadığına mevcudun oy birliği ile karar verildi ve 2015.05.06.903 numaralı BAP projesi ile desteklendi.

3.1. Deney Hayvanları

24 adet sağlıklı erkek Wistar albino sıçan kullanılmıştır. Ortalama 12 haftalık ve 160-340 (ortalama 224) gram ağırlığında olan sıçanlar Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Hayvanlar standart koşullarda 12 saat gece, 12 saat gündüz döngüsünde, 25 ± 3 °C'lik ortamda, maksimum 6'lı gruplar halinde plastik tabanlı tel kafeslerde barındırıldı. Deney hayvanlarına cerrahi operasyon sırasında hegzagonal bor nitrür ile desteklenmiş hidroksiapatit ve hidroksiapatit içeren greft materyalleri randomize bir şekilde çift taraflı olarak uygulandı.

3.2. Hegzagonal Bor Nitrür Eldesi

Hegzagonal bor nitrürler (hBN) A.İ.B.Ü Fen Edebiyat Anorganik Kimya Laboratuvar'ında Modifiye O'connor metodu kullanılarak sentezlendi. Hegzagonal bor nitrür eldesi için;

- 0,6000 g kalsiyum oksit,
- 1,0000 g bor oksit,
- 2,0000 g üre kullanıldı.

Prosedürün ilk gününde;

- 0,6000 g kalsiyum oksit (CaO), 1,0000 g bor oksit (B₂O₃) ve 2,0000 g üre (H₂N-CO-NH₂) havan yardımı ile 1-1,5 saat ezildi ve toz haline getirildi.
- Karışım öncül malzemenin elde edilmesi için eritme potasına konularak kül fırında 200 °C'e ısıtıldı ve kendi kendine soğumaya bırakıldı.

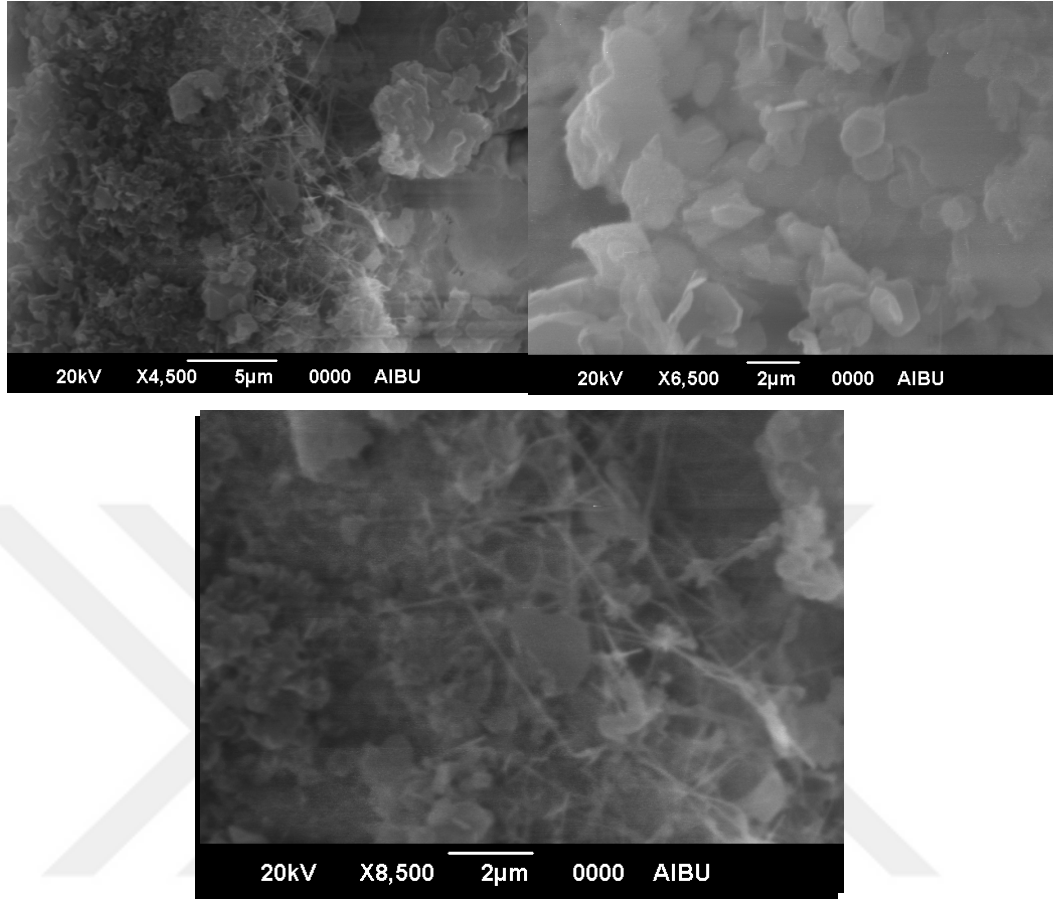
- Soğumuş karışım fırından alındı ve eritme potasının üzeri kapatılarak desikatöre koyuldu.

İkinci günde;

- Eritme potası desikatörden alınarak tüp fırına yerleştirildi.
- Örnek tüp fırında akım hızı 120 ml/dak olan amonyak atmosferinde 10,5 saat (sabah 10:00 ile akşam 20:30 arası) 1450 °C'de ısıtıldı.
- Süre dolduğu zaman fırın kapatıldı ve oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı.

Üçüncü günde;

- Karışım tüp fırından alındı ve %9,1 HCl (25 ml konsantre HCl + 250 ml distile su) solüsyonunda 200 ml solüsyon kalana dek ısıtıldı. HCl solüsyonu reaksiyona girmemiş bor oksit moleküllerini ortamdan uzaklaştırmak için kullanıldı.
- Solüsyon 200 ml kaldığı zaman örnek alındı, filtre edildi ve sırasıyla sıcak su (Cl iyonlarının çözünmesi için) ve etanol (prosedürü kurutmak için) altında yıkandı.
- Son olarak filtre edilmiş örnek, kurutulması için fırına konuldu. Kuruduktan sonra final beyaz katı örneklerimiz küçük şişelere konuldu.
- SEM ile görüntüleri elde edildi (Şekil 3.1).



Şekil 3. 1. Hegzagonal Bor Nitür SEM Görüntüleri

3.3. Elde Edilen Hegzagonal Bor Nitürlerin Hidroksiapatit ile Muamelesi

Elde edilmiş hegzagonal bor nitürlerin fonksiyonizasyonu için kontrol grubuna uygulanacak olan sentetik nano kristalin hidroksiapatit (NanoBone) kullanıldı. Fonksiyonizasyon esnasında herhangi bir çökelmenin olmaması ve HA içerisinde hBN'lerin homojen dağılımı için ultrasonik banyo kullanıldı.

Aşamalar;

- İlk olarak bir miktar hBN daha homojen bir karışım elde edebilmek için agat havanda dövüldü (Resim 3.1.).



Resim 3. 1. hBN'lerin Agat Havanda Dövülmesi

- Ezilen hBN hassas tartıda ölçülerek 0,02 g hBN ile 20 ml aseton karıştırıldı (Resim 3.2.) ve 3 saat ultrasonik banyoda bekletildi.



Resim 3. 2. hBN 'nin Tartılıp Aseton ile Karıştırılması

- Hassas tartıda ölçülmüş 0,48 g HA agat havanda dövüldü ve elde edilmiş dağılıma eklendi. Bir saat daha ultrasonik banyoda bekletildi (Resim 3.3.).



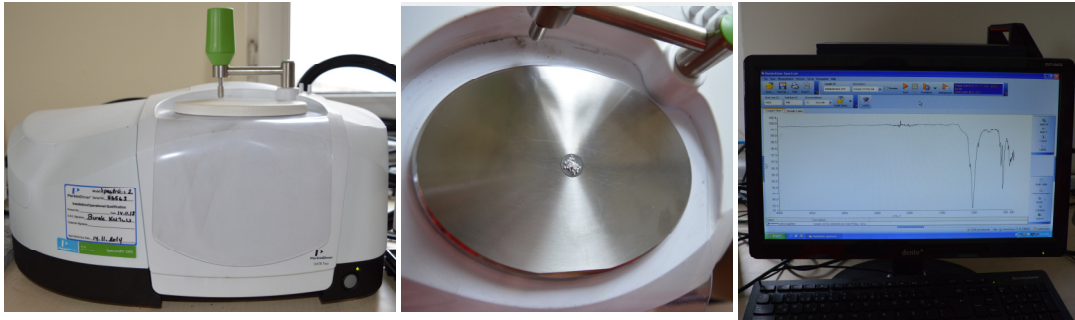
Resim 3. 3. HA'nın Ölçülüp Ultrasonik Banyoda Bekletilmesi

- Son olarak elde edilmiş dağılım 110°C 'ye ısıtılmış fırında 3 saat kurumaya bırakıldı (Resim 3.4.).



Resim 3. 4. Hazırlanmış HA - % 4 hBN Eldesi ve Kurutma İşlemi

HA - % 4 g hBN'lerin içerik analizi FT-IR yöntemi ile yapıldı ve hBN'lerin HA ile muamelesi doğrulandı (Resim 3.5.).



Resim 3. 5. Elde Edilmiş Örneğin FT-IR İncelemesi

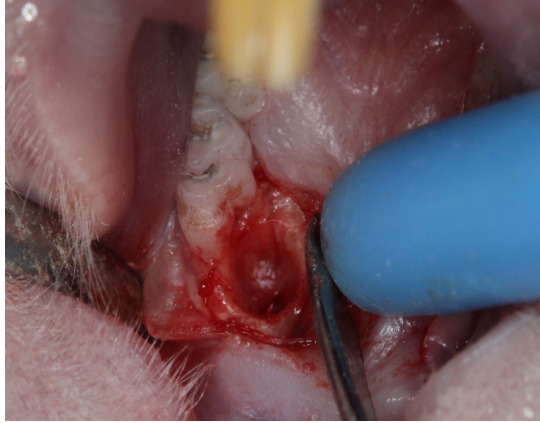
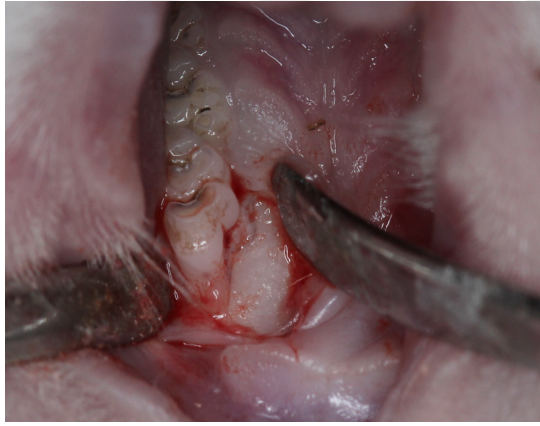
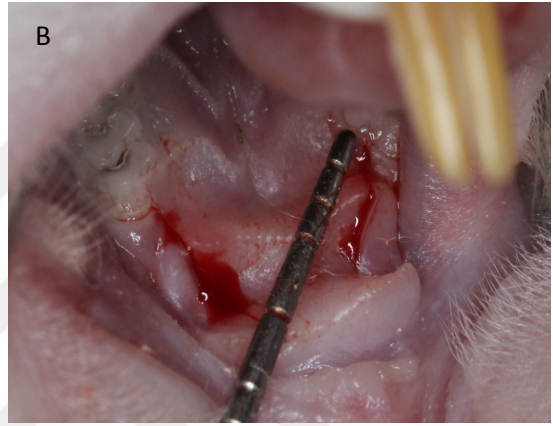
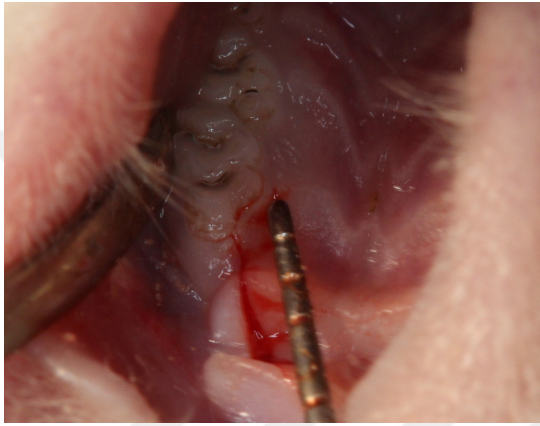
3.4. Cerrahi Prosedür

Sabah saatlerinde gerçekleştirilmiş olan cerrahi için sıçanlara 40-50 mg/kg ketamine, 2-5 mg/kg xylazine intramusküler olarak uygulandı ve sıçanlar anestezi altına alındı. Anestezi derinliği kontrol edilerek çift taraflı üç duvarlı kemik içi defektler maksiller birinci moların mezialine split mouth çalışma dizaynı ile daha

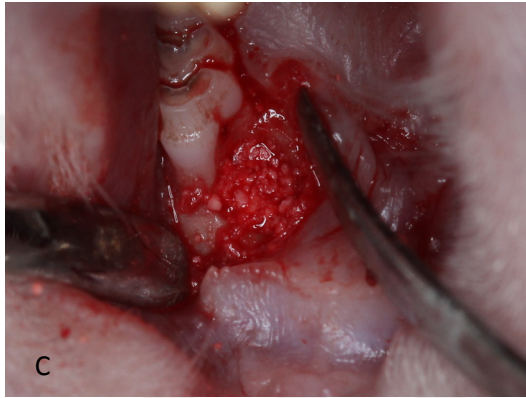
önceden tarif edildiği (168-171) şekilde oluşturuldu (Resim 3.6.A-D). İlk olarak cerrahi alandaki stresi ve kanamayı azaltmak için adrenalin içeren dental anestezi lokal infiltratif olarak uygulandı (Resim 3.6.A). Maksiller birinci molardan itibaren alveolar kret tepesi boyunca oluşturulan 3 milimetrelik tam kalınlık insizyonu (Resim 3.6.B) takiben kök yüzeyini ve çevre alveolar kemiği açığa çıkartmak için mukoperiostal flep kaldırıldı (Resim 3.6.C). Serum fizyolojik irrigasyonu altında düşük hızda piezoelektrik cihazı (Piezon Cerrahi Cihazı, EMS; SL 2 ucu, 1.7 mm) kullanılarak kök yüzeyi boyunca kritik boyut periodontal kemik defekti oluşturuldu. Daha az abraziv olan BC ucu ile kalan kemik, periodontal ligament ve sement dikkatli bir şekilde kaldırıldı. Bu uç ayrıca defektin kontur ve boyutunun (Genişlik x Uzunluk x Derinlik; 2 x 2 x 1.7 mm³) son haline getirilmesinde kullanıldı (Resim 3.6.D). Defektin kontur ve boyutları, periodontal sond ile sürekli kontrol edildi ve son boyutlar doğrulandı. Defektler split mouth çalışma dizaynında test (NanoBone+hBN) ve kontrol (NanoBone) grupları olmak üzere iki gruba ayrıldı. Sağ-sol maksiller defekt alanlarına test ve kontrol greftlerinin eşit şekilde dağıtılması sağlandı.

Test grubunda; defekt steril serum fizyolojik ile yıkandı ve steril gaz tamponlar yardımıyla kurulandı. Maksillanın bir tarafındaki defekt test grubu için hazırlanmış olan yaklaşık 0.01 mL NanoBone+hBN greft ile dolduruldu (Resim 3.7.B,D). Daha sonra flep greftin tamamını kapatacak şekilde pozisyonlandırıldı ve rezorbe olabilen suturlar ile dikildi (Şekil 3.8.E).

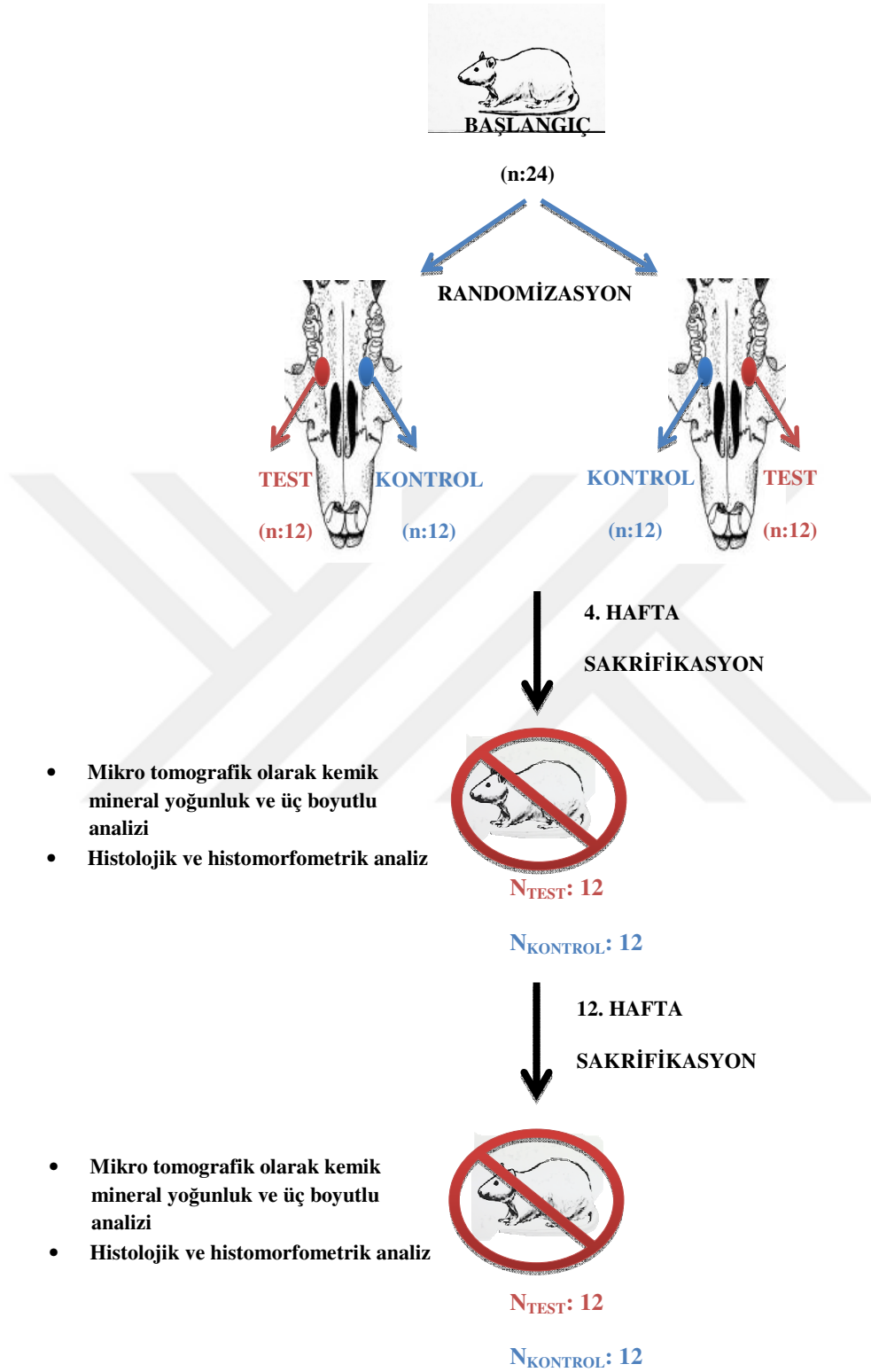
Kontrol grubunda; kemik içi defektler test grubu ile aynı şekilde oluşturuldu ve kontrol tarafı sadece yaklaşık 0.01 mL NanoBone içeren kontrol grefti ile dolduruldu (Resim 3.7.A,C). Son aşamaları da test grubu ile aynı şekilde gerçekleştirildi (Resim 3.7.E). Çalışma şeması Şekil 3.9'da özetlendi.



Resim 3. 6. Cerrahi Prosedür



Resim 3. 7. Cerrahi Prosedür (Devam)



Şekil 3.2. Çalışma Şeması

İki farklı greft materyalinin etkinliği 4. ve 12. haftada x-ray mikro tomografik, histolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirildi. Her bir zaman diliminde aşırı anestezi madde verilerek 1. ayda 12 sıçan ($n_{\text{test}}:12$, $n_{\text{kontrol}}:12$) ve 3. ayda 12 sıçan ($n_{\text{test}}:12$, $n_{\text{kontrol}}:12$) kurban edildi. Deneklerin üst çeneleri orta hattın ikiye ayrıldı ve iki taraflı defekt alanları birbirinden ayrıldı. Alınan örnekler fiksatif (%10 formalin) içine yerleştirildi. Histolojik ve histomorfometrik kesitler için örneklerin yarısı ($n_{\text{test}}:12$, $n_{\text{kontrol}}:12$) Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'na ve inceleme için Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'na, örneklerin diğer yarısı ($n_{\text{test}}:12$, $n_{\text{kontrol}}:12$) x-ray mikro tomografik tarama için İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'ne ve analiz için İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalı'na gönderildi.

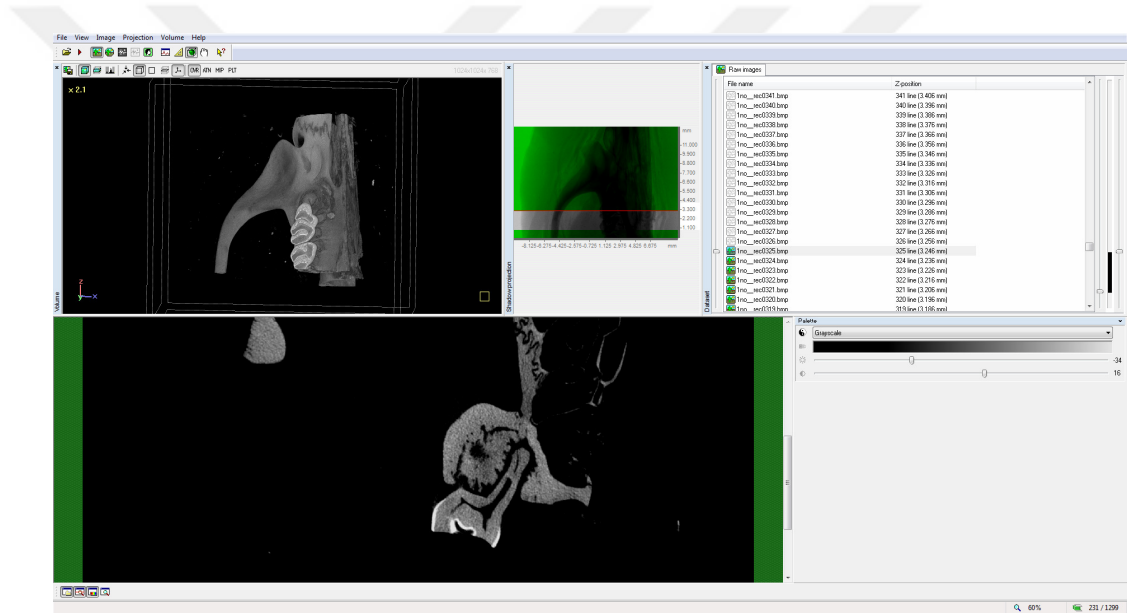
3.5. X-Ray Mikro Tomografi (M-CT) Değerlendirmeleri

Sakrifikasyondan sonra elde edilen sağ ve sol üst yarım çeneler, % 10'luk formaldehit solüsyonunda fiks edildi. Deneklerin 1. molar meziyo-bukkal ve meziyo-palatinal kökleri arasındaki defekt alanının mineral yoğunluğu M-CT yöntemi ile belirlendi. Rotasyonel tarama sırasında x ışın tüpü ile incelenen örnek arasındaki mesafenin değişmesini ve incelenen örneğin ekspoz alanının dışına çıkmasına neden olabilecek aksiyel konumlardaki sapmaları önlemek için sabitleme işlemi uygulandı. Bu işlem sırasında incelenen örneğin vertikal olarak olabildiğince merkezi, açılma yapmadan yerleştirilmesine dikkat edildi. Daha sonra tarama işlemine geçildi.

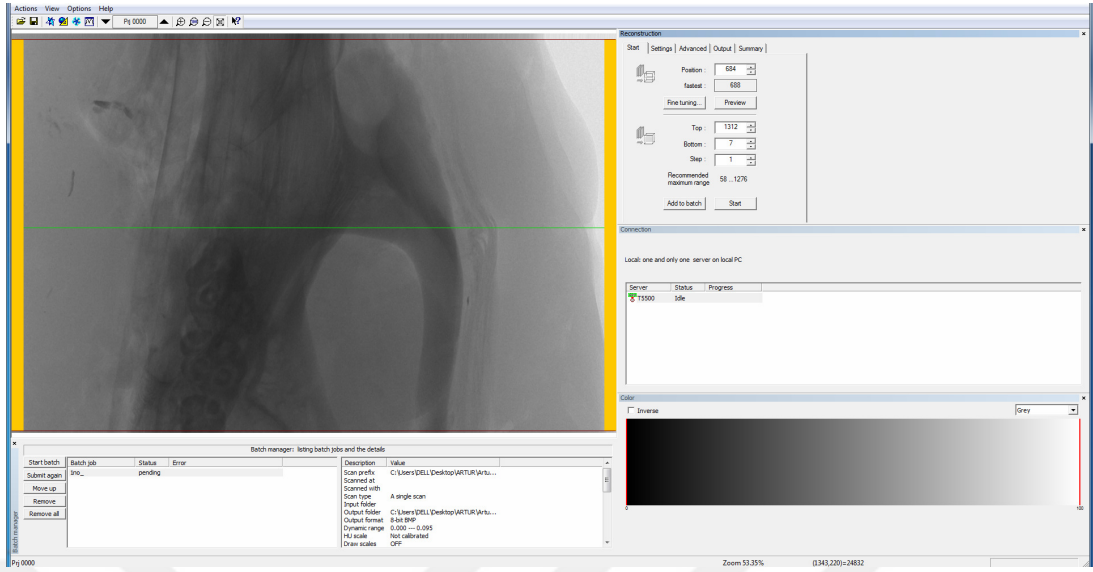


Resim 3. 8. Mikro tomografi Cihazı (SkyScan 1172, Belçika, 2012)

Örnekler SkyScan1172 Mikro CT (Kontich, Belçika) (Resim 3.8.) cihazına yerleştirilerek 100 kV ve 100 mA güç, 0,5 mm alüminyum filtre, 11 Mega Piksel kamera yardımıyla, her bir örnekten 10 mikron kalınlığında yaklaşık 1300 kesit alınarak tarandı. Örnekler 360⁰ rotasyon ile taranırken, rotasyon adımı 0.30⁰ olarak belirlendi. Kesitlerden alınan Digital Imaging and Communication in Medicine (DICOM) uyumlu görüntüler Bit Map Picture (BMP) formatına dönüştürüldü (Şekil 3. 3.). Mikro tomografi tarama sonrası elde edilen ham radyolojik verilerdeki görüntü kirlilikleri ve radyografik artefaktlar N Recon 1.6.9.4 SkyScan, Kontich, Belçika programı kullanılarak elimine edildi ve matematiksel analiz için hazır hale getirildi (Şekil 3. 4.).

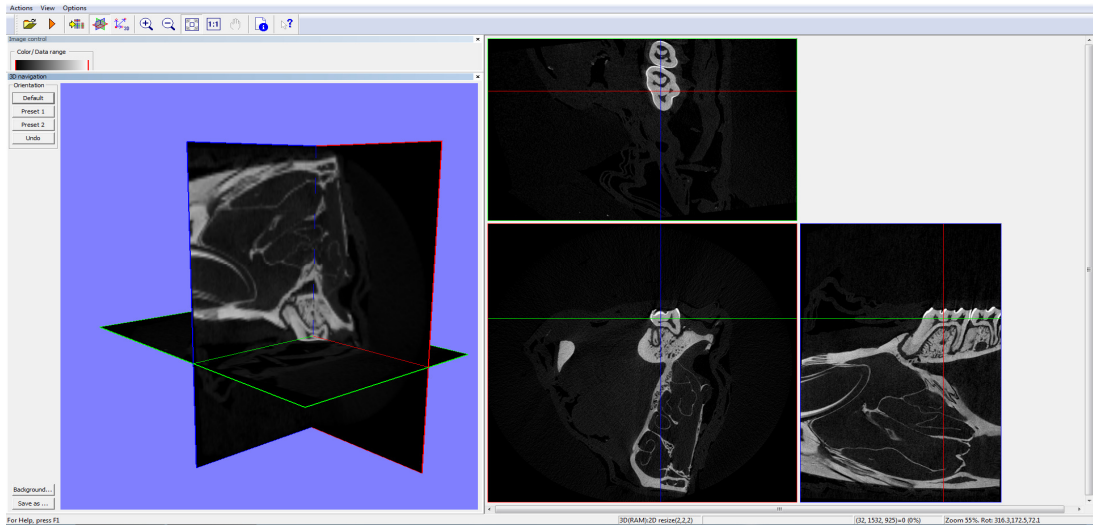


Şekil 3. 3. Kesitlerden Alınan DICOM Uyumlu Görüntüler



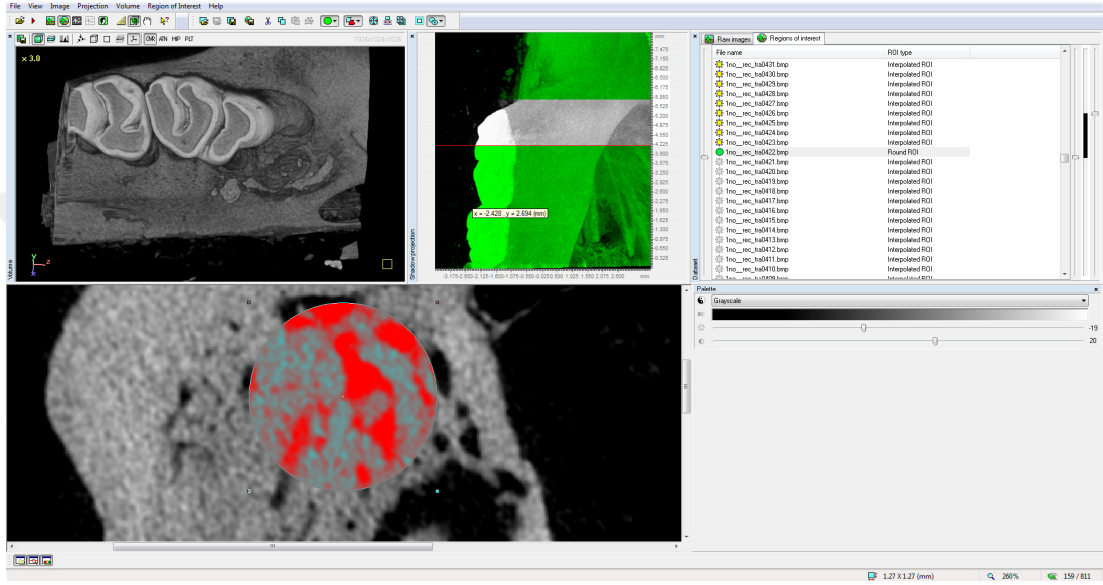
Şekil 3. 4. Kesitlerin Yapılandırma Öncesi N Recon Programıyla Elde Edilmiş Görüntüsü

İşlenen radyolojik görüntüler SkyScan Data Viewer 1.5.0 64 bit SkyScan, Kontich, Belçika programı kullanılarak uzayın her 3 düzleminde yeniden konumlandırıldı ve radyolojik görüntü alanları dışındaki alanlar uzaklaştırılarak boyutları matematiksel analizin daha hızlı yapılabilmesi için küçültüldü (Şekil 3. 5.).

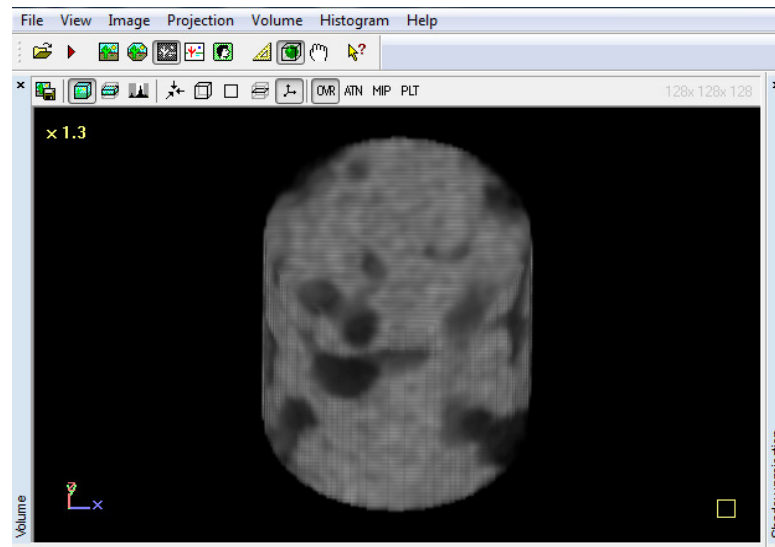


Şekil 3. 5. SkyScan Data Viewer Programı ile Görüntülerin Uzayın Üç Düzleminde Yeniden Konumlandırılması

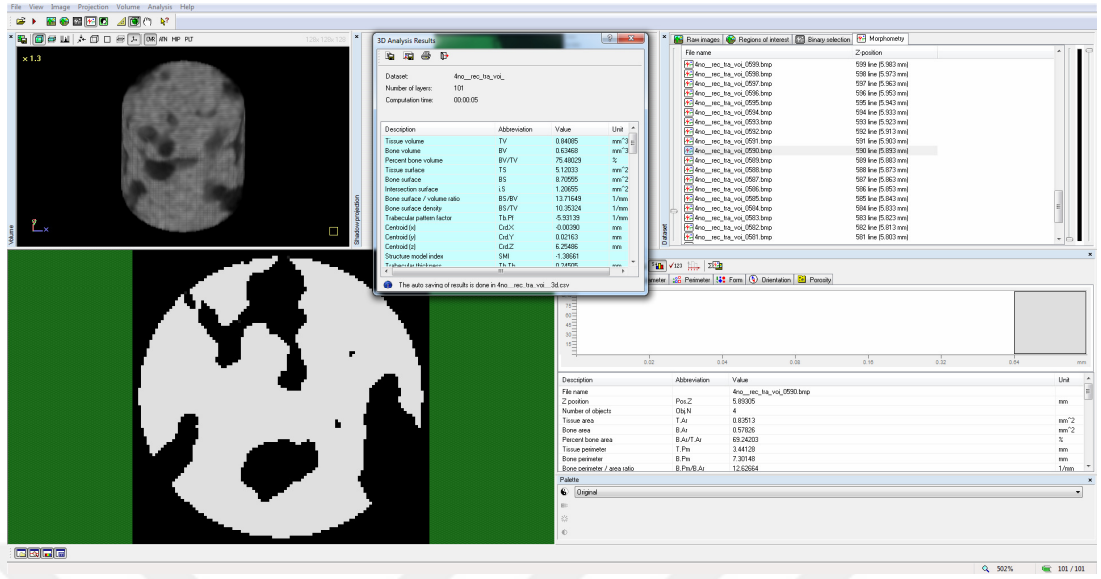
Elde edilen yeni veri serisi CT-AN 1.13.5.1 (SkyScan, Kontich, Belçika) programına yüklendi ve koronal kesitlerde defektin ve komşuluğundaki sağlam kemiğin ilk ve son kesitleri belirlendi. İlk olarak; CTAN programında Bölgesel Ayırıştırma (Region of Interest) fonksiyonu seçilerek defektin ve sağlam kemiğin ilgili bölgeleri belirlendi (Şekil 3. 6.) ve 1 mm x 1 mm’lik kesitler elde edildi (Şekil 3. 7.).



Şekil 3. 6. CTAN Programında Bölgesel Ayırıştırılmanın Yapılması

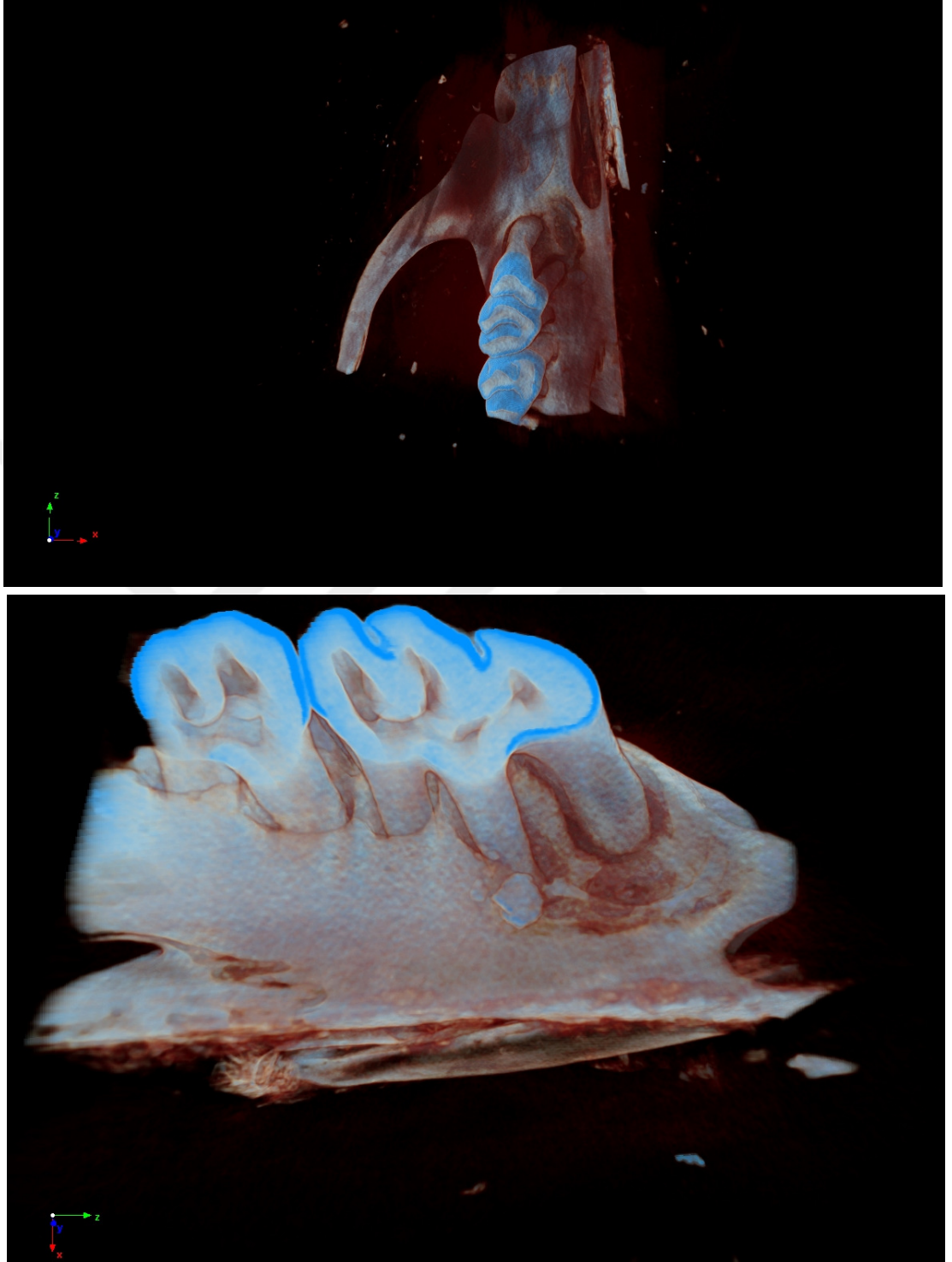


Şekil 3. 7. Defekt ve Sağlam Kemik Alanından 1 x 1 mm’lik Kesitlerin Eldesi

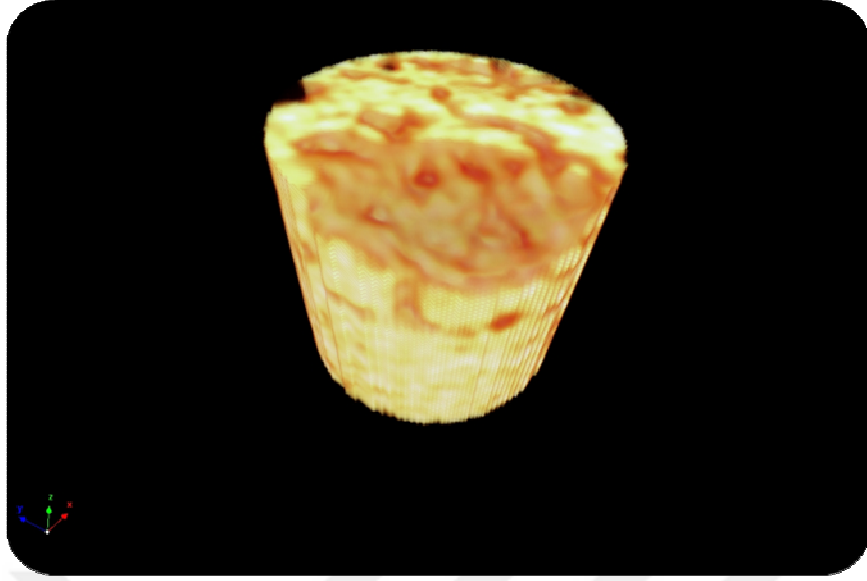


Şekil 3. 9. Morfometrik Verilerin Elde Edilmesi

Elde edilen radyolojik görüntü serisinin 3 boyutlu modelleri CT VOL 2.6.0 (SkyScan, Kontich, Belçika) kullanılarak oluşturuldu (Şekil 3. 10.).



Şekil 3. 10 CT VOL Programı Yardımıyla Radyolojik Görüntülerin 3 Boyutlu Elde Edilmesi



Şekil 3. 10 CT VOL programı yardımıyla radyolojik görüntülerin 3 boyutlu elde edilmesi (devam)

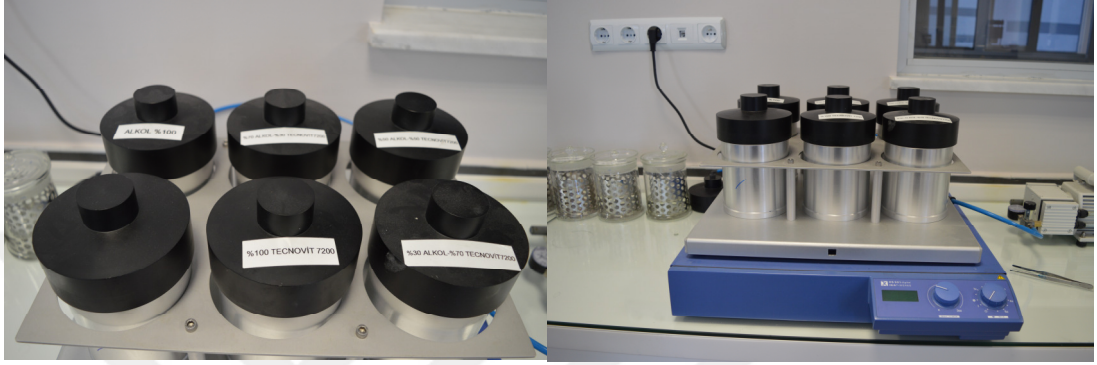
3.6. Histolojik Kesitlerin Eldesi

Kemik-greft dokusunu içeren dekalsifiye edilmemiş kesitler Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nda dekalsifiye edilmemiş kesit hazırlama metotuna göre hazırlandı (172, 173). Histolojik ve histomorfometrik değerlendirme için kemik-greft dokusu etraftaki sağlam kemik ile birlikte blok halinde çıkartıldı ve %4 nötral tamponlanmış formalin içeren solüsyonların içerisinde yerleştirildi. En az 24 saatlik fiksasyon süresinin ardından örnekler, %60, 80, 96 ve 100 oranlarında etanol içeren alkol havuzlarında birer gün süre ile tutularak dehidrate edildi (Resim 3.9.).



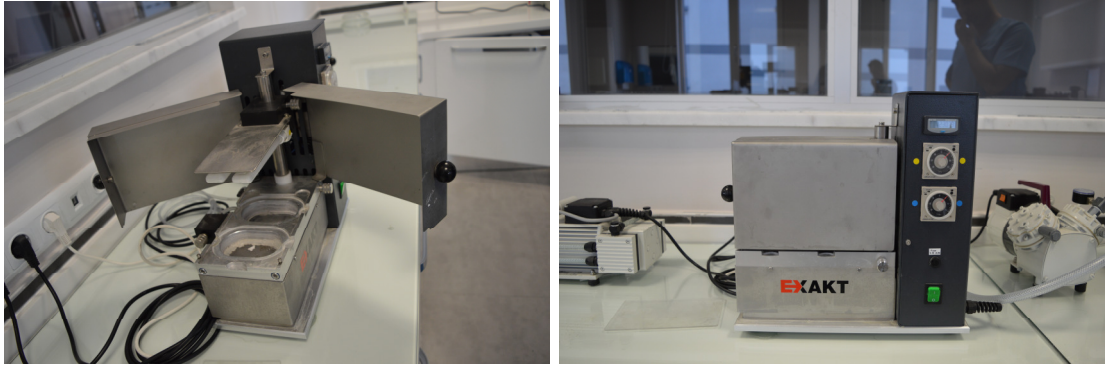
Resim 3. 9. Etanol içeren alkol havuzları

Dehidrate edilen örnekler sırasıyla; %30 metil metakrilat rezin (Technovit 7200) ve %70 alkol karışımı, %50 technovit 7200 rezin ve %50 alkol, %70 technovit 7200 rezin ve %30 alkol ve en sonunda da %100 technovit 7200 rezin içeren havuzda en az 24 saat bekletilerek vakum altında infiltre edildi (Resim 3.10., Technovit 7200 VLC, Kulzer & Co, Wehrheim, Almanya).



Resim 3. 10. Technovit ve alkol içeren havuzlar

Daha sonra, örnekler metil metakrilat (Technovit 7200 VLC, Kulzer & Co, Wehrheim, Almanya) içeren plastik kalıplar içerisine vakum altında hava kabarcığı kalmayacak şekilde gömüldü. Örnekleri içeren bu kutucuklar 40 °C’de, dalga boyu 450 nm olan ışık altında 8 saat süre ile polimerize edildi (Resim 3.11.).



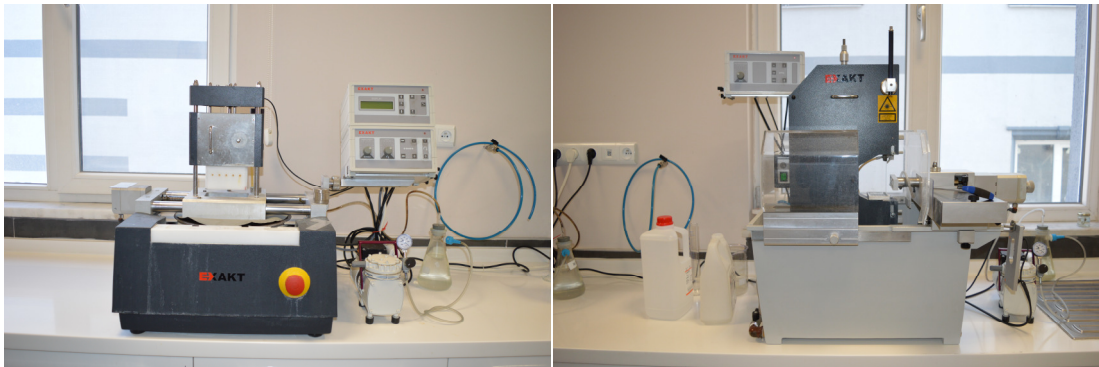
Resim 3. 11. Polimerizasyon işlemi

Tamamen sertleşmiş olan bloklar, ilk kesime hazırlamak ve paralel yüzey hazırlığını yapmak için şeffaf kutucuklardan çıkartıldı ve düz olan alt yüzey bir pleksiglas lam üzerine Technovit 7210 VLC (Kulzer & CO. GmbH, Friedrichsdorf, Almanya) kullanılarak vakum altında yapıştırıldı (Resim 3.12.).



Resim 3. 12. Technovit 7210 VLC

Lam üzerine yapıştırılmış bu örneklerden hassas kesme cihazına bağlı elmas testere (Exakt 300 CL, Exakt Apparaturbau, Norderstad, Almanya) ile 300-350 μm kalınlığında kesitler elde edildi. Bu kesitler, mikro aşındırma sistemine (Exakt 400 CS, Exakt Apparaturbau, Norderstad, Almanya) bağlı zımparalar ile 40 μm kalınlığına kadar inceltildi (Resim 3.13.). Her bir örnekten ikişer adet kesit elde edildi ve bu kesitler toluidine mavisi ile boyandıktan sonra kuruması için bir gece beklenildi. Daha sonra, metil metakrilat kullanılarak üzerleri lamel ile kapatıldı.



Resim 3. 13. Exakt 300 CL ve Exakt 400 CS

3.7. Histomorfolojik Analiz

Tüm kesitlerin histomorfometrik değerlendirmeleri Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. Yukarıdaki histoloji protokolünü takiben elde edilen hematoksilen eosin boyalı kesitlerde yara alanındaki yapısal değişiklikler ışık mikroskopu altında (Nikon ECLİPSSE 80i) incelenmiş ve ışık mikroskobuna bağlı dijital kamera yardımı ile kesitlerin dijital görüntüleri elde edildi. Görüntüler kişisel bilgisayara aktarıldı ve histomorfometrik analiz yapıldı. Kemik-greft alanlarının histomorfometrik analizinde aşağıdaki histomorfometrik ölçümler yapıldı:

- 1) Defekt içindeki yeni oluşan kemik yüzdesi
- 2) Defekt içindeki rezidüel (rezorbe olmadan kalan) greft yüzdesi
- 3) Epitelyal uzunluk

3.8. İstatiksel Analiz

Çalışmaya başlamadan önce bir gruba düşen minimum örnek sayısı Power analizi ile belirlendi. Buna göre gruplar arası 3 standart sapmalı puan değişimi dikkate alındığında $\alpha=0.01$ düzeyinde gerekli olan minimum denek sayısı 6 olarak belirlendi.

Araştırmada yer alan sıçanların ağırlıkları ve mikro tomografik ölçümlerin normal dağılıma uygunluğu grafiksel olarak ve Shapiro-Wilk's testi ile değerlendirildi. Ağırlıklar ortalama $\pm$ standart sapma ($\text{ort} \pm s$) ile; mikro tomografik ölçümler $\text{ort} \pm s$ ve ortanca (minimum-maksimum) ile ifade edilmiştir.

Gram ağırlıklarının başlangıç, birinci ay ve üçüncü ay ölçümlerinin karşılaştırılmasında tekrarlı ölçümler için varyans analizi kullanılmıştır. İkili karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır.

Mikro tomografik ölçümlerin grup içinde zamana göre (1. Ay ve 3. Ay) farklılığın incelenmesinde Wilcoxon testi, her bir ölçüm zamanında gruplar arası farklılığın incelenmesinde Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Grupların ikili karşılaştırmalarında Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edilmiştir.

İstatistiksel analizler ve hesaplamalar için IBM SPSS Statistics 21.0 (IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.) programı kullanılmıştır.



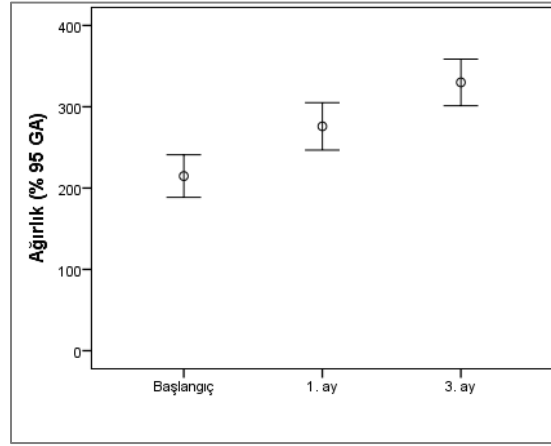
4. BULGULAR

Çalışmamızın amacı çift taraflı deneysel kemik içi defektlerin tedavisinde NkHA'e hBN'ün ilavesiyle periodontal rejenerasyondaki etkinliğinin mikro tomografik, histolojik ve histomorfometrik olarak incelemektir. Bu amaçla çalışmaya 24 sıçan dahil edildi ve tüm hayvanlara çift taraflı kemik içi defektler oluşturuldu. Rastgele olarak (yazı tura atarak) hayvanların bir tarafları kontrol diğer tarafları test grubu olarak belirlendi. Elde edilen bulgular dört başlık altında toplandı:

- Deney hayvanlarının genel bulguları,
- Mikro tomografik değerleri ile bulgular,
- Histolojik değerler ile ilgili bulgular,
- Histomorfometrik değerler ile ilgili bulgular.

4.1. Deney Hayvanlarının Genel Bulguları

Hayvanlara ait başlangıç, birinci ay ve üçüncü aya ait ağırlıkların ortalamaları $\pm$ standart sapma sırasıyla 214,750 $\pm$ 11,929 gram; 275,917 $\pm$ 13,243 gram ve 330,000 $\pm$ 13,030 gramdır. Gram ağırlıkları bakımından ikili karşılaştırmalar sonucunda birinci aya ait gram ağırlıklarının başlangıç durumuna göre artış gösterdiği ($p < 0,001$); benzer şekilde üçüncü aya ait gram ağırlıklarının başlangıç durumuna göre arttığı tespit edilmiştir ($p = 0,008$; Grafik 4.1.). Birinci ay gram ölçümleri ile üçüncü aya ait gram ölçümleri arasında farklılığın olmadığı saptanmıştır ($p = 0,081$). Deney süresi boyunca hayvanların ağırlıklarında sağlıklı bir artış gözlenmiş ve cerrahiye bağlı herhangi bir yan etki gözlenmemiştir.



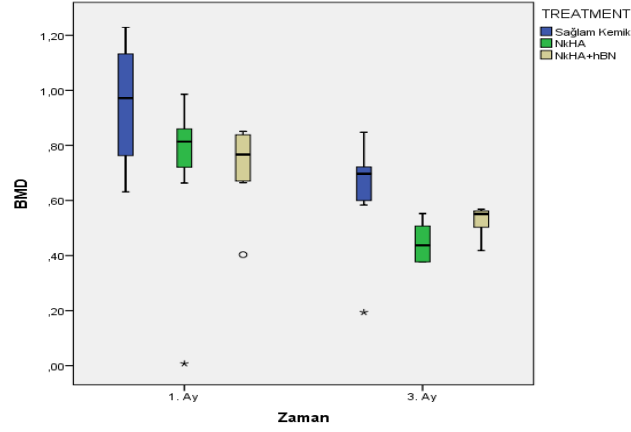
Grafik 4. 1. Zamana göre sıçanların ağırlık değişimi

4.2. Mikro tomografik Verilerin Değerlendirilmesi

Alınan doku örneklerdeki rejeneratif iyileşmenin değerlendirilmesi amacıyla kemik mineral yoğunluğu (KMY), doku hacmi (Tissue Volume=TV), kemik hacmi (Bone Volume=BV), kemik hacim fraksiyonu (BV/TV), trabeküler kalınlık (Tb.Th), trabeküler seperasyon (Tb.Sp) ve trabekül sayısı (Tb.N) parametreleri mikro tomografik olarak değerlendirilmiştir.

Birinci ay KMY ortancası sağlam (Kontrol 0), NkHA (Kontrol 1) ve NkHA+hBN (Test) grubunda sırasıyla $1,185 \text{ g.cm}^{-3}$ (min-maks: $1,005 - 1,232$); $1,133 \text{ g.cm}^{-3}$ (min-maks: $1,065 - 1,151$) ve $1,148 \text{ g.cm}^{-3}$ (min-maks: $1,052 - 1,180$) olarak hesaplanmıştır (Tablo 1.1). Birinci ay KMY ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p=0,011$); ikili karşılaştırma sonucunda Kontrol 0 grubunun ölçümlerinin Kontrol 1 grubuna göre daha yüksek olduğu; Test grubuyla diğer iki grup arasında istatistiksel bir fark olmadığı belirlenmiştir. Üçüncü ay KMY ortancası Kontrol 0, Kontrol 1 ve Test grubunda sırasıyla $0,873 \text{ g.cm}^{-3}$ (min-maks: $0,828 - 0,956$); $0,858 \text{ g.cm}^{-3}$ (min-maks: $0,853 - 0,871$) ve $0,859 \text{ g.cm}^{-3}$ (min-maks: $0,846 - 0,886$) olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.1). Üçüncü ay KMY ölçümleri bakımından gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p=0,513$).

Tüm gruplarda üçüncü ay KMY ölçümlerinin birinci ay ölçümlerine göre daha düşük olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Birinci ve üçüncü ay ölçümlerindeki değişimlerin gruplarda benzer olduğu görülmüştür ($p=0,372$) (Grafik 4.2.).



Grafik 4. 2. Zamana göre KMY değişimi

	Kontrol-0	Kontrol-1	Test	χ^2	p
KMY					
1. Ay				8,991	0,011
Ort±s	1,173 ± 0,061	1,124 ± 0,031	1,127 ± 0,051		
Ortanca	1,185 ¹	1,133 ¹	1,148		
(min-maks)	(1,005 – 1,232)	(1,065 – 1,151)	(1,052 – 1,180)		
3. Ay				1,333	0,513
Ort±s	0,881 ± 0,040	0,860 ± 0,006	0,862 ± 0,014		
Ortanca	0,873	0,858	0,859		
(min-maks)	(0,828 – 0,956)	(0,853 – 0,871)	(0,846 – 0,886)		
Z	3,059	2,201	2,201		
p	0,002	0,028	0,028		

¹ p<0,05

Tablo 4. 1. Mikro tomografik ölçümlerin grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması

Birinci ay TV ortancası Kontrol 0, Kontrol 1 ve Test grubunda sırasıyla 0,841 mm³ (min maks: 0,766 – 0,874); 0,841 mm³ (min-maks: 0,779 – 0,841) ve 0,841 mm³ (min-maks: 0,841 – 1,553) olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.2.). Birinci ay TV ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir (p=0,105). Üçüncü ay TV ortancası Kontrol 0, Kontrol 1 ve Test grubunda sırasıyla 0,841 mm³ (min maks: 0,841 – 2,043); 0,841 mm³ (min-maks: 0,808 – 0,841) ve 0,841 mm³ (min-maks: 0,841 – 0,841) olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.2.). Üçüncü ay TV ölçümleri bakımından gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir (p=0,018); ikili karşılaştırma sonucunda Kontrol 0 grubunun ölçümlerinin Kontrol 1 grubuna göre daha yüksek olduğu; Test grubuyla diğer iki grup arasında istatistiksel bir fark olmadığı belirlenmiştir.

Kontrol 0, Kontrol 1 ve Test gruplarında zamana göre TV ölçümlerinin benzer olduğu görülmüştür ($p>0,05$). Birinci ve üçüncü ay ölçümlerindeki değişimlerin gruplarda benzer olduğu saptanmıştır ($p=0,605$).

	Kontrol-0	Kontrol-1	Test	χ^2	p
TV					
1. Ay				4,504	0,105
Ort±s	0,842 ± 0,027	0,824 ± 0,027	0,959 ± 0,291		
Ortanca	0,841	0,841	0,841		
(min-maks)	(0,766 – 0,874)	(0,779 – 0,841)	(0,841 – 1,553)		
3. Ay				8,027	0,018
Ort±s	0,945 ± 0,346	0,834 ± 0,013	0,841±0,000		
Ortanca	0,841 ¹	0,841 ¹	0,841		
(min-maks)	(0,841 – 2,043)	(0,808 – 0,841)	(0,841 – 0,841)		
Z	0,704	0,730	1,000		
p	0,481	0,465	0,317		

¹ $p<0,05$

Tablo 4. 2. Mikro tomografik ölçümlerin grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması

Birinci ay BV ortancası Kontrol 0, Kontrol 1 ve Test grubunda sırasıyla 0,411 mm³ (min maks: 0,128 – 0,603); 0,471 mm³ (min-maks: 0,003 – 0,511) ve 0,430 mm³ (min-maks: 0,359 – 0,503) olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.3.). Birinci ay BV ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p=0,253$). Üçüncü ay BV ortancası Kontrol 0, Kontrol 1 ve Test grubunda sırasıyla 0,420 mm³ (min maks: 0,110 – 0,722); 0,132 mm³ (min-maks: 0,049 – 0,245) ve 0,211 mm³ (min-maks: 0,120 – 0,264) olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.3.). Üçüncü ay BV ölçümleri bakımından gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p=0,002$); ikili karşılaştırma sonucunda Kontrol 0 grubunun ölçümlerinin Kontrol 1 grubuna göre daha yüksek olduğu; Test grubuyla diğer iki grup arasında istatistiksel bir fark olmadığı belirlenmiştir.

Kontrol 1 ve Test gruplarında üçüncü ay BV ölçümlerinin birinci ay ölçümlerine göre daha düşük olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Kontrol 0 grubunda zamana göre BV ölçümlerinin benzer olduğu görülmüştür ($p=0,583$). Birinci ve üçüncü ay ölçümlerindeki değişimlerin gruplarda farklı olduğu saptanmıştır ($p=0,007$). Bu farklılığın Kontrol 1 ile Kontrol 0 gruplarının etkileşiminden kaynaklandığı tespit edilmiştir ($p=0,016$). Kontrol 0 grubunda üçüncü ay

ölçümlerinde birinci aya göre yükselme gözlenirken, Kontrol 1 grubunda üçüncü ayda birinci aya göre düşüş gözlenmiştir (Grafik 4.3.).

	Kontrol-0	Kontrol-1	Test	χ^2	p
BV					
1. Ay				2,748	0,253
Ort±s	0,359 ± 0,164	0,392 ± 0,194	0,431 ± 0,048		
Ortanca	0,411	0,471	0,430		
(min-maks)	(0,128 – 0,603)	(0,003 – 0,511)	(0,359 – 0,503)		
3. Ay				12,340	0,002
Ort±s	0,432 ± 0,196	0,134 ± 0,071	0,203 ± 0,064		
Ortanca	0,420 ¹	0,132 ¹	0,211		
(min-maks)	(0,110 – 0,722)	(0,049 – 0,245)	(0,120 – 0,264)		
Z	0,549	1,992	2,201		
p	0,583	0,046	0,028		

¹ p<0,05

Tablo 4. 3. Mikro tomografik ölçümlerin grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması

Birinci ay BV/TV ortancası Kontrol 0, Kontrol 1 ve Test grubunda sırasıyla % 48,798 (min maks: 15,024– 71,026); % 56,988 (min-maks: 0,394 – 63,451) ve % 49,652 (min-maks: 32,366 – 54,046) olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.4.). Birinci ay BV/TV ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir (p=0,277). Üçüncü ay BV/TV ortancası Kontrol 0, Kontrol 1 ve Test grubunda sırasıyla % 43,663 (min maks: 12,943 – 85,824); % 15,774 (min-maks: 5,817 – 29,102) ve % 25,080 (min-maks: 14,228 – 31,434) olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.4.). Üçüncü ay BV/TV ölçümleri bakımından gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir (p=0,002); ikili karşılaştırma sonucunda Kontrol 0 grubunun ölçümlerinin Kontrol 1 grubuna göre daha yüksek olduğu; Test grubuyla diğer iki grup arasında istatistiksel bir fark olmadığı belirlenmiştir.

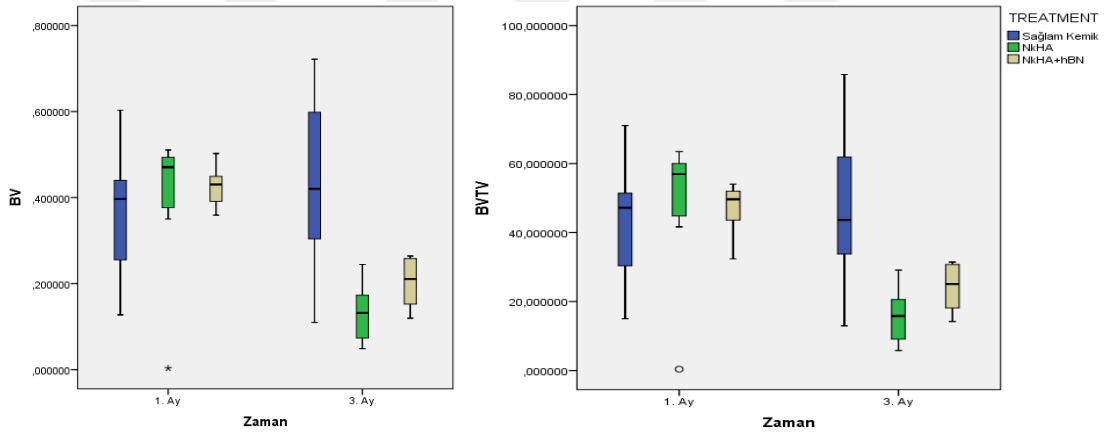
Kontrol 1 ve Test gruplarında üçüncü ay BV/TV ölçümlerinin birinci ay ölçümlerine göre daha düşük olduğu saptanmıştır (p<0,05). Kontrol 0 grubunda zamana göre BV/TV ölçümlerinin benzer olduğu görülmüştür (p=0,754). Birinci ve üçüncü ay ölçümlerindeki değişimlerin gruplarda farklı olduğu saptanmıştır (p=0,008). Bu farklılığın Kontrol 1 ile Kontrol 0 gruplarından kaynaklandığı tespit edilmiştir (p=0,010). Kontrol 0 grubunda üçüncü ay ölçümlerinde birinci ay ölçümlerine göre yükselme gözlenirken Kontrol 1 grubunda üçüncü ayda birinci aya

göre düşüş gözlenmiştir (Grafik 4.3.).

	Kontrol-0	Kontrol-1	Test	χ^2	p
BV/TV					
1. Ay				2,570	0,277
Ort±s	42,622 ± 19,301	47,843 ± 23,872	46,683 ± 7,992		
Ortanca	48,798	56,988	49,652		
(min-maks)	(15,025 – 71,026)	(0,394 – 63,451)	(32,366 – 54,046)		
3. Ay				12,173	0,002
Ort±s	47,138 ± 21,397	16,025 ± 8,441	24,114 ± 7,607		
Ortanca	43,663 ¹	15,774 ¹	25,080		
(min-maks)	(12,943 – 85,824)	(5,817 – 29,102)	(14,228 – 31,434)		
Z	0,314	1,992	2,201		
p	0,754	0,046	0,028		

¹ p<0,05

Tablo 4. 4 Mikro tomografik ölçümlerin grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması



Grafik 4. 3. Zamana göre BV ve BV/TV değişimi

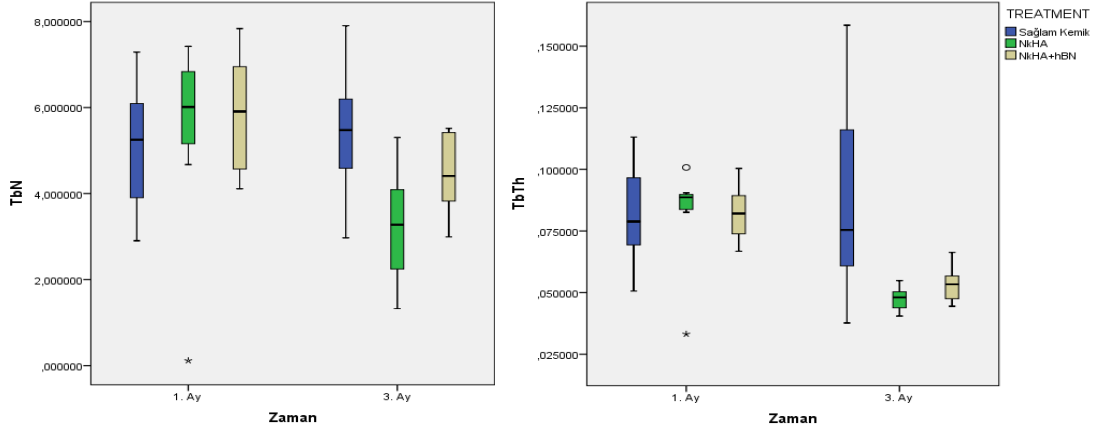
Birinci ay Tb.Th ortancası Kontrol 0, Kontrol 1 ve Test grubunda sırasıyla 0,079 mm (min-maks: 0,051– 0,113); 0,087 mm (min-maks: 0,033 – 0,090) ve 0,082 mm (min-maks: 0,069 – 0,100) olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.5.). Grupların birinci ay Tb.Th ölçümlerine göre benzer olduğu tespit edilmiştir (p=0,592). Üçüncü ay Tb.Th ortancası Kontrol 0, Kontrol 1 ve Test grubunda sırasıyla 0,075 mm (min maks: 0,038 – 0,159); 0,048 mm (min-maks: 0,040 – 0,055) ve 0,053 mm (min-maks: 0,044 – 0,066) olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.5.). Üçüncü ay Tb.Th ölçümleri bakımından gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir (p=0,014); ikili karşılaştırma sonucunda Kontrol 0 grubunun ölçümlerinin

Kontrol 1 grubuna göre daha yüksek olduğu; Test grubuyla diğer iki grup arasında istatistiksel bir fark olmadığı belirlenmiştir.

Kontrol 1 ve Test gruplarında üçüncü ay Tb.Th ölçümlerinin birinci ay ölçümlerine göre daha düşük olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Kontrol 0 grubunda zamana göre Tb.Th ölçümlerinin benzer olduğu görülmüştür ($p=0,937$). Birinci ve üçüncü ay ölçümlerindeki değişimlerin gruplarda farklı olduğu saptanmasına rağmen ($p=0,048$), gruplar arasında herhangi bir farklılığın olmadığı gözlenmiştir ($p>0,05$) (Grafik 4.4.).

Birinci ay Tb.N ortancası Kontrol 0, Kontrol 1 ve Test grubunda sırasıyla $5,495 \text{ mm}^{-1}$ (min maks: 2,904– 7,289); $6,353 \text{ mm}^{-1}$ (min-maks: 0,119 – 7,422) ve $5,909 \text{ mm}^{-1}$ (min-maks: 4,112 – 7,013) olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.5.). Birinci ay Tb.N ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p=0,338$). Üçüncü ay Tb.N ortancası Kontrol 0, Kontrol 1 ve Test grubunda sırasıyla $5,476 \text{ mm}^{-1}$ (min maks: 2,972 – 7,902); $3,277 \text{ mm}^{-1}$ (min-maks: 1,326 – 5,303) ve $4,409 \text{ mm}^{-1}$ (min-maks: 2,994 – 5,517) olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.5.). Üçüncü ay Tb.N ölçümleri bakımından gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p=0,021$); ikili karşılaştırma sonucunda Kontrol 0 grubunun ölçümlerinin Kontrol 1 grubuna göre daha yüksek olduğu; Test grubuyla diğer iki grup arasında istatistiksel bir fark olmadığı belirlenmiştir.

Test grubunda üçüncü ay Tb.N ölçümlerinin birinci ay ölçümlerine göre daha düşük olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Kontrol 0 ve Kontrol 1 gruplarında zamana göre Tb.N ölçümlerinin benzer olduğu görülmüştür ($p>0,05$). Birinci ve üçüncü ay ölçümlerindeki değişimlerin gruplarda farklı olduğu saptanmıştır ($p=0,015$). Kontrol 0 grubunda üçüncü ay ölçümlerinde yükseliş gözlenmiş; Kontrol 1 grubunda ise zaman göre değişim azalma yönünde olmuştur ($p=0,023$) (Grafik 4.4.).



Grafik 4. 4. Zamana göre Tb.Th ve Tb.N değişimi

Birinci ay Tb.Sp ortancası Kontrol 0, Kontrol 1 ve Test grubunda sırasıyla 0,136 mm (min-maks: 0,055– 0,241); 0,118 mm (min-maks: 0,090 – 0,707) ve 0,124 mm (min-maks: 0,093 – 0,247) olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.5.). Birinci ay Tb.Sp ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p=0,823$). Üçüncü ay Tb.Sp ortancası Kontrol 0, Kontrol 1 ve Test grubunda sırasıyla 0,090 mm (min maks: 0,037 – 0,360); 0,161 mm (min-maks: 0,111 – 0,211) ve 0,129 mm (min-maks: 0,110 – 0,171) olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.5.). Üçüncü ay Tb.Sp ölçümleri bakımından gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p=0,009$); ikili karşılaştırma sonucunda Kontrol 0 grubunun ölçümlerinin Kontrol 1 grubuna göre daha düşük olduğu; Test grubuyla diğer iki grup arasında istatistiksel bir fark olmadığı belirlenmiştir.

Kontrol 0, Kontrol 1 ve Test gruplarında zamana göre Tb.Sp ölçümlerinin benzer olduğu görülmüştür ($p>0,05$). Birinci ve üçüncü ay ölçümlerindeki değişimlerin gruplarda benzer olduğu saptanmıştır ($p=0,363$).

	Kontrol-0	Kontrol-1	Test	χ^2	p
TbTh					
1. Ay				1,049	0,592
Ort±s	0,080 ± 0,021	0,078 ± 0,022	0,083 ± 0,011		
Ortanca (min-maks)	0,079 (0,051 – 0,113)	0,087 (0,033 – 0,090)	0,082 (0,069 – 0,100)		
3. Ay				8,487	0,014
Ort±s	0,089 ± 0,040	0,048 ± 0,005	0,054 ± 0,008		
Ortanca (min-maks)	0,075 ¹ (0,038 – 0,159)	0,048 ¹ (0,040 – 0,055)	0,053 (0,044 – 0,066)		
Z	0,078	1,992	2,201		
p	0,937	0,046	0,028		
TbN					
1. Ay				2,168	0,338
Ort±s	5,114 ± 1,556	5,512 ± 2,720	5,681 ± 1,251		
Ortanca (min-maks)	5,495 (2,904 – 7,289)	6,353 (0,119 – 7,422)	5,909 (4,112 – 7,013)		
3. Ay				7,765	0,021
Ort±s	5,393 ± 1,400	3,254 ± 1,421	4,429 ± 0,980		
Ortanca (min-maks)	5,476 ¹ (2,972 – 7,902)	3,277 ¹ (1,326 – 5,303)	4,409 (2,994 – 5,517)		
Z	0,941	1,782	2,201		
p	0,347	0,075	0,028		
TbSp					
1. Ay				0,389	0,823
Ort±s	0,143 ± 0,072	0,211 ± 0,244	0,139 ± 0,055		
Ortanca (min-maks)	0,136 (0,055 – 0,241)	0,118 (0,090 – 0,707)	0,124 (0,093 – 0,247)		
3. Ay				9,440	0,009
Ort±s	0,111 ± 0,083	0,159 ± 0,038	0,134 ± 0,021		
Ortanca (min-maks)	0,090 ¹ (0,037 – 0,360)	0,161 ¹ (0,111 – 0,211)	0,129 (0,110 – 0,171)		
Z	0,941	0,734	0,734		
p	0,347	0,463	0,463		

¹ p<0,05

Tablo 4. 5. Mikro tomografik ölçümlerin grupiçi ve gruplar arasında karşılaştırılması

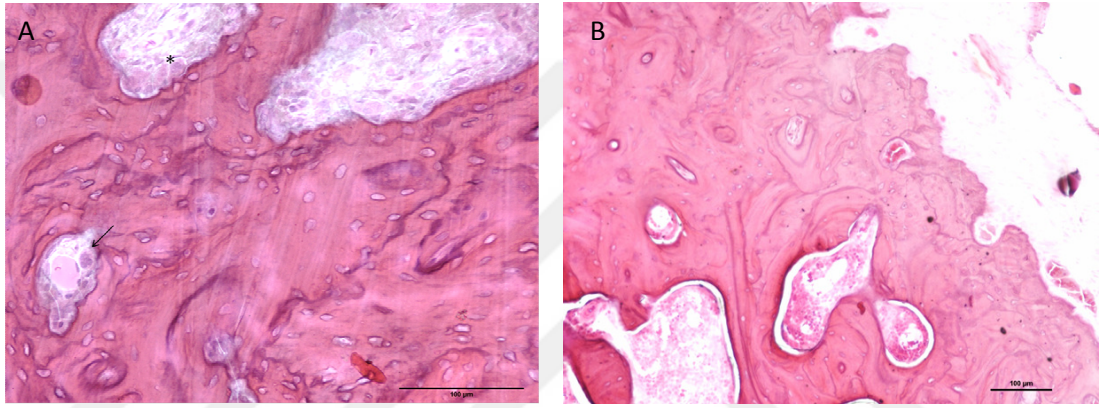
4.3. Histolojik Değerler İle İlgili Bulgular

Elde edilen kesitler incelendiğinde tüm gruplarda hasarlı alveolar kemik dokusunda iyileşme ve kemikleşme izlenmiştir. Gruplar arasında iyileşme açısından histopatolojik olarak fark saptanmamıştır. Ayrıca hasar oluşturulan dişeti dokusunun da iyileştiği epitel bütünlüğünün sağlandığı görülmüştür.

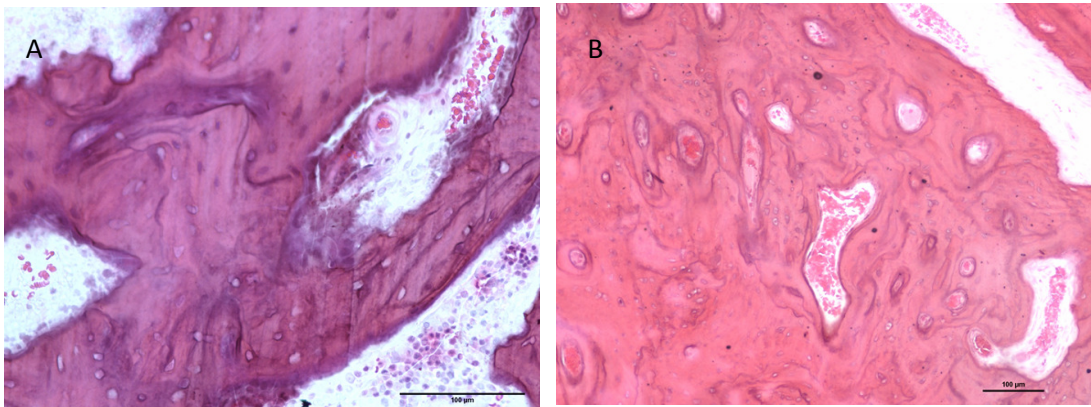
Hem test hem kontrol grubunda 1. ayda enflamatuvar hücre artışı izlenmiştir. Bu durum hasar sonucu ilk akut evrede hasar bölgesinde oluşan enflamatuvar hücre artışı ile açıklanabilmektedir. Kontrol grubunun 1. aylık verilerinde osteoklastik ve osteoblastik aktivitenin arttığı, bununda kemik iyileşmesinin başlangıç evrelerinde görülebildiği bilinmektedir. Test grubunda da iyileşmenin tamamlandığı izlenmiştir. Aktif osteoblast ve osteoklastların 3 aylık evrede daha az görülmesi kemik iyileşmesinin büyük oranda gerçekleştiğini düşündürmektedir.

4.4. Histomorfometrik Değerler İle ilgili Bulgular

Kesitlerin hepsinde tam bir iyileşme gözlemlendiği için defekt alanı ayrımı yapılamamıştır. Bu sebeple histomorfometrik olarak değerlendirilen; yeni kemik oluşumu %100 olarak kabul edilmektedir ve gruplar arasında herhangi bir fark yoktur. Defektler tamamen iyileştiği için rezorbe olmayan herhangi bir greft partikülünde kesitlerde gözlenmemiştir. Diğer histomorfometrik parametremiz olan epitelyal uzunluk ölçümünde de herhangi bir patoloji gözlenmemiş ve bütün kesitler rejenerasyona uygun olarak iyileşme göstermiştir.



Resim 4. 1. (A) NkHA uygulanan 1 aylık grupta osteoblast (*) ve osteoklast (ok) ve yeni alveolar kemikleşme alanları 20x (200 kez büyütülmüş veya bar 100mm), (B) 3 aylık NkHA grubunda kemikleşme alanları



Resim 4. 2. (A) 1 aylık hBN+NkHA uygulanan kemik boşluklarında PMNL hücreleri, (B) 3 aylık hBN+NkHA grubunda kemikleşme alanları x10 (100 kat büyütme)

5. TARTIŞMA

Periodontal tedavi, hastalığa sebep olan mikrobiyal dental plağın ortadan kaldırılmasını ve dolayısıyla içinde barındırdığı patojen mikroorganizmaların kontrol altına alınmasını, dişeti, alveol kemiği, periodontal ligament ve sementten oluşan periodonsiyumun fonksiyonel ve morfolojik olarak yeniden yapılandırılmasını ve dokuların hastalanmadan önceki yapısına benzer şekilde rejenerasyonunu hedeflemektedir (65, 174, 175). Bu şekilde periodontal hastalık nedeniyle kaybedilmiş fonksiyon ve estetik yeniden sağlanırken, hastaların yeterli ve etkin ağız bakımı yapabilecekleri anatomik yapı da yeniden oluşturulmaktadır (176).

Periodontal hastalık neticesinde oluşan kemik kayıplarının prevalansını inceleyen çalışmalarda kemik içi defektlerin en sık karşılaşılan problemlerden biri olduğu bildirilmiştir (41, 177-179). Tedavide seçilen materyaller dışında, defekt karakteristiği olarak nitelendirilen defekt açısı ve derinliği, defekt duvar sayısı, rejenerasyon istenen bölgede oluşturulan boşluk hacmi ve sağlıklı periodonsiyum miktarı periodontal rejenerasyonun başarısını etkileyen faktörlerdendir (42, 180, 181). Defekt açısı daraldıkça ve defekt derinleştikçe, daha fazla miktarda kemik kazancı elde edildiği bildirilmektedir (180, 182). Duvar sayısı azaldıkça, destek dokunun azalmasına bağlı olarak kemik kaynaklı hücrelerin azaldığı ve periodontal ligament hücrelerinin defekt içine göç edemediği belirtilmiştir (183). Yapılan çalışmalarda, 3 duvarlı defektlerin en iyi rejeneratif potansiyele sahip oldukları, 1 ve 2 duvarlı kemik içi defektlerin ise rejenerasyon kapasitesinin düşük olduğunun altı çizilmiştir (184-188). Bu bilgiler ışığında biz de çalışmamızı bireylere özgü yaş, cinsiyet, kemik rejenerasyon potansiyeli gibi değişkenlerin yaratacağı sorunların elimine edilmesi böylece çalışmanın standardizasyonunun sağlanması için deney hayvanlarında oluşturulan 3 duvarlı kemik içi defektlerde uygulamayı seçtik.

Periodontal hastalık sonucu oluşmuş kemik içi defektlerin tedavisinde, hBN ile güçlendirilmiş NkHA'nın etkinliğinin incelendiği bu çalışmamızda aynı deney hayvanı hem test hem de kontrol grubu olarak kullanılmış, bu sayede kişiden kişiye farklılık gösterebilecek çeşitli değişkenlerin yaratacağı sorunlar elimine edilmiş ve çalışmanın standardizasyonu sağlanmıştır. Sağ ve sol tarafta oluşturulan kemik içi

defektlerin bir tarafına NkHA, diğer tarafa ise hBN+NkHA greft materyalinin uygulanmasının, hBN ile güçlendirilmiş NkHA'nın periodontal rejenerasyon üzerine olası etkinliğinin incelenmesinde uygun bir metot olacağı düşünülmüştür. Konuyla ilgili literatür incelendiğinde, sıçanlar üzerinde gerçekleştirilen bu çalışma modelinin pek çok araştırmacı tarafından benimsendiği görülmektedir (168-171).

Bu çalışma modelinde sıçan seçilmesinde:

- Bilimsel taksonomide memeliler sınıfında olması ve insana genetik ve moleküler açıdan birçok protein benzerliğinin bulunması,
- Vücut olarak küçük olması yani fazla yer kaplamaması böylece rahat müdahale edilebilmesi,
- Bütçe olarak masraflı olmayıp yeterli sayıda temin edilebilme kolaylığı,
- Bölgede rejenerasyonu değerlendirebileceğimiz dokuların bulunması,
- Bireye özgü farklılıkların ortadan kaldırılması,
- Kontrol ve test gruplarının çift taraflı olarak kullanılabilmesine bağlı deney hayvanı sayısının en az da tutulabilmesi,
- Deney koşullarının standardize edilebilmesi,
- Deneylerin tekrarlanabilir olması,
- Planlanan parametrelerin basit ve hassas bir şekilde değerlendirilebilir olması önemli rol oynamıştır.

Yukarıdaki bilgiler ışığında çalışmamızı sıçanlar üzerinde gerçekleştirmeye karar verdikten sonra hayvanlarımızın yaş aralığı, oluşturulacak olan 3 duvarlı kemik defektinin boyutları, bekleme zamanları gibi kriterler belirlenmiştir. Doğumdan 12 hafta sonra sıçanların juvenile kemik büyümesi durmaktadır. Bu durum deneysel modellerde yeni kemik oluşumunun takibinde kemik büyümesinden ziyade kemik iyileşmesi hakkında bilgi vermektedir. Burdan yola çıkarak biz de çalışmamızda kemik içi defektlerin periodontal rejenerasyonunu değerlendirebilmek için 12 haftalık sıçan kullandık (189, 190).

Kritik boyuttaki defekt canlının hayatı boyunca herhangi bir dış etken olmadan canlının yaşam süresi boyunca tamamen kendi kendine iyileşme kapasitesine sahip olmayan boyuttaki kemik defektleri olarak tanımlanmaktadır.

Literatürde bu boyut 4-5 mm olarak kabul edilmiştir. Ne var ki deney hayvanlarının doğal yollardan ölümü beklenmediğinden ve kullanılan hayvanların cins, yaş ve boyutlarına bağlı olarak iyileşme kapasiteleri değişiklik gösterebileceğinden çalışmalarda kritik boyuttaki defekt çalışma süresi boyunca tamamen kendi kendisine iyileşemeyecek defektler olarak kabul edilmektedir (191-193). Kemik içi defektlerde periodontal rejenerasyonun değerlendirildiği çalışmalar incelendiğinde 2 x 2 x 1.7 mm³ boyutundaki defektlere uygulanmış greft materyallerinin gözlem süresince iyileşmeye katkıda bulunduğu görülmüştür. Bu verilere paralel olarak sıçan üst çenesinde hazırlanacak olan kritik boyuttaki kemik içi defektin 2 x 2 x 1.7 mm³ olmasına karar verilmiştir (168-171).

Literatürde kritik boyuttaki kemik defektleri deneklerin sakrifikasyon dönemine kadar iyileşme gösteremeyecek boyuttaki defektler olarak kabul edildiği için gözlem sürelerinin belirlenmesi de önem kazanmaktadır. Kullanılan kemik içi defekt modelinden yararlanan çalışmalar incelendiğinde gözlem sürelerinin maksimum 6 hafta olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda gözlem süreleri 4 ve 12 haftadır. Mikro tomografik ve histolojik olarak incelendiğinde kemik defektlerinde 4. haftadan itibaren iyileşmenin meydana geldiği gözlenmiştir. Uzun dönem iyileşme için beklediğimiz 12. haftada ise, yine rejeneratif iyileşmenin olduğu ancak yaşlanma ile uyumlu olarak mineralizasyonda azalmanın başladığı görülmüştür. Bu sebeple 2 x 2 x 1.7 mm³'lük kemik defektlerinin uzun dönemli incelemeler için uygun olmadığını düşünüyoruz.

Rejeneratif periodontal tedavi sonuçlarının değerlendirilmesinde, operasyon sonrası geçen zaman büyük önem taşımaktadır. Tedavi sonrası değişen yumuşak ve sert doku parametrelerinin anlamlı şekilde değerlendirilebilmesi için tedavi sonrası belirli bir süre geçmelidir (175). Literatürde kemik iyileşmesinin değerlendirilmesiyle ilgili çok farklı sakrifikasyon zamanları bulunmaktadır. Kullanılan greft materyalinin 5. haftadan itibaren belirgin kemikleşme göstermeye başladığı 12. haftada greft partiküllerinin tamamen rezorbe olarak yerini olgun kemiğe bıraktığı gözlenmiştir (104, 194). Bu sebeple biz de çalışmamızın gözlem sürelerinin 4 ve 12 hafta olmasına karar verdik. Periodontal rejenerasyonun değerlendirildiği bu çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak 4. haftada büyük

oranda defektin yeni kemik ile dolduğu ve 12. haftada tamamen kemikleşme olduğu gözlenmiştir. Her iki greft materyalinin de kemik içi defektlerin cerrahi tedavisinde başarıyla kullanılabilecek materyaller olduğu düşünülmektedir.

Periodontal hastalık sonucu oluşan kemik içi defektler cerrahi olmayan yaklaşımlarla tedavi edildikten sonra da varlıklarını korumakta ve ataşman kaybı zaman içerisinde devam etmektedir (195-197). Bu tip defektler klasik cerrahi yaklaşımlarla tedavi edildiklerinde enflamasyon çözülmekte ve hastalığın ilerlemesi durdurulmaktadır. Ancak gerçekleşen iyileşme daha kolay bozulabilecek tamir ve uzun bağlantı epiteli şeklinde meydana gelmekte ve estetik problemlere yol açabilmektedir (198-201). Bu sonuçlar zaman içerisinde yeni tedavi yaklaşımlarının ortaya çıkmasına neden olmuştur. Kemik greftlerinin kullanımı ile elde edilen veriler bu hedefe yaklaşıldığını göstermektedir. Geçmişten günümüze kadar periodontal rejenerasyona yönelik olarak yapılan çalışmalar ile ideal biyomateryal elde edilmeye çalışılmış; bu amaçla otogreftler, allogreftler, ksenogreftler ve alloplastik greftler sıklıkla kullanılmıştır.

Spontan olarak fizyolojik yara iyileşmesi mekanizmasıyla iyileşmesi mümkün olmayan kritik boyutu aşan defektlerin rekonstrüksiyonunda otojen kemik greftleri sıklıkla kullanılmaktadır. Otojen kemik grefti; immun reaksiyonlara sebep olmaması, alıcı sahada minimal antikor cevap oluşturmaması, greft partikülleri etrafında kısa sürede yüksek oranlarda damarlanma meydana getirmesi ve bu nedenle defekt bölgesinde artmış osteoblastik aktivite göstermesi, karsinogenezis riski taşıması gibi özelliklerinden dolayı altın standart olarak kabul edilmektedir (53, 54). Ancak ek bir cerrahi işleme ihtiyaç duyulması ve hastada ikinci bir operasyon sahasının açılması, ilave zaman gerektirmesi, yeterli miktarda greftin elde edilme güçlüğü, kemik alınabilecek bölgelerin sınırlı olması ve hastada operasyon sonrasında komplikasyonlar oluşması ve morbidite artışı görülmesi, operasyon sonrasında oluşabilecek rezorpsiyon miktarının önceden tahmin edilememesi gibi dezavantajlara sahip olması araştırmacıları otojen kemik greftlerine yeni alternatifler geliştirmeye yöneltmiştir (45, 59, 60).

Son dekatta, periodontal cerrahide sentetik olarak üretilmiş inorganik bir kemik greft materyali olan alloplastların popülaritesi artmıştır. Enfeksiyon ve kontaminasyon riski taşıması, düşük maliyetle istenildiği kadar elde edilmesi ve

kolay manipölasyon özellikleri sayesinde alloplastik materyaller, günümüzde sert doku defektlerinin onarımında yaygın olarak kullanılmaktadır (76, 88-90). Günümüzde bu amaçla kullanılan en yaygın alloplastik kemik greft materyalleri hidroksiapatitler, trikalsiyum bileşikler ve bu materyallerin gözenekli formlarının çeşitli oranlardaki kombinasyonlarıdır (76).

Kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda uzun yıllardır başarıyla kullanılan alloplastik materyallerinden biri de Hidroksiapatit (HA)'tir. Bugüne kadar gerçekleştirilen pek çok insan ve hayvan çalışmasında, HA'nın biyouyumluluğunun oldukça iyi olduğu, özellikle granüler formunda yüksek derecede osteokondüktif özellik gösterdiği bildirilmiştir (202, 203). Buna ek olarak kimi çalışmalarda, HA poroz formda kullanıldığında (202, 204) ve osteoblast diferansiyasyonu ve aktivasyonunu arttıran maddeler ile karıştırılarak uygulandığında (203, 205, 206), kemik formasyonu ve osseointegrasyon seviyelerinde bir artış olduğu ifade edilmektedir.

Hidroksiapatitin kırılma yüzey özellikleri ve geç rezorbe olması gibi dezavantajları nedeniyle iki materyalin kombinasyon formlarının kullanılması günümüzde yaygınlık kazanmıştır. Bu konuda umut vadeden materyallerden bir tanesi de hegzagonal bor nitridlerdir. Hegzagonal bor nitridler (hBN) fraktür veya yaralanma durumlarında kemik rejenerasyonu amacıyla etkili bir biçimde kullanılabilir. Mükemmel elastik modülü, gerilme gücü ve yüksek şekil değiştirebilirliği ile hBN kemikteki kollajen lifleri taklit edebilme yeteneğine sahiptir. Hegzagonal bor nitrid, üç boyutlu yapı iskelesi HA'nın güçlendirilmesi için kullanılabilir ve kemik rejenerasyonunda artış sağlayabilmektedir. Bu sebeple çalışmamızda kullanılacak olan hidroksiapatit kemik greftini test grubunda hBN ile güçlendirerek hBN'nin periodontal rejenerasyona katkısını araştırmaya karar verdik.

Kullanılan greft materyalinin fiziksel ve kimyasal özellikleri, greft materyalinin rezorpsiyon oranını ve klinik kullanım alanlarını belirlemektedir. Kemik greft materyalinin önemli iki özelliği, partikül büyüklüğü ve yüzey porozitesidir. Greftin büyük boyutlu partiküllerden oluşması ile daha geç rezorbe olması sağlanmaktadır. Materyalin porozitesi arttıkça, yeni kemik oluşumu için daha fazla destek sağlanmakta ve greft daha kolay rezorbe olmaktadır (207-210).

Birçok greft materyali periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde değişen başarı düzeyleri ile kullanılmışlar, fakat günümüzde vücudun kendisi gibi nano boyutta bir yapılanmaya sahip olan yüzeylere verdiği cevabın konvansiyonel malzemelere göre çok daha farklı olduğu bilindiği için nano partiküllere sahip greft materyalleri piyasaya sürülmüştür (29). Nanohidroksiapatit gibi polimer nanokompozitlerin, biouyumlu ve biyoaktif olmalarından dolayı kemik rejenerasyonunda tercih edilebilecek bir materyal olduğu görülmektedir. Polimer matriksinin nanoboyutta bileşenler içermesi osteoblastları stimüle etmekte, adezyon ve osteointegrasyonu kuvvetlendirmektedir. Doku rejenerasyonu için materyal üretiminde en güvenilir yol doğaldan yola çıkmaktır. Kemik dokusu, nano boyutta hidroksiapatit kristalleri içeren bir nanokompozittir. Bu sebeple apatit kristalleri içeren polimer yapı iskelelerinin kemik rejenerasyonu için ideal materyaller olduğu düşünülmektedir (211). Biz de çalışmamızda inorganik yapısı insan kemiğine benzer özellikler taşımakta olan nano kristalin hidroksiapatit greft materyalini kullanmayı tercih ettik.

Bu greft materyali (NanoBone®, Artoss, Rostock, Almanya), nano kristalin hidroksiapatit (NkHA) ve nano yapıda silika (SiO_2) içermektedir. Nano kristalin HA granülleri silika jel içerisine gömülü halde bulunur. Silika jel, kollajen ve kemik oluşumunu stimüle etmektedir (212). Yapı içerisinde açık SiOH veya SiO grupları bulunduğu için bu nano yapıdaki biyomateryal çok geniş bir internal yüzeye (yaklaşık $84 \text{ m}^2 / \text{g}$) sahiptir. Ayrıca pürüzlü granül yüzeyi, 15 ile 25 nm arasında değişen yaklaşık % 60 oranında birbirine bağlı poroz yapılardan oluşmaktadır (31). Klinik çalışmalar bu greft materyalinin osteokondüktif, biyouyumlu, biyoçözünabilir, anjiojenik, doğayı yansıtan özelliklere sahip olduğunu ve çok erken aşamalarda bile konağın fizyolojik yapım yıkım mekanizmasına dahil olduğunu göstermiştir (31, 213, 214). Bu greft materyali kullanıldığı zaman kritik boyuttaki defetlerde hızlı bir iyileşme olmakta ve NkHA kemiğe bağlanarak kemik iyileşmesini stimüle etmektedir. İlk 5 gün içerisinde anjiyogenezin başlaması ile kandaki otolog proteinler nano porlara gelmekte ve granüllerin bütün internal yüzeyini kaplamaktadır (214). Bu sayede konak NkHA greft materyalini vücuda ait bir materyal gibi algılamaktadır. Kapillerin hızla büyümesine izin verebilecek bir yapıya sahiptir ve bu süreç matriks değişimi ile kolaylaşmaktadır. Bu süreç içerisinde yeni kemiğin

oluştugu alanlara doğru greft materyali rezorbe olarak tamamen yeni kemik ile yer değiştirmektedir. İlk iki hafta içerisinde silika matriks osteogenez için önemli proteinler içeren organik matriks ile yer değiştirmektedir. Bu süreç sonunda greftin granülleri üzerinde ekstrasellüler matriks ile aynı karaktere sahip matriks oluşmaktadır. Kemiğin doğal yapım yıkım mekanizmasında olduğu gibi osteoklastlar bu greft materyalinin granüllerini rezorbe ederken aynı zamanda osteoblastlar yeni kemiği oluşturmaktadır (31, 215). Ayrıca konakta mikrovasküler cevap oluşturması ve bu sayede osseoentegrasyona katkıda bulunması dikkate alındığında bu mekanizmanın degradasyon sürecinde etkilediği söylenebilmektedir. Diğer özelliklerinin yanında klinik olarak bu bulgular NkHA greft materyalinin doğal kemik greftine iyi bir alternatif olacağını göstermektedir (214). Kemik iyileşmesi üzerindeki olumlu özelliklerinden dolayı çalışmamızda deneysel kemik içi defektlerin tedavisinde kontrol grubunda NkHA greft materyalini kullanmaya karar verdik.

Kemik içi defektleri tedavi etmek için günümüze kadar farklı tipte kemik greftleri, bariyer membranları, büyüme faktörleri kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda başarılı sonuçlar elde edilmiş olsa bile halen daha periodontal doku kayıplarını ideal olarak tedavi edebilecek, kaybedilen dokuların tamamen ve önceden öngörülebilir şekilde geri kazanımını sağlayabilecek ideal bir materyal ya da tedavi protokolü bulunmamaktadır. Bu sebeple çalışmamızda kemik içi periodontal defektlerin tedavisinde, kemik metabolizması ve iyileşmesi üzerinde olumlu katkıları olduğu yönünde veriler bulunan hBN ile NkHA'yı güçlendirerek elde ettiğimiz greft materyalini kullanmaya karar verdik. NkHA greftini tek başına (kontrol) ve hBN ile güçlendirilmiş (test) olarak uygulayarak 4 ve 12 haftalık iyileşme dönemlerinde hBN'ün etkinliğini mikro tomografik, histolojik ve histomorfometrik olarak test etmeyi ve hBN'nin NkHA kemik grefti uygulanan kemik içi defektlerin tedavisine ilave bir yarar getirip getirmediğini değerlendirmeyi amaçladık.

Kemik greftlerinin kullanımıyla ilgili literatür incelendiğinde, kemik iyileşmesini değerlendirmek amacıyla farklı metotlar kullanıldığı görülmektedir. Çoğu araştırmacıya göre, hücresel düzeydeki olayların takip edilmesine olanak vermesi sebebiyle histolojik inceleme bu tür çalışmalarda en uygun yaklaşımdır

(216, 217). Kemik greft materyallerinin ve diş, kemik veya yumuşak doku içeren kompleks dokulardaki biyoaktif faktörlerin histolojik değerlendirilmesi seçilecek olan kesit alma metotundan etkilenmektedir. Bu sebeple doku rejenerasyonunu değerlendiren çalışmalarda kemik doku örneklerinin incelenmesi ve tanısı için en uygun histolojik kesit metotunun seçimi çok önemlidir. Dekalsifiye histoloji metotunun aksine dekalsifiye edilmeyen histoloji metotunda sert dokuları ve hatta metalleri içeren çeşitli materyallerin değerlendirilmesi başarılı bir şekilde yapılabilmektedir. Dekalsifiye edilmeyen metot kullanıldığı zaman olgunlaşmamış ve olgun kemik, yüksek magnifikasyonda yeni kemik, kemik grefti ve kemik matriksinin ayrımı ve periodontal ligamentin kök yüzeyindeki oryantasyonu net bir şekilde yapılabilmektedir. Daha da önemlisi doku rejenerasyonunun incelenmesinde kesitler alınırken dokuda herhangi bir kayıp ya da hasar oluşmamakta ve daha doğru bir histomorfometrik veri sunmaktadır. Kemik greft materyalleri ve biyoaktif faktörler içeren dokuların incelenmesi için dekalsifiye edilmeyen histoloji metodu daha güvenilir histolojik ve histomorfometrik veri sağlaması açısından daha avantajlıdır. Bu sebeple biz de çalışmamızda kullandığımız greftin periodontal rejenerasyon üzerindeki etkisinin histolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirilmesinde dekalsifiye edilmeyen histoloji metotunu tercih ettik (173).

Deneyssel olarak oluşturulmuş 3 duvarlı kemik içi defektlerin tedavisinde NkHA ve hBN+NkHA greft materyallerinin periodontal rejenerasyon üzerindeki 4 haftalık ve 12 haftalık histolojik ve histomorfometri verilerine bakıldığı zaman her iki greft materyalinin de başarılı sonuçlar ortaya koyduğu gözlenmiştir. Her iki grupta da cerrahi operasyondan 4 hafta sonra kemik oluşan alanlarda osteoblast hücreleri gözlenirken karşıt tarafında greft materyalinin çözünmesi ile uyumlu osteoklast benzeri hücrelerin olduğu görölmüştür. Bu yeniden şekillenme fazında olduğunu düşündüğümüz kesitlerde damarlanmanın başladığı da dikkati çekmektedir. Cerrahiden 12 hafta sonra ise kemikleşmenin neredeyse tamamlandığı ve osteonlardan oluşan olgun lameller yapıda olduğu gözlenmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında ise değerlendirilen parametrelerde farklılık gözlenmemiştir. Kullanılan greft materyalleri sonucunda kemik içi defektlerde oluşan yeni kemik miktarı daha önce bu konu ile ilgili yapılan az sayıdaki greft çalışmalarıyla benzerlik gösterdi.

Dau ve ark., deproteinize sığır kemiğinden elde edilmiş ticari adı Bio-Oss olan kemik grefti ve NkHA greft materyalinin etkinliğini *in vivo* olarak değerlendirmiştir. Alınan doku örnekleri 5 hafta ve 8 ay sonra dekalsifiye edilmeyen histoloji metodu ile incelenmiştir. Bio-Oss ve NkHA greft materyali kullanılan gruplarda 5. haftada kalan kemik defekti yüzdesi sırasıyla % 32 ve % 39, kalan greft materyali yüzdesi aynı, yeni kemik yüzdesi % 68 ve % 61 bulunmuştur. İstatiksel olarak her iki parametrede de gruplar arasında fark gözlenmemiştir. Sekizinci ayda aynı veriler sırasıyla; %18 ve % 25, % 3 ve % 6, % 82 ve % 78'dir. Sekizinci ay verileri de istatiksel olarak farklı değildir. Her iki greft materyali arasında fark olmadığından dolayı organik kaynaklardan elde edilen greftlerdeki enfeksiyon ve hastalık bulaş riskini elimine etmek adına agumentasyon işlemlerinde tercihimizin sentetik materyaller olabileceği görülmüştür (194).

Liu ve ark., hücre kültüründe Bio-Oss ve NkHA greft materyalinin biyouyumluluğunu karşılaştırmışlar ve her iki materyalinde düşük sitotoksosite ve iyi biyouyumluluk gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Nano kristalin HA grubunda MTT proliferasyonu Bio-Oss'a göre daha üstün bulunmuştur. Her iki greft materyalide insan osteoblast hücreleri üzerinde çok az bir hasar oluşturmalarına rağmen NkHA greft materyali osteoblastların proliferasyonunun desteklenmesinde Bio-Oss'a göre biraz daha iyi sonuçlar göstermektedir. Bu sonuçlar doğal veya sentetik greft materyali seçimi arasında kalındığında hekimlere yol gösterici olabilmektedir (218). Bio-Oss ile NkHA kemik greftinin karşılaştırıldığı başka bir çalışmaya göre her iki greft materyalininde sinüs yükseltilmesi sonrası implant tedavisinin 2 yıllık takibinde başarılı olduğu görülmüştür. Farklı hücresel doku reaksiyonları oluşturmalarına rağmen periodontal cerrahi uygulamalarında NkHA'nın agumentasyon materyali olarak yararlı olabileceği düşünülmektedir (219).

Lorenz ve ark. tarafından, sinüs yükseltme operasyonundan 6 ay sonra NkHA ve Bio-Oss kemik grefti uygulanmış alanlardan alınan doku örnekleri çok çekirdekli dev hücrelerin indüksiyonu, vaskülarizasyon, yeni oluşmuş kemik yüzdesi, bağ dokusu ve kalan greft materyali açısından değerlendirilmiştir. Histomorfometrik analiz sonucuna göre NkHA grubunda daha fazla sayıda çok çekirdekli dev hücre ve

kan damarları olduğu görülmüştür. Bağ dokusu, kalan greft miktarı ve yeni oluşmuş kemik açısından gruplar arasında istatistiksel bir farklılık bulunmamaktadır (220).

Bio-Oss ile NkHA kemik greftini karşılaştıran başka bir çalışmada ise çift taraflı molar olmayan dişlerin çekiminden sonra soketler bu greft materyalleri ile doldurulmuştur. Greftlemeden 6 ay ya da 8 ay sonra implant aşamasına geçilmiş ve 2 x 6 mm'lik kemik örnekleri elde edilmiştir. Bio-Oss grubunda total kemik miktarı 27.35 ± 12.39 iken NkHA grubunda 28.63 ± 12.53 bulunmuştur ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Nano kristalin HA grubunda daha az kalan greft miktarı gözlenmiş ve yine gruplar arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmemiştir (221).

Bizim çalışmamızın sonuçları ile uyumlu olarak yukarıdaki çalışmalar sonucunda Bio-Oss ile aynı sonuçların elde edildiği NkHA greft materyalinin periodontal cerrahide öne çıkabilecek bir greft materyali olduğu gözlenmektedir.

Canullo ve arkadaşları 16 hastanın aşırı rezorbe posteriorlarını rehabilite edebilmek amacıyla iki aşamalı sinüs yükseltme operasyonu gerçekleştirmişlerdir. İmplantlar operasyondan ya 3 ay sonra ya da 6 ay sonra yerleştirilmiştir. Nano kristalin HA kullanılarak greftlenmiş ve implant tedavisi uygulanmış örneklerin 3 ay sonraki verilerinde çok miktarda mineralize olmamış bağ dokusu ve homojen dağılım gösteren bir çok greft partikülüne rastlanmıştır. Degradе olmamış granüllerin osteoid benzeri matriks tarafından çevrelendiği görülmüştür. Ayrıca granüller ve rejenere kemik arasında çok çekirdekli osteoklast benzeri hücrelerin görülmesi osteojenik süreç ile ilişkilendirilebilir. Rejenere kemik ve greft kalıntısı değerlerine bakıldığında sırasıyla % 8 ve % 45 olduğu görülmüştür. Altı ay sonraki veriler incelendiğinde belirgin yeni kemik oluşumu görülmüştür. Rejenere kemik ve greft arasında bir çok alanda kemikte yeniden şekillenme ve greftte rezorpsiyon gözlenmiştir. Rejenere kemik ve greft kalıntısı değerleri ise sırasıyla 48 ± 4.63 ve 28 ± 5.33 'dür. Bütün bu sonuçlar değerlendirildiğinde literatür ile uyumlu olarak erken aşamalarda kemik oluşumu gözlemlendiği ve kritik durumlarda tercih edilebilecek bir greft olduğu görülmektedir (222).

Aynı yazarın başka prospektif çalışmasında 10 hastaya sinüs yükseltme operasyonu lateral pencere tekniği ile uygulanmış ve greft materyali sinüsün en üst sınırından başlanarak kademe kademe yerleştirilmiştir. Graft materyali sıkıştırıldıktan sonra 1.2 mm çapında ve 13 mm uzunluğundaki implantlar ilgili alana yerleştirilmiştir. Operasyondan 3 ay sonra 3mm'lik trefan frez ile implantlar çıkartılmış ve dekalsifiye edilmeyen histoloji metodu ile incelenmiştir. Üç aylık iyileşme sonunda doku örneklerinin etrafında çeşitli miktarlarda yeni oluşmuş kemik gözlenmiştir. Histomorfometrik analize göre çıkartılan kemik hacminin içerisinde % 38.26 ± 8.07 NkHA greft materyali kalıntısı, % 20.64 ± 2.96 yeni kemik ve % 11.87 ± 3.27 doğal kemik gözlenmiştir. Yeni kemik ile farklı derecelerde temasta bulunan greft kalıntıları, yüksek damarlanmaya sahip bağ dokusu tarafından çevrelendiği ve bir çok implant yivinde rejenere olmuş kemik ile yakın ilişki içinde olduğu görülmüştür. Bu çalışmanın sonuçlarına göre iyileşmenin erken dönemlerinde NkHA materyalinin rejeneratif iyileşmeyi uyardığı ve sinüs yükseltme operasyonları için uygun bir materyal olduğu kanıtlanmıştır. Bu greft materyali ile implant tedavisi için beklediğimiz süreyi kısaltabilmekte ve doğal kemiğe yakın rejeneratif bir iyileşme sağlayabilmekteyiz (104).

Canullo ve arkadaşlarının diğer bir çalışmasında, 1 ile 4 mm arasında değişen kemik yüksekliği bulunan posterior maksillada uygulanan tek aşamalı sinüs yükseltme operasyonundan 3 ay sonra yerleştirilmiş implantların 2 yıllık klinik verileri değerlendirilmiştir. Sinüs boşluğu NkHA greft materyali ile doldurup 4.3, 4.8 veya 5.5 mm çapında ve 13 mm uzunluğundaki implantlar yerleştirilmiştir. Operasyondan 3 ay sonra protez yapılmış ve protez yüklemesinden 24 ay sonra çekilen dijital panoramik filmler yardımıyla yeni oluşmuş kemik değerlendirilmiştir. Radyografik incelemede 24 ay sonra greftlenmiş sinüs tabanının ortalama yüksekliğinin 13.75 mm olduğu gözlenmiştir. ISQ değerlerine bakıldığı zaman başlangıçta, 3 ay ve 12 ay sonra sırasıyla 35.7, 66.6 ve 75.9 olduğu görülmüştür. Ayrıca bu greft materyali kullanıldığında implant survivalı açısından membran kullanılıp kullanılmamasının kritik bir öneme sahip olmadığı gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre NkHA greft materyali, erken yükleme, bukkal duvarda membran bulunmaması ve posterior alanda çok düşük kalan kemik yüksekliğinin bulunması gibi çok kritik durumlarda etkili olabilmektedir (223).

Ghanaati ve ark., sinüs operasyonlarından 3 ve 6 ay sonra bu greft materyali ile de novo kemik oluşum kapasitesini değerlendirmişlerdir. Greftleme operasyonundan 3 ay sonra biyomateryalin bağ dokusu ve kemik lamellerinden oluşan çevre yeni dokuya iyi bir şekilde entegre olduğu gözlenmiştir. Bu materyalin hücresel degradasyonunda hem TRAP-pozitif hem de TRAP-negatif çok çekirdekli dev hücreler görev almaktadır. Doku örneklerinin hepsinde farklı bölgelerde dağılmış olsa da kemik oluşumu gözlenmiş ve yeni kemik $\% 29.28 \pm 12.24$ 'dür. Altı ay sonraki verilere bakıldığında 3. aydaki verilerden farklı olarak tüm doku örneklerinin bütün alanlarında kemikleşme gözlenmiş ve yeni kemik $\% 31.29 \pm 2.29$ olarak bulunmuştur. Zaman dilimlerinde greft materyali degradasyon sürecine girerek yerini yeni oluşan kemiğe bırakmaktadır. Yukarıdaki çalışmalarla uyumlu olarak bu çalışmada da NkHA greft materyalinin erken dönem etkinliği gösterilmiştir (224). Ayrıca Heinemann ve ark., implant başarısını, sinüsteki kemik greft rezorpsiyonunu ve implantlar etrafındaki marjinal kemik kaybını değerlendikleri bir vaka serisi sonuçlarına göre NkHA implant ve sinus yükseltme operasyonlarında güvenilir bir tercih olduğu ortaya koyulmuştur (225).

Başka bir sinüs yükseltme operasyonu çalışmasında NkHA greft materyali otojen kemik grefti ile birlikte uygulanmıştır. Çift taraflı sinüs yükseltmesinde bir tarafa sadece NkHA greft materyali uygulanmışken diğer tarafa NkHA+otojen greft uygulanmış ve 3 ay sonra dekalsifiye edilmeyen histoloji metodu ile örnekler incelenmiştir. Her iki tarafta da belirgin miktarda kemik oluşumu gözlenmesine rağmen kemik implant teması açısından NkHA grubunun daha iyi sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Ayrıca bu grupta koronal alandan apikale kadar farklı kemik yoğunlukları olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar göz önüne alındığında otojen kemik ilavesiyle ilgili bölgedeki kemik yoğunluğu ve osseointegrasyon artmaktadır (226).

Nano kristalin HA kullanımı otojen kemik grefti ile karşılaştırılabilir periodontal doku iyileşmesi sağlamaktadır (111). Bu kemik grefti kullanıldığında erken dönemde nano poroz yapının içerisinde kemik proteinleri gözlenmektedir. İyileşmenin erken dönemlerinde yeni oluşmuş osteoid doku ile yapı iskelesinin içerisinde bulunan silika jel yer değiştirmektedir (31). Greft partikülleri ile yeni rejenere kemiğin yakın temasta olması ve kemik büyümesinin periferden merkeze

doğru olması bu greftin yüksek osteokondüktif özellik gösterdiğini kanıtlamaktadır (227).

Nano kristalin HA greft materyali osteokondüktif bir biyomateryal olarak kabul edilmesine rağmen Gotz ve arkadaşları tarafından bu greft materyalinin olası osteoindüktif etkisi osteojenik olmayan bir bölgede test edilmiştir. On sekiz adet domuzun her birine subkutanöz ve intramuskular alanlara bu greft materyali yerleştirilmiş ve 5, 10 hafta, 4 ve 8 ay sonra hayvanlar sakrifiye edilmiştir. Alınan örnekler dekalsifiye edilmeyen histoloji yöntemi ile incelenmiştir. Beş hafta sonra bütün hayvanların implantasyon alanlarında bağ dokusu kapsülü ile kaplanmış NkHA granülleri tespit edilmiş ve bütün granüller osteoklast olduğu düşünülen çok çekirdekli dev hücreler ile kaplanmıştır. Hayvanlarından yarısından fazlasında granüllerin dış çevresinde osteoblastlara rastlanmış ve bu osteoblastların altında ince osteoid doku gözlenmiştir. Onuncu haftada kasa implante edilen alanda ne NkHA greft materyali ne de kemik dokusu gözlenmiştir. Subkutanöz alanda ise bütün hayvanlarda osteogenez görülmüştür. Granüllerin etrafında ve içerisinde küçük kemik adacıkları ve geniş kemik trabekülleri gelişmiş ve 5. haftanın aksine granül sayısı ve boyutları artış göstereceği yere düşmeye başlamıştır. Granüller arasındaki bağ dokusu, çok sayıda hücre ve vasküler doku içermektedir. Granüller üzerinde ise tipik osteoblastik ve osteoklastik aktiviteye uygun görüntü bulunmuştur. Dördüncü ayda ise subkutanöz alanda çok ileri aşamalarda osteogenez gösterilmişken intramuskular alanda hiç ya da çok az osteogenez görülmüştür. Sekiz ay sonra 9 hayvanın 4'ünde subkutanöz alanda mikroskopik olarak görülebilir osteogenez meydana gelmişken 5'inde rezorbe olmamış NkHA granülleri gözlenmiştir. Histomorfometrik olarak bakıldığında 5. haftada subkutanöz dokuda biyomateryal miktarı % 25.6 ve kas dokusunda % 20.3 iken yumuşak doku miktarı yüzdesi sırasıyla % 74.4 ve 79.7'dir. Yukarıda bahsettiğimiz gibi bu haftada sadece osteoid ve mineralize olmamış kemik tespit edilmiştir. Onuncu haftada subkutanöz alanda ortalama biyomateryal miktarı % 17.8, yeni kemik miktarı % 2.2 ve yumuşak doku miktarı % 80.1 bulunmuştur. İntramuskular olarak ne greft materyali ne de kemik dokusu gözlenmiştir. Dördüncü ayda subkutanöz alanda biyomateryal miktarı % 6, yeni kemik % 53.3 ve yumuşak doku % 40.7 bulunmuştur. Kas dokusunda ise % 16.2 biyomateryal, % 12.4 yeni kemik ve % 71.4 yumuşak doku miktarı olduğu

gözlenmiştir. Sekizinci ayda subkutanöz alanda biyomateriyal % 10.8, yeni kemik % 47.5 ve yumuşak doku % 41.7 oranında bulunmuştur. Kas dokusunda ise aynı oranlar sırasıyla % 19.2, % 11.2 ve % 69.6'dır. Bu sonuçlardan yola çıkarak NkHA greft materyali ektopik olarak yerleştirildiğinde erken dönemde osteogenez bulguları ve ileri aşamalarda kemik benzeri yapıların oluştuğu söylenebilmektedir. Subkutanöz dokularda bu sonuçların elde edilmesiyle NkHA greft materyalinin osteoindüktif bir materyal olduğu ve kemik oluşumunu indüklediği düşünülmektedir. Bu çalışmanın sayısını artırılarak daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (228). Bu çalışmanın intramuskular değerlendirme sonuçları ile uyumlu olarak Ghanaati ve ark., bu materyalin osteoindüktif özelliklerini intramuskular alanda değerlendirdikleri çalışmalarında değerlendirme süresince ne osteoblastik hücreye ne de yeni oluşmuş kemiğe rastlanmıştır (229).

Ortodontik olarak tetiklenmiş enflamatuvar kök rezorpsiyonu ortodontik diş hareketine bağlı en önemli sorundur. Ortodontik boşlukların kapatılmasından önce soketlerin greft ile doldurulması periodontal durumu iyileştirmektedir. Bu anlamda kök rezorpsiyonu üzerinde NkHA greft materyalinin etkinliği değerlendirilmiştir. Dört adet erkek köpeğin sağ ve sol, alt ve üst çenelerinde kanin dişin distalinden 1. premoların mezialine kadar olan alanda, 4.3 mm çapında 10 mm uzunluğunda boşluklar oluşturulmuş ve NkHA greft materyali uygulanmıştır. Test grubu bu şekilde oluşturulmuşken kontrol grubunda oluşturulan boşluğa greft materyali uygulanmamış normal iyileşme sürecine bırakılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre NkHA çekim soketindeki alveolar kemiği koruyabilmekte ve herhangi bir kök rezorpsiyonu gerçekleşmeden dişlere ortodontik kuvvet uygulanabilmektedir. Bu greft materyalinin kullanılmasıyla yeni damarlanma ve osteogenez tetiklenmektedir. Bu sayede ortodontik diş hareketi uygulanmış alanlarda periodontal sağlık korunabilmektedir (230).

Reichert ve ark., çekim soketlerinin NkHA greft materyali ile agumentasyonundan sonra dişeti invajinasyonunun derecesini ve insidansını değerlendirmişlerdir. Çift taraflı premolar dişlerin çekiminden sonra bir taraf NkHA greft materyali ile greftlenirken diğer taraf kontrol olarak bırakılmıştır. Primer yara iyileşmesinden sonra ortodontik boşluk kapama işlemi uygulanmıştır. Dişeti

invajinasyonunun derecesi ve meziyal ve distal sondlanabilir cep derinliklerinin NkHA grubunda daha düşük olduğu gözlenmiştir. Bu çalışma ile ortodontik diş hareketinden önce çekim soketinin NkHA greft materyali ile agumentasyonunun dişeti invanjinasyon derecesinde azalma sağlarken insidansı üzerinde bir etkisi olmadığı gösterilmiştir (231). Aynı çalışma dizaynı Bio-Oss ve NkHA greft materyalini karşılaştıran başka bir çalışmada farklı sonuçlar elde edilmiş ve alveolar kret boyutlarının Bio-Oss kullanılan grupta belirgin daha iyi olduğunu gözlemişlerdir (232).

Nano kristalin HA greft materyalinin hBN ile uygulandığı çalışmamızın dizaynına benzer bir çalışma bulunmadığı için histolojik olarak direkt bir karşılaştırma yapmak mümkün olmamıştır. Buna rağmen üç duvarlı defektlerin kemik iyileşmesi takibinde histolojik olarak elde edilen bulguların literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Kemiğin yapısı, durumu ve yeniden şekillenmesi sıklıkla radyograflar ile takip edilmektedir. Bu metot düşük maliyetine ve kolay ulaşılabilirliğine rağmen fiziksel özelliklerine bağlı limitasyonlardan ve birçok değişkene sahip olmasından dolayı yeni tekniklerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur. Kemik iyileşmesinin radyolojik takibi amacıyla üç boyutlu görüntüsü ile kemiğin kalite, kantite ve hacmi hakkında detaylı bilgi veren mikro bilgisayarlı tomografi (M-CT) bu tekniklerden biridir (211). Mikro tomografi, bilgisayarlı aksiyel tomografinin mikrometre boyutunda rezolüsyona sahip minyatürize edilmiş halidir. Biyomedikal alanda özellikle sert dokuların görüntülenmesinde yarar sağlamaktadır. Ayrıca histomorfometri ile hesaplanamayacak yapısal parametrelerde bu metot ile hesaplanabilmektedir (233).

Bu metotta yazılımın ve cihazın hesaplama kapasitesine bağlı olarak çeşitli parametreler hesaplanabilmektedir (234). Bu metot ile hesaplanabilen birincil parametreler aşağıdaki gibidir;

- TV (Tissue Volume, Doku Hacmi, mm³): Bütün voksellerin toplamı tarafından ifade edilen ilgili total doku hacmi,

- BV (Bone Volume, Kemik Hacmi, mm^3): İlgili doku alanı içerisindeki kemik olarak işaretlenmiş bütün voksellerin toplamı,
- TS (Tissue Surface, Doku Yüzeyi, mm^2): Bütün pikseller toplamı tarafından ifade edilen ilgili alanın total yüzeyi,
- BS (Bone Surface, Kemik Yüzeyi, mm^2): İlgili alan içerisinde kemik olarak işaretlenmiş bütün piksellerin toplamı,
- BV/TV (Bone Volume Fraction, Kemik Hacim Fraksyonu, %): Hacmi yüzde olarak ifade eder ve kemik direnci ile ilgili en önemli ölçümdür,
- BS/BV (Kemik Yüzeyinin Kemik Hacmine Oranı, $1/\text{mm}$): Spesifik yüzey alanını ifade eder,
- BS/TV (Bone Surface Density, Kemik Yüzey Yoğunluğu, $1/\text{mm}$): Kemik yüzeyinin yoğunluğunu ifade eder.

İkincil ölçüm olarak hesaplanabilen parametreler ise;

- Tb.Th (Trabecular Thickness, Trabeküler Kalınlık, mm): Osseos trabeküllerin kalınlığını,
- Tb.N (Trabecular Number, Trabeküler Sayısı, mm^{-1}): Trabeküler yoğunluğu ve her bir uzunluktaki trabeküllerin ortalama sayısını,
- Tb.Sp (Trabecular Separation, Trabeküler Seperasyon, mm): Osseos trabekül sınırları arasındaki mesafeyi ifade eder (235).

Ayrıca metotun yıkıcı olmayan yapısı göz önüne alındığında örnekler daha ileri analizler için sağlam kalabilmektedir (234). Yapılan çalışmalar, kemik dokusundaki erken iyileşmenin bu yöntemle 3. haftadan itibaren saptanabildiğini göstermektedir (236). Mikro tomografi; en iyi osteokondüktif özelliklere ve olası osteoindüktif faktörlere sahip yapı iskelelerinin oluşturulmasında ve morfolojik özelliklerinin belirlenmesinde mühendislere yardımcı olabilmektedir. İlave olarak bu teknoloji;

- Daha önceden greftlenmiş alanlardaki kemik dokusunun morfometrik karakterizasyonuna,
- İdeal yapısal özelliklere sahip yapı iskelelerinin üretimine,

- Mekanik, kimyasal ve termal streslere tabi tutulan kemik dokusunun ve yapı iskelesinin davranışlarını inceleyen çalışmalara,
- Doku mühendisliğinde üç boyutlu biyouyumlu matrikslerin dizaynı, yeni oluşmuş kemik dokusunun monitörizasyonu ve karakterizasyonuna katkı sağlayabilmektedir (237).

Bu metot; yenilikçi, analitik ve tanımlayıcı görüntüleme özelliği ile doku mühendisliğinin ve yapı iskelelerinin durum ve yapılarının değerlendirilmesine imkan tanımaktadır (238, 239). Mikro tomografi yeni bir teknik olmasına karşın; (i) örneklerden ödün vermayerek diğer test metotlarında kullanılmasına imkan tanıyan yıkıcı ve invaziv olmayan bir metot olması, (ii) trabeküler ağın karmaşık organizasyonunun üç boyutlu karakterizasyonuna imkan tanınması, (iii) histolojik yöntemler gibi önceden hazırlık gerektirmemesi ve bu sayede zamandan kazanç sağlaması, (iv) kesin sonuç vermesi gibi birçok önemli avantaja sahiptir (234, 238, 240-242).

Kemik greftlerinin mikro tomografi yöntemi ile görüntülenmesi yeni oluşan kemiğin evriminde ve greftlerin davranışlarında kritik rol oynamaktadır. Greftlerin osteoentegrasyonunu değerlendiren geleneksel metotlar (histoloji, taramalı elektron ve floresan mikroskop) iki boyutlu tekniklerdir. Bu tekniklerle yapı iskelesinin içinde yeni oluşmuş kemiğin üç boyutlu kantitatif ve yapısal verilerinin analizi çok zor olmaktadır. Ayrıca bu tekniklerle kesit elde edilirken örneklerin yapısında değişiklik meydana gelebilmektedir (238). Mikro tomografinin yıkıcı olmayan yapısı göz önüne alındığında gelişmiş netlik ve kontrast hassaslığı ile birlikte diş ve kemikteki dinamik süreçleri inceleyen çalışmalara hız kazandırmaktadır (243).

Klasik histomorfometri ile karşılaştırıldığında bu yeni metot kemik büyümesi ve biyomateryal ile arasındaki bağlantının analizinde yarar sağlamaktadır. Weiss ve ark. (2003), çeşitli kalsiyum fosfat temelli greftleri tavşan femurlarının distal ucunda oluşturulan kritik büyüklükteki kemik defektlerine implante etmiş ve 2, 3, 8, ve 12 hafta sonra üç boyutlu kemik büyümesini mikro tomografik olarak incelemişlerdir. Bu hayvan çalışması yeni oluşan kemik ile biyomateryal arasındaki ilişkiye odaklanmış ve makroporoz bifazik kalsiyum fosfat seramik blokları ve iki farklı enjekte edilebilen kalsiyum fosfat biyomateryalleri ile yeni oluşan kemik ilişkisini

M-CT ile incelemişlerdir. Daha sonra bu verileri klasik histomorfometri verileri ile karşılaştırmışlardır. Çalışmanın sonuçlarına göre bütün kalsiyum fosfat temelli greftlerin osteokondüktif özellik gösterdiği gözlenmiştir. BV/TV oranının ve trabeküler kalınlığın zamanla artarak maksimum değerine implantasyondan 3 hafta sonra ulaştığını ve rezorpsiyon sürecinin ise daha erken başladığını ortaya koymuşlardır. Ayrıca bu sonuçlar iki boyutlu histomorfometrik analiz verileri ile uyum içerisinde bulunmuştur ve M-CT'nin biyomateriyal çalışmaları için uygun bir metot olduğunu onaylamışlardır (244).

Bedini ve arkadaşları (2009), spesifik klinik uygulamalarda yapı iskelesi olarak kullanılacak en uygun kemik materyalinin belirlenmesini amaç edinerek cerrahlara yol gösterecek bir çalışma planlamışlardır. Bu çalışmada dört farklı yapı iskelesinin morfometrik özellikleri mikro tomografik olarak incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre kalsiyum fosfat ve TKF biyomateriyallerinde diğer doğal materyallere göre daha az porozite ve trabeküler seperasyon bulunmaktadır. Bu durum ise osteojenik hücrelerin ve yeni oluşan damarların kolonizasyonuna izin verecek daha az alanın bulunmasına ve bu materyallerin daha kompakt olmasına neden olmaktadır. Diğer yandan düşük porozite ve yüksek kemik hacim yoğunluğu (BV/TV) ve trabeküler kalınlık bu yapı iskelelerinin yüksek mekanik dirence sahip olduğunun göstergesidir (237).

Deneyssel olarak oluşturulmuş büyük ve küçük boyut defektlerdeki alveolar kemik iyileşme süreci mikro tomografik olarak incelenmesini amaçlayan bir çalışma yayınlanmıştır. Bu çalışmada 12 haftalık 117 erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar; sağ 1. moların bukkalinde oluşturulan küçük defekt ve meziyo bukkalinde oluşturulan büyük defekt grubu olarak iki gruba ayrılmışlardır. Bukkal defektler, meziyal kökün meziyal sınırı ile distal kökün distal sınırı ve meziyo bukkal defektler ise, meziyal kökün meziyo lingual sınırı ile distal kökün distal sınırı arasında oluşturulmuştur. Her iki grupta da sol tarafta kör cerrahi uygulanmış ve kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Cerrahiden hemen sonra, 3., 6., 12. ve 24. haftalarda hayvanlar kurban edilmiş ve kemik defekt hacmi ve ekspoz kök uzunluğu değerlendirilmiştir. Küçük defekt 24. haftada % 88.3 oranında iyileşme gösterirken büyük defekt bu sürede başlangıçla aynı seviyededir. Yani küçük defektler 24

haftada iyileşirken büyük defektler bu sürede iyileşmemektedir. Bu sebeple meziyo bukkalde oluşturulmuş büyük defetler kritik boyut defekt olarak düşünülmektedir. Ekspoze distal kök uzunluğu 24. haftada küçük defektlerde % 79.2 oranında azalma gösterirken büyük defetlerde % 71.4 oranında azalma göstermiştir. Bu durum defektlerin bu oranda alveolar kemik ile dolduğunun kanıtıdır. Ekspoze meziyal kök uzunluğuna bakıldığında ise küçük defetlerde % 41.1 ve büyük defektlerde %16.3 kemik doku ile iyileşmenin olduğu gözlenmiştir. Yeni oluşan kemiğin distal kök etrafında daha fazla olması iyileşme sürecinin meziyal tarafa oranla distal tarafta daha iyi olduğunu ortaya koymaktadır. Bu çalışma ile sıçanların alveolar kemiğinde kritik boyut defekti ilk defa değerlendirilmiş ve mikro tomografinin alveolar kemiğin kompleks morfolojisinin kantitatif analizinde güçlü bir metot olduğu gösterilmiştir (240).

Mikro tomografi yöntemi ile yönlendirilmiş doku rejenerasyonu sonuçları da değerlendirilebilmektedir. Köpeklerin furkasyon alanlarında oluşturulmuş defektlerde rezorbe olabilen kollajen temelli membran kullanımının yönlendirilmiş doku rejenerasyonu üzerindeki etkinliğini değerlendiren bir çalışma yayınlanmıştır. Bu çalışmada 8 dişi köpeğin maksiller 2. ve 3. premolar dişlerin furkasyon alanlarına 4 x 2.5 x 3 mm boyutlarında kemik defektleri oluşturulmuştur. Hayvanları sakrifiye etmeden 16 hafta önce 8 dişi köpeğin sağ maksiller alanında ilk cerrahiler ve sakrifizasyondan 2 hafta önce maksillanın sol tarafına ikinci cerrahiler uygulanmıştır. Hayvanların yarısında defekt alanı membran ile örtülmüşken diğer yarısında membran kullanılmamıştır. Üç boyutlu yeniden yapılandırma yapıldıktan sonra defektler elektronik ortamda tam rejenerasyon veya rejenerasyon yok olarak sınıflandırılmıştır. Hem kemik yüksekliği hem de genişliğinde tam bir rejenerasyon olduysa o defekt tam rejenerasyon grubuna dahil edilmiştir. Mikro tomografik analizin sonuçlarına göre cerrahiden 2 hafta sonra sadece 1 membranla kaplı defektte rejenerasyonun meydana geldiği ve 16 hafta sonra ise 1 membranla kaplı defekt hariç bütün defektlerde rejenerasyonun olduğu gözlenmiştir. Membranla kaplı olmayan grupta ise 16 hafta sonra 1 defekt hariç hiç bir defektte rejenerasyon meydana gelmemiştir. İstatistiksel olarak bakıldığında membran kullanımının tam bir rejenerasyon ile sonuçlandığı ve zaman dilimleri kıyaslandığında 16. haftada tam bir rejenerasyonun meydana geldiği gözlenmektedir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre

mikro tomografi yöntem oluşturulmuş defektlerde kemik mimarisinin 3 boyutlu değerlendirilmesine imkan tanınmasına rağmen yeni sement oluşumunun ve reataşman derecesinin etkin şekilde meydana geldiği klinik ve histolojik olarak onaylanmalıdır (245).

Büyüme faktörleri ve biyomateriyallerin kemik rejenerasyon sürecindeki etkileri geniş kapsamda incelenmişken kemik iyileşmesinin biyolojik süreci çok az araştırılmıştır. Okata ve ark. (2015), kemik iyileşmesi sırasında meydana gelen kalsifikasyon sürecini incelemişlerdir. On iki haftalık 35 sıçanın kalvaryalarına trefan frez ile 3.8 mm'lik defektler oluşturulmuş ve 1, 2, 4 ve 8 hafta sonra her bir gruptaki sıçan sakrifiye edilmiştir. Deney grubu ile karşılaştırıldığında 1., 2. ve 4. hafta kemik mineral yoğunluk (KMY) değerleri kontrol grubunda daha yüksek bulunmuş ve 8. haftada gruplar arasında fark olmadığı gözlenmiştir. Kemik hacmi deney grubunda başlangıca göre 10.9 oranında artarken mineral içeriği 32 kat, kemik mineral yoğunluğu ise 2.8 kat artmıştır. Sonuç olarak iyileşmekte olan kemik başlangıçta olgunmamış kalsifiye bir dokuyken kademeli olarak kalsifikasyon devam etmektedir. Ayrıca kemik hacmi, kemik kalınlığı, mineral yoğunluğu ve olgunluğu zamanla artarken organik içerik düşmektedir (246). Bu çalışmanın aksine bizim çalışmamızda kemik mineral yoğunlukları zaman içerisinde azalma göstermiştir. Bunun da beklenen zaman diliminde yani sıçanlar 24 haftalık olduğunda kemiğin yaşlanma sürecine girmiş olmasıyla açıklayabilmekteyiz.

İmplant, periodontal ve ortodontik tedaviler gibi dental tedaviler dişi destekleyen en önemli doku olan alveolar kemiğin yapısına bağlıdır ve yaşın ilerlemesiyle bu tarz tedavilere olan ihtiyaç artış göstermektedir. Yaşlanmanın alveolar kemik üzerindeki etkileri yaşlı popülasyonunun artmasıyla daha da önem kazanmıştır. Osteoporoz yaşlanma ile ilişkili en yaygın sistemik iskeletsel hastalıktır ve düşük yoğunluktaki kemik ve trabeküllerde bozulma ile karakterizedir. Osteoporozun alveolar kemikte meydana getirdiği değişimleri de mikro tomografi yöntemi ile incelemek mümkündür. Yirmi dört genç sıçanın kullanıldığı bir çalışmada overektomi yapıp farklı zaman dilimlerinde alveolar kemiğin mikromimarisindeki değişimler incelenmiştir. Sıçanlar rastgele bir şekilde overektomi veya kör cerrahi uygulanmış grup olarak ikiye ayrılmış ve her bir grupta

6 sıçan olacak şekilde 3. ve 6. ayda sakrifiye edilmişlerdir. Bütün sıçanların sağ yarım maksillaları mikro tomografik olarak taranmış ve maksiller 1. moların inter radiküler alveolar kemiği analiz edilmiştir. Her iki zaman diliminde de overektomi uygulanmış grubun alveolar kemiğinde porotik değişimler gözlenmiştir. Kör cerrahi uygulanmış gruba kıyasla her iki zaman diliminde de overektomi grubunun alveolar kemik mineral yoğunluğu, BV/TV ve Tb.Th parametreleri belirgin olarak azalmakta iken Tb.N ve Tb.Sp parametreleri belirgin olarak artmaktadır. Bu sonuçlar uzamış zaman dilimlerinde overektomili sıçanlarda alveolar kemik trabeküllerindeki bozulma ve kemik kaybı daha da şiddetlendiğini göstermektedir (247).

Sales ve ark. (2012), osteoporoz gibi yaygın kemik hastalıklarında kemik mineral yoğunluğunun yaşa bağlı değişimini araştıran bir çalışma yayınlamışlardır. Bu çalışmada kontrol grubu 4 aylık ve yaşlı grubu 12 aylık olan iki farklı yaş grubuna ait sıçanlar kullanılmıştır. Gruplar karşılaştırıldığında yaşlı sıçanların kullanıldığı grupta BV/TV yüzdesinde azalma yani kemik matriksinde porozitede artış gözlenmiştir. Ayrıca Tb.N’de azalma ve Tb.Sp’de artış yönünde bir değişim meydana gelmiştir. Yaşlı grupta kemik morfolojisinde de bazı bozulmaların oluştuğu ve kemik kantitisinde azalmaya neden olduğu düşünülmektedir. Kemik mineral yoğunluğu, test edilen alanda var olan bütün minerallerin miktarı olarak ifade edilmektedir Mineral yoğunluğu ve BV/TV açısından gruplar değerlendirildiğinde yaşlı grupta en yüksek mineral yoğunluğuna sahip değerlerde belirgin bir azalma gözlenmiş ve bu örnekler çıkarıldığında bile yaşlı grupta kemik yoğunluğunun kontrol grubuna göre daha düşük olduğu ortaya çıkmıştır. Bu tarz değişiklikler insanlarda da meydana gelmekte ve tip II osteoporoz olarak adlandırılan yaşlılık osteoporozuna neden olmaktadır (248).

Yaşlı popülasyonun dental ihtiyaçlarının artması ile birlikte osteoporozun alveolar kemik üzerindeki etkisi diş hekimliğinin ilgi odağı haline gelmiştir. Dai ve ark. (2014), overektomili sıçanların maksiller alveolar kemiğinde meydana gelen porotik değişimleri mikro tomografi ve konvansiyonel histomorfometri kullanarak değerlendiren bir çalışma yayınlamışlardır. Otuz iki adet 6 aylık hamile olmayan dişi sıçan overektomi ve kör cerrahi grubu olarak ikiye ayrılmıştır. On iki hafta sonra sakrifikasyonlar gerçekleştirilmiş ve analizleri yapılmıştır. Overektomili sıçanlarda

KMY, BV/TV ve Tb.Th parametreleri daha düşük bulunmuştur. Aynı zamanda bu değerler overektomili sıçanlar arasında geniş ölçüde farklılık göstermektedir. Kemik mineral yoğunluğu değerleri overektomili sıçanlarda 858.38 ile 1011.2 mg cm⁻³ iken kör cerrahi grubunda bu değer 1116.97 ile 1181.61 mg cm⁻³ arasındadır. BV/TV parametresi için overektomili ve kör cerrahi grubu için sırasıyla % 59.61 ile % 79.86 ve % 83.47 ile % 87.64 arasında bulunmaktadır. Trabekül sayısı gruplar arasında farklılık göstermezken Tb.Sp overektomili sıçanlarda artış göstermektedir. Kemik mineral yoğunluğu osteoporozu tarif edebilmek için kullanılan en yaygın parametredir. Overektomili sıçanlardaki düşük Tb.Th değerleri osteoporozla bağlı trabeküler yapının incelendiğini gösterirken düşük BV/TV değerinin tek sebebidir. Ayrıca Tb.Sp'nin yüksek değerleride trabeküllerin gevşek yapısını ortaya koymaktadır. Bunların aksine kör cerrahi grubundaki yüksek BV/TV ve Tb.Th ve düşük Tb.Sp değerleri kompakt trabeküler yapının göstergesidir (249). Başka bir çalışmada overektomi uygulanmış sıçanların mandibular kemiğinde meydana gelen trabeküler değişim incelenmiştir. On iki haftalık 14 dişi sıçanın yarısına overektomi uygulanmış, yarısına kör cerrahi yapılmış ve 5 ay beklenmiştir. Kör gruba göre overektomi uygulanmış gruptaki Tb.Th miktarı % 27 ve Tb.Sp miktarı % 59 oranında azalma göstermiştir. Aynı zamanda kemik mineral yoğunluğunda da azalma meydana geldiği ortaya koyulmuştur (250). Bütün bu sonuçlar overektomili sıçanlarda alveolar kemiğin trabeküllerinde bozulma ve kemikte kayıpların oluştuğunun göstergesidir.

Oksitosinin osteoporoz tedavisinde kullanıldığında kemik dejenerasyonunu önlediği bilinmektedir. Qui ve ark. (2015), oksitosin tedavisinin etkinliğini 20 haftalık 60 tavşan üzerinde incelemişlerdir. Kontrol grubunun M-CT verilerine göre; doku mineral yoğunluğu başlangıçta, 4., 8., 10. ve 12. haftalarda sırasıyla 102.73 ± 12.75, 91.52 ± 12.85, 82.05 ± 13.22, 65.24 ± 8.56 ve 59.11 ± 12.35'dir. Doku mineral yoğunluğu başlarda hafif bir azalma göstermekte ve kör cerrahiden 10 hafta sonra belirgin bir azalma gözlenmektedir. Kontrol grubuna kıyasla overektomi uygulanmış tavşanlarda bu belirgin azalma 8. haftadan itibaren başlamaktadır. Doku mineral yoğunluğu kontrol ve overektomi grubunda takip edilen zaman dilimi boyunca anlamlı bir farklılık göstermemiştir (251).

Bizim çalışmamızda KMY, BV/TV, Tb.Th ve Tb.N değerlerinin zamanla azalması yukarıdaki çalışmalarla uyum içerisinde. Sıçanların maksimum ömürlerinin 2-2.5 yaş olduğu ve 1 yaşındaki sıçanların yaşlı kabul edildiği düşünülürse bizim çalışmamızda kullanılan 12 haftalık erişkin sıçanlar bekleme periyodu olan 3 aylık sürede artık orta yaş grubuna geçmektedir. Bu sonuçlardan yola çıkarak kemiğin yeniden şekillenme mekanizmasında yaşlanma ile uyumlu olarak rezorpsiyon yönünde çalışmasının 3. aydaki mineralizasyondaki azalmadan sorumlu olduğu düşünülmektedir. Çalışmanın sonuçlarına göre 1. ayda kemik iyileşmesinin neredeyse tamamlandığı görülmektedir. Literatürde histolojik olarak NkHA greft materyalinin kullanılmasıyla iyileşmenin 5. haftada bile ileri aşamalarda olduğu gözlenmiştir. Burdan yola çıkarak yaşlanmaya bağlı yanlış sonuçları elimine etmek için M-CT yorumlanmasının gruplar arasında karşılaştırılmasının daha doğru olduğunu düşünmekteyiz. Gruplar karşılaştırıldığında hBN-NkHA grubu ve sağlam kemik yaşa bağlı mineralizasyon azalması gösterse bile hBN-NkHA grubunun sağlam kemik ile benzer mineralizasyona sahip olduğu gözlenmiştir. Sağlam kemik ile kıyaslandığında NkHA grubu istatistiksel olarak anlamlı daha düşük mineralizasyon değerlerine sahiptir. Nanokristalin hidroksiapatit grubu ile kıyaslandığında hBN-NkHA grubu daha yüksek KMY değerleri gösterme eğilimindedir. Çalışmamızın hipotezine uygun olarak NkHA greft materyaline hBN'un ilavesi ile rejeneratif iyileşmenin indüklendiği ve istatistiksel olarak anlamlı olmasa bile tek başına NkHA greft materyali kullanılan gruba kıyasla test grubunda kemik mineralizasyon yoğunluğu açısından daha iyi sonuçlar ortaya koyulduğu kanıtlanmıştır.

Mikro tomografi kemik araştırmaları için altın standart olma yolunda umut vadeden bir metottur. Dental araştırmalarda radyografik takip amacıyla sıklıkla cone-beam bilgisayarlı tomografi kullanılmaktadır. Ferrare ve arkadaşları (2013); bu iki metodu alveolar kemik ölçümleri açısından değerlendirmeyi amaçlayan çalışma planlamışlardır. Bu çalışmada 40 diş ve alveolar kemik blokları kullanılmış ve her iyi yöntem ile mine-sement ile alveolar kret (MS-AK) arası mesafe, bukkal kemik kalınlığı ve lingual kemik kalınlığı hesaplanmıştır. Konvansiyonel tomografi MS-AK mesafesi olması gerekenden daha az hesaplanırken mikro tomografi yöntemi ile daha doğru veriler elde edilmektedir. Hesaplanan kemik kalınlıkları yönünden metotlar arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir. Bu çalışma ile alveolar kretin tepe

noktası gibi ince kemiklerin konvansiyonel yöntemler ile görüntülenemeyeceği ve kemik içeren çalışmalarda M-CT gibi hassas metotların kullanılması gerektiği ortaya koyulmuştur (252).

Freilich ve ark. (2009), osteokondüktif yüzeye sahip implantların osteoindüktif yapı iskeleleriyle kullanımının vertikal suprakrestal kemik büyümesini yönlendirme kapasitesine sahip olduğunu düşünmektedirler. Bu konsepti kanıtlamak için 13 tavşanın posterior mandibulasına kumlanmış, geniş gridli ve asitlenmiş yüzeye sahip implantlar yerleştirilmiştir. Altı tavşanın bir tarafına deproteinize kemik matriksi ile implant yerleştirilirken diğer tarafa kontrol olarak sadece implant yerleştirilmiştir. Kemik oluşumu mikro tomografik olarak değerlendirilmiştir. Kalan 7 tavşanın cerrahileri aynı şekilde gerçekleştirilmiş fakat kemik oluşumu hem mikro tomografik olarak hem de histolojik olarak değerlendirilmiştir. Bütün hayvanların değerlendirmeleri cerrahiden 8 hafta sonra yapılmıştır. Yapı iskelesi kullanılan grubun M-CT verilerinde bütün implantların suprakrestal kemik yüksekliğinde, yeni kemik tarafından sarılmış total hacimde, total mineralize doku hacminde ve kemik hacim fraksiyonunda artış olduğu gözlenmiştir. Suprakrestal kemik yükseklikleri yapı iskelesi kullanılan ve kullanılmayan grupta sırasıyla 2.1 ± 0.9 ve 0.5 ± 0.8 mm olarak bulunmuştur. Mikro tomografik olarak 2.1 ± 0.9 bulunan değer histomorfometrik analiz sonucunda 2.4 ± 0.6 olarak bulunmuştur. Mikro tomografi verileri bütün implant yüzeyinin etrafındaki kemiğin çepeçevre değerlendirilmesi ile elde edilirken histomorfometride sadece iki düzlemde elde edilen sonuçlar değerlendirilmektedir. Bu sebeple kemik hacim değerlendirmelerinde M-CT daha uygun bir metottur (253).

Biyomateriyallerin mikroyapısının; yıkıcı olmayan, tam, kesin ve yüksek çözünürlükte üç boyutlu analizine imkan tanıyan mikro tomografi metotunun kapasitesini değerlendirmeyi amaçlayan bir çalışma yayınlanmıştır. Bununla birlikte insan maksiller defektlerine yerleştirilen mercan kökenli biyomateriyallerin ve diğer seramik biyomateriyallerin biyolojik mekanizmasının anlaşılması amaçlanmıştır. Çift taraflı maksiller premolar veya molar diş eksikliği ve implant tedavisine ihtiyacı olan 12 sağlıklı (5 kadın, 7 erkek, sigara kullanmayan, yaş aralığı 55-71 olan) hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Kemik agumentasyonu operasyonundan 6 veya 7 ay sonra

implant yerleştirilecek alanlardan trefan frez ile rejenere kemik örnekleri toplanmıştır. Mikro tomografi sonuçlarına göre diğer örneklerle kıyasla mercan kökenli greftlerde BV/TV oranında artış ile birlikte yeni oluşmuş kemik miktarı (BV) daha fazla bulunmuştur. Ayrıca trabeküler kalınlıkta da artış ve mineralize yapının spesifik yüzeyinde azalma gözlenmiştir. Trikalsiyum fosfat greftleri en düşük BV, BV/TV ve Tb.Th oranları ile diğer greftlere kıyasla en kötü morfometrik özelliklere sahip olduğu görülmüştür. Bütün bu veriler M-CT'nin invaziv ve yıkıcı olmayan bir yolla tam, net ve yüksek çözünürlükte üç boyutlu analize imkan tanıdığı ve doku mühendisliğinde ileri düzey analizde önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur (242).

Mikro tomografi yeni oluşmuş kemik dokusunun invaziv olmayan incelenmesinde yüksek çözünürlüğe sahip mükemmel bir değerlendirme metodu olmasına rağmen kemik rejenerasyonu sırasında devam eden biyolojik süreç hakkında bilgi vermekte yetersiz kalmaktadır. Bu sebeple M-CT'nin diğer metotlar ile kombine kullanımının sonuçların doğrulanması açısından yararlı olabileceği düşünülmektedir. Doku mühendisliğinde kemik rejenerasyonun longitudinal olarak değerlendirilmesinde SPECT ve M-CT kombine kullanımının etkinliği incelenmiş ve tek başına M-CT verilerine göre kombine metotun doğal kemik ile benzer yoğunluğa sahip biyomateryal (hidroksiapatit/trikalsiyum fosfat gibi) kullanımında avantajlı olduğu ortaya koyulmuştur (254).

Park ve ark. (2005), osseoentegrasyon değerlendirilmesinde mikro tomografik değerlendirmenin yararını amaçlayan bir rapor düzenlemişlerdir. On iki tavşana yerleştirilmiş 48 implanttan alınmış örnekler M-CT ile değerlendirilmiş ve doğruluğu histolojik kesitlerinden elde edilen histomorfometrik veriler ile karşılaştırılmıştır. Kemik implant kontağının ortalama değerlerinin aynı olmamasına rağmen mikro tomografik morfometri ve histomorfometri verilerinin doğrusal olarak korele oldukları gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre mükemmel bir uyum gözlenmesede histomorfometri ile M-CT arasında güçlü bir ilişkinin olabileceği ortaya koyulmuştur (255).

Hastalıkların kemik mimarisi üzerindeki yaptığı kantitatif değişikliklerin anlaşılması yapılacak karşılaştırmalar için önem taşımaktadır. Farklı iskeletsel

alandan elde edilmiş sağlam ve patoloji gösteren örneklerin M-CT ile BV/TV, Tb.Th, Tb.Sp ve Tb.N parametrelerini içeren histomorfometrik analizinin yapıldığı bir çalışma yayınlanmıştır. Bu çalışmada aynı bireyin aynı iskeletsel alanından sağlam ve patolojik örnekler elde edilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde BV/TV oranı örnekler arasında belirgin farklılık göstermektedir. Bu sebeple bu parametrenin tek başına tüm kemik mikromimarisini karakterize etmekte yetersiz kaldığı görülmekte ve diğer üç boyutlu M-CT verileri ile desteklenmesi gerektiği gözlenmiştir (256).

Kemik doku mühendisliğinde iyileşme süreci boyunca meydana gelen değişimlerin incelenmesi temel amaçtır. Kemik depozisyonu ve biyobozunurluğu M-CT ve histolojik verilerin kombine kullanılması ile biyolojik süreç takip edilebilmekte ve bu metot rejenerasyonda iki anahtar metot olarak düşünülmektedir (257). Bizim çalışmamızın M-CT analizinde NkHA ve hBN-NkHA gruplarında üçüncü ay BV ölçümlerinin birinci ay ölçümlerine göre istatistiksel olarak anlamlı daha düşük olduğu saptanmıştır. Doğal kemik grubunda ise zamana göre BV ölçümlerinin benzer olduğu görülmüştür. Histomorfometrik analizde ise kemik hacminde zamanla azalma olmadığı aksine 1. ayda oluşmuş olan kemikleşmenin devam ettiği ve rejeneratif iyileşmenin sağlandığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar hidroksiapatit temelli kemik greftlerinin değerlendirilmesinde M-CT'nin diğer görüntüleme metotları ile kombine kullanılması gerektiğini ön plana çıkartan çalışmalar ile uyum içerisindedir. Ayrıca histolojik incelemelerin halen daha altın standart olduğu göz önüne alınırsa BV değerleri için test edilen materyalin periodontal rejenerasyonda umut vadeden bir materyal olduğu söylenebilir.

Yapılan literatür taramasında bizim çalışmamızla benzer dizaynda bir çalışmaya rastalanılmadığından doğrudan bir kıyaslama yapmak mümkün olmamıştır. Buna rağmen yukarıdaki bilgiler ışığında çalışmamızda sıçanlarda oluşturulan kritik boyuttaki kemik defektlerinin rejeneratif tedavisinde %4 hBN'ün ilave kullanımının etkinliği ile ilgili tartışmalara ışık tuttuğu, ancak NkHA-hBN'ün rejeneratif kapasitesi ile ilgili kesin bir sonuca varabilmek için örneklem sayısının artırıldığı daha fazla sayıda hayvan çalışmasına ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızda çift taraflı deneysel kemik içi defektlerin periodontal tedavisinde rastgele olarak bir tarafına NkHA greft materyali diğer bölgesine NkHA+hBN greft materyali uygulandı. Cerrahiden 4 ve 12 hafta sonra elde edilen kemik örnekleri histolojik, histomorfometrik ve mikro tomografik olarak incelenerek kemik içi defektlerin tedavisinde etkinliği anlaşılmaya çalışıldı.

- 1) Literatürde kemik içi defektlerin tedavisinde NkHA ile ilgili çalışmaların sonuçları benzerlik göstermesine rağmen hBN'un periodontal rejenerasyona katkısını araştıran herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.
- 2) Hegzagonal bor nitrürün osteoblastlara olan afinitesinden dolayı materyal üzerinde kısa sürede apatit kristalleri oluşmakta ve doğal kemiğe yakın bir iyileşme sağlanmaktadır.
- 3) Nano yapıların kullanılması ile tedavi süreleri kısaltmakta ve konakta herhangi bir yabancı cisim reaksiyonu oluşturmamaktadır.
- 4) Çalışmamızın rastgele – kontrollü dizayn olması ve aynı hayvan içinde farklı kuadrantların değerlendirilmesi, çalışma sonuçlarının güvenilirliğini artırmak için planlandı.
- 5) Çalışmamızda tüm hayvanlara standart cerrahi prosedür uygulandı.
- 6) Çalışmamızda kontrol grubu olarak seçilen materyal, literatürde kemik agumentasyon işlemlerinde kullanılan ve sonuçları rapor edilmiş seramik temelli bir greft materyalidir. Test grubunda kullanılan materyal ise literatürde yeni kullanılmaya başlanmış ve osteoblastlar üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı kemik içi defektlerin tedavisinde başarı oranlarını yükseltebilecek özelliklere sahiptir.
- 7) Histomorfometrik incelemeler kemik iyileşme mekanizmalarının anlaşılması için standart olarak kullanılmasına rağmen histolojik kesitler kemik doku örneğinin merkezindeki kesiti iki boyutlu olarak ifade eder. Mikro tomografi analizler ise daha büyük bölgelerin üç boyutlu incelenmesini sağlar. Çalışmamızda örnekler iki yöntemle de değerlendirilerek sonuçlar karşılaştırıldı.

- 8) Mikro tomografi parametreleri açısından KMY, BV, BV/TV, Tb.Th, Tb.Sp ve Tb.N açısından 1. ayda gruplar arasında bir fark gözlenmemişken 3. ay verilerinde sağlam kemik verileri ile test grubu verileri arasında istatistiksel bir farklılık olmadığı gözlenmiştir. Yani hBN'un NkHA'a ilavesiyle doğal kemiğe yakın bir iyileşme meydana gelmektedir.
- 9) Çalışmamızın sonucunda iki grupta da benzer oranda ve kalitede ve literatürde kabul gören diğer kemik greft materyalleri ile benzer oranda ve kalitede yeni kemik oluştuğu saptandı.
- 10) Çalışmamızda hBN+NkHA'nın içinde ve yakın kontağında yeni kemik oluşumu saptanması materyalin osteokondüktif özelliğini doğrulamaktadır. Kemik içi defektlerde yeterli sürede rezorbe olmadan ortamda kalabilmesi ve kemik iyileşmesinde olumlu bir etkisinin olması, bu materyalin kemik grefti olarak kullanılma potansiyeli olabileceğini göstermektedir.
- 11) Bu konu ile ilgili yapılacak, daha büyük kemik içi defektlerden veya farklı hayvan modelinden alınan kemik doku örneklerinin histolojik, histomorfometrik ve mikro tomografik yöntemi ile incelendiği, kör cerrahi uygulanmış bir grubunda eklendiği ve örneklem sayısının artırıldığı daha ileri çalışmalar ile kemik iyileşme mekanizmalarının ve kullanılan materyalin bu iyileşme mekanizmaları üzerine olan etkilerinin daha iyi anlaşılmasını sağlayabilir.

7. KAYNAKÇA

1. **Fleckenstein KB, Cuenin MF, Peacock ME, Billman MA, Swiec GD, Buxton TB, et al.** Effect of a hydroxyapatite tricalcium phosphate alloplast on osseous repair in the rat calvarium. *J Periodontol.* **2006**;77(1):39-45.
2. **Lang NP.** Focus on intrabony defects--conservative therapy. *Periodontol 2000.* **2000**;22:51-58.
3. **Piemontese M, Aspriello SD, Rubini C, Ferrante L, Procaccini M.** Treatment of periodontal intrabony defects with demineralized freeze-dried bone allograft in combination with platelet-rich plasma: a comparative clinical trial. *J Periodontol.* **2008**;79(5):802-810.
4. **Wang HL, Greenwell H, Fiorellini J, Giannobile W, Offenbacher S, Salkin L, et al.** Periodontal Regeneration. *J Periodontol* **2005**;9(76):1601-1622.
5. **Reynolds MA, Kao RT, Camargo PM, Caton JG, Clem DS, Fiorellini JP, et al.** Periodontal regeneration - intrabony defects: a consensus report from the AAP Regeneration Workshop. *J Periodontol.* **2015**;86(2 Suppl):S105-107.
6. **Lee MJ, Kim BO, Yu SJ.** Clinical evaluation of a biphasic calcium phosphate grafting material in the treatment of human periodontal intrabony defects. *J Periodontal Implant Sci.* **2012**;42(4):127-135.
7. **Brunsvold MA, Mellonig JT.** Bone grafts and periodontal regeneration. *Periodontol 2000.* **1993**;1(1):80-91.
8. **Scabbia A, Trombelli L.** A comparative study on the use of a HA/collagen/chondroitin sulphate biomaterial (Biostite) and a bovine-derived HA xenograft (Bio-Oss) in the treatment of deep intra-osseous defects. *J Clin Periodontol.* **2004**;31(5):348-355.
9. **Sowmya NK, Tarun Kumar AB, Mehta DS.** Clinical evaluation of regenerative potential of type I collagen membrane along with xenogenic bone graft in the treatment of periodontal intrabony defects assessed with surgical re-entry and radiographic linear and densitometric analysis. *J Indian Soc Periodontol.* **2010**;14(1):23-29.
10. **Jain R, Kaur H, Jain S, Kapoor D, Nanda T, Jain M.** Comparison of Nano-Sized Hydroxyapatite and beta-Tricalcium Phosphate in the Treatment of Human Periodontal Intrabony Defects. *J Clin Diagn Res.* **2014**;8(10):ZC74-78.
11. **Sigurdsson TJ, Hardwick R, Bogle GC, Wikesjo UM.** Periodontal repair in dogs: space provision by reinforced ePTFE membranes enhances bone and cementum regeneration in large supraalveolar defects. *J Periodontol.* **1994**;65(4):350-356.
12. **Houser BE, Mellonig JT, Brunsvold MA, Cochran DL, Meffert RM, Alder ME.** Clinical evaluation of anorganic bovine bone xenograft with a bioabsorbable collagen barrier in the treatment of molar furcation defects. *Int J Periodontics Restorative Dent.* **2001**;21(2):161-169.
13. **Paolantonio M.** Combined periodontal regenerative technique in human intrabony defects by collagen membranes and anorganic bovine bone. A controlled clinical study. *J Periodontol.* **2002**;73(2):158-166.
14. **Misch CE, Dietsh F.** Bone-grafting materials in implant dentistry. *Implant Dent.* **1993**;2(3):158-167.
15. **Trombelli L, Heitz-Mayfield LJ, Needleman I, Moles D, Scabbia A.** A systematic review of graft materials and biological agents for periodontal intraosseous defects. *J Clin Periodontol.* **2002**;29 Suppl 3:117-135; discussion 160-112.
16. **Reynolds MA, Aichelmann-Reidy ME, Branch-Mays GL, Gunsolley JC.** The efficacy of bone replacement grafts in the treatment of periodontal osseous defects. A systematic review. *Ann Periodontol.* **2003**;8(1):227-265.

17. **Aichelmann-Reidy ME, Yukna RA.** Bone replacement grafts. The bone substitutes. *Dent Clin North Am.* **1998**;42(3):491-503.
18. **Blumenthal N, Steinberg J.** The use of collagen membrane barriers in conjunction with combined demineralized bone-collagen gel implants in human intrabony defects. *J Periodontol.* **1990**;61(6):319-327.
19. **Parashis A, Andronikaki-Faldami A, Tsiklakis K.** Comparison of 2 regenerative procedures--guided tissue regeneration and demineralized freeze-dried bone allograft--in the treatment of intrabony defects: a clinical and radiographic study. *J Periodontol.* **1998**;69(7):751-758.
20. **Nygaard-Ostby P, Bakke V, Nesdal O, Nilssen HK, Susin C, Wikesjo UM.** Periodontal healing following reconstructive surgery: effect of guided tissue regeneration using a bioresorbable barrier device when combined with autogenous bone grafting. A randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* **2008**;35(1):37-43.
21. **Gottlow J, Nyman S, Karring T, Lindhe J.** New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration. *J Clin Periodontol.* **1984**;11(8):494-503.
22. **Haney JM, Nilveus RE, McMillan PJ, Wikesjo UM.** Periodontal repair in dogs: expanded polytetrafluoroethylene barrier membranes support wound stabilization and enhance bone regeneration. *J Periodontol.* **1993**;64(9):883-890.
23. **Kenney EB, Lekovic V, Han T, Carranza FA, Jr., Dimitrijevic B.** The use of a porous hydroxylapatite implant in periodontal defects. I. Clinical results after six months. *J Periodontol.* **1985**;56(2):82-88.
24. **Meffert RM, Thomas JR, Hamilton KM, Brownstein CN.** Hydroxylapatite as an alloplastic graft in the treatment of human periodontal osseous defects. *J Periodontol.* **1985**;56(2):63-73.
25. **Saffar JL, Colombier ML, Detienville R.** Bone formation in tricalcium phosphate-filled periodontal intrabony lesions. Histological observations in humans. *J Periodontol.* **1990**;61(4):209-216.
26. **Yukna RA, Mayer ET, Amos SM.** 5-year evaluation of durapatite ceramic alloplastic implants in periodontal osseous defects. *J Periodontol.* **1989**;60(10):544-551.
27. **Ganeles J, Listgarten MA, Evian CI.** Ultrastructure of durapatite-periodontal tissue interface in human intrabony defects. *J Periodontol.* **1986**;57(3):133-140.
28. **Thorwarth M, Schultze-Mosgau S, Kessler P, Wiltfang J, Schlegel KA.** Bone regeneration in osseous defects using a resorbable nanoparticulate hydroxyapatite. *J Oral Maxillofac Surg.* **2005**;63(11):1626-1633.
29. **Öztürk Güven E, Şam M, Çırak T, Bayram C, Erdal E, Karahaliloğlu Z, et al.** Nanobülten. **2011**; 13: 8-11. In: Her Yönüyle Nano [Internet]. http://www.nanott.hacettepe.edu.tr/nanobulten/13/nanobulten13_hr.pdf
30. **Pepla E, Besharat LK, Palaia G, Tenore G, Migliau G.** Nano-hydroxyapatite and its applications in preventive, restorative and regenerative dentistry: a review of literature. *Ann Stomatol (Roma).* **2014**;5(3):108-114.
31. **Gotz W, Gerber T, Michel B, Lossdorfer S, Henkel KO, Heinemann F.** Immunohistochemical characterization of nanocrystalline hydroxyapatite silica gel (NanoBone(r)) osteogenesis: a study on biopsies from human jaws. *Clin Oral Implants Res.* **2008**;19(10):1016-1026.
32. **Tampieri A, Celotti G, Landi E.** From biomimetic apatites to biologically inspired composites. *Anal Bioanal Chem.* **2005**;381(3):568-576.
33. **Wu LC, Yang J, Kopecek J.** Hybrid hydrogels self-assembled from graft copolymers containing complementary beta-sheets as hydroxyapatite nucleation scaffolds. *Biomaterials.* **2011**;32(23):5341-5353.

34. **Lahiri D, Rouzaud F, Richard T, Keshri AK, Bakshi SR, Kos L, et al.** Boron nitride nanotube reinforced polylactide-polycaprolactone copolymer composite: mechanical properties and cytocompatibility with osteoblasts and macrophages in vitro. *Acta biomaterialia*. **2010**;6(9):3524-3533.
35. **Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Caranza FA.** Caranza's Clinical Periodontology. 11th. Ed, China: Elsevier Inc., **2006**: 33-65.
36. **Lindhe J, Lang NP, Karring T.** Clinical Periodontology and Implant Dentistry. 5th. Ed, Hong Kong: Blackwell Publishing Ltd, **2008**: 3-50.
37. **Bosshardt DD, Sculean A.** Does periodontal tissue regeneration really work? *Periodontol 2000*. **2009**;51:208-219.
38. World Health Organization. Epidemiology, aetiology and prevention of periodontal diseases *Technical Report Series*. **1978**:7-8.
39. **Lindhe J, Lang NP, Karring T.** Clinical Periodontology and Implant Dentistry. 5th. Ed, Hong Kong: Blackwell Ltd., **2008**: 207-268.
40. **Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Caranza FA.** Caranza's Clinical Periodontology. 11th. Ed, China: Elsevier Inc., **2006**: 140-151.
41. **Papapanou PN, Tonetti MS.** Diagnosis and epidemiology of periodontal osseous lesions. *Periodontol 2000*. **2000**;22:8-21.
42. **Kornman KS, Robertson PB.** Fundamental principles affecting the outcomes of therapy for osseous lesions. *Periodontol 2000*. **2000**;22:22-43.
43. **Wang HL, MacNeil RL.** Guided tissue regeneration. Absorbable barriers. *Dent Clin North Am*. **1998**;42(3):505-522.
44. **Carnevale G, Kaldahl WB.** Osseous resective surgery. *Periodontol 2000*. **2000**;22:59-87.
45. **Nasr HF, Aichelmann-Reidy ME, Yukna RA.** Bone and bone substitutes. *Periodontol 2000*. **1999**;19:74-86.
46. **Reynolds MA, Aichelmann-Reidy ME, Branch-Mays GL.** Regeneration of periodontal tissue: bone replacement grafts. *Dent Clin North Am*. **2010**;54(1):55-71.
47. **Schallhorn RG.** Present status of osseous grafting procedures. *J Periodontol*. **1977**;48(9):570-576.
48. **Hegedus Z.** The rebuilding of the alveolar process by bone transplantation. *Dent Cosmos* **1923**(65):736-742.
49. **Rosenberg E, Rose LF.** Biologic and clinical considerations for autografts and allografts in periodontal regeneration therapy. *Dent Clin North Am*. **1998**;42(3):467-490.
50. **Hoexter DL.** Bone regeneration graft materials. *J Oral Implantol*. **2002**;28(6):290-294.
51. **Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E.** Bone substitutes: an update. *Injury*. **2005**;36 Suppl 3:S20-27.
52. **Moore WR, Graves SE, Bain GI.** Synthetic bone graft substitutes. *ANZ J Surg*. **2001**;71(6):354-361.
53. **Galindo-Moreno P, Avila G, Fernandez-Barbero JE, Aguilar M, Sanchez-Fernandez E, Cutando A, et al.** Evaluation of sinus floor elevation using a composite bone graft mixture. *Clin Oral Implants Res*. **2007**;18(3):376-382.
54. **Jadlowiec JA, Celil AB, Hollinger JO.** Bone tissue engineering: recent advances and promising therapeutic agents. *Expert Opin Biol Ther*. **2003**;3(3):409-423.
55. **Carraro JJ, Sznajder N, Alonso CA.** Intraoral cancellous bone autografts in the treatment of infrabony pockets. *J Clin Periodontol*. **1976**;3(2):104-109.
56. **Karring T.** Regenerative periodontal therapy. *J Int Acad Periodontol*. **2000**;2(4):101-109.

57. **Misch CM.** Comparison of intraoral donor sites for onlay grafting prior to implant placement. *Int J Oral Maxillofac Implants.* **1997**;12(6):767-776.
58. **Misch CM, Misch CE.** The repair of localized severe ridge defects for implant placement using mandibular bone grafts. *Implant Dent.* **1995**;4(4):261-267.
59. **Froum SJ, Gomez C, Breault MR.** Current concepts of periodontal regeneration. A review of the literature. *N Y State Dent J.* **2002**;68(9):14-22.
60. **Froum SJ, Weinberg MA, Tarnow D.** Comparison of bioactive glass synthetic bone graft particles and open debridement in the treatment of human periodontal defects. A clinical study. *J Periodontol.* **1998**;69(6):698-709.
61. **Kao ST, Scott DD.** A review of bone substitutes. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* **2007**;19(4):513-521, vi.
62. **Froum SJ, Ortiz M, Witkin RT, Thaler R, Scopp IW, Stahl SS.** Osseous autografts. III. Comparison of osseous coagulum-bone blend implants with open curetage. *J Periodontol.* **1976**;47(5):287-294.
63. **Hanes PJ.** Bone replacement grafts for the treatment of periodontal intrabony defects. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* **2007**;19(4):499-512, vi.
64. **Parikh SN.** Bone graft substitutes: past, present, future. *J Postgrad Med.* **2002**;48(2):142-148.
65. **Wang HL, Greenwell H, Fiorellini J, Giannobile W, Offenbacher S, Salkin L, et al.** Periodontal regeneration. *J Periodontol.* **2005**;76(9):1601-1622.
66. **Schwartz Z, Weesner T, van Dijk S, Cochran DL, Mellonig JT, Lohmann CH, et al.** Ability of deproteinized cancellous bovine bone to induce new bone formation. *J Periodontol.* **2000**;71(8):1258-1269.
67. **Sculean A, Chiantella GC, Windisch P, Gera I, Reich E.** Clinical evaluation of an enamel matrix protein derivative (Emdogain) combined with a bovine-derived xenograft (Bio-Oss) for the treatment of intrabony periodontal defects in humans. *Int J Periodontics Restorative Dent.* **2002**;22(3):259-267.
68. **Scheyer ET, Velasquez-Plata D, Brunsvold MA, Lasho DJ, Mellonig JT.** A clinical comparison of a bovine-derived xenograft used alone and in combination with enamel matrix derivative for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J Periodontol.* **2002**;73(4):423-432.
69. **Camelo M, Nevins ML, Schenk RK, Simion M, Rasperini G, Lynch SE, et al.** Clinical, radiographic, and histologic evaluation of human periodontal defects treated with Bio-Oss and Bio-Gide. *Int J Periodontics Restorative Dent.* **1998**;18(4):321-331.
70. **Mellonig JT.** Human histologic evaluation of a bovine-derived bone xenograft in the treatment of periodontal osseous defects. *Int J Periodontics Restorative Dent.* **2000**;20(1):19-29.
71. **Sculean A, Windisch P, Keglevich T, Chiantella GC, Gera I, Donos N.** Clinical and histologic evaluation of human intrabony defects treated with an enamel matrix protein derivative combined with a bovine-derived xenograft. *Int J Periodontics Restorative Dent.* **2003**;23(1):47-55.
72. **Schlegel AK, Donath K.** BIO-OSS--a resorbable bone substitute? *J Long Term Eff Med Implants.* **1998**;8(3-4):201-209.
73. **Sartori S, Silvestri M, Forni F, Icaro Cornaglia A, Tesei P, Cattaneo V.** Ten-year follow-up in a maxillary sinus augmentation using anorganic bovine bone (Bio-Oss). A case report with histomorphometric evaluation. *Clin Oral Implants Res.* **2003**;14(3):369-372.
74. **Bauer TW, Muschler GF.** Bone graft materials. An overview of the basic science. *Clin Orthop Relat Res.* **2000**(371):10-27.
75. **Tomin E, Beksac B, Lane JM.** Amerika Birlesik Devletlerinde Ortopedik Girişimlerde Ototogreftlerin Yerine Kullanılan Materyallere Toplu Bakış. *Artroplastik Artroskopik Cerrahi.* **2002**;13(2):114-129.

76. **Rosen PS, Reynolds MA, Bowers GM.** The treatment of intrabony defects with bone grafts. *Periodontol 2000*. **2000**;22:88-103.
77. **Oh S, Oh N, Appleford M, Ong JL.** Bioceramics for Tissue Engineering Applications- A Review. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. **2006**;2(2):49-56.
78. **Lowney C.** Book review: Carranza's clinical periodontology: twelfth edition. *Br Dent J*. **2015**;218(8):445.
79. **Stavropoulos A, Windisch P, Szendroi-Kiss D, Peter R, Gera I, Sculean A.** Clinical and histologic evaluation of granular Beta-tricalcium phosphate for the treatment of human intrabony periodontal defects: a report on five cases. *J Periodontol*. **2010**;81(2):325-334.
80. **Horch HH, Sader R, Pautke C, Neff A, Deppe H, Kolk A.** Synthetic, pure-phase beta-tricalcium phosphate ceramic granules (Cerasorb) for bone regeneration in the reconstructive surgery of the jaws. *Int J Oral Maxillofac Surg*. **2006**;35(8):708-713.
81. **Gaasbeek RD, Toonen HG, van Heerwaarden RJ, Buma P.** Mechanism of bone incorporation of beta-TCP bone substitute in open wedge tibial osteotomy in patients. *Biomaterials*. **2005**;26(33):6713-6719.
82. **Chazono M, Tanaka T, Komaki H, Fujii K.** Bone formation and bioresorption after implantation of injectable beta-tricalcium phosphate granules-hyaluronate complex in rabbit bone defects. *J Biomed Mater Res A*. **2004**;70(4):542-549.
83. **Suba Z, Takacs D, Matusovits D, Barabas J, Fazekas A, Szabo G.** Maxillary sinus floor grafting with beta-tricalcium phosphate in humans: density and microarchitecture of the newly formed bone. *Clin Oral Implants Res*. **2006**;17(1):102-108.
84. **Kurashina K, Kurita H, Wu Q, Ohtsuka A, Kobayashi H.** Ectopic osteogenesis with biphasic ceramics of hydroxyapatite and tricalcium phosphate in rabbits. *Biomaterials*. **2002**;23(2):407-412.
85. **Zerbo IR, Zijdeveld SA, de Boer A, Bronckers AL, de Lange G, ten Bruggenkate CM, et al.** Histomorphometry of human sinus floor augmentation using a porous beta-tricalcium phosphate: a prospective study. *Clin Oral Implants Res*. **2004**;15(6):724-732.
86. **Bucholz RW, Carlton A, Holmes RE.** Hydroxyapatite and tricalcium phosphate bone graft substitutes. *Orthop Clin North Am*. **1987**;18(2):323-334.
87. **Thorwarth M, Wehrhan F, Srouf S, Schultze-Mosgau S, Felszeghy E, Bader RD, et al.** Evaluation of substitutes for bone: Comparison of microradiographic and histological assessments. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. **2007**;45:41-47.
88. **Turhani D, Cvinkl B, Watzinger E, Weissenbock M, Yerit K, Thurnher D, et al.** In vitro growth and differentiation of osteoblast-like cells on hydroxyapatite ceramic granule calcified from red algae. *J Oral Maxillofac Surg*. **2005**;63(6):793-799.
89. **Fleming JE, Jr., Cornell CN, Muschler GF.** Bone cells and matrices in orthopedic tissue engineering. *Orthop Clin North Am*. **2000**;31(3):357-374.
90. **Ogilvie A, Frank RM, Benque EP, Gineste M, Heughebaert M, Hemmerle J.** The biocompatibility of hydroxyapatite implanted in the human periodontium. *J Periodontol Res*. **1987**;22(4):270-283.
91. **Tamai N, Myoui A, Tomita T, Nakase T, Tanaka J, Ochi T, et al.** Novel hydroxyapatite ceramics with an interconnective porous structure exhibit superior osteoconduction in vivo. *J Biomed Mater Res*. **2002**;59(1):110-117.
92. **Wiltfang J, Kessler P, Buchfelder M, Merten HA, Neukam FW, Rupprecht S.** Reconstruction of skull bone defects using the hydroxyapatite cement with calvarial split transplants. *J Oral Maxillofac Surg*. **2004**;62(1):29-35.
93. **Berglundh T, Lindhe J.** Healing around implants placed in bone defects treated with Bio-Oss. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res*. **1997**;8(2):117-124.

94. **Nery EB, LeGeros RZ, Lynch KL, Lee K.** Tissue response to biphasic calcium phosphate ceramic with different ratios of HA/beta TCP in periodontal osseous defects. *J Periodontol.* **1992**;63(9):729-735.
95. **Jensen SS, Yeo A, Dard M, Hunziker E, Schenk R, Buser D.** Evaluation of a novel biphasic calcium phosphate in standardized bone defects: a histologic and histomorphometric study in the mandibles of minipigs. *Clin Oral Implants Res.* **2007**;18(6):752-760.
96. **Stein JM, Fickl S, Yekta SS, Hoischen U, Ocklenburg C, Smeets R.** Clinical evaluation of a biphasic calcium composite grafting material in the treatment of human periodontal intrabony defects: a 12-month randomized controlled clinical trial. *J Periodontol.* **2009**;80(11):1774-1782.
97. **Jepsen S, Topoll H, Rengers H, Heinz B, Teich M, Hoffmann T, et al.** Clinical outcomes after treatment of intra-bony defects with an EMD/synthetic bone graft or EMD alone: a multicentre randomized-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* **2008**;35(5):420-428.
98. **Meyle J, Hoffmann T, Topoll H, Heinz B, Al-Machot E, Jervoe-Storm PM, et al.** A multi-centre randomized controlled clinical trial on the treatment of intra-bony defects with enamel matrix derivatives/synthetic bone graft or enamel matrix derivatives alone: results after 12 months. *J Clin Periodontol.* **2011**;38(7):652-660.
99. **Pietruska M, Pietruski J, Nagy K, Brecx M, Arweiler NB, Sculean A.** Four-year results following treatment of intrabony periodontal defects with an enamel matrix derivative alone or combined with a biphasic calcium phosphate. *Clin Oral Investig.* **2012**;16(4):1191-1197.
100. **Abukawa H, Papadaki M, Abulikemu M, Leaf J, Vacanti JP, Kaban LB, et al.** The engineering of craniofacial tissues in the laboratory: a review of biomaterials for scaffolds and implant coatings. *Dent Clin North Am.* **2006**;50(2):205-216, viii.
101. **Öztürk Güven E, Şam M, Çırak T, Bayram C, Erdal E, Karahaliloğlu Z, et al.** Nanobülten. **2011**; 13: 12-19. In: Her Yönüyle Nano [Internet]. http://www.nanott.hacettepe.edu.tr/nanobulten/13/nanobulten13_hr.pdf
102. **Öztürk Güven E, Şam M, Çırak T, Bayram C, Erdal E, Karahaliloğlu Z, et al.** Nanobülten. **2011**; 13: 46-51. In: Her Yönüyle Nano [Internet]. http://www.nanott.hacettepe.edu.tr/nanobulten/13/nanobulten13_hr.pdf
103. **Kasaj A, Rohrig B, Zafiropoulos GG, Willershausen B.** Clinical evaluation of nanocrystalline hydroxyapatite paste in the treatment of human periodontal bony defects--a randomized controlled clinical trial: 6-month results. *J Periodontol.* **2008**;79(3):394-400.
104. **Canullo L, Dellavia C, Heinemann F.** Maxillary sinus floor augmentation using a nanocrystalline hydroxyapatite silica gel: case series and 3-month preliminary histological results. *Ann Anat.* **2012**;194(2):174-178.
105. **Singh VP, Nayak DG, Upoor AS, Shah D.** Clinical and radiographic evaluation of Nanocrystalline hydroxyapatite bone graft (Sybograf) in combination with bioresorbable collagen membrane (Periocol) in periodontal intrabony defects. *Dent Res J (Isfahan).* **2012**;9(1):60-67.
106. **Smeets R, Grosjean MB, Jelitte G, Heiland M, Kasaj A, Riediger D, et al.** [Hydroxyapatite bone substitute (Ostim) in sinus floor elevation. Maxillary sinus floor augmentation: bone regeneration by means of a nanocrystalline in-phase hydroxyapatite (Ostim)]. *Schweiz Monatsschr Zahnmed.* **2008**;118(3):203-212.
107. **Schwarz F, Sculean A, Bieling K, Ferrari D, Rothamel D, Becker J.** Two-year clinical results following treatment of peri-implantitis lesions using a nanocrystalline hydroxyapatite or a natural bone mineral in combination with a collagen membrane. *J Clin Periodontol.* **2008**;35(1):80-87.
108. **Heinz B, Kasaj A, Teich M, Jepsen S.** Clinical effects of nanocrystalline hydroxyapatite paste in the treatment of intrabony periodontal defects: a randomized controlled clinical study. *Clin Oral Investig.* **2010**;14(5):525-531.

109. **Horvath A, Stavropoulos A, Windisch P, Lukacs L, Gera I, Sculean A.** Histological evaluation of human intrabony periodontal defects treated with an unsintered nanocrystalline hydroxyapatite paste. *Clin Oral Investig.* **2013**;17(2):423-430.
110. **Singh VP, Nayak DG, Uppoor AS, Shah D.** Nano-crystalline hydroxyapatite bone graft combined with bioresorbable collagen membrane in the treatment of periodontal intrabony defects: A randomized controlled clinical trial. *J Indian Soc Periodontol.* **2012**;16(4):562-568.
111. **Chitsazi MT, Shirmohammadi A, Faramarzie M, Pourabbas R, Rostamzadeh A.** A clinical comparison of nano-crystalline hydroxyapatite (Ostim) and autogenous bone graft in the treatment of periodontal intrabony defects. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* **2011**;16(3):e448-453.
112. **Kılınç E, Mordoğan H, Tanrıverdi M.** Bor Minerallerinin Önemi, Potansiyeli, Üretimi ve Ekonomisi. *4Endüstriyel Hammaddeler Sempozyumu 118-19 Ekim 2001, İzmir, Türkiye.* **2001.**
113. **Saygıdeğer Demir B.** BORUN İNSAN VE BİTKİ İÇİN ÖNEMİ VE BAZI ÜZÜM ÇEŞİTLERİNDE BOR TAYİNİ. **2005.**
114. **Sutherland B, Strong P, King JC.** Determining Human Dietary Requirements for Boron. **1998.**
115. **Demirer S, Kara MI, Erciyas K, Ozdemir H, Ozer H, Ay S.** Effects of boric acid on experimental periodontitis and alveolar bone loss in rats. *Archives of oral biology.* **2012**;57(1):60-65.
116. **Yesilbag D, Eren M.** Effects of Dietary Boric Acid Supplementation on Performance, Eggshell Quality and Some Serum Parameters in Aged Laying Hens. *Turk J Vet Anim Sci* **2008**; 32(2): 113-117. **2008.**
117. **Nielsen FH.** Is boron nutritionally relevant? *Nutrition reviews.* **2008**;66(4):183-191.
118. **Moseman RF.** Chemical Disposition of Boron in Animals and Humans. **1994.**
119. **WHO.** Guidelines for Drinking-Water Quality - Second Edition - Volume 2 - Health Criteria and Other Supporting Information - Addendum. **1998.**
120. **Armstrong TA, Spears JW.** Effect of dietary boron on growth performance, calcium and phosphorus metabolism, and bone mechanical properties in growing barrows. *Journal of animal science.* **2001**;79(12):3120-3127.
121. **Armstrong TA, Flowers WL, Spears JW, Nielsent FH.** Long-term effects of boron supplementation on reproductive characteristics and bone mechanical properties in gilts. *Journal of animal science.* **2002**;80(1):154-161.
122. **Armstrong TA, Spears JW.** Effect of boron supplementation of pig diets on the production of tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma. *Journal of animal science.* **2003**;81(10):2552-2561.
123. **Fry RS, Brown TT, Jr., Lloyd KE, Hansen SL, Legleiter LR, Robarge WP, et al.** Effect of dietary boron on physiological responses in growing steers inoculated with bovine herpesvirus type-1. *Research in veterinary science.* **2011**;90(1):78-83.
124. **Ince S, Kucukkurt I, Cigerci IH, Fatih Fidan A, Eryavuz A.** The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats. *Journal of trace elements in medicine and biology : organ of the Society for Minerals and Trace Elements.* **2010**;24(3):161-164.
125. **Ince S, Kucukkurt I, Demirel HH, Acaroz DA, Akbel E, Cigerci IH.** Protective effects of boron on cyclophosphamide induced lipid peroxidation and genotoxicity in rats. *Chemosphere.* **2014**;108:197-204.
126. **Yazici S, Aksit H, Korkut O, Sunay B, Celik T.** Effects of boric acid and 2-aminoethoxydiphenyl borate on necrotizing enterocolitis. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition.* **2014**;58(1):61-67.
127. **Eckhart CD.** Boron stimulated embryonic growth in rainbow trout is not a result of antimicrobial action. *Faseb J.* **1998**;12(4):A205-A205.

128. **Fort DJ, Propst TL, Stover EL, Strong PL, Murray FJ.** Adverse reproductive and developmental effects in *Xenopus* from insufficient boron. *Biological trace element research*. **1998**;66(1-3):237-259.
129. **Nielsen FH.** Studies on the relationship between boron and magnesium which possibly affects the formation and maintenance of bones. *Magnesium and trace elements*. **1990**;9(2):61-69.
130. **Benderdour M, Hess K, Gadet MD, Dousset B, Nabet P, Belleville F.** Effect of Boric Acid Solution on Cartilage Metabolism. **1997**.
131. **Nzietchueng RM, Dousset B, Franck P, Benderdour M, Nabet P, Hess K.** Mechanisms implicated in the effects of boron on wound healing. **2002**.
132. **Dzondo-Gadet M, Mayap-Nzietchueng R, Hess K, Nabet P, Belleville F, Dousset B.** Action of Boron at the Molecular Level Effects on Transcription and Translation in an Acellular System. **2000**.
133. **Nielsen FH, Hunt CD, Mullen LM, Hunt JR.** Effect of dietary boron on mineral, estrogen, and testosterone metabolism in postmenopausal women. *FASEB J*. **1987**;1(5):394-397.
134. **Hunt CD.** The Biochemical Effects of Physiologic Amounts of Dietary Boron in Animal Nutrition Models. **1994**.
135. **Sheng MHC, Taper LJ, Veit H, Thomas EA, Ritchey SJ, Lau KHW.** Dietary Boron Supplementation Enhances the Effects of Estrogen on Bone Mineral Balance in Ovariectomized Rats. **2000**.
136. **Sheng MHC, Taper LJ, Veit H, Qian H, Ritchey SJ, Lau KHW.** Dietary Boron Supplementation Enhanced the Action of Estrogen, But Not That of Parathyroid Hormone, to Improve Trabecular Bone Quality in Ovariectomized Rats. **2001**.
137. **Gallardo-Williams MT, Maranpot RR, Turner CH, Johnson CS, Harris MW, Jayo MJ, et al.** Effects of Boric Acid Supplementation on Bone Histomorphometry, Metabolism, and Biomechanical Properties in Aged Female F-344 Rats. **2002**.
138. **Nielsen FH, Stoecker BJ.** Boron and fish oil have different beneficial effects on strength and trabecular microarchitecture of bone. *Journal of trace elements in medicine and biology : organ of the Society for Minerals and Trace Elements*. **2009**;23(3):195-203.
139. **Gorustovich AA, Steimetz T, Nielsen FH, Guglielmotti MB.** A histomorphometric study of alveolar bone modelling and remodelling in mice fed a boron-deficient diet. *Archives of oral biology*. **2008**;53(7):677-682.
140. **Gorustovich AA, Steimetz T, Nielsen FH, Guglielmotti MB.** Histomorphometric study of alveolar bone healing in rats fed a boron-deficient diet. *Anatomical record*. **2008**;291(4):441-447.
141. **Hakki SS, Bozkurt BS, Hakki EE.** Boron regulates mineralized tissue-associated proteins in osteoblasts (MC3T3-E1). *Journal of trace elements in medicine and biology : organ of the Society for Minerals and Trace Elements*. **2010**;24(4):243-250.
142. **Ying X, Cheng S, Wang W, Lin Z, Chen Q, Zhang W, et al.** Effect of boron on osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells. *Biological trace element research*. **2011**;144(1-3):306-315.
143. **Aktas S, Basoglu MS, Aslan H, Ilknur AE, Dundar R, Katilmis H, et al.** Hearing loss effects of administering boric alcohol solution prepared with alcohol in various degrees on guinea pigs (an experimental study). *International journal of pediatric otorhinolaryngology*. **2013**;77(9):1465-1468.
144. **Silverman NS, Morgan M, Nichols WS.** *Candida lusitanae* as an unusual cause of recurrent vaginitis and its successful treatment with intravaginal boric acid. *Infect Dis Obstet Gynecol* **2001**;9:245-247. **2001**.

145. **Gorustovich AA, Steimetz T, Giglio MJ, Guglielmotti MB.** A histomorphometric study of alveolar bone modeling and remodeling under experimental anaemia and polycythaemia in rats. *Archives of oral biology.* **2006**;51(3):246-251.
146. **Saglam M, Hatipoglu M, Koseoglu S, Esen HH, Kelebek S.** Boric acid inhibits alveolar bone loss in rats by affecting RANKL and osteoprotegerin expression. *Journal of periodontal research.* **2014**;49(4):472-479.
147. **Luan Q, Desta T, Chehab L, Sanders VJ, Plattner J, Graves DT.** Inhibition of Experimental Periodontitis by a Topical Boron-based Antimicrobial. *Journal of Dental Research.* **2008**;87(2):148-152.
148. **Gorustovich AA, Lopez JM, Guglielmotti MB, Cabrini RL.** Biological performance of boron-modified bioactive glass particles implanted in rat tibia bone marrow. *Biomedical materials.* **2006**;1(3):100-105.
149. **Brown RF, Rahaman MN, Dwilewicz AB, Huang W, Day DE, Li Y, et al.** Effect of borate glass composition on its conversion to hydroxyapatite and on the proliferation of MC3T3-E1 cells. *Journal of biomedical materials research Part A.* **2009**;88(2):392-400.
150. **Wu C, Chang J.** Multifunctional mesoporous bioactive glasses for effective delivery of therapeutic ions and drug/growth factors. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society.* **2014**;193:282-295.
151. **Xie Z, Liu X, Jia W, Zhang C, Huang W, Wang J.** Treatment of osteomyelitis and repair of bone defect by degradable bioactive borate glass releasing vancomycin. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society.* **2009**;139(2):118-126.
152. **Addemir O.** Bor Ürünlerinin Teknolojileri ve Türkiye'nin Durumu. *İTÜ, Yüksek Teknoloji Seramik ve Kompozitleri Araştırma Merkezi.* **2010**:15-21.
153. Angın MH, Aydın S. Bor Nitridin Ön Fizibilite Etüdü. In: BAŞKANLIĞI PVBLISLDR, editor. Ankara2003.
154. **Weimer AW.** 'Thermochemistry and kinetics.' Carbide, Nitride and Boride Materials Synthesis and Processing. Netherlands: Springer, **1997**.
155. **Ciofani G.** Potential applications of boron nitride nanotubes as drug delivery systems. *Expert opinion on drug delivery.* **2010**;7(8):889-893.
156. **Ciofani G, Raffa V, Menciassi A, Dario P.** Preparation of boron nitride nanotubes aqueous dispersions for biological applications. *Journal of nanoscience and nanotechnology.* **2008**;8(12):6223-6231.
157. **Ciofani G, Raffa V, Menciassi A, Cuschieri A.** Cytocompatibility, interactions, and uptake of polyethyleneimine-coated boron nitride nanotubes by living cells: confirmation of their potential for biomedical applications. *Biotechnology and bioengineering.* **2008**;101(4):850-858.
158. **Zhi C, Bando Y, Shen G, Tang C, Golberg D.** Boron nitride nanotubes: nanoparticles functionalization and junction fabrication. *Journal of nanoscience and nanotechnology.* **2007**;7(2):530-534.
159. **Ciofani G, Raffa V, Menciassi A, Cuschieri A.** Folate Functionalized Boron Nitride Nanotubes and their Selective Uptake by Glioblastoma Multiforme Cells: Implications for their Use as Boron Carriers in Clinical Boron Neutron Capture Therapy. *Nanoscale research letters.* **2008**;4(2):113-121.
160. **Ciofani G, Ricotti L, Danti S, Moscato S, Nesti C, D'Alessandro D, et al.** Investigation of interactions between poly-L-lysine-coated boron nitride nanotubes and C2C12 cells: up-take, cytocompatibility, and differentiation. *International journal of nanomedicine.* **2010**;5:285-298.
161. **Ciofani G, Del Turco S, Genchi GG, D'Alessandro D, Basta G, Mattoli V.** Transferrin-conjugated boron nitride nanotubes: protein grafting, characterization, and interaction with human endothelial cells. *International journal of pharmaceutics.* **2012**;436(1-2):444-453.

162. **Ciofani G, Danti S, Genchi GG, D'Alessandro D, Pellequer JL, Odorico M, et al.** Pilot in vivo toxicological investigation of boron nitride nanotubes. *International journal of nanomedicine*. **2012**;7:19-24.
163. **Ciofani G, Danti S, Nitti S, Mazzolai B, Mattoli V, Giorgi M.** Biocompatibility of boron nitride nanotubes: an up-date of in vivo toxicological investigation. *International journal of pharmaceutics*. **2013**;444(1-2):85-88.
164. **Del Turco S, Ciofani G, Cappello V, Gemmi M, Cervelli T, Saponaro C, et al.** Cytocompatibility evaluation of glycol-chitosan coated boron nitride nanotubes in human endothelial cells. *Colloids and surfaces B, Biointerfaces*. **2013**;111:142-149.
165. **Ciofani G, Danti S, D'Alessandro D, Moscato S, Menciacchi A.** Assessing cytotoxicity of boron nitride nanotubes: Interference with the MTT assay. *Biochemical and biophysical research communications*. **2010**;394(2):405-411.
166. **Lahiri D, Singh V, Benaduce AP, Seal S, Kos L, Agarwal A.** Boron nitride nanotube reinforced hydroxyapatite composite: mechanical and tribological performance and in-vitro biocompatibility to osteoblasts. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. **2011**;4(1):44-56.
167. **Lahiri D, Singh V, Keshri AK, Seal S, Agarwal A.** Apatite formability of boron nitride nanotubes. *Nanotechnology*. **2011**;22(20):205601.
168. **Cai X, Yang F, Yan X, Yang W, Yu N, Oortgiesen DA, et al.** Influence of bone marrow-derived mesenchymal stem cells pre-implantation differentiation approach on periodontal regeneration in vivo. *J Clin Periodontol*. **2015**;42(4):380-389.
169. **Oortgiesen DA, Plachokova AS, Geenen C, Meijer GJ, Walboomers XF, van den Beucken JJ, et al.** Alkaline phosphatase immobilization onto Bio-Gide(R) and Bio-Oss(R) for periodontal and bone regeneration. *J Clin Periodontol*. **2012**;39(6):546-555.
170. **Yu N, Oortgiesen DA, Bronckers AL, Yang F, Walboomers XF, Jansen JA.** Enhanced periodontal tissue regeneration by periodontal cell implantation. *J Clin Periodontol*. **2013**;40(7):698-706.
171. **Bizenjima T, Seshima F, Ishizuka Y, Takeuchi T, Kinumatsu T, Saito A.** Fibroblast growth factor-2 promotes healing of surgically created periodontal defects in rats with early, streptozotocin-induced diabetes via increasing cell proliferation and regulating angiogenesis. *J Clin Periodontol*. **2015**;42(1):62-71.
172. **Donath K, Breuner G.** A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Sage-Schliff (sawing and grinding) technique. *J Oral Pathol*. **1982**;11(4):318-326.
173. **Park SH, Choi H, Han JS, Park YB.** Comparative study of decalcification versus nondecalcification for histological evaluation of one-wall periodontal intrabony defects in dogs. *Microsc Res Tech*. **2015**;78(1):94-104.
174. **Becker W, Becker BE.** Periodontal regeneration: a contemporary re-evaluation. *Periodontol 2000*. **1999**;19:104-114.
175. **Garrett S.** Periodontal regeneration around natural teeth. *Ann Periodontol*. **1996**;1(1):621-666.
176. **Rylander H.** Changing concepts of periodontal treatment: surgical and non-surgical. *Int Dent J*. **1988**;38(3):163-169.
177. **Yun JH, Hwang SJ, Kim CS, Cho KS, Chai JK, Kim CK, et al.** The correlation between the bone probing, radiographic and histometric measurements of bone level after regenerative surgery. *J Periodontol Res*. **2005**;40(6):453-460.
178. **Papapanou PN, Wennstrom JL, Grondahl K.** Periodontal status in relation to age and tooth type. A cross-sectional radiographic study. *J Clin Periodontol*. **1988**;15(7):469-478.
179. **Papapanou PN, Wennstrom JL.** The angular bony defect as indicator of further alveolar bone loss. *J Clin Periodontol*. **1991**;18(5):317-322.

180. **Ilgenli T, Dundar N, Kal BI.** Demineralized freeze-dried bone allograft and platelet-rich plasma vs platelet-rich plasma alone in intrabony defects: a clinical and radiographic evaluation. *Clin Oral Investig.* **2007**;11(1):51-59.
181. **Wikesjo UM, Selvig KA.** Periodontal wound healing and regeneration. *Periodontol* **2000**. **1999**;19:21-39.
182. **Cortellini P, Tonetti MS.** Clinical performance of a regenerative strategy for intrabony defects: scientific evidence and clinical experience. *J Periodontol.* **2005**;76(3):341-350.
183. **Gottlow J.** Guided tissue regeneration using bioresorbable and non-resorbable devices: initial healing and long-term results. *J Periodontol.* **1993**;64(11 Suppl):1157-1165.
184. **Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, Vasilic N, Madzarevic M, Kenney EB.** Platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. *J Periodontal Res.* **2002**;37(4):300-306.
185. **Lekovic V, Camargo PM, Weinlaender M, Vasilic N, Kenney EB.** Comparison of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral, and guided tissue regeneration versus platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects: a reentry study. *J Periodontol.* **2002**;73(2):198-205.
186. **Hanna R, Trejo PM, Weltman RL.** Treatment of intrabony defects with bovine-derived xenograft alone and in combination with platelet-rich plasma: a randomized clinical trial. *J Periodontol.* **2004**;75(12):1668-1677.
187. **Keles GC, Cetinkaya BO, Albayrak D, Koprulu H, Acikgoz G.** Comparison of platelet pellet and bioactive glass in periodontal regenerative therapy. *Acta Odontol Scand.* **2006**;64(6):327-333.
188. **Yassibag-Berkman Z, Tuncer O, Subasioglu T, Kantarci A.** Combined use of platelet-rich plasma and bone grafting with or without guided tissue regeneration in the treatment of anterior interproximal defects. *J Periodontol.* **2007**;78(5):801-809.
189. **Henmi A, Nakamura M, Echigo S, Sasano Y.** Involvement of sensory neurons in bone defect repair in rats. *J Electron Microscop (Tokyo).* **2011**;60(6):393-400.
190. **Honma T, Itagaki T, Nakamura M, Kamakura S, Takahashi I, Echigo S, et al.** Bone formation in rat calvaria ceases within a limited period regardless of completion of defect repair. *Oral Dis.* **2008**;14(5):457-464.
191. **Hirota M, Matsui Y, Mizuki N, Kishi T, Watanuki K, Ozawa T, et al.** Combination with allogenic bone reduces early absorption of beta-tricalcium phosphate (beta-TCP) and enhances the role as a bone regeneration scaffold. Experimental animal study in rat mandibular bone defects. *Dent Mater J.* **2009**;28(2):153-161.
192. **Sohn JY, Park JC, Um YJ, Jung UW, Kim CS, Cho KS, et al.** Spontaneous healing capacity of rabbit cranial defects of various sizes. *J Periodontal Implant Sci.* **2010**;40(4):180-187.
193. **Zhao J, Hu J, Wang S, Sun X, Xia L, Zhang X, et al.** Combination of beta-TCP and BMP-2 gene-modified bMSCs to heal critical size mandibular defects in rats. *Oral Dis.* **2010**;16(1):46-54.
194. **Dau M, Kammerer PW, Henkel KO, Gerber T, Frerich B, Gundlach KK.** Bone formation in mono cortical mandibular critical size defects after augmentation with two synthetic nanostructured and one xenogenous hydroxyapatite bone substitute - in vivo animal study. *Clin Oral Implants Res.* **2016**;27(5):597-603.
195. **Greenstein G.** Periodontal response to mechanical non-surgical therapy: a review. *J Periodontol.* **1992**;63(2):118-130.
196. **Lindhe J, Haffajee AD, Socransky SS.** Progression of periodontal disease in adult subjects in the absence of periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* **1983**;10(4):433-442.
197. **Lindhe J, Okamoto H, Yoneyama T, Haffajee A, Socransky SS.** Longitudinal changes in periodontal disease in untreated subjects. *J Clin Periodontol.* **1989**;16(10):662-670.

198. **Caton J, Nyman S, Zander H.** Histometric evaluation of periodontal surgery. II. Connective tissue attachment levels after four regenerative procedures. *J Clin Periodontol.* **1980**;7(3):224-231.
199. **Flores-de-Jacoby L, Mengel R.** Conventional surgical procedures. *Periodontol* 2000. **1995**;9:38-54.
200. **Knowles JW, Burgett FG, Nissle RR, Shick RA, Morrison EC, Ramfjord SP.** Results of periodontal treatment related to pocket depth and attachment level. Eight years. *J Periodontol.* **1979**;50(5):225-233.
201. **Listgarten MA, Rosenberg MM.** Histological study of repair following new attachment procedures in human periodontal lesions. *J Periodontol.* **1979**;50(7):333-344.
202. **White E, Shors EC.** Biomaterial aspects of Interpore-200 porous hydroxyapatite. *Dent Clin North Am.* **1986**;30(1):49-67.
203. **Ono I, Gunji H, Kaneko F, Saito T, Kuboki Y.** Efficacy of hydroxyapatite ceramic as a carrier for recombinant human bone morphogenetic protein. *J Craniofac Surg.* **1995**;6(3):238-244.
204. **Grenga TE, Zins JE, Bauer TW.** The rate of vascularization of coralline hydroxyapatite. *Plast Reconstr Surg.* **1989**;84(2):245-249.
205. **Marshall SG.** The combined use of endosseous dental implants and collagen/hydroxylapatite augmentation procedures for reconstruction/augmentation of the edentulous and atrophic mandible: a preliminary report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* **1989**;68(4 Pt 2):517-525; discussion 525-516.
206. **Miller TA, Ishida K, Kobayashi M, Wollman JS, Turk AE, Holmes RE.** The induction of bone by an osteogenic protein and the conduction of bone by porous hydroxyapatite: a laboratory study in the rabbit. *Plast Reconstr Surg.* **1991**;87(1):87-95.
207. **Li SH, De Wijn JR, Layrolle P, de Groot K.** Synthesis of macroporous hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res.* **2002**;61(1):109-120.
208. **Mangano C, Bartolucci EG, Mazzocco C.** A new porous hydroxyapatite for promotion of bone regeneration in maxillary sinus augmentation: clinical and histologic study in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants.* **2003**;18(1):23-30.
209. **Suzuki T, Hukkanen M, Ohashi R, Yokogawa Y, Nishizawa K, Nagata F, et al.** Growth and adhesion of osteoblast-like cells derived from neonatal rat calvaria on calcium phosphate ceramics. *J Biosci Bioeng.* **2000**;89(1):18-26.
210. **Miao X, Tan DM, Li J, Xiao Y, Crawford R.** Mechanical and biological properties of hydroxyapatite/tricalcium phosphate scaffolds coated with poly(lactic-co-glycolic acid). *Acta Biomater.* **2008**;4(3):638-645.
211. **Klodowski K, Kaminski J, Nowicka K, Tarasiuk J, Wronski S, Swietek M, et al.** Micro-imaging of implanted scaffolds using combined MRI and micro-CT. *Comput Med Imaging Graph.* **2014**;38(6):458-468.
212. **Gerike W, Bienengraber V, Henkel KO, Bayerlein T, Proff P, Gedrange T, et al.** The manufacture of synthetic non-sintered and degradable bone grafting substitutes. *Folia Morphol (Warsz).* **2006**;65(1):54-55.
213. **Henkel KO, Gerber T, Lenz S, Gundlach KK, Bienengraber V.** Macroscopical, histological, and morphometric studies of porous bone-replacement materials in minipigs 8 months after implantation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* **2006**;102(5):606-613.
214. **Abshagen K, Schrodi I, Gerber T, Vollmar B.** In vivo analysis of biocompatibility and vascularization of the synthetic bone grafting substitute NanoBone. *J Biomed Mater Res A.* **2009**;91(2):557-566.
215. **Xu W, Holzhuter G, Sorg H, Wolter D, Lenz S, Gerber T, et al.** Early matrix change of a nanostructured bone grafting substitute in the rat. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* **2009**;91(2):692-699.

216. **Ripamonti U, Crooks J, Petit JC, Rueger DC.** Periodontal tissue regeneration by combined applications of recombinant human osteogenic protein-1 and bone morphogenetic protein-2. A pilot study in Chacma baboons (*Papio ursinus*). *Eur J Oral Sci.* **2001**;109(4):241-248.
217. **Teare JA, Ramoshebi LN, Ripamonti U.** Periodontal tissue regeneration by recombinant human transforming growth factor-beta 3 in *Papio ursinus*. *J Periodontal Res.* **2008**;43(1):1-8.
218. **Liu Q, Douglas T, Zamponi C, Becker ST, Sherry E, Sivananthan S, et al.** Comparison of in vitro biocompatibility of NanoBone((R)) and BioOss((R)) for human osteoblasts. *Clin Oral Implants Res.* **2011**;22(11):1259-1264.
219. **Ghanaati S, Barbeck M, Lorenz J, Stuebinger S, Seitz O, Landes C, et al.** Synthetic bone substitute material comparable with xenogeneic material for bone tissue regeneration in oral cancer patients: First and preliminary histological, histomorphometrical and clinical results. *Ann Maxillofac Surg.* **2013**;3(2):126-138.
220. **Lorenz J, Kubesch A, Korzinskas T, Barbeck M, Landes C, Sader RA, et al.** TRAP-Positive Multinucleated Giant Cells Are Foreign Body Giant Cells Rather Than Osteoclasts: Results From a Split-Mouth Study in Humans. *J Oral Implantol.* **2015**;41(6):e257-266.
221. **Gholami GA, Najafi B, Mashhadiabbas F, Goetz W, Najafi S.** Clinical, histologic and histomorphometric evaluation of socket preservation using a synthetic nanocrystalline hydroxyapatite in comparison with a bovine xenograft: a randomized clinical trial. *Clin Oral Implants Res.* **2012**;23(10):1198-1204.
222. **Canullo L, Dellavia C.** Sinus lift using a nanocrystalline hydroxyapatite silica gel in severely resorbed maxillae: histological preliminary study. *Clin Implant Dent Relat Res.* **2009**;11 Suppl 1:e7-13.
223. **Canullo L, Patacchia O, Sisti A, Heinemann F.** Implant restoration 3 months after one stage sinus lift surgery in severely resorbed maxillae: 2-year results of a multicenter prospective clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res.* **2012**;14(3):412-420.
224. **Ghanaati S, Barbeck M, Willershausen I, Thimm B, Stuebinger S, Korzinskas T, et al.** Nanocrystalline hydroxyapatite bone substitute leads to sufficient bone tissue formation already after 3 months: histological and histomorphometrical analysis 3 and 6 months following human sinus cavity augmentation. *Clin Implant Dent Relat Res.* **2013**;15(6):883-892.
225. **Heinemann F, Mundt T, Biffar R, Gedrange T, Goetz W.** A 3-year clinical and radiographic study of implants placed simultaneously with maxillary sinus floor augmentations using a new nanocrystalline hydroxyapatite. *J Physiol Pharmacol.* **2009**;60 Suppl 8:91-97.
226. **Moller B, Acil Y, Birkenfeld F, Behrens E, Terheyden H, Wiltfang J.** Highly porous hydroxyapatite with and without local harvested bone in sinus floor augmentation: a histometric study in pigs. *Clin Oral Implants Res.* **2014**;25(7):871-878.
227. **Behnia H, Khojasteh A, Kiani MT, Khoshzaban A, Mashhadi Abbas F, Bashtar M, et al.** Bone regeneration with a combination of nanocrystalline hydroxyapatite silica gel, platelet-rich growth factor, and mesenchymal stem cells: a histologic study in rabbit calvaria. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* **2013**;115(2):e7-15.
228. **Gotz W, Lenz S, Reichert C, Henkel KO, Bienengraber V, Pernicka L, et al.** A preliminary study in osteoinduction by a nano-crystalline hydroxyapatite in the mini pig. *Folia Histochem Cytobiol.* **2010**;48(4):589-596.
229. **Ghanaati S, Udeabor SE, Barbeck M, Willershausen I, Kuenzel O, Sader RA, et al.** Implantation of silicon dioxide-based nanocrystalline hydroxyapatite and pure phase beta-tricalciumphosphate bone substitute granules in caprine muscle tissue does not induce new bone formation. *Head Face Med.* **2013**;9:1.
230. **Seifi M, Arayesh A, Shamloo N, Hamed R.** Effect of nanocrystalline hydroxyapatite socket preservation on orthodontically induced inflammatory root resorption. *Cell J.* **2015**;16(4):514-527.

231. **Reichert C, Wenghoefer M, Kutschera E, Gotz W, Jager A.** [Ridge preservation with synthetic nanocrystalline hydroxyapatite reduces the severity of gingival invaginations-a prospective clinical study]. *J Orofac Orthop.* **2014**;75(1):7-15.
232. **Shakibaie MB.** Comparison of the effectiveness of two different bone substitute materials for socket preservation after tooth extraction: a controlled clinical study. *Int J Periodontics Restorative Dent.* **2013**;33(2):223-228.
233. **Davis GR, Wong FS.** X-ray microtomography of bones and teeth. *Physiol Meas.* **1996**;17(3):121-146.
234. **Barbetta A, Bedini R, Pecci R, Dentini M.** Role of X-ray microtomography in tissue engineering. *Ann Ist Super Sanita.* **2012**;48(1):10-18.
235. **Waarsing JH, Day JS, Weinans H.** An improved segmentation method for in vivo microCT imaging. *J Bone Miner Res.* **2004**;19(10):1640-1650.
236. **Lu M, Rabie AB.** Quantitative assessment of early healing of intramembranous and endochondral autogenous bone grafts using micro-computed tomography and Q-win image analyzer. *Int J Oral Maxillofac Surg.* **2004**;33(4):369-376.
237. **Bedini R, Meleo D, Pecci R, Pacifici L.** The use of microtomography in bone tissue and biomaterial three-dimensional analysis. *Ann Ist Super Sanita.* **2009**;45(2):178-184.
238. **Cancedda R, Cedola A, Giuliani A, Komlev V, Lagomarsino S, Mastrogiacomo M, et al.** Bulk and interface investigations of scaffolds and tissue-engineered bones by X-ray microtomography and X-ray microdiffraction. *Biomaterials.* **2007**;28(15):2505-2524.
239. **Dalstra M, Cattaneo PM, Beckmann F.** Synchrotron radiation-based microtomography of alveolar support tissues. *Orthod Craniofac Res.* **2006**;9(4):199-205.
240. **Ebina H, Hatakeyama J, Onodera M, Honma T, Kamakura S, Shimauchi H, et al.** Micro-CT analysis of alveolar bone healing using a rat experimental model of critical-size defects. *Oral Dis.* **2009**;15(4):273-280.
241. **Engelke K, Graeff W, Meiss L, Hahn M, Delling G.** High spatial resolution imaging of bone mineral using computed microtomography. Comparison with microradiography and undecalcified histologic sections. *Invest Radiol.* **1993**;28(4):341-349.
242. **Giuliani A, Manescu A, Larsson E, Tromba G, Luongo G, Piattelli A, et al.** In vivo regenerative properties of coralline-derived (biocoral) scaffold grafts in human maxillary defects: demonstrative and comparative study with Beta-tricalcium phosphate and biphasic calcium phosphate by synchrotron radiation x-ray microtomography. *Clin Implant Dent Relat Res.* **2014**;16(5):736-750.
243. **Davis GR, Evershed AN, Mills D.** Quantitative high contrast X-ray microtomography for dental research. *J Dent.* **2013**;41(5):475-482.
244. **Weiss P, Obadia L, Magne D, Bourges X, Rau C, Weitkamp T, et al.** Synchrotron X-ray microtomography (on a micron scale) provides three-dimensional imaging representation of bone ingrowth in calcium phosphate biomaterials. *Biomaterials.* **2003**;24(25):4591-4601.
245. **Coelho PG, Giro G, Kim W, Granato R, Marin C, Bonfante EA, et al.** Evaluation of collagen-based membranes for guided bone regeneration, by three-dimensional computerized microtomography. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* **2012**;114(4):437-443.
246. **Okata H, Nakamura M, Henmi A, Yamaguchi S, Mikami Y, Shimauchi H, et al.** Calcification during bone healing in a standardised rat calvarial defect assessed by micro-CT and SEM-EDX. *Oral Dis.* **2015**;21(1):74-82.
247. **Dai QG, Fang B, Zhang P, Yang X, Wang J, Ouyang NJ, et al.** [Changes of the microarchitecture of alveolar bone due to different duration of ovariectomy: a Micro-CT study in rats]. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue.* **2014**;23(6):641-645.
248. **Sales E, Lima I, de Assis JT, Gomez W, Pereira WC, Lopes RT.** Bone quality analysis using X-ray microtomography and microfluorescence. *Appl Radiat Isot.* **2012**;70(7):1272-1276.

249. **Dai QG, Zhang P, Wu YQ, Ma XH, Pang J, Jiang LY, et al.** Ovariectomy induces osteoporosis in the maxillary alveolar bone: an in vivo micro-CT and histomorphometric analysis in rats. *Oral Dis.* **2014**;20(5):514-520.
250. **Liu Z, Yan C, Kang C, Zhang B, Li Y.** Distributional variations in trabecular architecture of the mandibular bone: an in vivo micro-CT analysis in rats. *PLoS One.* **2015**;10(1):e0116194.
251. **Qiu Y, Yao J, Wu X, Zhou B, Shao H, Hua T, et al.** Longitudinal assessment of oxytocin efficacy on bone and bone marrow fat masses in a rabbit osteoporosis model through 3.0-T magnetic resonance spectroscopy and micro-CT. *Osteoporos Int.* **2015**;26(3):1081-1092.
252. **Ferrare N, Leite AF, Caracas HC, de Azevedo RB, de Melo NS, de Souza Figueiredo PT.** Cone-beam computed tomography and microtomography for alveolar bone measurements. *Surg Radiol Anat.* **2013**;35(6):495-502.
253. **Freilich M, Shafer D, Wei M, Kompalli R, Adams D, Kuhn L.** Implant system for guiding a new layer of bone. Computed microtomography and histomorphometric analysis in the rabbit mandible. *Clin Oral Implants Res.* **2009**;20(2):201-207.
254. **Lienemann PS, Metzger S, Kivelio AS, Blanc A, Papageorgiou P, Astolfo A, et al.** Longitudinal in vivo evaluation of bone regeneration by combined measurement of multi-pinhole SPECT and micro-CT for tissue engineering. *Sci Rep.* **2015**;5:10238.
255. **Park YS, Yi KY, Lee IS, Jung YC.** Correlation between microtomography and histomorphometry for assessment of implant osseointegration. *Clin Oral Implants Res.* **2005**;16(2):156-160.
256. **Nogueira LP, Braz D, Barroso RC, Oliveira LF, Pinheiro CJ, Dreossi D, et al.** 3D histomorphometric quantification of trabecular bones by computed microtomography using synchrotron radiation. *Micron.* **2010**;41(8):990-996.
257. **Ruggiu A, Tortelli F, Komlev VS, Peyrin F, Cancedda R.** Extracellular matrix deposition and scaffold biodegradation in an in vitro three-dimensional model of bone by X-ray computed microtomography. *J Tissue Eng Regen Med.* **2014**;8(7):557-565.

8.ÖZGEÇMİŞ

Olgu ALPERAT KILIÇ 24.03.1985 tarihinde Edirne'de doğdu. İlk, orta ve lise öğretimini Antalya'da tamamladı. 2003 yılında girdiği Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesinden 2009 yılında mezun oldu. 2012 yılında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimine başladı. O tarihten itibaren aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmakta ve uzmanlık eğitimine devam etmektedir.

