

ESRA GÖKKAYA ARICAN

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2022

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**SIÇANLARDA HIZLI MAKSİLLER GENİŞLETMEDE
TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN UYGULANMASININ
KEMİK OLUŞUMUNA ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

ESRA GÖKKAYA ARICAN

**DANIŞMAN
PROF. DR. SÖNMEZ FIRATLI**

**ORTODONTİ ANABİLİM DALI
ORTODONTİ DOKTORA PROGRAMI**

İSTANBUL-2022

İTHAF

Eşime ve aileme ithaf ediyorum...

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim sırasında tüm aşamalarda yol gösterici olan, tecrübe ve bilgilerini benimle paylaşan, tez çalışmaları süresince gösterdiği ilgi, verdiği destek ve katkılarından ötürü değerli danışmanım Prof. Dr. Sönmez Fıratlı'ya,

Tez çalışmalarım süresince bilimsel ve manevi katkıları bulunan, tez izleme komitesinde yer alan hocam Prof. Dr. Erhan Fıratlı'ya,

İkinci tez danışmanım ve histolojik değerlendirmelerde katkılarını sağlayan Prof. Dr. Necat Vakur Olgaç'a,

Doktora eğitimimdeki katkılarından ötürü Ortodonti Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Nil Cura, Prof. Dr. Hülya Kılıçoğlu, Prof. Dr. Gülnaz Marşan ve Doç. Dr. Evren Öztaş'a,

Deneylerimi gerçekleştirdiğim Bezmialem Üniversitesi Deneysel Araştırma Birimi ve Bezmialem Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Oral Diyagnoz ve Radyoloji Anabilim Dalı hocaları ve personeline,

Deney sürecim boyunca ellerinden gelen yardımı esirgemeyen sevgili bölüm arkadaşlarım Dt. Ayşegül Keleş'e ve Dt. Emine Karslı'ya,

Doktora ve tez süreci yolculuğumuzda birlikte ilerlediğimiz değerli arkadaşlarım Dr. Dt. Barış Kolik ve Dt. Feyza Hacıağaoğlu Akkız'a,

Hayatım boyunca bana olan inanç ve desteklerini her zaman hissettiğim sevgili annem Asiye Gökkaya, babam Nafiz Gökkaya ve kardeşim Serra Gökkaya'ya,

Doktora eğitimim ve tez sürecimdeki zorlu süreç dahil hayatımın her anında yanımda olup bana destek olan değerli eşim Dt. Ersin Arıcan'a çok teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:36891

İÇİNDEKİLER

İTHAF	2
TEŞEKKÜR	3
İÇİNDEKİLER.....	4
TABLolar LİSTESİ	7
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	8
RESİMLER LİSTESİ.....	9
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	10
ÖZET	11
ABSTRACT	12
1. GİRİŞ VE AMAÇ	13
2. GENEL BİLGİLER.....	16
2.1. Hızlı Maksiller Genişletme (RME)	16
2.1.1. Tarihçe	16
2.1.2. Maksiller Darlık Etiyolojisi ve Teşhisi.....	21
2.1.3. Sutural Büyüme ve Tedavi Zamanlaması.....	23
2.1.4. Hızlı Üst Çene Genişletmesinin Endikasyonları	26
2.1.5. Üst Çene Genişletmesinde Kullanılan Yöntemler.....	28
2.1.6. RME ile Suturada ve Dentofasiyal Yapılarda Oluşan Değişiklikler	29
2.1.7. Pekiştirme ve Nüks	32
2.2. Kemik Dokusu.....	34
2.2.1. Kemik Hücreleri	34
2.2.2. Kemik Dokusunun Gelişimi ve Remodelingi.....	36
2.2.3. Suturada Kemikleşme.....	39
2.2.4. Kemik Metabolizmasını Düzenleyen Faktörler.....	40
2.3. Trombositten Zengin Fibrin (TZF).....	42
2.3.1. Trombositlerin Yapısı ve İçeriği.....	42
2.3.2. Trombositten Zengin Ürünlerin Gelişim Süreci	45
2.3.3. Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrin (i-TZF)	49
3. GEREÇ VE YÖNTEM	51
3.1. Gereç.....	51
3.1.1. Hayvan Deneyi Safhasında Kullanılan Malzemeler.....	51

3.2. Yöntem	52
3.2.1. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deney Safhası	52
3.2.1.1. Deney Hayvanlarına Hızlı Maksiller Genişletme Apareyinin Uygulanması	57
3.2.1.2. Trombositten Zengin Fibrin Eldesi ve Enjeksiyonu	59
3.2.1.3. Deneyin Sonlandırılması	59
3.2.2. Radyolojik İncelemeler.....	61
3.2.2.1. Konik Işınlı Bilgisayarlı Tomografi	61
3.2.2.2. Mikro Bilgisayarlı Tomografi (Mikro BT) Analizi	64
3.2.3. Histolojik İncelemeler	67
3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme	67
4. BULGULAR	68
4.1. Klinik Bulgular	68
4.2. Radyolojik Değerlendirmeler	68
4.2.1. Sutural Genişliğin ve Nüks Oranının KIBT Bulgularına Göre Değerlendirilmesi	68
4.2.2. Kemik Mineral Yoğunluğunun ve Sutural Genişliğin Mikro BT Bulgularına Göre Değerlendirilmesi	72
4.3. Histolojik Değerlendirmeler	75
5. TARTIŞMA.....	78
5.1. Amacın Tartışılması	78
5.2. Gereç ve Yöntemin Tartışılması.....	81
5.2.1. Deney Hayvanlarının Seçimi.....	81
5.2.2. Deneyde Uygulanan Aparey Dizaynı ve Deney Süresi.....	82
5.2.3. Trombositten Zengin Fibrin.....	84
5.2.4. Maksiller Genişletme Miktarının ve Yeni Oluşan Kemik Yoğunluğunun Ölçülmesi.....	87
5.3. Bulguların Tartışılması.....	88
5.3.1. Radyolojik Bulgular	88
5.3.2. Histolojik Bulgular	102
5.4. Sonuç	104
KAYNAKLAR.....	106
HAM VERİLER.....	123
FORMLAR.....	124

PATENT HAKKI İZNİ.....	125
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	126



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Trombositten Zengin Fibrin Ürünleri	48
Tablo 3-1: Deney Grupları ve Çalışma Programı	53
Tablo 3-2: Deney Materyali	54
Tablo 4-1: Dişler Arası Mesafede Meydana Gelen Değişimin KIBT Bulgularına Göre Grup İçi ve Gruplar Arası Değerlendirilmesi.....	68
Tablo 4-2: Dişler Arası Mesafede Meydana Gelen Değişikliklerin KIBT Bulgularına Göre Farklı Zaman Aralıklarında İncelenmesi.....	69
Tablo 4-3: Dişler Arası Mesafede Meydana Gelen Değişikliklerin KIBT Bulgularına Göre Gruplar Arasında İncelenmesi.....	71
Tablo 4-4: Nüks Oranının KIBT Bulgularına Göre Gruplar Arasında İncelenmesi	72
Tablo 4-5: Kemik Mineral Yoğunluğunun Mikro BT Bulgularına Göre Değerlendirilmesi (T3).....	73
Tablo 4-6: Sutural Genişliğin Mikro BT Bulgularına Göre Değerlendirilmesi (T3)	74

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Dişsel ve iskeletsel darlık	23
Şekil 2-2: Midpalatal suturanın morfolojik yapısında yaşa bağlı görülen değişimler	25
Şekil 2-3: Suturanın fermuara benzer kemikleşme/kapanma mekanizması.....	26
Şekil 2-4: RME sonucu gözlenen piramidal açılma	31
Şekil 2-5: Buttresing etkisi	32
Şekil 2-6: OPG-RANK-RANKL sistemi	38
Şekil 3-1: İş akışı.....	53
Şekil 4-1: Dişler Arası Mesafenin KIBT Bulgularına Göre Değerlendirilmesi (mm)	69
Şekil 4-2: Nüks Oranının KIBT Bulgularına Göre Değerlendirilmesi.....	72
Şekil 4-3: Kemik Mineral Yoğunluğunun Mikro BT Bulgularına Göre Değerlendirilmesi (T3).....	73
Şekil 4-4: Sutural Genişlik Ölçümlerinin Mikro BT Bulgularına Göre Değerlendirilmesi (T3).....	75

RESİMLER LİSTESİ

Resim 2-1: Haas apareyi.....	17
Resim 2-2: Hyrax apareyi.....	18
Resim 2-3: Akrilik Bonded Tip genişletme apareyi.....	18
Resim 2-4: Quad-Heliks apareyi	19
Resim 2-5: Transpalatal distraktör	20
Resim 2-6: Rotterdam Palatal Distraktörü	20
Resim 2-7: Hibrid Hyrax apareyi	21
Resim 3-1: Deney hayvanlarının laboratuvar koşulları.....	55
Resim 3-2: Deney hayvanlarının numaralandırılması.....	56
Resim 3-3: Deney hayvanlarının kilo ölçümünün yapılması	56
Resim 3-4: Sıçanların maksiller kesicilerine asit ve bond uygulaması	58
Resim 3-5: RME apareyinin uygulanması (T0)	58
Resim 3-6: Genişletme sonrası (T1).....	58
Resim 3-7: Sıçan maksillasının anatomik yapısı ve enjeksiyon noktaları ⁶⁸ 1:Premaksiller sutura, 2: midpalatal sutura, 3: maksillapalatinal sutura	60
Resim 3-8: Donör sıçandan intrakardiyak kan alınması ve i-TZF ürünü.....	60
Resim 3-9: i-TZF enjeksiyonu	60
Resim 3-10: Deneklerin gantride konumlandırılması	61
Resim 3-11: Kullanılan KIBT parametreleri.....	62
Resim 3-12: Planmeca Romexis Viewer Programı	62
Resim 3-13: KIBT'de Ölçümlerin Yapıldığı Koronal Kesit Görüntüleri	63
Resim 3-14: KIBT Ölçümlerinin Yapıldığı ImageJ Programında Yapılan Kalibrasyon	63
Resim 3-15: KIBT Ölçümlerinin ImageJ Programında Yapılması	63
Resim 3-16: Mikro BT cihazı.....	65
Resim 3-17: Kemik Yoğunluğu Ölçümünün Yapıldığı Alan-ROI	65
Resim 3-18: Horizontal düzlemde, iki boyutlu sutural mesafe ölçümleri ¹⁸⁸	65
Resim 3-19: Mikro BT görüntüleri (T3)	66
Resim 4-1: Kontrol Grubuna Ait Histolojik Kesitin Işık Mikroskobu Görüntüleri	76
Resim 4-2: Çalışma Grubuna Ait Histolojik Kesitin Işık Mikroskobu Görüntüleri	77

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

RME:	Rapid maksiller ekspansiyon (Hızlı üst çene genişletmesi)
SPM:	Sutura palatina media
RANK:	Reseptör aktivatör nükleer kappa B
RANKL:	Reseptör aktivatör nükleer kappa B ligand
OPG:	Osteoprotegerin
TZP:	Trombositten zengin plazma
TZF:	Trombositten zengin fibrin
i-TZF:	Enjekte edilebilir trombosit zengin fibrin
RBC/KKH:	Red blood cells/Kırmızı kan hücreleri
LSSC:	Düşük hızlı santrifüj konsepti
RCF:	Nisbi santrifüj kuvveti
IGF:	İnsülin benzeri büyüme faktörü
VEGF:	Vasküler endotelial büyüme faktörü
PDGF:	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
TGF:	Transforme edici büyüme faktörü
EGF:	Epidermal büyüme faktörü
FGF:	Fibroblast büyüme faktörü
BMP:	Kemik morfojenik protein
IL:	İnterlökin
TNF:	Tümör nekrotizan faktör
Mm:	Milimetre
Dk:	Dakika
Rpm:	Dakikadaki devir sayısı (Revolutions per minute)

ÖZET

Gökkaya Arıcan, Esra. (2022). Sıçanlarda Hızlı Maksiller Genişletmede Trombositten Zengin Fibrin Uygulanmasının Kemik Oluşumuna Etkisinin İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ortodonti ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Çalışmamızda enjekte edilebilir trombositten zengin fibrinin (i-TZF), sıçanlarda genişleyen premaksiller sutura bölgesindeki kemikleşmeye etkisi incelenmiştir. Bu amaçla 28 adet Wistar Albino cinsi genç erkek sıçan 4 gruba ayrılmıştır. i-TZF uygulanan çalışma grupları (ÇA ve ÇB) ve i-TZF uygulanmayan kontrol grupları (KA ve KB), uzun (ÇA ve KA) ve kısa (ÇB ve KB) dönem pekiştirme yapılan alt gruplara ayrılmıştır. Tüm deney süresince T0 (0.gün), T1 (5.gün), T2 (20.gün), T3 (35.gün) zamanlarında KIBT görüntüleri alınarak, dişsel genişlik ölçümleri yapılmıştır. Tüm gruplara 5 gün RME, 15 gün pekiştirme uygulanmıştır. ÇB ve KB gruplarının pekiştirme dönemine T2’de son verilip 15 gün nüks takibi yapılırken, ÇA ve KA gruplarının pekiştirme dönemi 35.güne kadar devam etmiştir. ÇA ve ÇB gruplarına T1 ve T2 zamanlarında i-TZF enjeksiyonu yapılmıştır. Tüm gruplardaki hayvanlar deney sonunda kurban edilmiş, kemik mineral yoğunluğu (BMD) ve sutural genişlik ölçümleri için Mikro-BT incelemesi yapılmıştır. KIBT ölçümleriyle hesaplanan nüks oranı değerlerinde istatistiksel anlamlı olarak en düşük nüks oranı ÇA grubunda, en yüksek nüks oranı KB grubunda bulunmuştur. T3 zamanına ait KIBT ve Mikro-BT sutural genişlik ölçümleri benzerlik göstermekte olup, istatistiksel anlamlı en yüksek sutural genişlik ÇA grubunda, en düşük sutural genişlik KB grubunda görülmektedir. BMD bulgularında çalışma gruplarının değerleri, kontrol gruplarına göre anlamlı olarak fazladır. Çalışmamız sonucunda i-TZF’nin genişleyen sutural bölgedeki yeni kemik oluşumuna ve kemik yoğunluğuna olumlu etkileri olduğu görülmüştür. Bu bulgular doğrultusunda, i-TZF’nin pekiştirme süresinin kısaltılması ve nüksün azaltılması yönünde katkısı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Trombositten zengin fibrin, Nüks, Palatal ekspansiyon tekniği, Hayvan deneyi, Yeni kemik oluşumu

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 36891

ABSTRACT

Gökkaya Arıcan, Esra. (2022). Effect of platelet-rich fibrin therapy on new bone formation in rapid maxillary expansion in rats. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Orthodontics. PhD Thesis. İstanbul.

The effect of injectable platelet-rich fibrin (i-PRF) on ossification of the expanded suture region in rats was investigated. Twenty-eight young male Wistar albino rats divided into four groups. Experimental groups with i-PRF treated (CA, CB) and control groups without i-PRF (KA, KB), divided into subgroups with long (CA, KA) and short-term (CB, KB) retention period. CBCT images taken at T0 (0.day), T1 (5.day), T2 (20.day), T3 (35.day) and interdental width measurements were done for evaluation of expanded suture. All groups received 5 days of RME and 15 days retention period. While the retention period of CB and KB groups terminated at T2 and relapse followed for 15 days, the retention period of CA and KA groups continued. i-PRF injected to experimental groups at T1 and T2. All animals sacrificed at the end of the experiment, and Micro-CT examination performed for bone mineral density (BMD) and sutural width measurements. The relapse rate calculated by CBCT measurements and statistically significant lowest value was found in CA group while the highest one was found in KB group. CBCT and Micro-CT sutural width measurements of time T3 was similar, with the highest sutural width in CA group, and the lowest in KB group. In BMD findings, the values of the experimental groups are significantly higher than the control. As a result, i-PRF had positive effects on new bone formation and bone density in the expanded sutural region. It can be speculated that i-PRF application is valuable to preserve treatment results and reduce relapse.

Key Words: Platelet-rich fibrin, Recurrence, Palatal expansion technique, Animal Experimentation, Osteogenesis

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 36891

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hızlı maksiller genişletme (Rapid maksiller ekspansiyon-RME) 1860 yılında Angell tarafından geliştirilmiş, Haas tarafından 1960'larda yeniden gündeme getirilerek popülerleşmiş bir tedavi yöntemidir.¹²⁹ RME, maksillanın transversal yöndeki iskeletsel yetersizliklerinde yaygın olarak kullanılan dentofasiyal ortopedik bir tedavidir⁸¹. Maksiller dişler ve/veya palatal mukozaya transversal yönde diş hareket limitlerini aşan kuvvetler uygulanarak sutura palatina medianın (SPM) açılması ve maksillanın genişletilmesi işlemidir.

Maksillanın transversal ve vertikal yöndeki yetersizliği orta yüzde gelişim geriliğine ve sagittal yönde problemlere yol açabilir. Maksiller darlık, oklüzal uyumsuzluk ve solunum problemleri gibi fonksiyonel problemlerle de ilişkilendirilir. Maksiller genişletme, maksillanın transversal yöndeki darlığının çözümünde etkin bir tedavi yöntemi olarak kabul edilmiştir.³² RME; çapraz kapanışın düzeltimi, posterior dişlerin aksiyal inklinasyonlarının düzeltimi, ark boyunun artırılması, sınıf II maloklüzyonun spontan düzeltimi, psödo sınıf III maloklüzyon tedavisi, maksiller sutural sistemin mobilizasyonu, obstrüktif uyku apnesi ve diğer rinolojik ve respiratuar yetersizliklerin tedavisi ve dudak damak yarığı tedavisi amacıyla uygulanır.^{13,105}

Hızlı maksiller genişletme tedavisi etkisini; yatay yönde uygulanan kuvvet ile SPM'nin açılması sonucu oluşan boşluğun yeni kemik yapımı ile dolması ile gösterir.⁸¹ RME tedavisi ile suturada oluşan değişikliklerle ilgili bilgiler insan biyopsi materyalleri ve hayvan çalışmaları ile elde edilmiştir. Bu çalışmalara göre uygulanan kuvvetin suturada oluşturduğu ilk değişiklik travma sonucu oluşan hiperemidir.¹³ Sutura boyunca mikro kırıklar oluşur. Bölge eksüda, damar dışına çıkmış az sayıda kırmızı kan hücresi, seyrek fibrin ve kollajen lifleri ile dolar. Bölgede büyük, küçük genişlemiş kan damarları gözlenir. Takip eden 12 saatlik sürede defekt kenarlarında geçici polimorf cevap gözlenir. Bu cevabı takiben öncü fibroblastlar ve makrofaj hücreler ilk 24 saat içinde bölgeye akın eder. Suturenin daha az hasar görmüş bölgelerindeki zarar görmemiş osteoblastlar tarafından 3-4 gün içinde kemik yapımı başlatılır.³⁴ Kuvvet uygulanan SPM bölgesinde yeni kemik oluşumunu ve tamir olaylarını başlatacak inflamatuvar hücreler, mediatörler ve sitokinlerin bölgeye ulaşması kan damarları sayesinde gerçekleşir. IL-1, IL-6 ve TNF- α 'nın kemik tamir sürecinin başlangıç safhalarında önemli rolü vardır.⁵ Maksiller genişletme ile sutural bölgede oluşan yeni kemik dokunun olgunlaşması ve fibrillerin yeni

düzeninin sağlanması aylar süren uzun bir süreçtir. Bu süreç bölgede dengeye ulaşıncaya kadar devam eder.

Yeterli maksiller genişletme elde edildikten sonra kuvvet uygulamasına son verilir. Aylarca sürecek pekiştirme amacıyla sabit ya da hareketli apareyler uygulanır. Yeterli pekiştirme yapılmadığında elde edilen maksiller genişliğin iskeletsel ve/veya dişsel nüksü kaçınılmazdır.¹⁸⁶ Bu nedenle yeterli stabilizasyonun sağlanması ve nüksün önlenmesiyle birlikte tedavi ve retansiyon sürelerinin de kısaltılması amacıyla SPM'deki yeni kemik yapımını artıracak ve hızlandıracak bir stratejiye ihtiyaç vardır.

Genişleyen sutura bölgesindeki kemik yapımını artırmak amacıyla araştırmacılar kök hücre transplantasyonu, düşük doz lazer terapisi gibi yöntemleri ve bifosfonat, hyaluronik asit, büyüme faktörleri, vitaminler, hormonlar ve antioksidan vb. maddelerin lokal ya da sistemik olarak uygulanmasının etkilerini in vitro deneylerde ve in vivo hayvan modelleri üzerinde incelemişlerdir.^{10,35,67,86,105,108,117,124,144,153,156,168,174,195,197}

Son yıllarda yaygınlaşan doku mühendisliği uygulamaları ile rejeneratif tedavilerde yeni bir dönem başlamıştır. Otolog konsantre kan ürünleri biyolojik materyaller olarak uzun yıllardır kullanılmaktadır. Başlangıçta doku yapıştırıcıları olarak kullanılan materyallerden özellikle trombosit zengin fibrin ürünleri yoğunlukla biyolojik onarım materyali olarak kullanılmaktadır.¹⁰⁷

Trombosit zengin fibrin (TZF) ilk kez 2001 yılında Choukroun tarafından geliştirilen ikinci nesil fibrin adezividir.¹⁵² TZF; tamamen otojen olması, hazırlanmasının kolay olması, maliyetinin düşük olması ve içeriğindeki büyüme faktörlerinin kontrollü salınımına olanak vermesinin yanında büyüme faktörleri sayesinde vaskülarizasyonu hızlandırması, hastalık transfer riskinin olmaması, içindeki lökosit ve bunlar tarafından salgılanan sitokinler sayesinde enflamasyonun kontrol edilmesi ve enfeksiyonu baskılaması gibi birçok avantaja sahiptir.^{152,176}

Trombositler, pıhtıyı şekillendirmenin yanı sıra, alfa ve delta granüllerinden salınan büyüme faktörleri ve sitokinlerin etkisiyle inflamasyon, yara iyileşmesi, kemik rejenerasyonu, anjiyogenez ve yumuşak doku matürasyonu gibi birçok fizyolojik olayda önemli rol oynarlar.¹²¹ Kemik oluşumuyla ilişkili olduğu bilinen kemik morfogenetik proteini (BMP), transforme edici büyüme faktörü (TGF), trombosit türevli büyüme faktörü (PDGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) ve epidermal büyüme faktörü

(EGF) gibi büyüme faktörlerinin yapısında barındırmasıyla günümüzde sık kullanılan biyomateriyallerdendir.⁷²

Diş hekimliğinde Cerrahi ve Periodontoloji bölümlerinde doku mühendisliği amacıyla kullanımı son yıllarda yaygınlaşmış TZF'nin insan osteoblast hücrelerinin büyüme ve proliferasyonunu stimüle ettiği belirlenmiş ancak mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır.⁶⁵ TZF'nin kemik defektlerindeki iyileşmeye etkisini açıklayan bazı çalışmalarda, insan osteoblast proliferasyonunu sağlayan OPG üretimini stimüle ettiği gösterilmiştir.^{37,65} Ortodonti literatürüne bakıldığında dudak damak yarıklı vakaların greft operasyonlarında, diş hareketinin kortikotomi destekli hızlandırılmasında^{66,149,207} ve diğer cerrahi operasyonlarda^{38,80} TZF uygulayan çalışmalar mevcuttur.^{38,80,146,151} Ortodontide i-TZF'yi araştıran çalışmalarda ise i-TZF'nin kanin distalizasyonu sırasındaki diş hareket hızını artırmak,^{30,64,209,210} ankraj kaybını azaltmak²⁰⁹ ve retrakte edilen kaninlerin kök rezorpsiyonunun önlenmesi²¹⁰ gibi konulardaki etkisi çalışılmış ve diş hareket hızına olumlu etkileri gösterilmiştir.^{30,66} Ancak RME tedavisi sonrası kemik oluşumu üzerine i-TZF'nin etkisini inceleyen yayınlanmış bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu nedenle çalışmamızda; genç sıçanlarda hızlı maksiller genişletme tedavisi sonrasında genişleyen sutura bölgesine i-TZF uygulanmasının yeni kemik yapımına etkisini incelemek amaçlanmıştır. Bu amaçla sıçanların otolog kan numulerinden elde edilen enjekte edilebilir formdaki TZF (i-TZF), pekiştirme döneminde açılan sutura bölgesine farklı zamanlarda uygulanmıştır. Bu çalışma ile pekiştirme döneminde i-TZF'nin kemik oluşum ve olgunlaşma hızına olumlu etkisi olup olmadığının incelenmesi hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hızlı Maksiller Genişletme (RME)

Üst çene kemiğinin transversal yöndeki darlığı, kraniofasial bölgede görülen iskeletsel anomalilerin en yaygınıdır ve posterior çapraz kapanış olarak tanımlanır.¹³⁴ Maksiller posterior çapraz kapanışın tedavisinde en sık kullanılan yöntem, büyüme bölgesi olarak tanımlanmış midpalatal suturanın uygulanan kuvvetler aracılığıyla genişletilmesi mantığına dayalı hızlı üst çene genişletmesi- rapid maksiller ekspansiyon (RME)'dir.^{9,88,161}

Hızlı maksiller genişletme (RME) ile hedeflenen; maksiller dişlerle birlikte alveol kemiğine ve/veya palatal bölgeye ortodontik hareket sınırlarını aşan kuvvetler uygulayarak, sutura palatina mediada (SPM) ortopedik hareket oluşturmaktır. RME, maksillanın iskeletsel olarak genişletilmesini sağlayan en uygun prosedür olarak tanımlanır.^{23,190}

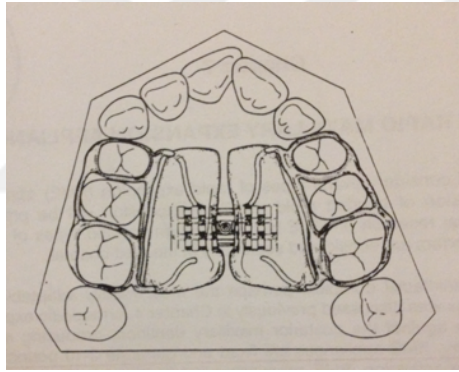
2.1.1. Tarihçe

Maksiller darlık ilk kez, binlerce yıl önce Hipokrat tarafından tanımlanmış, ancak tedavisine yönelik bir prosedürden bahsedilmemiştir.¹⁹¹

Hızlı üst çene genişletmesi tedavisine yönelik ilk prosedür 1860 yılında Emerson C. Angell tarafından bildirilmiştir. Angell, 14 yıl 6 ay kronolojik yaşa sahip bir kız çocuğuna, üst premolar dişler arasına yerleştirdiği bir vida aracılığıyla iki hafta süreyle genişletme tedavisi uygulamış ve ortalama 0,6 cm genişleme elde etmiştir. İki hafta sonunda üst santral dişler arasında gözlediği aralanmanın, maksiller suturadaki açılmaya işaret ettiğini belirtmiştir.⁹ Sutura palatina medianın açılmasıyla ark boyunda artış sağlayan bu yöntem birçok yazar tarafından desteklenmiş ve ilgi görmüş olsa da bazı yazarlar genişletmenin anatomik açıdan imkansız ve hatta tehlikeli olabileceğini iddia etmişlerdir.^{87,88,162} O dönemlerde radyolojik görüntülemenin henüz gelişmemiş olması sebebiyle Angell'in bu bulgusu radyolojik olarak desteklenememiş ve RME tedavisi yaygın kabul görmemiştir. RME ile midpalatal suturada açılma olduğunu Landsberger, 1910 yılında oklüzal grafipler aracılığıyla radyolojik olarak kanıtlamıştır.¹²⁵ Buna rağmen bu tedavi yaklaşımı 20.yüzyılın ortalarına kadar geniş kabul görmemiş ve yaygın uygulamaya geçilmemiştir.

Korkhaus, 1956 yılında Illinois Üniversitesi'nde sunduğu seminerde üst çene genişletmesi yaptığı hastaları sefalometrik röntgen kayıtlarıyla sunarak maksiller segmentlerin ayrıldığını göstermiştir.⁸⁸ Haas, bu sunumundan etkilenerek hayvanlar üzerinde yaptığı çalışmalarda midpalatal suturanın genişletmeye çok az direnç gösterdiği ve işlemin ağrısız olduğu bulgularını elde etmiştir. İki hafta sonunda 15 mm sutural genişleme elde ettiğini, muhtemel kas kuvvetleri nedeniyle alt çene dişlerinde de genişleme görülebileceğini bildiren Haas, prosedürün internazal bölgede de 7 mm'ye kadar bir genişlemeye sebep olduğunu bildirmiştir.⁸⁷

Haas 1965 yılında üst çene darlığı olan hastalarda hızlı maksiller genişletme tedavisi uygulamış, maksiller darlığın giderilmesiyle posterior çapraz kapanışın düzeldiğini rapor etmiştir. Uyguladığı bu tedaviyle maksillanın ileri ve aşağıya doğru, mandibulanın ise geriye ve aşağıya doğru hareket ettiğini göstermiş ve kendi adını verdiği diş ve doku destekli aпаратыnı tanıtmıştır (Resim 2-1).⁸⁸



(McNamara J.A, Brudon W.L, 1995).

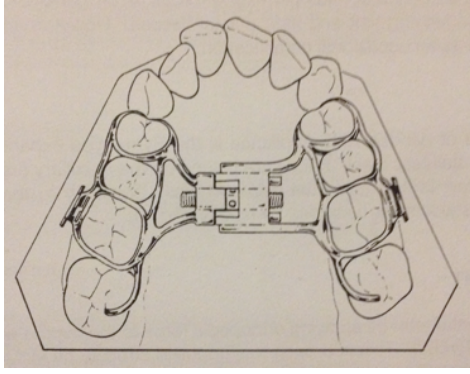


(Garib ve ark, 2005)

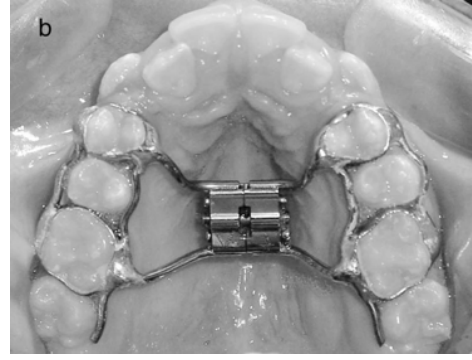
Resim 2-1: Haas aпараты

1965 yılında Cleall ve arkadaşları Rhesus maymunları üzerinde hızlı üst çene genişletmesi yaptıkları çalışmada suturadaki açılmayı radyografik olarak göstermişlerdir. Araştırmacılar aynı çalışmada histolojik inceleme bulgularında açılan suturada organize olmamış fibröz doku ve düzensiz kemik çıkıntılarının bulunduğunu göstermişlerdir.⁴⁵

Biederman'ın 1968 yılında tanıttığı dişlerden destek alan aпаратыnde akrilik plak bulunmamakta, bant uygulanmış daimi 1.molar ve 1.premolar dişlerden destek alınmaktadır. Bu apanye yumuşak doku irritasyonunu önlemek ve temizleme kolaylığı sağlamak amacıyla geliştirilmiş olup, akrilik plak içermemektedir. Temizlenmesi daha kolay olan ve "Hygienic Rapid Expander- Hyrax" olarak tanıtılan bu apanye günümüzde sıklıkla tercih edilmektedir (Resim 2-2).²⁰



(McNamara J.A, Brudon W.L, 1995)

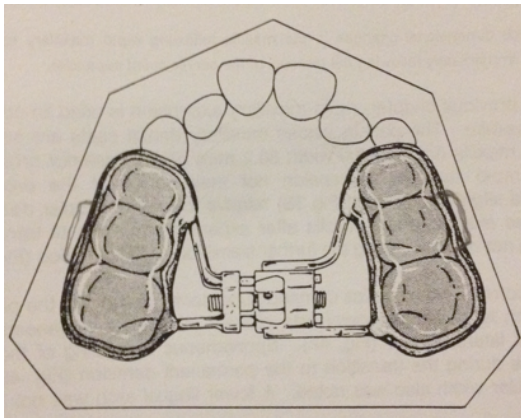


(Garib ve ark, 2005)

Resim 2-2: Hyrax apareyi

1973 yılında ilk defa Cohen ve Silverman tarafından tanıtılan, dişlerin tüm yüzeylerinin akrilik ile örtüldüğü bonded tarzı üst çene genişletme apareyinin zamanla çeşitli araştırmacılar tarafından farklı modifikasyonları tasarlanmıştır (Resim 2-3).⁴⁷

Subtelny, 1980 yılında, dik yön vakalarda kullanılmasını önerdiği bir aparey tasarlamıştır. Posterior dişlere ısırma düzlemi eklenmiş bu RME apareyinin, free way space- serbest konuşma aralığını artırarak çiğneme kaslarında oluşan gerilme sayesinde posterior dişlerde gömülmeye neden olan ısırma bloğu (bite-block) etkisi yaratacağını belirtmiştir. Dizaynı sayesinde dişlerin kronlarını daha iyi kavrayan bu apareyin, genişletme kuvveti etkisiyle dişlerde oluşması muhtemel bukkal yöndeki devrilmeyi azaltacağını, kuvvetin nazomaksiller bölgeye daha eşit/homojen iletileceğini belirtmiştir.¹⁸⁷ Ayrıca dişlerin oklüzallerinin örtülü olduğu bu apareyin kullanımı ile posteriordaki dişlerin ekstrüzyonunun engellenmesiyle dikey büyümenin kontrolüne katkıda bulunduğu söylenmektedir (Resim 2-3).^{173,205}



(McNamara J.A, Brudon W.L, 1995)

Resim 2-3: Akrilik Bonded Tip genişletme apareyi

Timms kesici dişleri açıkta bırakan; kanin, premolar ve molar dişlerin oklüzal yüzeyini örten krom kobalt döküm plak ve midpalatal bölgede bir vidadan oluşan “Cap Splint” apareyini tanıtmıştır. Timms’in 1981 yılında tanıttığı bu aparey zamanla geliştirilerek, dişleri örten plak metal döküm yerine akrilik materyalden yapılmaya başlanmıştır.^{94,173,183}

Ricketts 1960 yılında, birinci büyük azı dişlerine bant ve çelik telden hazırlanan, kuvvet uygulayıcı unsur olarak palatinalde heliks bükümlerin yer aldığı “Quad-Heliks” olarak adlandırılan bir genişletme apareyi tanıtmıştır (Resim 2-4). Günümüzde hala yaygın olarak kullanılan bu apareyin, özellikle süt ve karma dentisyonlarda uygulandığında iskeletsel etkisinin olduğu belirtilmiştir. Dudak damaklı yarıklı vakalarda aktivasyonun istenen yönde yapılabilmesi ve sürekli ve hafif kuvvet uygulaması nedeniyle avantaj oluşturmaktadır.¹⁸



(Proffit, 2019)

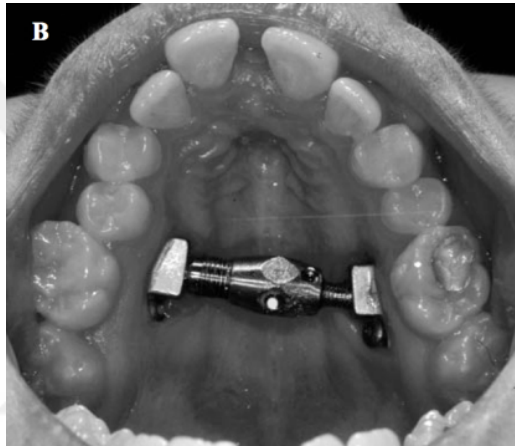
Resim 2-4: Quad-Heliks apareyi

Çeşitli araştırmacılar mıknatıslarla elde edilen manyetik kuvvet ile aktivasyonu sağlanan, ısıyla aktive olup nikel-titanyum materyalden üretilen, süper elastik yaylar kullanılarak tasarlanan farklı hızlı genişletme apareyleri dizayn etmişlerdir.^{11,50,199}

RME için uygulanan ortopedik kuvvetler iskeletsel yapılara diş destekli apareyler yardımıyla aktarıldığında, ankraj alınan destek dişlerde bukkal tipping, kök rezorpsiyonu, periodontal problemler gibi sorunlar rapor edilmiştir.²⁰⁶ Bu sebeple 2000’li yılların başından itibaren diş destekli genişletme apareylerine ilave olarak kemik destekli genişletme apareyleri gündeme gelmiştir. Bu apareylere örnek olarak 1999 yılında Mommaerts’in tanıttığı kemik destekli Transpalatal Distraktör ve 2006 yılında Koudstaal’ın tanıttığı Rotterdam Palatal Distraktörü verilebilir (Resim 2-5, Resim 2-6).

Bu apareyler tamamen kemik destekli olduğu için daha saf bir iskeletsel genişletme eldesi söz konusudur.^{119,145} Ancak bu tür distraktörler, sadece kemik destekli apareyler olma avantajına sahipken; yerleştirilmeleri ve çıkarılmaları esnasında invaziv bir flep hazırlığına ihtiyaç duyulur. Bu sebeple de RME tedavisinde klinikte rutin uygulanabilir apareyler olarak yaygın kabul görmemişlerdir.²⁰⁶

Kemik ve diş destekli bir aparey olarak tanıtilan Hybrid Hyrax ise, birinci büyük azı dişlerine uygulanan bantlar ve SPM'nın iki yanına uygulanan minividalardan destek alan bir hızlı genişletme apareyidir (Resim 2-7). Cerrahi prosedürün tamamen kemik destekli distraktörlere göre az olması avantajını taşır.²⁰⁶



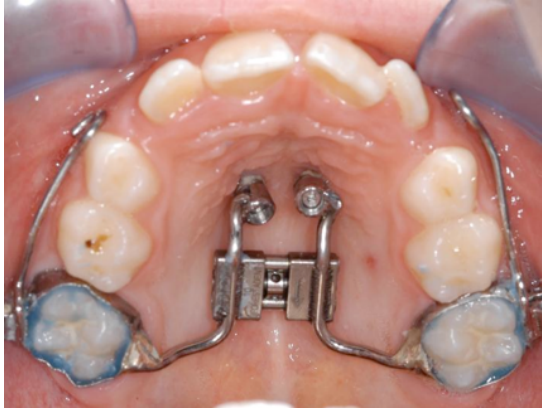
(Mommaerts, 1999)

Resim 2-5: Transpalatal distraktör



(Koudstaal, 2006)

Resim 2-6: Rotterdam Palatal Distraktörü



(Wilmes ve ark., 2010)

Resim 2-7: Hibrid Hyrax apareyi

Üst çene genişletme tedavilerinde geçmişten bugüne çeşitli apareyler dizayn edilmiş, farklı genişletme protokolleri eşliğinde kullanılmışlardır. Araştırmacılar, farklı genişletme apareyleri, farklı genişletme ve pekiştirme protokolleri ile en etkin ve en stabil tedavi sonucuna ulaşmayı hedeflemektedir.

2.1.2. Maksiller Darlık Etiyolojisi ve Teşhisi

Üst çene genişletmesi tedavisinde maksiller bazal kaideyi ve/veya dişsel yapıları ortodontik ya da ortopedik olarak düzelterek çeşitli yöntemler vardır. Tedavi yöntemi seçiminde maksiller darlığın etiyolojisi, şiddeti, posterior dişlerin eğimleri ve hastanın yaşı gibi faktörler etkilidir.

Üst çenenin transversal yöndeki darlığı kraniyofasiyal bölgede sıklıkla karşılaşılan, çoğunlukla vertikal ve/veya antero-posterior iskeletsel maloklüzyonların da eşlik ettiği en yaygın iskeletsel problemlerden biri olarak kabul edilir.¹⁹ Klinik olarak yapılan muayenede tek veya çift taraflı posterior maksiller çapraz kapanış, çapraz kapanışı ve maksiller darlığı kamufle edecek şekilde dişlerin bukkal inklinasyonu, yüksek ve derin damak kubbesi, diş kavsinin dar ve anteriora doğru daralan V şeklinde olması gibi bulgular görülebilir. Vertikal ve antero-posterior maloklüzyonlara göre, üst çene darlığının ağız dışı görüntü ile tespiti daha zordur. Ağız dışı bulgular olarak dar ve belirgin olmayan alar base, paranasal çöküklük ve derin nazolabial oluk bulunur.¹⁴³

Tedavinin fonksiyonel ve kalıcı olabilmesi için doğru tedavi yöntemini etiyolojik faktörler göz önünde bulundurarak seçmek önemlidir.

Maksiller Darlığın Etiyolojisi

Maksiller darlığın etiyolojisinde genetik, iyatrojenik, çevresel, gelişimsel ve bunların kombinasyonları gibi farklı faktörler rol oynayabilir. Darlığın görülme sıklığı açısından ise cinsiyet ve etnik köken önem taşımamaktadır.⁸²

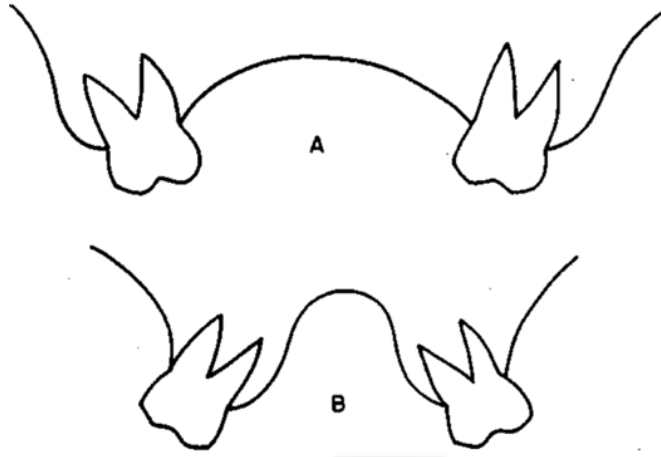
Persiste süt dişleri veya süt dişlerinin erken kaybı, ark yetersizlikleri, dudak damak yarığı gibi genetik ve iyatrojenik etkenler ve uzun süre emzik ya da parmak emme gibi alışkanlıklar ile ağız solunumu maksiller darlığın etiyolojik faktörleri arasındadır.¹²² Nazal hava yolundaki tıkanıklıklar sebebiyle gerçekleşen ağız solunumu sırasında dil ve hyoid kemik aşağıda konumlanır. Bu durumda çiğneme kaslarının bukkal yöndeki basıncı dil tarafından karşılanmadığından üst çenede darlık görülebileceği bildirilmiştir. Aynı şekilde emzik ya da parmak emme alışkanlığı bulunan bireylerde de emme basıncı sırasında kuvvetle çalışan kasların posterior bölgeye uyguladığı basınç sebebiyle de maksiller arkta darlık görülebilir.^{91,92,126,194}

Maksiller Darlığın Teşhisi ve Genişletme Miktarının Belirlenmesi

Maksiller darlık vakalarının çoğunluğu hem iskeletsel hem dişsel darlığa sahiptir (Şekil 2-1). Maksiller darlığın teşhisi ve gerekli genişletme miktarının belirlenmesi için alçı modeller üzerinde yapılan analizler ve posteroanterior grafiiler kullanılır.

Genişletme ihtiyacının belirlenmesinde “Howes Model Analizi” kullanılan en yaygın yöntemler arasındadır. Bu model analizinde apikal kemik kaidesi ve dişler arasındaki transversal ilişki incelenir. Araştırmacı bu yöntemde, normal oklüzyondaki bireylerin apikal kemik kaidesi genişliğinin, premolarlar arası mesafeye eşit ya da bu mesafeden büyük olması gerektiğini bildirmiştir. Buna göre; dişlerin bukkal inklınasyon gösterdiği ve apikal kemik kaidesinin dar olduğu vakalarda iskeletsel darlık olduğunu ve hızlı üst çene genişletmesi yapılması gerektiğini; dişlerin palatinal inklınasyon gösterdiği ve apikal kemik kaidesinin geniş olduğu durumlarda dişsel darlık olduğunu ve yavaş yani dişsel üst çene genişletme yapılmasının uygun olduğunu belirtmiştir.⁹⁵

Staley ve arkadaşlarının geliştirdiği bir başka model analizinde ise üst ve alt molar dişler arası mesafe ölçülmektedir. Maksiller molar dişler arası mesafenin mandibuler molar dişler arasındaki mesafeden daha fazla olması gerektiğini belirtmişlerdir.¹⁸⁴



(Ülgen, 2000)

Şekil 2-1: Dişsel ve iskeletsel darlık

McNamara ve Brudon'a göre ise, oklüzyonu normal olan bireylerde, transpalatal genişlik ortalama 36-38 mm arasındadır. Bu genişliği 30-32 mm veya daha az olan bireylerde hızlı üst çene genişletmesi tedavisi önermişlerdir.¹³⁶

Ricketts ve Grummons, diş ve alveol kavsi ile bazal kemiğe ait darlıkları sınıflandırmak ve mevcut analizlerin eksikliğini gidermek amacıyla postero-anterior filmlerden faydalanmışlardır. Bu analizle üst çene darlığının, alt çene ile olan ilişkisi de değerlendirilmiştir. Dar üst çene ve geniş alt çeneye sahip vakaların, tedaviye en zor yanıt alınan grup olduğunu ve bu vakalar için nüksün büyük bir risk olduğunu belirtmişlerdir.¹⁶⁵

Maksiller darlığın dişsel ya da iskeletsel kaynaklı olduğu saptandıktan sonra yapılacak olan tedavide maksiller palatal tüberküller, mandibuler bukkal tüberküller ile aynı hizaya geldiğinde aktif genişletme tamamlanabilir.^{97,211} Ayrıca genişletme miktarının gerekli olandan 2-4 mm daha fazla olmasının, tedavi sonrası beklenen nüks açısından gerekli olduğunu vurgulayan araştırmacılar da vardır.^{22,139,184}

2.1.3. Sutural Büyüme ve Tedavi Zamanlaması

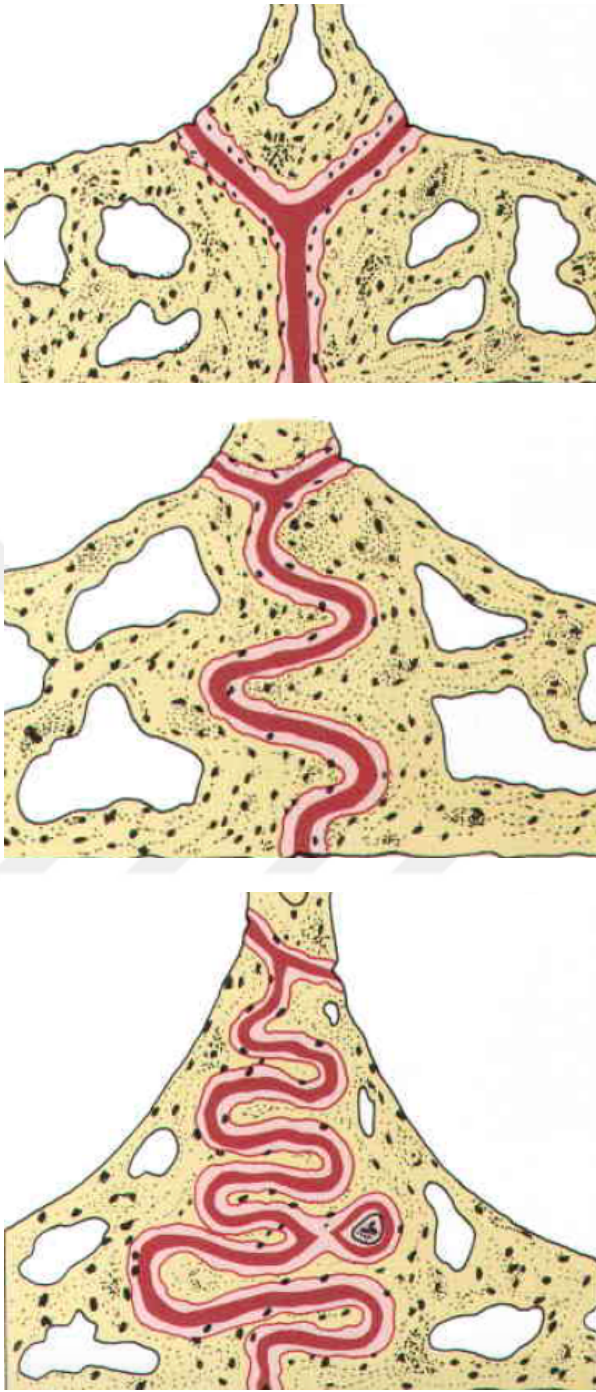
Sutura, iki kafatası kemiğinin karşılıklı kenarları arasında uzanan, bu kemikleri çevreleyen, kemiksel kenarlar da dahil olmak üzere hücresel ve lifli dokuların oluşturduğu kompleksi tanımlar. Kemik ve yumuşak dokular arasında yer alan bir yapı olan suturaların anatomisi karmaşıktır. Sutural bölgelerin morfolojisi yaşla birlikte daha

karmaşık hale gelerek, karşılıklı kemik kenarların füzyonu gözlenir. Ancak büyüme döneminin bitmesi, suturanın kesinlikle kapandığı anlamına gelmez.²⁰²

Melsen, maksilladaki midpalatal ve transver suturaların büyümeyle birlikte gösterdiği morfolojik değişimleri incelemek amacıyla insan otopsi materyalleri üzerinde çalışmalar yapmıştır. Bu çalışmalarda suturanın infantil dönemde çok geniş olduğunu ve vomer ile üst çene sağ ve sol yarılarının Y şeklinde bir midpalatal sutura oluşturduğunu belirtmiştir. Juvenil dönemde ise suturanın dalgalı bir yapıda olduğunu, takip eden adolesan dönemde interdişitasyonun artarak oldukça girintili çıkıntılı bir hal aldığını belirtmiştir (Şekil 2-2). Ayrıca midpalatal suturanın kızlarda 16, erkeklerde 18 yaşına kadar transversal yönde büyümeye devam ettiğini söylemiştir.¹³⁸ Persson ve Thilander, çeşitli kazalarda hayatlarını kaybetmiş 15-35 yaş arasındaki bireylerde palatal suturayı incelemişlerdir. Sutural kaynaşmanın başlaması ve ilerlemesi açısından bireyler arasında çok fazla farklılık olduğunu; 15 yaşındaki bir kadın hastada suturanın posterior kısmında kaynaşma varken, 27 yaşındaki bir kadın hastanın suturasında hiç kaynaşma gözlenmediğini belirterek, sutural kapanma başlangıcı ve ilerlemesinin yaştan başka faktörler tarafından da etkilendiği sonucuna varmışlardır.¹⁵⁵

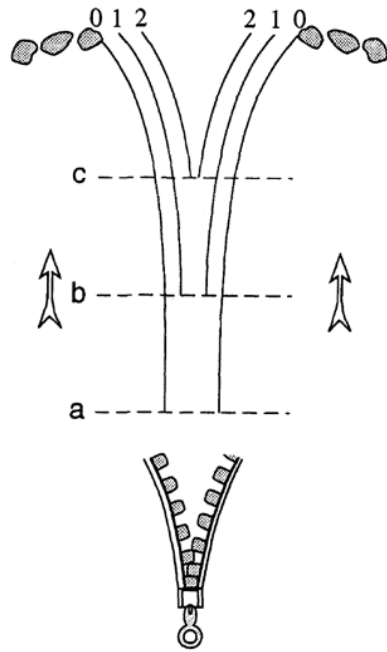
Sutural açıklık RME tedavisi için çok önemli olduğundan, suturanın ne zaman kapandığını bilmek önemlidir. Yukarıda bahsedilen bilgilere rağmen bir genelleme yapmak gerekirse, ortalama olarak 25 yaşına kadar olan vakaların %5'inde sutura kapalıdır. En erken kapanma 15 yaşında kız çocuklarında görülebilir. Sutural kapanma paterninin posteriordan anteriora doğru ilerleyen bir fermuar yapısında olduğunu bilmek de tedavi planlaması açısından önemlidir.¹³

Björk ve Skieller midpalatal suturanın erişkin döneme kadar tamamen kapanmayabileceğini, bununla birlikte 13 yaşında da palatal suturada birleşmenin olabileceğini belirtmişlerdir.²⁴ Melsen, ilerleyen yaşla birlikte RME tedavisinin etkisinin iskeletselden ziyade dişsel sonuç verdiğini belirtmiştir. 13-14 yaşlarında, artan osteoblastik aktivite alanlarına ek, rezorpsiyon ve kemik adası alanlarını da gözlemlemiştir. Bu durum, yaş ile birlikte suturanın kapanmaya başladığını ve dolayısıyla suturanın ayrılmasını sağlamak için kuvvet miktarını artırmak gerektiğini göstermektedir.¹³⁷ Baccetti ve arkadaşlarının çalışmalarından elde ettikleri bulgulara göre pubertal atılımdan önce yapılan RME tedavisinin ileri yaşlarda yapılan tedavilere göre daha ortopedik ve stabil sonuçlar verdiğini belirtmiştir.¹⁵



(Proffit, 2007)

Şekil 2-2: Midpalatal suturanın morfolojik yapısında yaşa bağlı görülen değişimler



(Vardimon ve ark, 1987)

Şekil 2-3: Suturenin fermuara benzer kemikleşme/kapanma mekanizması

2.1.4. Hızlı Üst Çene Genişletmesinin Endikasyonları

RME, temel olarak maksillanın transversal yöndeki uyumsuzluklarını gidermek için etkili bir yöntem olup, büyümekte olan hastaların genel sağlıkları üzerinde de çeşitli olumlu yan etkileri gözlemlendiğinden, endikasyon alanı genişlemiş bir prosedür olduğu söylenebilir.¹³⁵ RME tedavisinin beklenen ana ortodontik sonucu ise, gerçekleşen iskeletsel ve dişsel değişikliklerden dolayı üst diş kavsinin transversal boyutlarındaki artıştır.

RME; çapraz kapanışın düzeltilmesi, ark boyunun artırılması, posterior dişlerin aksiyal inklınasyonlarının düzeltilmesi, sınıf II maloklüzyonun spontan düzeltilmesi, psödo sınıf III maloklüzyon tedavisi, maksiller sutural sistemin mobilizasyonu, obstrüktif uyku apnesi ve diğer rinolojik ve respiratuar yetersizliklerin tedavilerinde ve dudak damak yarıkları(DDY) vakalarında kollabe olmuş maksillanın düzeltilmesi amacıyla uygulanır.^{13,87}

*Çapraz kapanışın düzeltilmesi: Tek ya da çift taraflı posterior çapraz kapanışın tedavisinde, maksiller suturenin sinostozunun gerçekleşmediği hastalarda RME kullanılır. Klinik ve deneysel çalışmalarda RME tedavisi gören hastalarda A noktasının da 1-2 mm kadar öne taşındığı gösterilmiştir.^{52,173} Dolayısıyla RME uygulaması ile hafif anterior çapraz kapanışın spontan düzelmesi görülebilmektedir.

*Ark boyunun artırılması: Posterior ark genişliğinin RME sonucu 1 mm artması, tüm ark boyutunda 0.7 mm bir artışa sebep olmaktadır. Diş materyali-ark boyutu uyumsuzluğu olan ve diş çekimi ile yumuşak doku profilinin olumsuz etkileneceği sınır “border-line” vakalarda RME ile ark boyutunun artırılması yer darlığını çözerken büyük avantaj sağlayacaktır.¹ Ancak üst diş kavsinin, alt diş kavsine göre transversal yönde dar olmadığı vakalarda sadece yer darlığını çözmek amacıyla üst diş kavsinin genişletilmesi oklüzyonun bozulmasına sebep olacağından; ark boyutunun artırılması amacıyla genişletme planlandığında erken dönemde ve alt diş kavsi ile beraber uygulanması gerekmektedir.¹⁹⁴

*Dudak-damak yarıklı vakalar: Dudak-damak yarıklı vakalarda kollabe olmuş maksiller bölgenin genişletilmesi amacıyla RME tedavisi uygulanır. DDY’li vakalarda yarık bölgenin lokalizasyonu ve segmentlerin konumuna göre modifiye edilmiş RME apaareyleri kullanılabilir. Bu vakalarda RME tedavisi genellikle yüz maskesi tedavisi ile kombine olarak ilerler.²³

*Posterior dişlerin aksiyal inklinasyonunun düzeltilmesi: Maksiller posterior dişlerin palatinal tüberküllerinin oklüzal düzlemde daha aşağıda yer aldığı durumlarda erken temaslar görülebilir. İskeletsel maksiller darlık varlığında, üst çene genişletmesi yapılmadan sadece ortodontik tedavi ile bukkal kök torku verilerek dişlerin inklinasyonu düzeltilmeye çalışılırsa dişlerin kökleri bukkal kortikal kemiğe dayanabilir. RME tedavisi ile birlikte diş köklerinin ideal konuma getirilmesi daha uygundur.

* Sınıf II maloklüzyonun spontan düzeltilmesi: Sınıf II olguların çoğunda maksiller darlık gözlenmemekle birlikte alçı modeller mandibulanın öne hareketini taklit ederek sınıf I molar ilişki sağlanacak şekilde artiküle edildiğinde unilateral veya bilateral çapraz kapanış oluşabilmektedir. Böyle durumlarda, hafif-orta şiddetli sınıf II vakalarda fonksiyonel tedavi öncesi uygulanan genişletme tedavisi, 6-12 ay içerisinde mandibulanın spontan olarak önde pozisyonlanmasını sağlayabilmektedir.

*Maksiller sutural sistemin mobilizasyonu: İskeletsel ya da dişsel maksiller darlığı olmayan karışık dişlenme dönemindeki sınıf III olgularda RME ile maksilla çevresindeki sutural sistemin mobilizasyonu mümkündür. Bu sayede yüz maskesi protraksiyonun daha etkili olmasını sağlamaktadır.¹³¹

*Nazal rezistansın azaltılması: Yapılan çalışmalarda, maksiller genişletme ile birlikte havayolunda da bir genişleme gözlemlendiğine dair bulgular mevcuttur.^{87,135}

*Gülümsemenin iyileştirilmesi: RME nadir durumlarda da olsa, karanlık bukkal koridor görünümünün azaltılarak hastanın gülümsemesinin çekici hale getirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Mc Namara, RME tedavisi gören hastaların estetik olarak da daha memnun kaldıklarını bildirmiştir.¹³⁶

2.1.5. Üst Çene Genişletmesinde Kullanılan Yöntemler

Yavaş Üst Çene Genişletmesi (Slow Maxillary Expansion- SME)

Yavaş genişletme protokolünde; süt ve erken karışık dişlenme döneminde fizyolojik sınırlar içinde sutural dokunun bütünlüğü bozulmayacak şekilde 450-900 gr arasında kuvvet uygulanmaktadır. Bu kuvvet apareyin haftada 0.5-1 mm genişletme uygulayacak şekilde aktive edilmesiyle sağlanır. Fizyolojik sınırlar içerisinde sutural doku bütünlüğü korunarak genişletme yapılır.^{23,123} Uygulanan kuvvetler ortodontik diş hareketi limiti içinde olduğu için maksiller ark daha çok diş hareketi elde edilerek genişler. Tedavi sonunda çevre dokularda birikecek rezidüel kuvvet az olacağı için nüks ihtimalinin de daha az olduğu söylenebilir.²¹¹ Yavaş üst çene genişletmesinde quad heliks, coffin zemberekli aparey, W apareyi (W expander), Minne expander apareyi, mıknatıslı genişletme apareyleri, Ni-Ti palatal ekspansiyon apareyi ve vidalı müteharik apareyler kullanılmaktadır.^{23,211}

Yarı Hızlı Üst Çene Genişletmesi (Semirapid Maxillary Expansion-SRME)

Hızlı maksiller genişletmeye göre maksillanın daha yavaş bir prosedürle genişletilmesi nazomaksiller komplekste daha az doku direnci üretir ve buna bağlı olarak nüks ihtimalinin de daha az olduğu savunulur. Yazarlar bu nedenle, SPM'nın RME prosedürü ile ayrılmasından hemen sonra yavaş genişletme protokolü uygulamayı önermişlerdir. Program, ilk 5-6 gün için her gün iki tur vida aktivasyonu ile RME uygulanmasının ardından genişletme tedavisinin geri kalan dönemi boyunca haftada üç tur vida aktivasyonu olarak sunulmuştur. Böylelikle, nazomaksiller kompleksteki adaptasyon sürecinin uyarılarak retansiyon sonrası dönemde nüksün azaltılması hedeflenmiştir. İşeri ve Özsoy, Sandıkçıoğlu ve Hazar gibi çeşitli araştırmacılar SRME yöntemi için farklı apareyler ve vida çevirme prosedürleri önermiştir.^{98,172}

Hızlı Üst Çene Genişletmesi (Rapid Maxillary Expansion- RME)

Hızlı üst çene genişletmesi yönteminde ise 10-20 pound gibi şiddetli ortopedik kuvvetler uygulayarak midpalatal suturanın açılması sağlanmaktadır.^{160,211} Bu kuvvetleri

sağlamak için günlük 0.2-0.5 mm hatta bazı protokollerde 1 mmlik bir aktivasyon uygulanarak tedavi 1-3 hafta gibi bir sürede tamamlanmaktadır.⁹⁰ RME tedavisi ile dişlere ve alveol kemiğine ortodontik diş hareketi limitlerinin üzerinde kuvvetler uygulanarak, ortopedik hareketin gerçekleşmesini sağlamak hedeflenmektedir.^{23,190}

Alt-RAMEC protokolü (Alternate Rapid Maxillary Expansion and Constriction)

Alternatif hızlı maksiller genişletme ve daraltma ise farklı bir genişletme protokolü olarak Liou tarafından maksiller transversal ve anteroposterior yetmezliği olan Sınıf III vakaların tedavisi için tasarlanmıştır. Hastanın çift vidalı genişletme apareyi kullanarak maksillayı haftalık olarak günde 1 mm (sabah ve akşam ikişer tur ile) genişletmesini ve daraltmasını gerektirir. Bu uygulama 7 ila 9 hafta boyunca yapılır, ardından hasta maksiller protraksiyon için bir yüz maskesi kullanır. Amaç midpalatal suturanın açılması ile birlikte maksillanın komşu kemiklerle yaptığı suturalardan da ayrılmasını sağlayarak daha hızlı bir maksiller protraksiyon elde etmektir.^{131,160}

2.1.6. RME ile Sutura ve Dentofasiyal Yapılarda Oluşan Değişiklikler

Hızlı maksiller genişletme tedavisi etkisini; yatay yönde uygulanan kuvvet ile SPM'nın açılması sonucu oluşan boşluğun yeni kemik yapımı ile dolması ile gösterir. Bu sayede üst çenenin transversal yönde boyutları artırılır. İskeletsel etkinin daha fazla, dişsel etkinin ise az olması amacıyla maksiller dişlere ve alveoler yapılara ortodontik diş hareketi limitini aşan kuvvetler uygulanmaktadır.^{81,87,211}

Aparey tipine göre vida, yay gibi farklı kuvvet üretici unsurlarla uygulanan diş hareketi limitini aşan kuvvetler destek alınan dokuları iterek hareket yönündeki periodontal aralığın daralmasına sebep olur. Periodonsiyumda oluşan camsı yapı şeklinde hyalinizasyon diş hareketini yavaşlatır veya engeller. Bu şekilde kuvvet kemik yapıya iletilerek iskeletsel etki elde edilir.^{185,194} Suturaya uygulanan kuvvetler biyoelastik sınırı aştığında ortopedik açılma ile maksiller kemiklerde ayrılma gözlenir.

Midpalatal Sutura ve Maksiller Genişletme Kuvvetine Karşı Biyolojik Tepkisi:

RME, mekanik bir kuvvetin biyolojik bir uyarıya dönüştürüldüğü, doku remodelingini ve midpalatal sutura ve yeni kemik oluşumunu başlatan sutural distraksiyon osteogenezinin özel bir şeklidir. Bu karmaşık biyolojik süreç kondrosit hipertrofisi,

anjyogenez, suturadaki orijinal dokuların rezorpsiyonu ve iskelet matrisinin oluşumunu içerebilir.²⁰⁶

RME tedavisi ile suturada oluşan değişikliklerle ilgili bilgiler insan biyopsi materyalleri ve hayvan çalışmaları ile elde edilmiştir. Bu çalışmalara göre uygulanan kuvvetin suturada oluşturduğu ilk değişiklik travma sonucu oluşan hiperemidir.¹³ Sutura boyunca mikro kırıklar oluşur. Bölge eksüda, damar dışına çıkmış az sayıda kırmızı kan hücresi, seyrek fibrin ve kollajen lifleri ile dolar. Bölgede büyük, küçük genişlemiş kan damarları gözlenir. Takip eden 12 saatlik sürede defekt kenarlarında geçici polimorf cevap gözlenir. Bu cevabı takiben öncü fibroblastlar ve makrofaj hücreler ilk 24 saat içinde bölgeye akın eder. Suturanın daha az hasar görmüş bölgelerindeki zarar görmemiş osteoblastlar tarafından 3-4 gün içinde kemik yapımı başlatılır.³⁴ Kuvvet uygulanan SPM bölgesinde yeni kemik oluşumunu ve tamir olaylarını başlatacak inflamatuvar hücreler, mediatörler ve sitokinlerin bölgeye ulaşması kan damarları sayesinde gerçekleşir. İnterlökin-1, interlökin-6 ve TNF- α 'nın kemik tamir sürecinin başlangıç safhalarında önemli rolü vardır.⁵ 7. günde palatal kemik kenarlarında yeni kemik oluşumu gözlenir. Oluşan yeni kemik yüzeyinde periosteal hücrelerin artışı devam eder. On dördüncü günde ise genişlemiş sutural bölge fibröz doku ile dolar. Suturun ağız boşluğu tarafında oluşan yeni kemik, orijinal sutural yapıya benzer şekilde birkaç tabaka kondrositle kaplanır. Suturanın nazal tarafında ise nazal epitel altında kırık yapı oluşmadan direkt kemikleşme başlar.⁹³

Maksiller genişletme ile sutura bölgesinde oluşan yeni kemik dokunun olgunlaşması ve fibrillerin yeni düzeninin sağlanması aylar süren uzun bir süreçtir. Bunun için gerekli osteogenez ve fibrogenez süreci bölgede dengeye ulaşıncaya kadar devam eder.

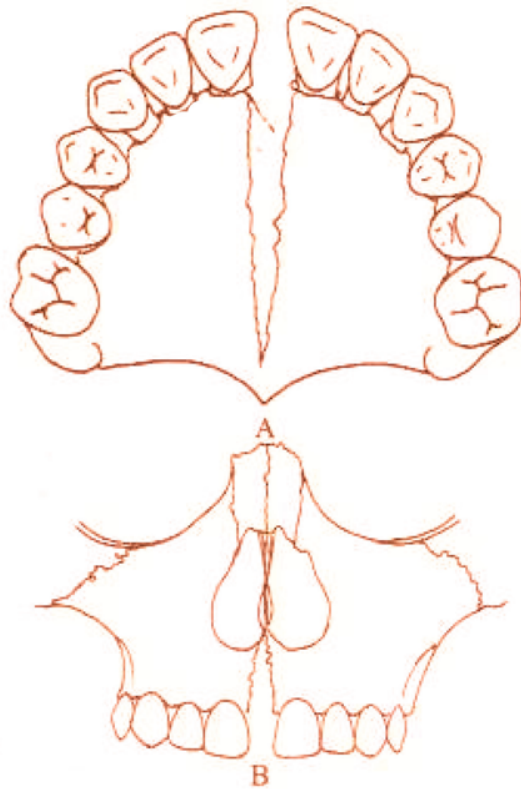
RME tedavisi ile dentofasiyal yapılarda oluşan değişiklikler

Maksiller kemik segmentleri, hızlı üst çene genişletmesi ile ayrıldıktan sonra frontal düzlemde paralel olarak hareketine devam etmeyip, hareket daha çok rotasyon ve alveol kemiklerin bukkale devrilmesi şeklinde devam eder. Rotasyon merkezinin frontomaksiller sutura olduğu bu açılma, tabanı suturada tepesi ise nazal tabanda olmak üzere bir piramit şeklinde gözlenir (Şekil 2-4).^{90,205}

Midpalatal suturadaki ayrılmaya oklüzalden bakıldığında, anteriorda posteriora göre daha çok olmak üzere “V” şeklinde izlenir (Şekil 2-4).²⁰⁵ Bunun sebebi posteriora

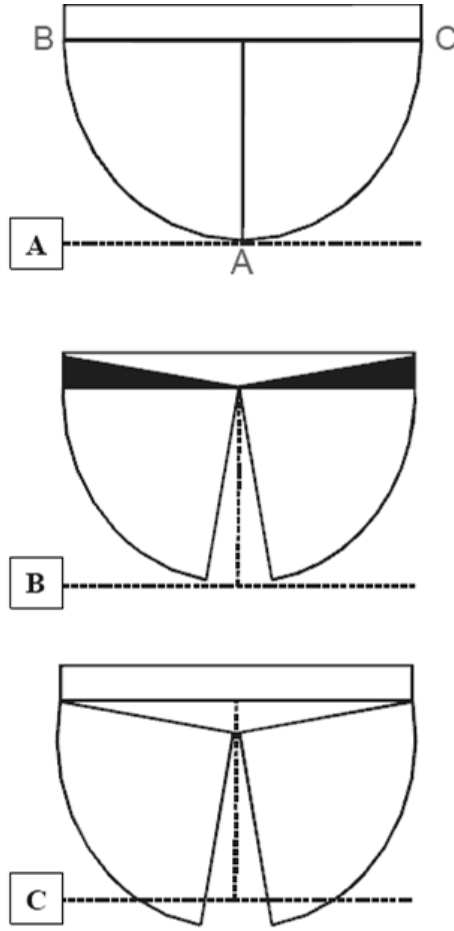
zigomatik ark ve sfenoid kemik bölgelerinin sutural ayrılmaya gösterdiği dirençtir. Bu direnç bölgeleri nedeniyle oluşan etki “Butressing effect” olarak adlandırılır. Butressing etkisi sebebiyle, RME tedavisi sonrası A noktası 1-2 mm anteriora hareket edebilir (Şekil 2-5).⁶⁰ Yapılan incelemelerde RME tedavisiyle maksillanın sagittal yönde öne ve aşağı hareket ettiği bildirilmiştir.^{20,205}

RME apareyleri ile midpalatal suturaya uygulanan kuvvetler, maksillanın artikülasyon yaptığı yüz kemiklerine de etki eder.²³ Sfenooksipital sinkondroziste de, uygulanan bu kuvvetler sonucu açılma gözlemlendiği bildirilmiştir. Maksillanın genişleme süreci ile öne ve aşağı hareketinin sfenooksipital sinkondrozisteki bu değişikliklerle ilişkilendirildiği araştırmalar mevcuttur.⁷⁶ Vertikal yönde ise maksillanın aşağı hareketiyle üst molarların uzaması ve palatinal tüberküllerin buna bağlı sarkması, mandibulanın geriye ve aşağı rotasyonuna neden olmaktadır. Buna bağlı olarak alt yüz boyutlarında artış görülür.³⁶



(Kumar, 2011)

Şekil 2-4: RME sonucu gözlenen piramidal açılma



(Biederman, 1968)

Şekil 2-5: Buttressing etkisi

2.1.7. Pekiştirme ve Nüks

Ortodontik ve ortopedik tedavilerde temel endişelerden biri yapılan tedavinin stabilitesidir. İki fazdan oluşan hızlı üst çene genişletmesi tedavisinde de durum farklı değildir. Tedavinin aktif dönem olarak adlandırılan birinci fazında sutural ayrılma ile maksiller genişleme gerçekleşir. Yeterli maksiller genişletme elde edildikten sonra kuvvet uygulamasına son verilir. Pekiştirme dönemi olarak adlandırılan ikinci fazda ise suturanın yeniden organizasyonu ile kalsifikasyonu gerçekleşir ve çevre dokular bu değişikliğe adapte olur.^{87,173} Aylarca sürececek pekiştirme amacıyla sabit ya da hareketli aparatlar uygulanır. Yeterli pekiştirme yapılmadığında elde edilen maksiller genişliğin iskeletsel ve/veya dişsel nüksü kaçınılmazdır.¹⁸⁶

Literatürde RME tedavisinde nüksün sebepleri olarak kraniyofasiyal kompleksin eklemleri arasında biriken yüksek stres, damak mukozasında oluşan gerilim, üst çeneyi çevreleyen bukkal ve lingual basınçların RME sonrası dengesizliği, hastanın tedavi yaşı,

pekiştirme apareyinin dizaynı gibi etkenler sayılmaktadır.¹³ Temel olarak RME sonrası görülen nüksün nedeni, genişleyen sutural bölgede çevredeki iskeletsel yapı ve dokuların oluşturduğu strese ve gerilime direnç gösterebilecek oranda yeterli kemik oluşumunun olmaması ya da bu sürecin uzun sürmesidir.¹⁸⁶ Araştırmacılar nükse sebep olan etkenlerin iyileştirilmesiyle ilgili çeşitli uygulamalar yapmışlardır. Maksiller kemiğin komşu iskeletsel yapılarında biriken stresin azaltılması amacıyla kortikotomiler uygulamış, gerilen palatal mukozada insizyonlar yaparak gerilimi azaltmaya çalışmışlardır. Fakat bu girişimler nüksün önlenmesi yönünde ciddi fayda sağlamamıştır.^{139,148}

Hızlı üst çene genişletilmesinden sonra oluşan nüksü etkileyen bir diğer faktör, pekiştirme apareyinin tipi ve dizaynıdır. Hareketli apareylerin hasta kooperasyonu gerektiriyor olması bir dezavantaj olarak kabul edilmekte ve sabit pekiştirme apareyleri önerilmektedir.^{89,136} Araştırmacılar, nüksün önlenmesi amacıyla sutural bölgede yeni organize olan kemiğin olgunlaşması için 3 ay, 5-6 ay, 1.5-4 yıla kadar değişen sürelerde pekiştirme tedavisinin devamını önermişlerdir.^{23,136,139,160,191} Ayrıca pekiştirmeden bağımsız olarak nüksün kaçınılmaz olduğunu belirten ve bu sebeple molar bölgede 2-3 mm'lik fazla genişletme yapılmasını öneren araştırmacılar da mevcuttur.¹³⁹

Yeterli stabilizasyonun sağlanması ve nüksün önlenmesiyle birlikte tedavi ve retansiyon sürelerinin de kısaltılması amacıyla SPM'deki yeni kemik yapımını artıracak ve hızlandıracak bir stratejiye ihtiyaç vardır. Genişleyen sutura bölgesindeki kemik yapımını artırmak amacıyla araştırmacılar bölgeye kök hücre transplantasyonu, düşük doz laser terapisi gibi yöntemleri ve bifosfonat, büyüme faktörleri, vitaminler, hormonlar ve antioksidan maddelerin uygulanmasının etkilerini in vitro ve in vivo hayvan modelleri üzerinde incelemişlerdir.^{35,67,86,105,117,144,153,156,168,174,195,197}

2.2. Kemik Dokusu

Kemik dokusu; yüksek seviyede damarlanma ve innervasyonun olduğu, iyi organize, mekanik ve hormonal çevresel uyaranlara göre kendini şekillendirebilen, dinamik, mineralize bir bağ dokusudur. Kemik matriksi denilen hücreler arası maddeden ve kemik hücrelerinden oluşur. Kemiğin kimyasal yapısında %71 inorganik tuzlar (kalsiyum fosfat ve kalsiyum hidroksiapatit), %18,5 kollajen, %0,25 mukopolisakkarid, %1,75 protein ve %8,5 su bulunur. Yeni oluşan kemikte matriks oranı daha yüksek olabilir.^{3,69,157}

Kemik dokusu iskelet sistemini oluşturarak kas dokusu ile birlikte hareketi sağlar, hayati önemi olan organları koruyup vücudu destekler. Ayrıca kalsiyum metabolizmasında görev alır ve kan hücrelerinin üretildiği kemik iliğini içerir.¹⁸²

Kemikler yassı, düzensiz şekilli, kısa ya da uzun formlarda olabilirler. Yapılan makroskopik incelemeler sonucunda kemik dokusunun kompakt (kortikal) ve süngerimsi (spongioz, trabeküler) olmak üzere iki farklı yapıda olduğu tespit edilmiştir. Kompakt kemik, süngerimsi kemiğe göre daha sert yapıdadır, kuvvetlere karşı daha dayanıklıdır. Uzun kemiklerin dış, yassı kemiklerin iç ve dış yüzeylerini kompakt kemik oluşturmaktadır. Kemik iliğini içeren ve metabolik olarak daha aktif olan süngerimsi kemik ise yumuşak yapıdadır, buna rağmen strese dayanıklıdır. Kortikal kemik Havers kanalları ile, süngerimsi kemik ise ekstraselüler sıvıdan difüzyon yoluyla beslenir.^{3,157}

Kemiğin mikroskopik incelemesinde ise, demet (woven) ve lamellar kemik olmak üzere iki fenotipi olduğu görülmektedir. Demet kemik, embriyonik gelişim dönemine ait bir yapı olmasına rağmen, sağlıklı yetişkin iskeletinde tendon ve ligaman bağlantılarında, osteojenik tümör gibi patolojik durumlarda veya iyileşen kırık kemiğin kallusunda gözlenebilir. Demet kemiği yapısal olarak organize olmamış, düzensiz fiber yerleşimi ve osteosit dağılımına sahiptir. Lamellar ya da olgun kemik ise, hem kortikal hem de süngerimsi kemikte bulunur. Lamel adı verilen yapısal alt üniteler süngerimsi kemikte paralel seyrederek. Kortikal kemikte ise bu lameller, 200-300 mm çapında silindirik şekilli osteon adı verilen yapıları oluştururlar. Osteon, duvarlarında osteositlerin yer aldığı ve içinden merkezi bir kapiller geçen bir yapı olarak tanımlanır.¹⁸¹

2.2.1. Kemik Hücreleri

Mineralize bir bağ doku olan kemik içerisinde 4 tip hücre bulunur; osteoblastlar, kemik sınır hücreleri (bone lining cells), osteositler ve osteoklastlar.^{28,61}

Kemik oluşumunda önemli rol oynayan osteoblastlar, mezenkimal kök hücre kökenlidirler. Kemik dokusunun yüzeye yakın kısımlarında yer alırlar. Yaklaşık 20-30 mikron büyüklüğünde olan, tek çekirdekli osteoblast hücreleri morfolojik olarak kübik şekildedir ve toplamda kemik hücrelerinin %4-6'sını oluştururlar. Kemik matriksin sentezinden ve kalsifikasyonundan yani kemik yapımından sorumludurlar. Kemik üretimi sona ererken bazı osteoblastlar kendi ürettikleri matriksle tamamen çevrenip hapsolarak osteositlere dönüşürken, bazı osteoblastlar da kemik yüzeyine yerleşerek sınır hücrelerine dönüşürler.^{112,181} Çeşitli sinyal yolları ve proteinler, osteoblastların farklılaşması ve fonksiyonunda görev almaktadır.³¹

Osteoblastlar temel olarak osteoid dokuyla birlikte tip 1 kollajeni salgılayarak yeni kemik oluşumunu sağlarlar. Bunlarla birlikte osteonektin, osteopontin, osteokalsin ve osteoprotegerin gibi proteinleri, proteoglikanları ve glikoproteinleri salgırlar. Ayrıca kemik rejenerasyonundan önemli rol oynadıkları düşünülen BMP, TGF, PDGF, IGF-1, IGF-2, IL-1 gibi sinyal proteinlerini ve büyüme faktörlerini de salgırlar.¹¹²

Sınır hücreleri (Lining hücreleri), kemik oluşumu ve kemik rezorpsiyonunun meydana gelmediği kemik yüzeylerinde bulunan sessiz, düz şekilli osteoblastlardır. Görevleri tam olarak anlaşılamamış olsa da rezorpsiyon olması istenmeyen durumlarda osteoklastların kemik matriksle etkileşimini önleyerek kemik rezorpsiyonunu önledikleri düşünülmektedir.^{7,140}

Osteositler, kemik dokusunun oluşumu sırasında kemik matriksi içinde hapsolan olgun osteoblast hücreleridir. Kemik hücrelerinin %90-95'ini oluştururlar ve 25 yıla varan uzun ömürlü hücrelerdir. Osteoblastlara göre daha az aktivite gösteren osteositlerin mekanik uyaranlara hassas hücreler olduğu ve kemik dokudaki gerilime cevap verdikleri düşünülmektedir.^{26,51} Osteoklastları ihtiyaç olan bölgelere çekerek remodeling sürecini yönettikleri, bu şekilde kemik yapısı ve kütlesinin korunmasında önemli rol oynadıkları söylenmektedir.¹⁶⁶

Osteoklastlar, kemik iliğindeki hematopoetik kök hücrelerinden kaynak alan, kemik rezorpsiyonundan sorumlu, hareketli hücrelerdir. Çok çekirdekli, büyük hücreler olup kemikte Howship lakünalarında (rezorpsiyon çukuru) adı verilen yüzeylerde bulunurlar.⁶⁹ Lizozomal enzimler içeren bu hücrelerin rezorpsiyonu gerçekleştirecekleri yüzeyi tırtıklı kenar (ruffled border) olarak adlandırılır. Bu tırtıklı kenar sayesinde rezorbe edilecek alanda, hücre zarının yüzey alanı artırılmış olur.^{70,181} Osteoklastlar fizyolojik

remodeling ve modelingde rol alan, mineralize kemik dokusunu rezorbe edebilen, kalsiyum dengesinin sağlanması, diş sürmesi ve ortodontik diş hareketi gibi önemli görevleri olan hücrelerdir.

Kemiğin dış yüzeyini saran tabaka periosteum, iç yüzeyini saran tabaka ise endosteum olarak isimlendirilir. Periosteum tabakasında yoğun olarak kollajen lifler ve fibroblastlar bulunur. Periostun iç kısmında mezenkimal hücrelerden zengin bir katman vardır. Bu mezenkimal hücreler osteoblast öncüleri osteoprogenitör hücrelerdir. Endosteum tabakası ise kemiğin tüm iç yüzeyini ve kavitelerini sarar. Endosteumda osteoprogenitör hücreler tek sıralı bir katman oluşturmaktadır.¹⁰¹

2.2.2. Kemik Dokusunun Gelişimi ve Remodelingi

Kemik dokunun gelişimi endokondral (kıkırdaksal) ve intramembranöz (zarsal) olmak üzere iki yolla gerçekleşir. Her iki kemikleşme türünde de kemik doku osteoblastlar tarafından üretilir.

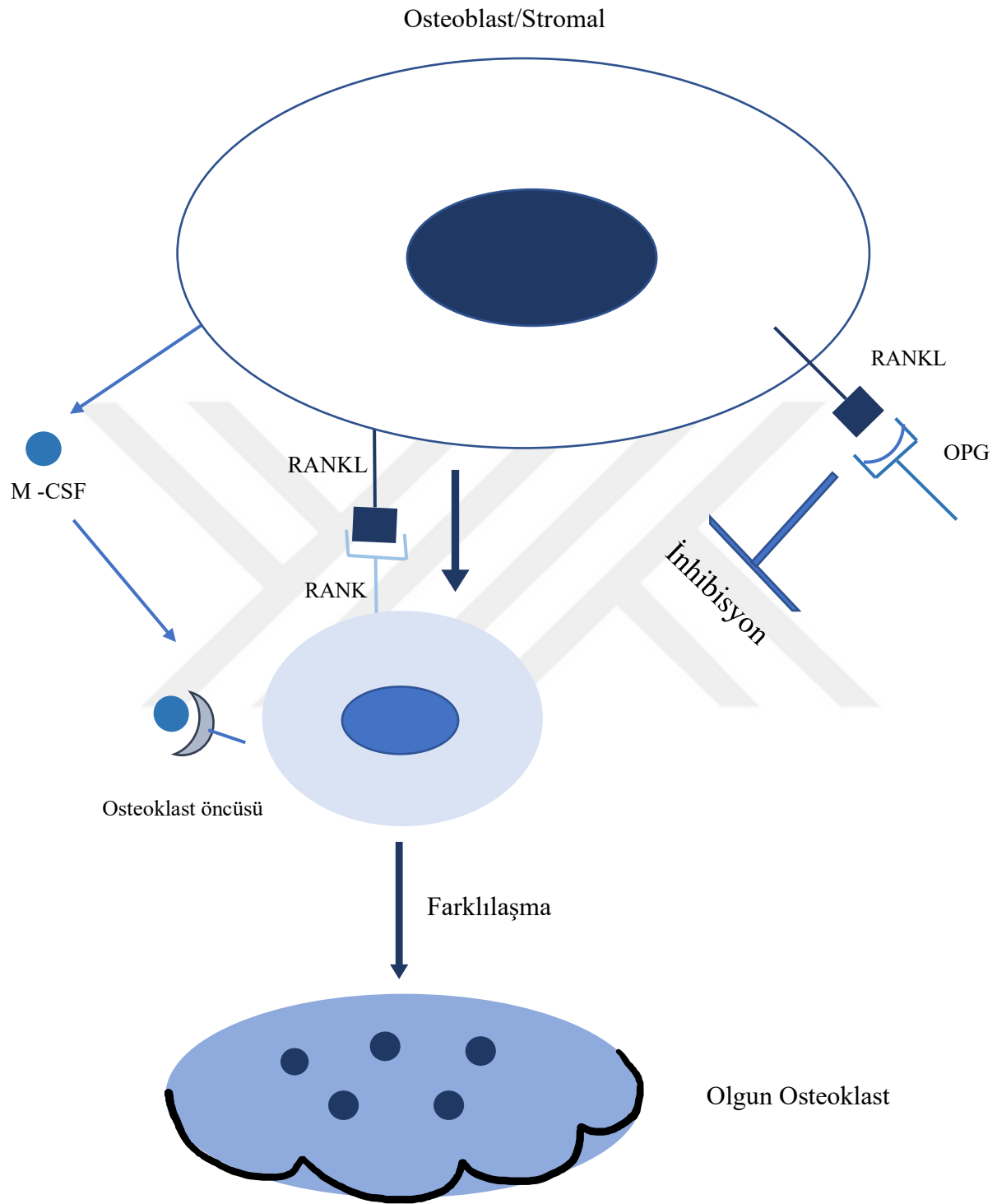
Endokondral kemikleşme, kıkırdak bir taslak oluşumunun ardından dolaylı yoldan kemik oluşumdur. Kemik oluşacak bölgede hiyalin kıkırdak dokudan oluşan taslak, kemik yapımı için iskelet görevi görür. Hiyalin kıkırdağın yıkımının ardından oluşan kavite mezenkimal kaynaklı, yüksek mitoz bölünme aktivitesi olan osteoprogenitör hücreler ve kan damarları ile dolar. Osteoprogenitör hücrelerin osteoblastlara dönüşümü ve kıkırdak dokunun üstünün osteoblastlarca üretilen kemik matriksi ile örtülmesiyle kemikleşme meydana gelmektedir.¹⁰¹

Intramembranöz kemikleşmede yoğun şekilde vaskülerize olan periost tabakası içindeki mezenkimal hücrelerin önce osteoprogenitör hücrelere ve ardından osteoblast hücrelerine dönüşmesiyle, hiçbir ön taslak olmadan direkt kemik doku meydana gelir. Kemik matriksin artmasıyla osteoblastlar birbirinden uzaklaşır ve bazıları osteositlere dönüşür. Bu sırada mezenkim hücreleri mitozla çoğalarak farklılaşıp osteoblast oluşturmaya devam ederler. Böylece yeni kemik oluşumu devam eder. Kemik matriksin mineralizasyonu ile membranöz kemik kalsifiye olur. Süngerimsi yapı içindeki trabeküler yapı yeterli seviyeye ulaştığında içlerindeki interstisyel vasküler bağ doku kemik iliğini oluşturur. Frontal, parietal, oksipital ve temporal kemikler gibi kafatasının yassı kemikleri, maksilla ve mandibulanın bazı kısımları ve klavikula intramembranöz kemikleşme ile meydana gelir.¹⁰¹

Kemik dokusu dinamik bir yapıda olup, belirli bir denge içinde sürekli olarak rezorpsiyon ve apozisyon olayları gerçekleşir. Kemiğin yeniden yapılanması olarak tanımlanan remodeling, kemiğin yapılanması olarak tanımlanan modeling işleminden farklı bir durumdur. Kemiğin modelingi kemik dokunun şeklinin ve hacminin değişmesidir ve çocukluk ve adolesan dönemde kemiklerin büyümesi sırasında gerçekleşir. Yetişkin kemik dokusunda da kemik metabolizması sürekli aktiftir. Remodeling işlemi ile yaşlı, hasarlı kemik doku rezorbe edilerek, yerine gelen yeni kemik doku ile yer değiştirir. Kemik dokunun yenilenmesinin sağlanması ve bu sayede dayanıklılığının devamlı kılınması nedeniyle, kemik remodelingi fizyolojik olarak büyük önem taşır. Remodeling ile kemiğin hacmi ve şekli değişmez, oluşan kemik doku miktarı rezorbe olan kemik dokuya eşittir.^{70,181}

Rezorpsiyon ve apozisyon arasındaki dengenin sağlanmasında osteoblast ve osteoklastların birbirleriyle olan etkileşimi çok önemlidir. Bu etkileşimi reseptör aktivatör nükleer kappa B (RANK), RANK ligandı (RANKL) ve osteoprotegerin (OPG) sistemi sağlar. Bu moleküller, osteoklastogenezisi düzenleyici moleküller olmaları nedeniyle kemiğin yeniden şekillenmesinde önemli rol oynar. Kemikte RANKL, osteoblast ve periodontal ligaman hücreleri tarafından salgılanır. RANKL osteoklast farklılaştırıcı faktör olarak etkisini preosteoklastik hücrelerin yüzeyindeki RANK reseptörüne bağlanarak gösterir. Bu bağlanma, kan kaynaklı preosteoklastların olgun osteoklastlara hızlı bir şekilde farklılaşmasına yol açar. OPG, osteoblastik hücreler tarafından üretilir ve RANK bağlanması için RANKL ile rekabet eder. OPG'nin kemik hücreleri üzerindeki biyolojik etkileri; osteoklast farklılaşmasının son aşamalarının engellenmesi, matriks osteoklastlarının baskılanmasının aktivasyonu ve osteoklast apoptozunun hızlandırılmasıdır.¹² Aynı zamanda remodeling esnasında kemik rezorpsiyonunu dengelemek amacıyla osteoblastları aktive edecek kemik içi büyüme faktörleri salgılanır.¹³² Osteoklastlar 10-14 gün gibi kısa bir sürede kemik rezorpsiyonunu gerçekleştirdikten sonra, oluşan rezorbe alanlarda osteoblastlar 6-9 ay süren uzun bir dönemde tamamlanan kemik yapımı sürecine başlarlar.⁵¹

Hem RANKL hem de OPG, sırasıyla osteoklastogenezin pozitif ve negatif düzenleyicileri olarak işlev görür. Fizyolojik kemik döngüsü ve stabil kemik kütlesi OPG ve RANKL arasındaki dengeye bağlıdır.¹²



Şekil 2-6: OPG-RANK-RANKL sistemi

2.2.3. Sutura da Kemikleşme

Komşu iki kemik arasında bulunan sutura bir bağ dokusu şeridinden ibarettir.¹⁹³ Suturaların kemik yapıları birleştirmek, kuvvetleri absorbe etmek, kemikler arasında nisbi harekete izin veren eklemler gibi fonksiyon görmek ve büyüyen kafatasında büyüme bölgeleri olarak rol oynamak gibi çeşitli işlevleri vardır.^{159,202}

Büyüyen bir omurgalıda, kafatasının büyüme ve gelişimi kranial ve fasiyal suturaların varlığı sayesinde mümkündür. Büyüme durduktan sonra çoğunlukla suturalar füzyon ile kapanır (sinostozis).¹⁶ Sutural büyüme birçok epigenetik faktörden etkilendiği gibi, sıkıştırma ve çekme kuvvetleri şeklinde meydana gelen yerel çevresel faktörlerden de etkilenir.²⁰²

Kemik ve yumuşak doku arasında bir aracı oluşturan suturaların anatomisi karmaşıktır. Mikroskopik olarak incelediğimizde suturaların kendine özgü hücre popülasyonu osteositik ve fibrositik hücrelerden, ve liflerden oluşur. Makroskopik incelemede ise suturanın kenarlarının şekli temel olarak “uçtan uca (end-to-end)” ve “üst üste binen (overlapping)” şekillerde ayırt edilir. Kenar şekli uçtan uca devam eden suturalar temel olarak sıçan, tavşan, fare ve insan kafa kemiklerinin sagittal düzlemlerinde bulunur. Kenar şekli üst üste binen formda olan suturalar ise kafa kemiklerinin farklı yönlerindeki düzlemlerinde görülür.²⁰²

Sutura da karşı karşıya gelen iki kemiğin üzerini örten periost sutura da devam ediyormuş gibi düşünülebilir. Her iki kemik periostu sutura da ayrı ayrı birbirlerine sırtlarını vermiş olarak, iki ayrı periost halinde devam etmektedir. Periost bir bağ dokusu membranıdır. Periostun en üst tabakası fibröz bir tabaka olup fibroblastlar, kollajen lifler, damar ve sinirlerden oluşmuştur. Periostun kemiğe komşu tabakası ise esas kemik yapan (osteojenik) kambiyum tabakası olup, osteoblastların çoğaldığı, osteoblastlar tarafından salgılanan kollajen lifler üzerine kalsiyum tuzlarının çökerek sharpey lifleri haline dönüştüğü ve kemiğin imal edildiği tabakadır. Sutura da karşı karşıya gelen iki kemiğin de ayrı ayrı birer kambiyum tabakası ve fibröz dokudan oluşan birer kapsüler tabakası vardır. İki kapsüler tabaka arasında da kan damarlarının bulunduğu bir ara tabaka vardır. Sutura da karşı karşıya gelen iki kemiğin de ayrı ayrı birer kambiyum tabakaları bulunduğundan, her iki kemik de ayrı ayrı büyürler. Her iki kemik eşit miktarlarda büyüebildiği gibi biri diğerinden daha fazla büyüebilir.¹⁹³ Sutura da gerçekleşen kemikleşme, intramembranöz kemikleşmedir.¹⁶

Midpalatal suturadaki kemikleşme süreci, sutura boşluğunun ortasındaki "adalar" (hücresiz ve düzensiz kalsifiye doku kitleleri) ile birlikte sutura kenarlarındaki kemik spikülleriyle başlar.^{118,154,155} Kemik spiküllerinin oluşumu sutura boyunca birçok yerde meydana gelir. Yeni oluşan kemiğin olgunlaşması ile birlikte spikül sayısı artar.^{138,155} Birbirine yakın bölgelerde, bazı alanlarda bağ dokusu ile ayrılmış, çok sayıda spikül kümelerinden oluşan taraklı alanlar meydana gelir.¹¹⁵ Taraklı alanların oluşumu ile eş zamanlı olarak, interdijitasyon artar.^{115,138} Daha sonra sutura uçlarında kortikal kemiğin rezorpsiyonu ve süngerimsi kemik oluşumu⁴⁸ ile gerçekleşen füzyon(sinostosis) suturanın posteriorundan başlayıp anteriora doğru devam eder (Şekil 2-2, Şekil 2-3).^{115,155}

Kemik dokudaki sutural yüzeylerin morfolojisi yaşla birlikte daha karmaşık hale gelir ve sonunda karşılıklı kemik kenarların füzyonuyla suturalar kapanır. Sadece farklı suturalar arasında morfolojik farklar bulunmamakta, belirli bir sutura içinde de farklı morfolojik özellikler de gözlemlenebilmektedir.²⁰²

2.2.4. Kemik Metabolizmasını Düzenleyen Faktörler

Kemik metabolizması çok sayıda lokal ve hormonal faktörün sürekli kontrolü altındadır. Kemik metabolizmasını en çok etkileyen hormonlardan üçü; paratiroid hormon, D vitamini ve kalsitonindir.⁷⁷ Bu hormonlar haricinde bazı mekanik, kimyasal ve elektriksel uyaranlar da kemik metabolizmasını etkiler.

Mekanik gerilim ve stres osteoblastik aktiviteyi ve VEGF gibi pro-anjiyogenik büyüme faktörlerini uyarak kemik oluşumunu etkiler. Osteoklast fonksiyonunu düzenleyen ve kemik oluşumu mekanizmasında önemli rol oynayan RANK, RANKL ve OPG sisteminin fizyolojik ve mekanik stres koşullarından etkilendiği bildirilmiştir.¹²

Özellikle kemik iyileşmesi sırasında trombosit, makrofaj ve fibroblast hücrelerinden bazı protein ve büyüme faktörleri salgılanır. Bu proteinler karmaşık iyileşme mekanizmasını düzenlemekle görevlidir. Migrasyon (hücre göçü), proliferasyon (çoğalma), diferensiyasyon (farklılaşma) ve rezorpsiyon (erime, çözünme) arasındaki dengenin hassas yerel kontrolünü sağlamaktadırlar. Yapılan çalışmalarda kemik metabolizmasında rol alan birçok faktör tanımlanmıştır. Kemik morfojenik proteinleri (bone morphogenic proteins, BMP), insulin benzeri büyüme faktörü (insulin-like growth factor, IGF), transforme edici büyüme faktörü (transforming growth factor, TGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (platelet-derived growth factor, PDGF) ve fibroblast büyüme faktörü (fibroblast growth factor, FGF) bu faktörler arasında sayılabilir.^{77,101,111}

Yapılan deneysel çalışmalarla bu büyüme faktörlerinin kemik iyileşmesi üzerine etkinliği gösterilmiş, bazıları sınırlı da olsa klinik kullanımda yer almıştır. Buna rağmen rutin klinik kullanıma girmeleri zor görünmektedir. Bunun en önemli nedeni ise büyüme faktörlerinin tek başına kullanımı amacıyla eldesinde kullanılan rekombinant teknolojinin pahalı olmasıdır.

Zengin büyüme faktörü içeriği ile otojen büyüme faktörü kokteyli olarak değerlendirilen ve biyolojik onarım materyali olarak kullanılan Trombositten Zengin Fibrin ürünleri, büyüme faktörlerinin rekombinant formlarının tek başına kullanılmasından daha uygun bir yaklaşım sunar. Yara bölgesinde trombositlerin artışı; trombosit kaynaklı PDGF, TGF- β , IGF, EGF, VEGF gibi kemik iyileşmesi ve yeniden şekillenmesi sırasında gerçekleşen karmaşık hücrel olayları düzenleyen büyüme faktörlerinin de bölgedeki konsantrasyonunun artışı sağlar.^{65,107}

2.3. Trombositten Zengin Fibrin (TZF)

2.3.1. Trombositlerin Yapısı ve İçeriği

Kan elemanlarından biri olan trombositler kemik iliğinde bulunan megakaryosit adı verilen öncü hücrelerden üretilen, disk şeklinde, çekirdeksiz yapılardır. Ortalama çapları 2-4 µm olan trombositlerin yaşam süreleri 8 ila 10 gündür. Sitoplazmalarında bir çok granül ile birlikte mitokondri, yüzeye bağlı kanaliküler sistem ve yoğun tübüler sistem bulunur. Trombositler pıhtıyı şekillendirmenin yanı sıra, granüllerden salınan büyüme faktörleri ve sitokinlerin etkisiyle inflamasyon, yara iyileşmesi, yumuşak ve sert doku renejerasyonu, antimikrobiyal direnç ve yeni damar oluşumu (anjiyogenez) gibi önemli birçok fizyolojik olayda görev almaktadırlar.^{25,55,121}

Trombositler aktive olduklarında ortama saldıkları; kollajen yapımını ve hücre mitozunu arttıran, diğer hücrelerin yara bölgesine gelmesini sağlayan, vaskülarizasyonu başlatan ve hücrelerin transformasyonunu indükleyen büyüme faktörlerini içerir.^{180,192} Bu büyüme faktörleri trombositlerin içinde bulunan, boyut ve içerikleri farklı olan granüllerde bulunur. Trombositler alfa granüller, yoğun (delta) granüller ve lizozomal (lambda) granülleri olmak üzere 3 çeşit granül içerir.¹⁶³

Alfa granüller 300-500 nm çapında olup, boyut ve sayıları bakımından trombositlerin major granülleridir. Trombositlere özgü ve trombositlere özgü olmayan otuzdan fazla biyoaktif protein ve büyüme faktörü içeriğiyle inflamasyon, pıhtılaşma, doku ve yara iyileşmesinde önemli rol oynarlar. Delta granüller, 250-300 nm çapa sahip granüllerdir. Elektron mikroskop incelemesinde ışığı yoğun şekilde absorbe etmeleri sebebiyle yoğun (dens) cisimcikler olarak da isimlendirilirler. ATP, ADP, kalsiyum iyonları gibi protein olmayan moleküller ile birlikte serotonin deposu olarak da görev yaparlar. Lambda granüller, 175-200 nm çapa sahip, lizozomal enzim içerikli granüllerdir. Bu granüller pıhtılaşma sürecinde oluşan fazla pıhtıyı eritirler ve bakterisidal etkiye sahiptirler.^{55,163}

Trombositlerin alfa granüllerinde önceden sentezlenmiş, inaktif formda bulunan başlıca büyüme faktörleri; trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörü beta (TGF-β), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) ve epidermal büyüme faktörü (EGF)'dir.⁶³

Aktive trombositler; anjiyogenez, rejenerasyon ve yara iyileşmesinin farklı kademelerinde yer alan trombosit kaynaklı bir dizi büyüme faktörünü serbest bırakır.¹⁶⁷ PDGF, TGF, IGF, VEGF ve EGF gibi büyüme faktörlerinin rezervuarı olan kan konsantreleri yara iyileşmesini teşvik etmek, kemik ve yumuşak dokuda yenilenmeyi artırmak amacıyla günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır.^{63,72}

Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri (Platelet-derived growth factor, PDGF)

Yara iyileşmesinde ilk olarak görülen büyüme faktörü trombosit kaynaklı büyüme faktörüdür (PDGF).^{133,171} Bu faktörler; mezenkimal hücrelerin göçü, çoğalması ve hayatta kalması için temel düzenleyicilerdir ve yara iyileşmesi sırasında ekstraselüler matrisin yeniden şekillenmesi için kolajen üretimini teşvik ederler. Trombositler PDGF'lerin temel kaynağıdır ve büyük miktarda alfa granüllerinde bulunurlar.⁷⁴

PDGF'nin son derece kısa bir yarı ömüre sahip olması nedeniyle, TGF matrisinin zaman içinde yavaş ve kademeli salımını desteklemek için hareket ettiğini bilmek önemlidir. PDGF ayrıca osteoblastlar ve farklılaşmamış osteoprogenitör hücreler, fibroblastlar, düz kas hücreleri ve glial hücreler için mitoz hücre bölünmesini uyaran (mitojen) önemli bir ajandır.⁷⁴ PDGF'ler bu hücrelerin gelişimi yönünde pozitif uyarı verebildikleri gibi, inhibisyon yönünde de kontrol sağlayarak, embriyonik gelişim ve yeniden modelleme mekanizmaları sırasında temel ve kritik role sahip büyüme faktörleridir.⁵⁶

Transforme edici büyüme faktörü-β (Transforming growth factor beta, TGF-β)

TGF-β ailesi 30'dan fazla fibrozis ajanı barındıran bir süper ailedir. Trombositler TGF-β üretiminin temel kaynağı olarak bilinirler. TGF-β'nın rolü doku onarımını uyarmak, bağışıklığın düzenlenmesini sağlamak ve ekstraselüler matriks sentezini sağlamaktır.⁷⁴

TGF-β1 ise predominant izoformdur ve inflamasyon, anjiyogenez, re-epitelizasyon ve bağ doku rejenerasyonu için önemlidir. Bu büyüme faktörü, kemotaksis ve mitogeneze osteoblast öncülerine katkıda bulunan kemik oluşumu sırasında çok önemli rol oynar. Kemik kolajen matrisi üzerinde mineralize dokunun osteoblast birikimini uyarır. Ayrıca TGF-β1, VEGF aktivitesini de uyararak inflamatuvar hücrelerin çağırılmasını ve anjiyogenezisin uyarılmasını sağlar.⁷⁴

Neredeyse tüm hücrelerde TGF- β reseptörü olsa da en çok fibroblastlar, kemik iliği hücreleri ve preosteoblastlara etki ederler. Bu da fibroblastlar tarafından kollajen sentezini uyarır. Osteoblastlar için kemotaktir. Ayrıca Tip 1 kollajen ve fibronektin sentezini artırır, kemik matris birikimini uyarır.¹³³ İn vitro olarak kemiğin yakınına enjekte edildiğinde, yeni kırıldak veya kemik oluşumunu arttırdığı ancak kemikten uzağa enjekte edildiğinde yeni kemik oluşumunu uyarmadığı gösterilmiştir.²⁹

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (Vascular endothelial growth factor, VEGF)

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), anjiyogenezi teşvik etmek için aktive edilmiş trombositler ve makrofajlar tarafından hasarlı bölgelere salgılanır.⁷⁴ VEGF dokuların anjiyogenezisini sağlayan, yeni kan damarı oluşumunu stimüle eden ve bu nedenle yaralanma bölgesine besinleri ve artan kan akışını getiren en güçlü büyüme faktörü olarak tanımlanmıştır. Doku yeniden şekillenmesi üzerine güçlü etkileri vardır ve çeşitli kemik biyomateriyallerine rekombinant insan VEGF'nün dahil edilmesinin kemik oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir.^{74,177}

Başarılı kemik ve yumuşak doku rejenerasyonu için temel ve önemli bir koşul, yara bölgesine besin ve oksijen sağlamak için yeterli vaskülarizasyondur. Hasar görmüş veya tasarlanmış dokularda neovaskülarizasyon sürecini iyileştirmek için, farklı vaskülarizasyon stratejileri oluşturulmuştur.⁵⁹

İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (Insulin-like growth factor, IGF-1)

İnsülin benzeri büyüme faktörleri (IGF), hücre koruyucu ajanlar olarak işlev gören çoğu hücre tipinin proliferasyon ve farklılaşmasının pozitif düzenleyicileridir. Bu büyüme faktörü aktivasyonları ve degranülasyonları sırasında trombositlerden salınır ve mezenkimal hücrelerin farklılaşmasını ve mitogenezi uyarır.⁷⁴ Fibroblast kökenli dokuların rejenerasyonunda ilerletici faktör olarak rol alırlar. Kemik hücrelerinde IGF'ler pre-osteoblastların hem proliferasyonunu hem de tip 1 kollajen sentezi ile birlikte osteoblastlara farklılaşmasını stimüle ederler. Böylece sentezlenen kemikteki hücre sayısını ve her bir hücrede depolanan ekstrasellüler matriks miktarını artırır, yaşla birlikte kemik mineral yoğunluğunun azalmasını engellerler.⁴⁶

Epidermal büyüme faktörü (Epidermal growth factor, EGF)

Epidermal büyüme faktörü (EGF) ailesi endotelyal hücrelerin kemotaksisini, anjiyogenezini ve mezenkimal hücrelerin mitozunu uyarır. Yara bölgesindeki epitelizasyonu sağlar ve tüm iyileşme sürecini hızlandırıcı etki gösterdiği gözlenmiştir. EGF, akut yaralanmadan sonra uyarılarak yaraların gerilme direncini önemli ölçüde artırır.⁷⁴

2.3.2. Trombositten Zengin Ürünlerin Gelişim Süreci

Son yıllarda yaygınlaşan doku mühendisliği uygulamaları ile rejeneratif tedavilerde yeni bir dönem başlamıştır.¹⁰⁶ Geçmişten günümüze rejeneratif tedavilerde altın standart otojen ürünlerdir.⁹⁹ Kan, vücudumuzun da yumuşak ve sert doku tamirinde kullandığı en önemli kaynaktır. Farklı formlarda üretilmiş otojen kan konsantreleri, biyolojik ürünler olarak uzun yıllardır kullanılmaktadır.^{53,106,107}

Geçtiğimiz yıllar boyunca, minimal invaziv doku rejenerasyonu yöntemleriyle ilgili bir çok konsept geliştirilmiş ve otojen kan konsantrelerinin farklı medikal alanlarda kullanımı büyük önem kazanmıştır.¹⁷⁹ Otojen kan konsantrelerinin temel prensibi; periferik kanın santrifüj edilerek hücre ve doku yenilenmesi için önemli olan trombosit, lökosit ve plazma proteinleri gibi içeriklerin konsantre formunu üretmektir.⁴⁴

1950'lerin başından beri, kan kaynaklı ürünlerin literatürde çok çeşitli klinik uygulamalarda doku iyileşmesini güçlendirmek için kullanıldıkları bildirilmiştir.¹¹³ Periferik kandan üretilen trombosit konsantreleri ise 1990'larda tanıtılmış olup, o tarihten bu zamana klinik uygulamadaki kullanımları hızla artmıştır. Nispeten basit yöntemlerle, hasta başında hazırlanan otojen ürünler olarak, bu kan kaynaklı ürünler son zamanlarda klinik rejeneratif tıpta büyük ilgi uyandırmıştır.^{2,100} Kan konsantreleri veya özellikle trombositlerden zengin ürünler başlangıçta doku yapıştırıcıları olarak, daha sonraları ise biyolojik materyaller olarak uzun yıllardır kullanılmaktadır.¹⁰⁷ Başlangıçta doku yapıştırıcıları olarak kullanılan materyallerden özellikle trombositten zengin fibrin ürünleri genellikle biyolojik onarım materyali olarak kullanılmaktadır.¹⁰⁶ Büyüme faktörleri ile hücre tedavisi kavramına dayanan trombosit konsantrelerinin kullanımı, otolog fibrin yapıştırıcıları üzerine teknolojik araştırmaları yeniden başlatmıştır.¹³³

Büyüme faktörlerinin rezervuarı olan kan konsantreleri, yara iyileşmesini teşvik etmek, kemik ve yumuşak dokuda yenilenmeyi artırmak için yaygın olarak

kullanılmaktadır.⁶³ Bu kan konsantrelerinin olumlu etkileri; trombositlerin büyüme faktörü salımı yapan, yara iyileşmesi, bağ doku ve kemik doku iyileşmesi, fibroblast mitogenezi, anjiyogenez ve makrofaj aktivasyonu ve hücre proliferasyonunda önemli rol oynayan aktif hücreler olması ile ilişkilidir.^{33,127,133}

İlk nesil trombosit konsantresi olan trombosit zengin plazma (TZP), tam kan santrifüjüyle elde edilen, tam kandan daha fazla trombosit içeriğine sahip olan, sıvı veya jel olarak kullanılabilen bir kan ürünüdür. TZP, cerrahi girişimler ve yaralanma sonrası iyileşmeyi hızlandırmak için güvenilir ve otojen bir yöntem olarak sunulmuştur.

Hazırlama prosedürü iki aşamalı santrifüjden oluşur ve kanın doğası gereği dakikalar içinde pıhtılaşıyor olması sebebiyle harici antikoagülanların eklenmesini gerektirir. Otojen bir yöntem olarak sunulmuş olmasına rağmen büyüme faktörlerini serbest bırakacak trombositleri aktive etmek ve kullanımı sırasında pıhtılaşmasını önlemek amacıyla TZP'ye ksenojenik trombin veya kalsiyum iyonları eklenir.¹⁸⁹ Harici biyokimyasalların eklenmesiyle oluşan ürün tamamen otojen olarak tanımlanamaz. Eklenen biyokimyasallar kontaminasyon ve alerji riskini artırabilir, yara iyileşmesinin ilk dönemlerinde yabancı madde reaksiyonu oluşturularak doğal enflamasyona engel olabilir.⁷³

TZP eldesi sırasında birinci yavaş santrifüjde pıhtılaşma engellenir ve eritrositler çöktülürken, ikinci hızlı santrifüjde pıhtılaşma yapay olarak sağlanır.²⁷ Yapay pıhtılaşma ile oluşan fibrin matriks yapısı doğal pıhtılaşma ile oluşan fibrin matriks yapısından daha rijittir. Bu sert yapı içeriğindeki büyüme faktörlerini kontrollü yavaş bir salınım ile değil de hızlı ve kısa sürede salınmasına neden olmaktadır.⁵⁴ TZP'nin kısa süreli büyüme faktörü salınımı sebebiyle, kemik rejenerasyonu için klinik potansiyeli de sınırlıdır.^{116,170} Hazırlama sürecinin birçok aşamadan oluşması, biyokimyasal maddelerin eklenerek hazırlanması TZP'nin klinik rutinde kullanımını ayrıntılı, zaman alan ve maliyetli bir prosedür haline getirebilir. Bütün bu limitasyonlar, %100 otojen kaynaklardan üretilmiş, Trombosit Zengin Fibrin (TZF) olarak adlandırılan ikinci nesil bir trombosit konsantresinin geliştirilmesine sebep olmuştur.⁵⁷

Trombosit zengin fibrin (TZF), 2001 yılında Fransa'da Choukroun tarafından geliştirilen ve 2006 yılında Dohan tarafından tanıtılan ikinci nesil trombosit zengin biyomateriyaldir.^{42,54} TZF; kan alımı sırasında içerisine antikoagülanlar eklenen trombosit zengin plazmanın aksine, herhangi bir antikoagülan içermeyen basit bir

prosedür ile tek aşamalı olarak santrifüj edilir ve bu sebeple tamamen otojen bir üründür.⁷⁸

TZF üretilirken doğal bir pıhtılaşma süreci meydana gelir ve kanın herhangi bir biyokimyasal modifikasyonuna gerek kalmadan lökosit ve trombosit açısından zengin fibrin pıhtısının kolayca toplanmasına izin verir. Kan alınan tüpe ve santrifüjleme protokolüne bağlı olarak, katı veya sıvı formda bir TZF matrisi oluşturmak mümkündür. Bu prosedür, kan kaynaklı ürünler içinde şimdiye kadar geliştirilmiş en basit ve aynı zamanda ucuz protokoldür.⁵⁸

Antikoagülanların yokluğunda, trombosit aktivasyonu ve fibrin polimerizasyonu hemen tetiklenir. Bu nedenle, santrifüjlemeden sonra Kırmızı Kan Hücreleri (KKH)/ Red Blood Cells (RBC) temel katmanı, aselüler plazma üst katmanı ve ortada TZF pıhtısından oluşan üç katman oluşur. TZF pıhtısı, toplanan kandaki trombositlerin ve lökositlerin çoğunun yoğunlaştığı karmaşık üç boyutlu bir yapıya sahip güçlü bir fibrin matrisi oluşturur. TZP'lerin aksine, Choukroun'un TZF'si uygulamadan sonra hızla çözülmez; bunun yerine, güçlü fibrin matrisi, doğal bir kan pıhtısına benzer bir şekilde yavaşça yeniden şekillendirilir. Bu yöntemde trombositler ve lökositler yüksek verimlilikle toplanır ve korunur. Bununla birlikte, işlem sırasında trombositler aktive olur ve bu da trombosit ve lökosit büyüme faktörlerinin fibrin matriksine önemli ölçüde gömülmesine yol açar.^{55,56}

TZF, 2001 yılında Joseph Choukron tarafından tanıtıldığından beri santrifüj hızı, süresi, kan alınan tüplerin materyali gibi üretim protokolündeki değişkenlerde çok çeşitli modifikasyonlar yapılarak farklı üretim süreçleri denenmektedir. Bu modifikasyonlar TZF'nin büyüme faktörü ve hücresel içeriğinin maksimum miktarda olması amacıyla yapılmıştır.^{41,178}

Prencip olarak santrifüj zamanının kısaltılması, santrifüj g-kuvvetleri tarafından hücrelerin aşağı çekilmesini azaltır, bu da TZF'nin üst tabakasında kalan toplam hücre sayısını artırır ve fibrin matrisi içinde daha fazla lökositin kalmasını sağlar.⁷⁵

TZF'nin gelişimi, yüksek hızlı bir protokole dayalı Lökosit Zengin Trombositten Zengin Fibrinin (L-TZF) tanıtılmasıyla başladı. Daha sonra, trombosit ve lökosit sayısını artırmak amacıyla, daha düşük g-kuvvetleri ve santrifüj sürelerine sahip Advanced/Geliştirilmiş TZF (A-TZF) ve enjekte edilebilir TZF (i-TZF) tanıtıldı (Tablo 2-1).¹⁴¹

TZF	Süre	RPM	Santrifüj gücü
L-TZF (Lökositten zengin TZF) ⁴¹	12 dakika	2700	700 g
A-TZF (Advanced/Geliştirilmiş TZF) ⁵⁶	8 dakika	1300	200 g
i-TZF (Enjekte edilebilir TZF) ⁷⁸	3 dakika	700	60 g

Tablo 2-1: Trombositten Zengin Fibrin Ürünleri

Jel formundaki TZF ürünlerinin, enjeksiyon olarak da uygulanabilen TZP'nin yerini tam olarak dolduramaması sebebiyle santrifüj gücü ve süresi modifiye edilerek üretilen i-TZF büyük öneme sahiptir. Özellikle enjeksiyon ile TZF kullanımı gereken alanlarda TZP'nin yerini i-TZF materyalleri almaya başlamıştır.^{41,56,78}

TZF'nin tanıtılması ve trombosit kaynaklı kan ürünlerinin geliştirilmesiyle birlikte TZF'nin kullanım alanları da oldukça gelişmiştir. Kolay ulaşılabilir, minimal invaziv ve basit hazırlanma prosedürü sayesinde TZF bazlı materyallerin önemi giderek artmıştır.

Yara iyileşmesi birçok hücrel aktivitenin yer aldığı karmaşık bir biyolojik süreç olup hasarlı bölgenin rejenerasyonu ve/veya tamirini sağlar. TZF bazlı matrislerin bileşenlerinin yara iyileşmesi sürecinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Trombositler, yaralanma bölgesinde meydana gelen ilk hücrelerdir. Hemostazdaki rollerine ek olarak, trombositler, nötrofiller ve makrofajlar gibi başka inflamatuvar hücrelerin toplanması dahil olmak üzere inflamatuvar potansiyele sahiptir ve anjiyogenezi ve doku onarımını destekler.¹⁷ TZF, fizyolojik fibrin matris yapısı ile kök hücreleri için, bir ağ görevi görür. Kemik iliği kökenli mezenkimal hücreler, kemik hücrelerinin ve diğer farklı dokuların rejenerasyonunu sağlar.

TZF'nin osteojenik hücrelerin proliferasyonunu artırma etkisiyle, kemik yapımı üzerinde güçlü bir uyarıcı olabileceği düşünülmektedir.^{42,55} Lökositler ve trombositler arasındaki etkileşimin kemik rejenerasyonunu desteklediği görülmüştür. Lenfositler de, immunolojik rollerine ek olarak mezenkimal hücrelerin osteojenik farklılaşmasında etkilidirler ve osteoblastlar için uyarıcı potansiyeldeki sitokinleri serbest bırakırlar.^{49,83}

Trombosit içerikli kan kaynaklı ürünler; tıpta yumuşak ve sert dokuda rejenerasyon amacıyla plastik ve rekonstrüktif cerrahi, ortopedi, dermatoloji alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Diş hekimliğinde ise özellikle ağız ve çene-yüz cerrahisinde ve periodontolojide gerçekleştirilen tedavi prosedürlerinde sıkça kullanılmakla birlikte endodonti ve ortodonti alanlarında da kullanımları söz konusudur.^{4,79}

TZF'nin ortodonti alanındaki kullanımı başlangıçta dudak damak yarıklı vakaların greft operasyonları^{146,151}, diş hareketinin kortikomi destekli hızlandırılması^{66,149,207} ve diğer cerrahi operasyonlarda^{38,80} kemik oluşumunu stimüle etmek üzerine olup, son yıllarda özellikle i-TZF'nin geliştirilmesiyle birlikte rutin ortodontik tedavilerdeki klinik kullanımıyla ilgili araştırmalar ve uygulamalar yaygınlaşmıştır. i-TZF'nin şu ana kadar ortodonti alanındaki en yaygın kullanımı çekimli vakalarda kanin distalizasyonu safhasının hızlandırılmasına yönelik^{30,64,209,210} olup, literatürde genişletme bölgesindeki etkisini inceleyen çalışmalara rastlanmamıştır.

2.3.3. Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrin (i-TZF)

Katı formdaki TZF temelli ürünlerin geniş bir endikasyon alanı olsa da klinik kullanımda sıvı formda bir biyolojik materyal ihtiyacı söz konusudur. Bu sebeple, santrifüj değerlerinde (rpm sayısı ve santrifüj süresi) yapılacak değişiklikler ile sıvı formda TZF eldesi için çalışmalar yapılmıştır.²⁰⁴ Sadece lökositleri ve trombositleri değil, aynı zamanda dolaşımdaki kök hücreleri ve endotelyal hücreleri de içerdiğine inanılmaktadır. Bu nedenle, sadece bir trombosit konsantresi değil, bir “kan konsantresi” olarak kabul edilir.^{40,142}

Eksternal antikoagülan ihtiyacını ortadan kaldırmak amacıyla alınan kan örnekleri cam tüpler yerine plastik tüplere alınmıştır. Plastik tüplerin kullanımı ve nispi santrifüj kuvveti (RCF)'nin 60 g'a düşürülmesi ile enjekte edilebilir formda TZF matriks oluşturulması sağlanmıştır. Santrifüjden sonra tüpte sarı-turuncu üst tabaka (i-TZF) ve alttaki kırmızı kan hücreleri tabakası gözlenir. i-TZF kontrollü aspirasyon ile bir enjektör yardımıyla toplanır. Toplanan i-TZF, oda sıcaklığında sıvı formunu santrifüjden sonraki 10-15 dakika boyunca korur. RCF'nin azaltılmasıyla birlikte trombosit ve lökositlerden zengin bir TZF ürünü elde edilir. i-TZF içeriğinin tüm TZF ürünleri arasında en fazla trombosit ve lökosit sayısına sahip ürün olduğu söylenmektedir.^{2,11,40} i-TZF'nin tanıtımıyla birlikte TZF'nin uygulama alanı oldukça genişlemiştir.

Oda sıcaklığında, oluşan sıvı TZF sıvı durumunu yaklaşık 15-30 dakika korur ve daha sonra fibrin pıhtısı oluşturur.²⁰⁴ Santrifüjlemenin TZF'nin bileşenleri ve biyoaktivitesi üzerindeki etkilerini anlamayı amaçlayan kapsamlı araştırmalar, sözde düşük hızlı santrifüj konseptini (LSCC) ortaya çıkarmıştır.⁴⁴ Bu kavram, TZF matrislerinin santrifüjlenmesi sırasında uygulanan nispi santrifüj kuvvetinin (RCF) azaltılmasının, ortaya çıkan TZF matrisindeki trombosit ve lökosit sayısını önemli ölçüde artırdığını belirtmektedir. Buna ek olarak, düşük RCF kullanılarak hazırlanan TZF matrisleri, yüksek RCF ile hazırlanmış matrislere göre VEGF, EGF ve PDGF gibi önemli büyüme faktörlerinin önemli ölçüde daha yüksek konsantrasyonlarını salmaktadır.^{17,44,59,204} Yapılan çalışmalarda i-TZF'den büyüme faktörlerinin salınımının 10 günden uzun bir süre devam ettiği bildirilmiştir.¹⁴² i-TZF'den devamlı olarak büyüme faktörlerinin salınmasının da hücre proliferasyonu, göçü ve farklılaşması üzerine uyarıcı etkisinin daha güçlü olduğu belirtilmiştir.

Enjekte edilebilir TZF'nin en büyük avantajı TGF- β , PDGF ve VEGF gibi büyüme faktörlerinin daha uzun süreli salınımını sağlaması, bölgesel anjiyogenezisi uyarması, kök hücrelerin bölgeye adezyonunu artırması, yara bölgesinin bağışıklık sistemini uyarması ve epitelyal mitogenezisi artırmasıdır.⁴³

Tüm bu üstün özelliklerinden sert ve doku iyileşmesinde yararlanmak adına tıp ve diş hekimliğinde TZP'nin kullanıldığı tüm alanlarda alternatif bir kan ürünü olarak kullanımı yaygınlaşmaya başlamış olan i-TZF'nin ortodonti alanında kullanımı henüz sınırlıdır. Çalışmamızda kemik oluşumuna olumlu etkisi daha önceki çalışmalarda gözlenmiş olan ve enjekte edilebilir olmasıyla klinik kullanım kolaylığı sunan bu kan materyalinin, RME tedavisi sonrası açılan sutura bölgesinde kemik oluşumunu hızlandırmak ve daha iyi kalitedeki kemiğin daha kısa sürede eldesi sayesinde olabilecek nüksün önüne geçilmesi konusunda etkileri incelenecektir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma; hızlı maksiller genişletme tedavisinde, tekrarlayan enjekte edilebilir formda trombositten zengin fibrin (i-TZF) enjeksiyonlarının, aktif genişletme tedavisinin ardından bölgedeki kemik oluşum hızına ve aktif genişletme sonrası pekiştirme dönemindeki nüks miktarına etkisini incelemeyi amaçlamaktadır. Çalışmada meydana gelen değişiklikleri üç boyutlu radyolojik görüntüleme araçları ve histolojik yöntemler ile incelemek amacıyla toplam 28 adet Wistar Albino cinsi sıçan üzerinde deneyler gerçekleştirilmiştir.

3.1. Gereç

Çalışmamızda kullanılan sıçanlar, Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Deneysel Araştırma Merkezi'nden temin edilmiş ve aynı merkezde muhafaza edilmiştir. Bu araştırma için Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alınmıştır (Toplantı tarihi:23.01.2020, Karar no:2020/23). Çalışmanın gücünün belirlenmesi amacıyla yapılan istatistiksel güç analizi sonucunda deney gruplarındaki hayvan sayısı belirlenmiştir. Çalışmada 28 adet, vücut ağırlığı 250-280 gr olan 10 haftalık genç, erkek sıçanlar kullanılmıştır. i-TZF üretimi amacıyla ise 5 adet donör sıçan kullanılmıştır.

3.1.1. Hayvan Deneyi Safhasında Kullanılan Malzemeler

- Ketamin (Ketasol %10, Richter Pharma AG, Wels, Austria)
- Ksilazin (Rompun %2, Bayer Healthcare LLC, Kansas, USA)
- 0.012” SS uzun tel (Rocky Mountain Orthodontics-RMO)
- 0.016”x0.022” SS uzun tel (RMO)
- Kesici pens (RMO)
- Portegü (RMO)
- Tweed pensi (RMO)
- Nance pensi (RMO)
- Hassas dinamometre (0-100 gr) (RMO)
- Fosforik asit (3M Espe Scotchbond Universal Etchand)

- Bond (3M Unitek Transbond Light Cure Adhesive Primer)
- Akışkan kompozit (Opal Bond Flow, Ultradent, Utah, Amerika Birleşik Devletleri)
- Steril enjektör (Beybi Co, İstanbul, Türkiye)
- Steril insülin enjektörü (18G, Beybi Co, İstanbul, Türkiye)
- Santrifüj tüpü (Fıratmed)

3.2. Yöntem

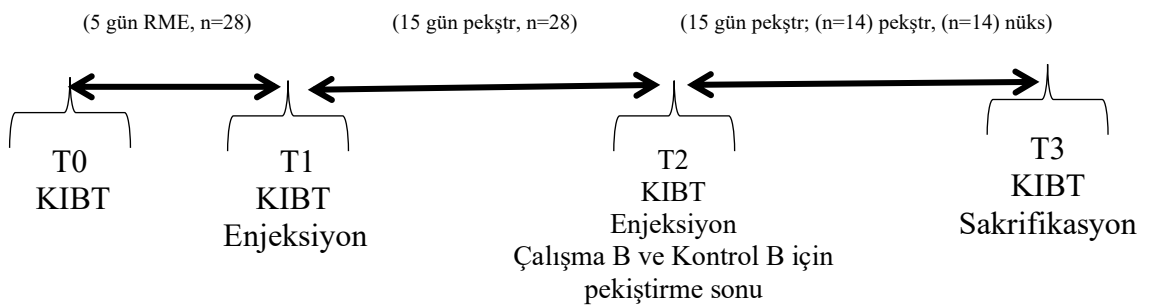
3.2.1. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deney Safhası

Çalışmamızda; 10 haftalık toplam 28 adet genç erkek, Wistar Albino cinsi sıçanda hızlı maksiller genişletme sonrasında genişleyen sutura bölgesine i-TZF uygulanmasının yeni kemik yapımına etkisini incelemek amaçlanmıştır. Bu amaçla 28 deneğin tamamında 5 gün süre ile genişletme uygulanmış, 5.günde aktif genişletme apareyi çıkarılıp pekiştirme dönemine geçilmiş ve 30 gün boyunca denekler takip edilmiştir (Toplam takip süresi 35 gün). Çalışma grubunu oluşturan (n=14) hayvanlarda genişletmenin ardından açılan sutura bölgesine lokal olarak i-TZF enjeksiyonu yapılmıştır. Kontrol grubuna ise (n=14) aynı günlerde lokal olarak serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmıştır. Enjeksiyonlar hayvanlara 5.(T1) ve 20.(T2) günlerde uygulanmıştır. 20.günde (T2) çalışma ve kontrol grupları 7'şer hayvandan oluşan iki alt gruba ayrılmıştır. Birer çalışma ve kontrol alt grubunda pekiştirme dönemi sonlandırılmış, diğer gruplarda ise pekiştirme dönemine deney sonuna kadar devam edilmiştir. 35.günde (T3) tüm denekler sakrifiye edilmiştir. T0 (başlangıç), T1 (5.gün, genişletme sonu, birinci enjeksiyon), T2 (20.gün, ikinci enjeksiyon), T3 (35.gün, çalışma sonu) zamanlarında tüm deneklerden Konik Işınlı Bilgisayarlı Tomografi görüntüleri alınmıştır (Tablo 3-1). Deney sonunda diseke edilen maksilla örnekleri Mikro-BT analizi ve sonrasında histolojik inceleme için hazırlanmıştır.

Aynı gelişim dönemindeki toplam 5 adet donör sıçandan alınan kan numunelerinden elde edilen i-TZF 5.(T1) ve 20.(T2) günlerde açılan sutura bölgesine enjekte edilmiştir.

Deney grupları	T0	T1	T2	T3
	(0.gün)	(5.gün)	(20.gün)	(35.gün)
(n=28)	KIBT	KIBT	KIBT	KIBT
		Pekiştirme başlangıcı		
Çalışma Grubu A				
(iTZF+, pekştr+)	RME	i-TZF	i-TZF	Sakrifikasyon
(n=7)				
Çalışma Grubu B				
(iTZF+, pekştr -)	RME	i-TZF	i-TZF	Sakrifikasyon
(n=7)			Pekiştirme dönemi sonlandırıldı	
Kontrol Grubu A				
(iTZF -, pekştr +)	RME	Serum fizyolojik	Serum fizyolojik	Sakrifikasyon
(n=7)				
Kontrol Grubu B				
(iTZF -, pekştr -)	RME	Serum fizyolojik	Serum fizyolojik	Sakrifikasyon
(n=7)			Pekiştirme dönemi sonlandırıldı	

Tablo 3-1: Deney Grupları ve Çalışma Programı



Şekil 3-1: İş Akışı

- Kontrol grubu A (KA): 5 gün boyunca hızlı üst çene genişletmesi yapılmış, pekiştirmenin başlangıcı olan 5. günde (T1) serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmıştır. 30 günlük pekiştirme döneminin 15. gününde (T2-başlangıçtan itibaren 20.gün), 2. serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmıştır ve pekiştirme dönemine devam edilmiştir. Deneyin 35. gününde (T3) denekler sakrifiye edilmiştir. (n=7)
- Kontrol grubu B (KB): 5 gün boyunca hızlı üst çene genişletmesi yapılmış, pekiştirmenin başlangıcı olan 5. günde (T1) serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmıştır. 30 günlük pekiştirme döneminin 15.gününde (T2), 2. serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmış ve pekiştirme dönemi sonlandırılmıştır. Deneyin 35. gününde (T3) denekler sakrifiye edilmiştir. (n=7)
- Çalışma grubu A (ÇA): 5 gün boyunca hızlı üst çene genişletmesi yapılmış, pekiştirmenin başlangıcı olan 5. günde (T1) i-TZF enjeksiyonu yapılmıştır. 30 günlük pekiştirme döneminin 15. gününde (T2), 2. i-TZF enjeksiyonu yapılmıştır ve pekiştirme dönemine devam edilmiştir. Deneyin 35. gününde (T3) denekler sakrifiye edilmiştir. (n=7)
- Çalışma grubu B (ÇB): 5 gün boyunca hızlı üst çene genişletmesi yapılmış, pekiştirmenin başlangıcı olan 5. günde (T1) İ-TZF enjeksiyonu yapılmıştır. 30 günlük pekiştirme döneminin 15. gününde (T2), 2. i-TZF enjeksiyonu yapılmış ve pekiştirme dönemi sonlandırılmıştır. Deneyin 35. gününde (T3) denekler sakrifiye edilmiştir. (n=7)

n=28	i-TZF	Uzun süreli pekiştirme
Çalışma A (ÇA) (n=7)	+	+
Çalışma B (ÇB) (n=7)	+	-
Kontrol A (KA) (n=7)	-	+
Kontrol B (KB) (n=7)	-	-

Tablo 3-2: Deney Materyali

Cinsiyet ve türler arasında ağırlık, gelişim ve metabolik aktifiveler yönünden birtakım farklılıkların mevcut olması nedeniyle standardizasyon amacıyla sadece erkek Wistar Albino sıçanlar üzerinde çalışma planlanmıştır. Deney hayvanları normal laboratuvar koşulları altında; $22\pm 2^{\circ}$ sıcaklıkta, %45-65 nisbi nem koşullarında, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamı sağlayacak şekilde ayarlanmış odada, her kafeste 7 sıçan olacak şekilde muhafaza edilmiştir. Deney hayvanları gruplarına göre kafeslere ayrılmıştır (Resim 3-1).

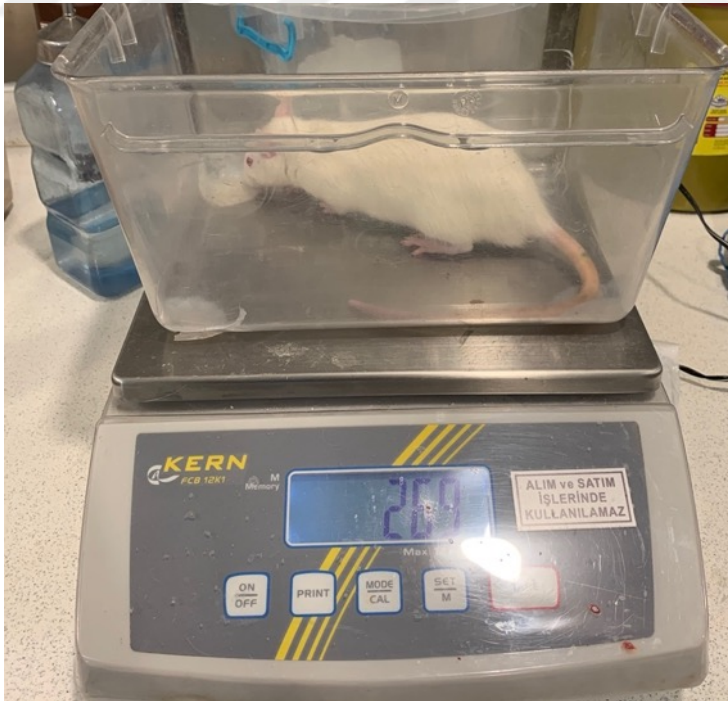
Her bir deney hayvanı, asetat kalemi ile kuyrukları işaretlenerek kimliklendirilmiş; yazılan numaraların silinme riskine karşı iki günde bir numaralar üzerlerinden geçilerek yenilenmiştir (Resim 3-2). Apareylerin zarar görmemesi için deney süresince su ile yumuşatılmış standart laboratuvar yemi ve ad libitum içme suyu ile beslenmeleri sağlanmıştır. Yem ve suları günlük olarak kontrol edilmiştir. Deneyin genel anestezi gerektiren her aşamasında (T0, T1, T2, T3) anestezi uygulanmadan önce deney hayvanlarının kilo ölçümü yapılmıştır (Resim 3-3). Sıçanlar deneyin her aşamasında (T0, T1, T2, T3); ksilazin ve ketamin intramuskuler enjeksiyonu ile sağlanan genel anestezi altına alınmıştır.



Resim 3-1: Deney Hayvanlarının laboratuvar koşulları



Resim 3-2: Deney hayvanlarının numaralandırılması



Resim 3-3: Deney hayvanlarının kilo ölçümünün yapılması

3.2.1.1. Deney Hayvanlarına Hızlı Maksiller Genişletme Apareyinin Uygulanması

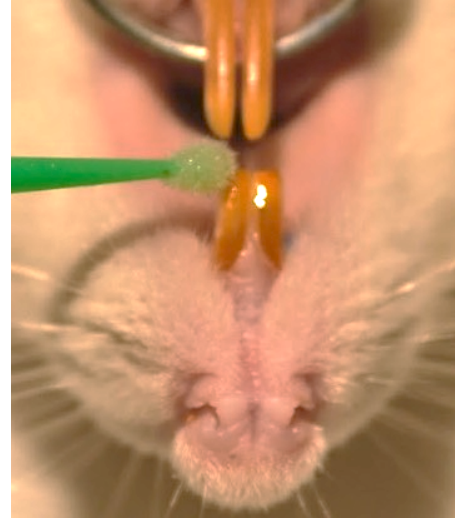
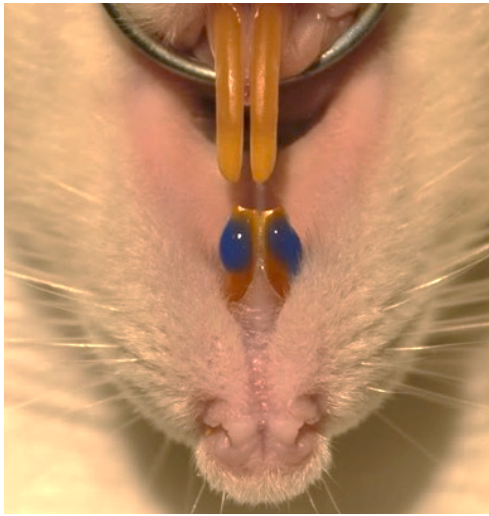
Sıçanların orofasiyal yapıları gereği maksiller genişletme modeli oluşturmak amacıyla maksiller santral dişler üzerinden uygulanacak aparey ile premaksiller suturanın açılması takip edilmiştir. Çalışmamızda donör grup hariç tüm deney hayvanlarına RME apareyi uygulanmıştır.

Premaksiller suturanın genişletilmesi için 0.012 inch çapında, paslanmaz çelik telden, helikal zemberekli bir aparey hazırlanmıştır. Aparey milimetrik kağıt üzerinde heliks çapı 2 mm, kollarının uzunluğu 10 mm, kolları arasındaki açıklık 12 mm olacak şekilde hazırlanmıştır. Aparey kesici dişlerin mesialleri arasına yerleştirildiğinde 30 g kuvvet ölçülecek şekilde hazırlanmıştır. Uygulanacak her bir apareyin kuvveti hassas dinamometre yardımı ile 3 kez ölçülmüştür.

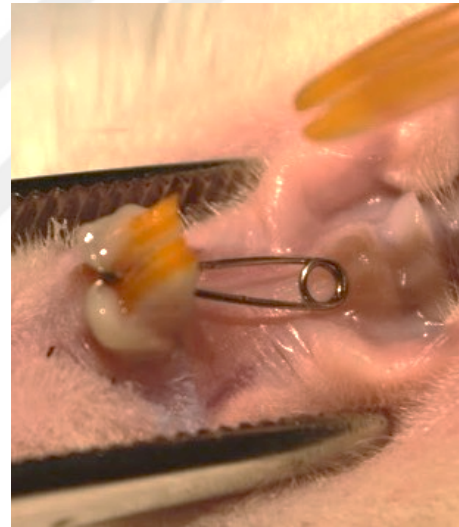
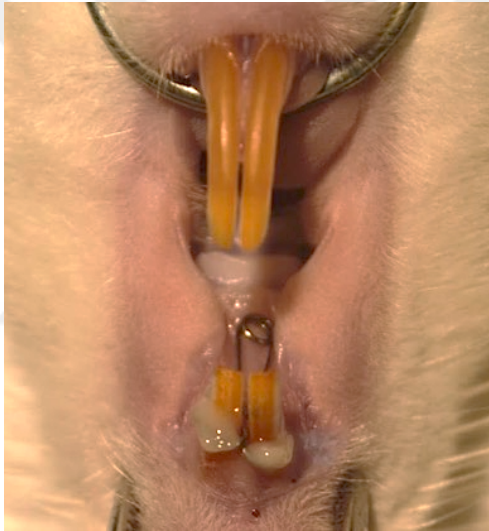
Apareyin tutuculuğunun ve stabilitesini artırmak amacıyla yapıştırılacağı yüzey üzerine %37 fosforik asit ve ardından bonding ajan uygulanmıştır (Resim 3-4). Aparey genel anestezi altındaki sıçanların maksiller kesici dişler arasına yerleştirilmiş, dişler üzerine bis-GMA esaslı kompozit rezin uygulanarak telin sivri uçları ortadan kaldırılmış ve aparey sabitlenmiştir (Resim 3-5, Resim 3-6).

5 günlük genişletme periyodundan sonra, sıçanlara uygulanan genel anestezi altında genişletme apareyleri çıkarılmış, yerine kesici dişleri ve dişler arası mesafeyi kaplayacak şekilde kompozit uygulanarak pekiştirme dönemine geçilmiştir.¹⁴⁴ Tüm deney gruplarında 15 gün pekiştirme uygulanmış, deneyin 20.günü (T2)'den itibaren Kontrol A ve Çalışma A gruplarındaki deneklerin pekiştirme dönemlerine son verilerek, denekler nüks için takip edilmiştir.

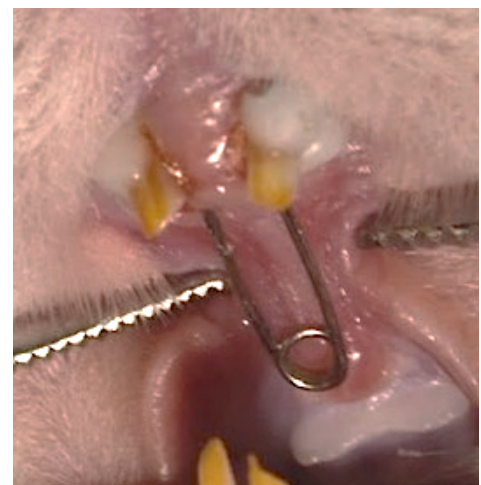
Günlük olarak genişletme ve pekiştirme apareylerinin ağız içindeki durumu kontrol edilmiştir. Genişletme döneminde herhangi bir aparey kaybı ile karşılaşılmamıştır. Pekiştirme döneminde apareyinin zarar görmüş olduğu farkedilen deneklerde aynı gün içinde tamir edilmiştir.



Resim 3-4: Sıçanların maksiller kesicilerine asit ve bond uygulaması



Resim 3-5: RME aparatının uygulanması (T0)



Resim 3-6: Genişletme sonrası (T1)

3.2.1.2. Trombositten Zengin Fibrin Eldesi ve Enjeksiyonu

Genişletme fazının bittiği ve pekiştirme döneminin başladığı 5.günde(T1) ve deneyin 20.gününde(T2) alışma grubuna i-TZF, kontrol grubuna aynı miktarda serum fizyolojik enjeksiyonu anestezi altında yapılmıştır.

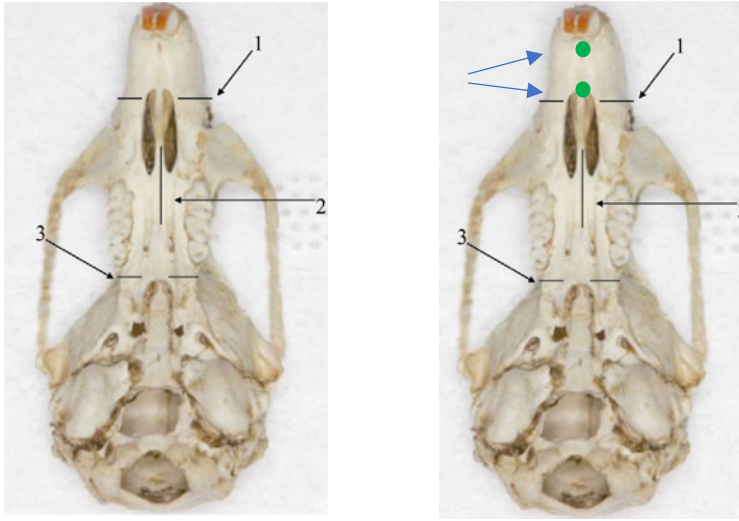
Mevcut bilgilerle yapılan hesaplamalar ile bir sıçandan alınacak kardiyak kan ile yaklaşık 1.5 ml i-TZF elde edileceği hesaplanmıştır. Deney grubundaki bir sıçana bir seferde uygulanacak i-TZF miktarı ise yaklaşık 0.2 ml'dir. Planlandığı gibi deney grubundaki 14 sayıda sıçana 2 defa i-TZF enjeksiyonu yapılabilmesi için toplam 5.6 ml i-TZF'ye ihtiyaç olduğu hesaplanmıştır. Her sıçandan yaklaşık 1.5 ml i-TZF elde edileceği dşnlerek 5 adet sıçandan oluşan donör grubu oluşturulmuştur. Her alışma gününde bir donörden elde edilen i-TZF, 7 alışma grubu hayvanına uygulanmıştır.

Donör grubundaki sıçanlardan alınan kardiyak kan numuneleri (Resim 3-8), kimyasal ilavesiz boş plastik tüpler (Resim 3-8) içine konularak 2 dk, 3300 rpm¹⁴ hızında santrifüj edilmiştir. Hazırlanan i-TZF insülin enjektrlerine toplanarak beklenmeden uygulanmıştır. Santrifüj edilen numuneden 1.4-1.5 ml miktarında i-TZF elde edilmiştir. Elde edilen i-TZF insülin enjektörü ile toplanarak anestezi altındaki sıçanlara beklenmeden uygulanmıştır. Çalışma gruplarındaki her deney hayvanına 0.2 ml miktarında yapılan i-TZF enjeksiyonu, genişleyen premaksiller sutura bölgesine anteriordan posteriora doğru 2 farklı yere (0.1 ml x 2) yapılmıştır. Birinci enjeksiyon anteriorda kesici dişlerin lingual hizasına, ikinci enjeksiyon ise 7-8 mm kadar posteriora, palatinal rugaların başladığı bölgeye uygulanmıştır. Enjeksiyon yapıldığında sıvı formdaki i-TZF'nin enjeksiyon noktasından geri çıkışının olmaması için iğne ucu mukozadan çıkarılmadan önce birkaç saniye beklenmiştir. (Resim 3-7, Resim 3-9).

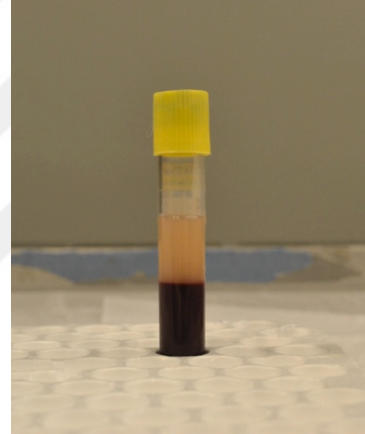
Çalışma grubuna 5.ve 20. günlerde enjekte edilebilir formda i-TZF enjeksiyonu yapılırken, kontrol grubuna aynı günlerde serum fizyolojik enjeksiyonu yapılarak tüm gruplarda enjeksiyonun oluşturduğu stres ve travma koşulları eşitlenmiştir.

3.2.1.3. Deneyin Sonlandırılması

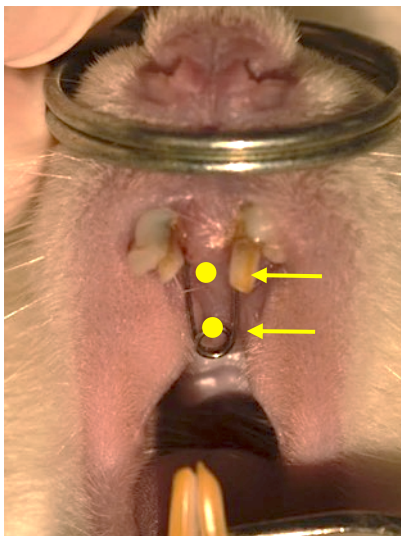
Deneyin 35. gününde çalışma ve kontrol grubundaki sıçanlar yüksek doz anestezik madde ile sakrifiye edilmiştir. Sakrifikasyondan sonra maksillaları diseke edilmiş ve tamponlanmış formalin solüsyonda fiksede edilmiştir.



Resim 3-7: Sıçan maksillasının anatomik yapısı ve enjeksiyon noktaları⁶⁸
 1: Premaksiller sutura, 2: midpalatal sutura, 3: maksillapalatinal sutura



Resim 3-8: Donör sıçandan intrakardiyak kan alınması ve i-TZF ürünü



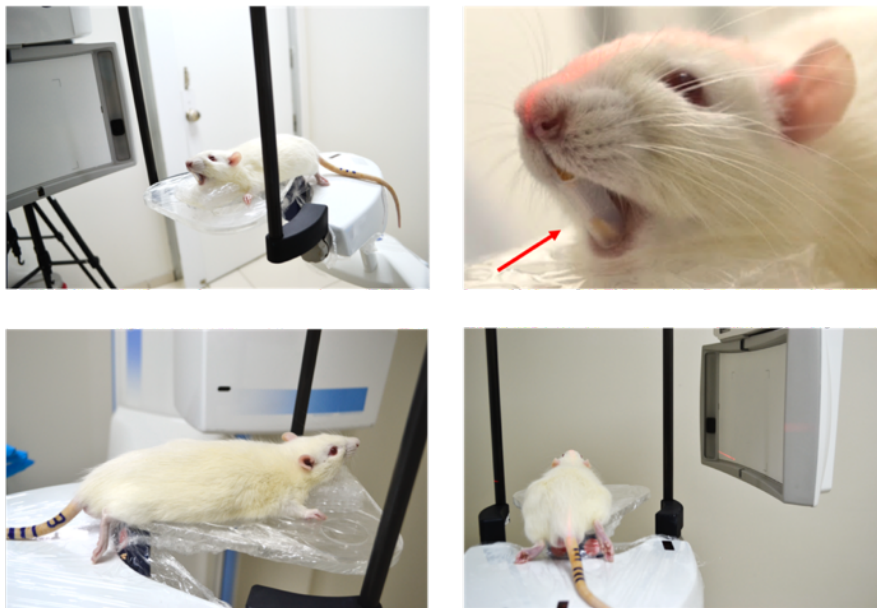
Resim 3-9: i-TZF enjeksiyonu

3.2.2. Radyolojik İncelemeler

3.2.2.1. Konik Işınlı Bilgisayarlı Tomografi

Genişletme apareyi uygulanan premaksiller sutura bölgesindeki açılmanın değerlendirilebilmesi, genişletme miktarının ve nüksün milimetrik olarak incelenebilmesi için konik ışınli bilgisayarlı tomografi (KIBT) görüntüleri her denekten aynı yöntemle ve aynı cihaz ile alınmıştır. Çalışmamızda Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Oral Diagnoz ve Radyoloji Anabilim Dalı'ndaki KIBT (Planmeca Promax 3D Mid, Planmeca OY, Helsinki, Finlandiya) cihazı kullanılmıştır (Resim 3-13). Üç boyutlu KIBT görüntüleri, sıçanlar genel anestezi altındayken tedavi öncesinde (T0), aktif genişletme döneminin sonunda pekiştirme apareyleri uygulanmadan önce (T1), pekiştirme döneminin ortasında (T2) ve pekiştirme döneminin ve deneyin sonunda (T3) alınmıştır.

Görüntülerin alınması sırasında her denek standardize edilmiş bir pozisyonda gantriye yerleştirilmiştir. Bu pozisyon belirlenirken Kirschneck¹¹⁴ ve arkadaşlarının çalışması rehber alınmış, kullandığımız tomografi cihazına göre pozisyon modifiye edilmiştir. Üst ve alt dişlerin radyolojik görüntüde süperpoze olmasını engellemek amacıyla deneklerin üst ve alt dişleri arasında şeffaf plastik tüpler yerleştirilmiştir (Resim 3-10). Her denekten alınan görüntü esnasında cihazın ayarları 90 kV, 10 mA, 18 saniye olacak şekilde ayarlanarak elde edilmiştir (Resim 3-11).

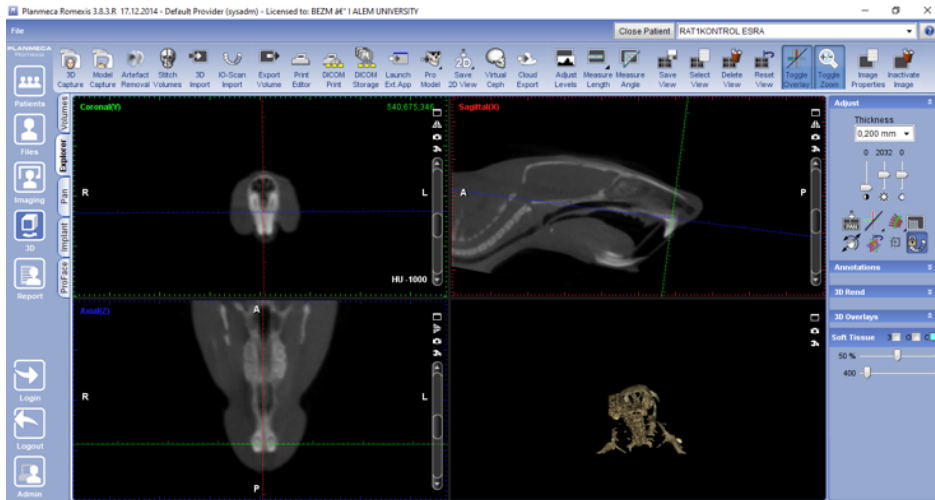


Resim 3-10: Deneklerin gantride konumlandırılması

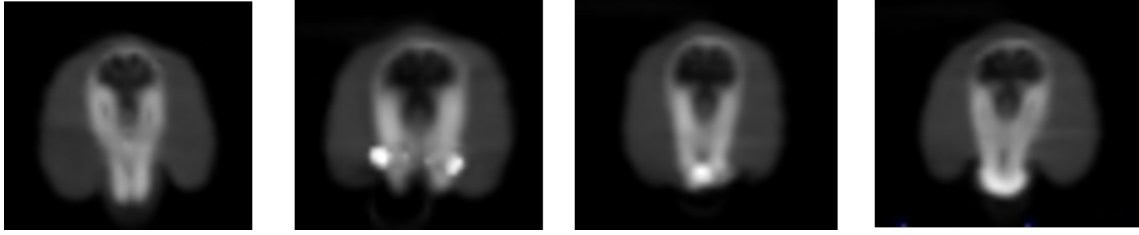
Alınan görüntüler Planmeca Romexis Viewer programına (Planmeca OY, Helsinki, Finlandiya) aktarılmış ve sutural bölgedeki ayrılmanın miktarı koronal kesitler üzerinden ImageJ yazılım programı (Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA) kullanılarak mm cinsinden ölçülmüştür (Resim 3-12). Ölçümler maksiller kemiğin bütünlüğünün görüldüğü ilk aksiyal kesite denk gelen koronal görüntü üzerinde dişlerin mesiogingival seviyesinden yapılmıştır (Resim 3-13). Image J yazılımında açılan KIBT görüntüleri %1600 oranında büyütülmüş, piksel/mm kalibrasyonu görüntü üzerinde mevcut cetvel ile yapılmıştır (Resim 3-14). Kalibrasyonu yapılan büyütülmüş görüntüler üzerinde radyopak ve radyolusens alanların ayrıldığı pikseller hizasından milimetrik ölçümler gerçekleştirilmiştir (Resim 3-15). Bölgedeki sutural mesafenin T0, T1, T2, T3 günlerinde yapılan ölçümleri üzerinden meydana gelen nüks oranını hesaplayabilmek amacıyla şu formül¹⁵³ kullanılmıştır: $(T3 - T1) / (T1 - T0) \times 100$.



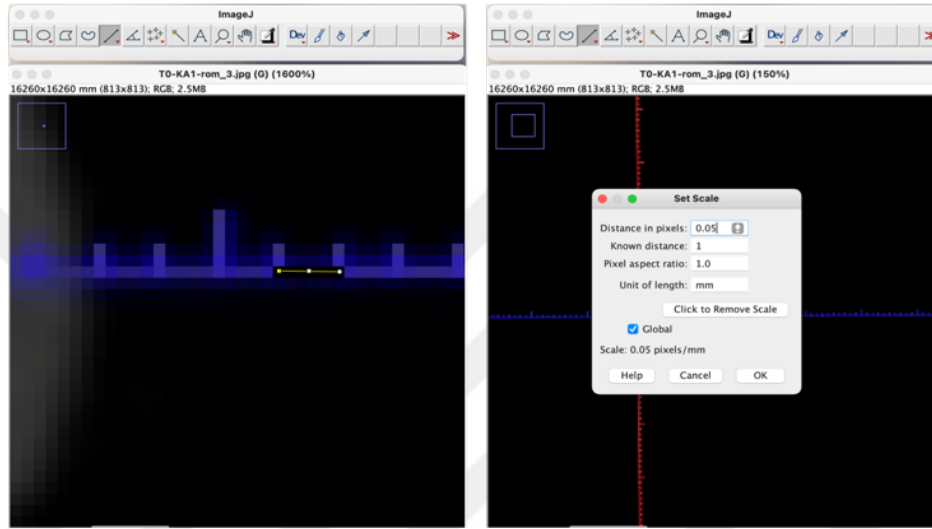
Resim 3-11: Kullanılan KIBT parametreleri



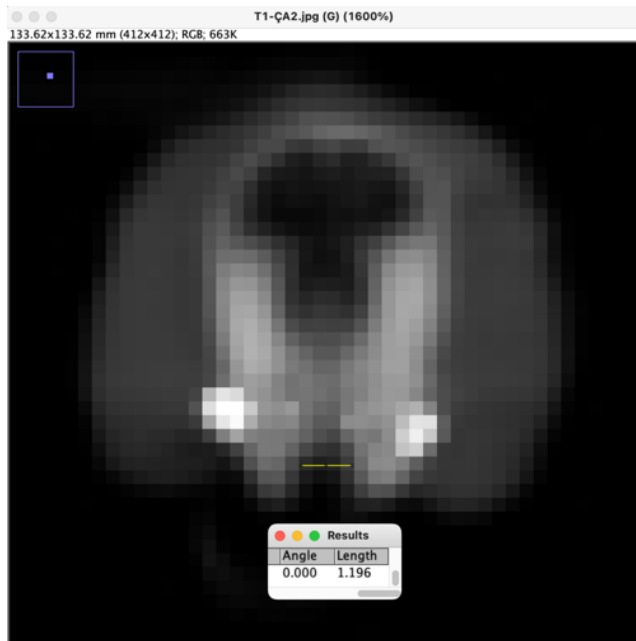
Resim 3-12: Planmeca Romexis Viewer Programı



Resim 3-13: KIBT'de Ölçümlerin Yapıldığı Koronal Kesit Görüntüleri



Resim 3-14: KIBT Ölçümlerinin Yapıldığı ImageJ Programında Yapılan Kalibrasyon



Resim 3-15: KIBT Ölçümlerinin ImageJ Programında Yapılması

3.2.2.2. Mikro Bilgisayarlı Tomografi (Mikro BT) Analizi

Mikro bilgisayarlı tomografi görüntüleri rapid maksiller ekspansiyon ile premaksiller suturada meydana gelen yapısal değişimleri 3 boyutlu olarak incelemek amacıyla kullanılmıştır.

Diseke edilen üst çene materyalleri formalin solüsyonda fikse edildikten sonra, İstanbul Üniversitesi 3 Boyutlu Tıbbi ve Endüstriyel Tasarım Laboratuvarı'nda (TETLAB) bulunan yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografi cihazında (Skyscan 1174-Bruker MicroCT, Kontich, Belgium); görüntü çözünürlüğü 20 µm olan, 50 kV ve 800-µA x-ray kaynağında taranmıştır (Exposure (ms)- 4500, Rotation Step (deg)-0.200, Filter- 0.25 Al filter, Image pixel size (um)- 17.20) (Resim 3-16). Tarama sırasında maksilla palatal düzlemi, transaksiyal düzleme dik konumlandırılmıştır. Ham görüntülerin rekonstrüksiyonu ilgili yazılım (nRecon yazılımı) kullanılarak yapılmış ve BT analiz yazılımında incelenmiştir.

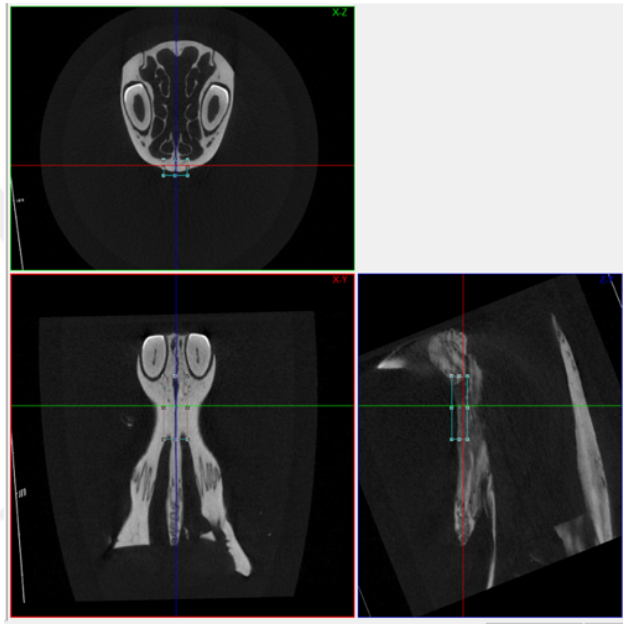
Elde edilen maksilla görüntüleri üzerinde değerlendirilen alan (region of interest-ROI) 240 mm x 0.90 mm x 0.60 mm'lik bir alanı kapsamaktadır (Resim 3-17). Elde edilen mikro-BT görüntülerinin 3 boyutlu rekonstrüksiyonu ve iki boyutlu koronal ve horizontal kesitlerinde sutural ayrılmanın iki palatal kemik arasındaki mesafe ölçümleri ve sutural bölgede yeni oluşan kemik miktarının yoğunluk ölçümleri yapılmıştır. İki boyutlu ölçümlerde, horizontal düzlemde genişletilmiş suturanın genişliği (palatal kemikler arasındaki mesafe) üç pozisyonda ölçülmüştür:

- S1, maksiller kesici dişlerin lingual alveolar kemik kenarı;
- S2, S1 ve S3'ün orta noktası;
- S3, palatinal foramenlerinin ön kenarları.

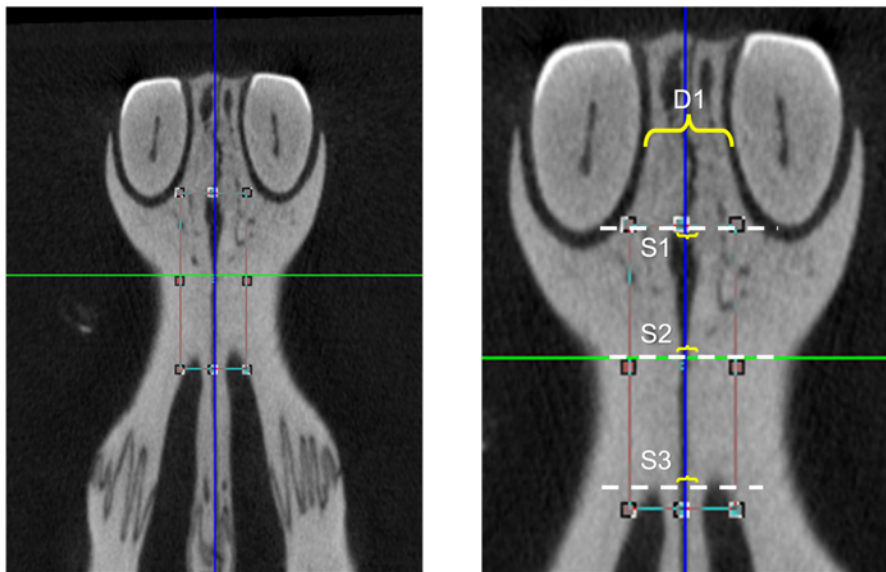
Ölçülen sutural değerlerin aritmetik ortalaması alınarak, sutural genişlik ölçümleri değerlendirilmiştir. Ek olarak, midpalatal suturanın genişletilmiş genişliğini ve diş hareketini karşılaştırmak için maksiller kesici dişler arasındaki mesafe (D1) aynı yöntemle ölçülmüştür (Resim 3-18).¹⁸⁸



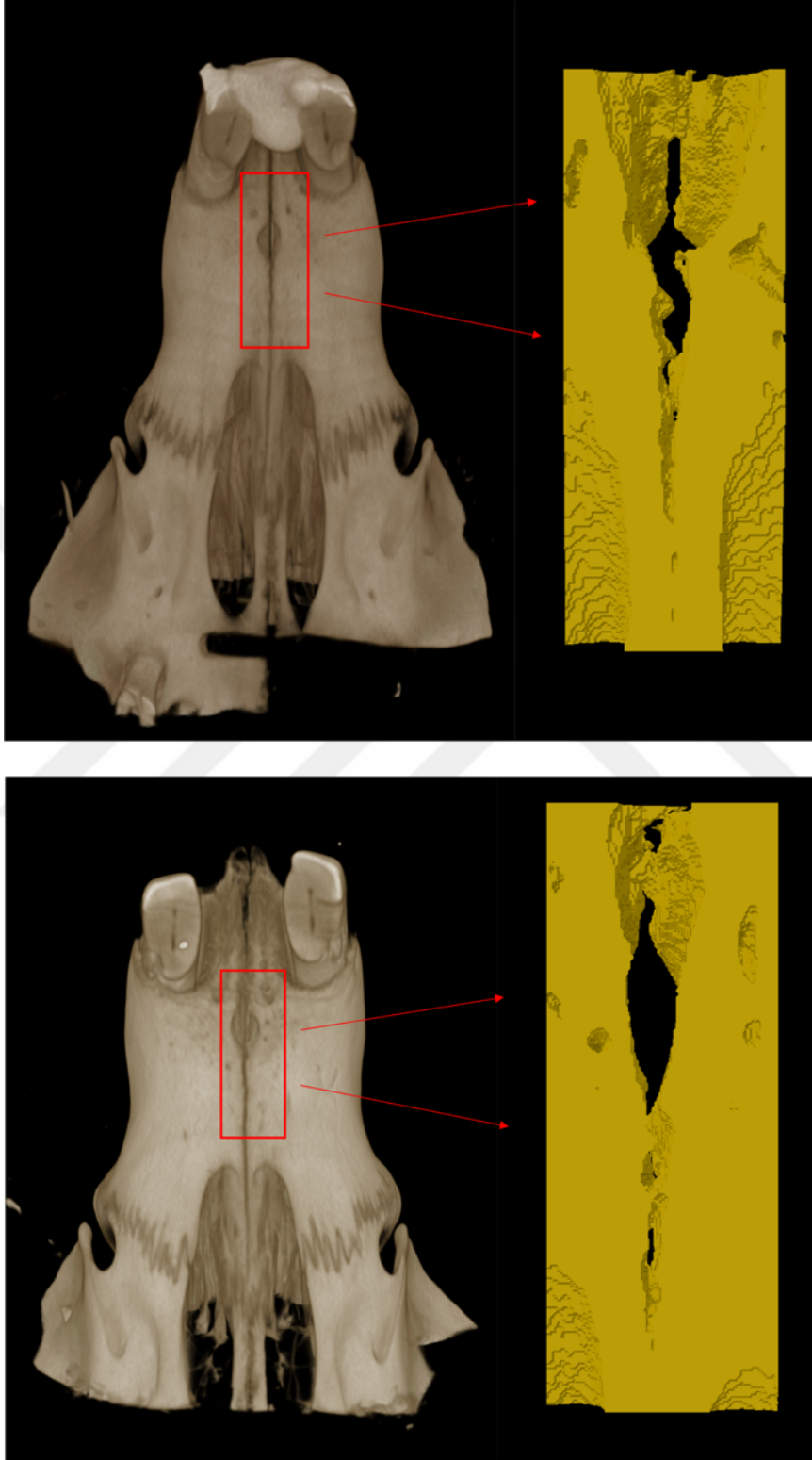
Resim 3-16: Mikro BT cihazı



Resim 3-17: Kemik Yoğunluğu Ölçümünün Yapıldığı Alan-ROI



Resim 3-18: Horizontal düzlemde, iki boyutlu sutural mesafe ölçümleri¹⁸⁸



Resim 3-19: Mikro BT görüntüleri (T3)

3.2.3. Histolojik İncelemeler

İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Bilim Dalı Laboratuvarı'nda hazırlanan histolojik preparatlar Prof. Dr. Necat Vakur Olgaç tarafından incelenmiş ve değerlendirilmiştir.

Mikro-BT görüntülerinin elde edilmesinin ardından üst çene materyalleri 1 hafta süreyle formalin solüsyonda fikse edilmiştir. Fiksasyonun ardından yumuşak dokular diseksiyonla uzaklaştırıldıktan sonra %10 formik asit ve %20 sodyum sitrat solüsyonlarından birer ölçek alınarak hazırlanan solüsyonda dekalsifiye edilmiştir. Dekalsifikasyon işleminin ardından maksillanın anterior bölgesinden, sutura palatina media düzeyinden geçen horizontal kesitler alınmış, kesitler rutin doku takibinden geçirilmiştir. Bu işlemler sonrasında hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 3 mikron kalınlığındaki kesitler hematoxilen & eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda incelenmiştir (Olympus Bx 60, Tokyo-JAPONYA). Kesitlerden çekilen dijital fotoğraflar üzerinden Olympus AnalySIS 5 görüntü analiz programı kullanılarak ölçümler yapılmış ve sutura bölgesindeki genişlik 3 ayrı bölgeden yapılan ölçümlerin ortalaması alınarak hesaplanmıştır. İnceleme sırasında suturalar arası açıklık, yeni oluşan kemik genişliğinin mesafeleri MikroBT analizinde kullanılan referans noktaları kullanılarak ölçülmüştür.

3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizler SPSS versiyon 25.0 programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu histogram grafikleri ve Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Tanımlayıcı analizler sunulurken ortalama, standart sapma, ortanca, IQR değerler kullanılmıştır. Verilerin normal dağılım göstermediği durumlarda 2'li gruplar Independent Sample T testi ile 2'den fazla gruplar ise One Way Anova testi ile değerlendirilmiştir. Ölçülen değerlerdeki değişim gruplar arasında Tekrarlayan Ölçümler Analizi ile incelenmiştir. Grup içi değişime Friedman ve Wilcoxon Testleri ile bakılmıştır. P değerinin 0.05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Yapılan klinik değerlendirmede, kullanılan genişletme apareyinin başarılı olduğu ve apareyin hayvanlar tarafından iyi tolere edildiği gözlenmiştir. Deney safhası boyunca denekler anestezi gereken her safhada tartılmış ve bu ağırlık ölçümlerine göre deneklerde kilo kaybı gözlenmemiş, aksine büyüme ve gelişimle beraber beklenen bir kilo artışı gözlenmiştir.

4.2. Radyolojik Değerlendirmeler

4.2.1. Sutural Genişliğin ve Nüks Oranının KIBT Bulgularına Göre Değerlendirilmesi

KIBT görüntülerinde ölçülen değerlerdeki değişim, grup içinde ve gruplar arasında karşılaştırılmıştır. **Grup içinde** sutural genişleme miktarının değişimine Friedman testi ile bakıldığında bütün gruplarda T0'a göre T3'te ölçülen değerlerde istatistiksel anlamlı artış olmuştur. Bütün gruplarda T1'den T3'e ve T2'den T3'e istatistiksel anlamlı azalma olmuştur (Tablo 4-1, Tablo 4-2, Şekil 4-1).

Ölçülen değerlerdeki değişim gruplar arasında Tekrarlayan Ölçümler Analizi ile karşılaştırıldığında KIBT değerlerindeki değişim bakımından anlamlı fark olduğu görülsede yapılan posthoc analizde anlamlı ilişki bulunmamıştır. Tüm gruplar deney süresi boyunca ölçüm yapılan farklı zamanlarda hepsi birlikte aynı yönde değişiklik göstermektedir (Tablo 4-1, Şekil 4-1).

	ÇA	ÇB	KA	KB	p ¹
	Ort±s.s.	Ort±s.s.	Ort±s.s.	Ort±s.s.	
T0	0,36±,05	0,48±,14	0,49±,08	0,37±,05	
T1	1,11±,30	1,08±,06	1,07±,10	1,01±,11	*
T2	0,98±,13	0,99±,08	0,94±,13	0,91±,15	
T3	0,9±,09	0,79±,13	0,84±,13	0,61±,17	
p ²	***	***	***	***	

p¹:Tekrarlayan Ölçümler Analizi, p²:Friedman Testi (p¹<0,05, p²<0,001)
(ÇA: Çalışma A, ÇB: Çalışma B, KA: Kontrol A, KB: Kontrol B)

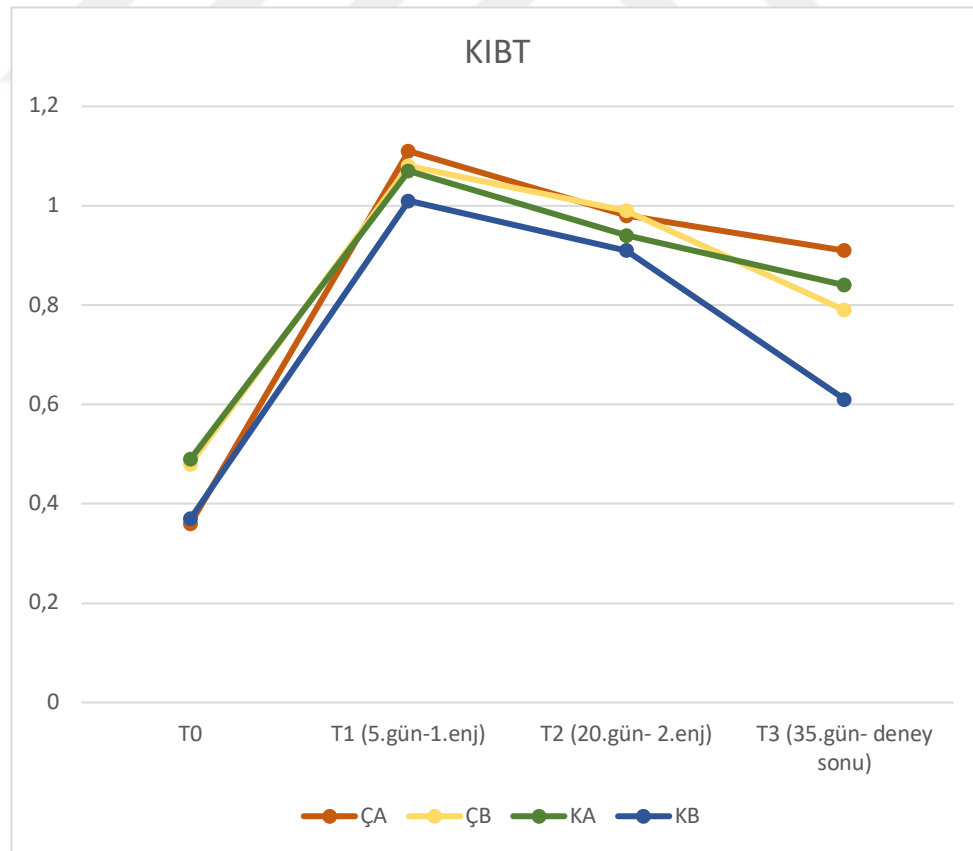
Tablo 4-1: Dişler Arası Mesafede Meydana Gelen Değişimin KIBT Bulgularına Göre Grup İçi ve Gruplar Arası Değerlendirilmesi

KIBT	T0	T1	T2	T3	T0-T1	T0-T2	T0-T3	T1-T2	T1-T3	T2-T3
	Ort±s.s.				p					
ÇA	0,36±,05	1,11±,30	0,98±,13	0,91±,11	*	*	*		*	*
ÇB	0,48±,14	1,08±,06	0,99±,08	0,77±,14	*	*	*	*	*	*
KA	0,49±,08	1,07±,10	0,94±,13	0,85±,12	*	*	*	*	*	*
KB	0,37±,05	1,01±,11	0,91±,15	0,61±,17	*	*	*		*	*

Wilcoxon testi, p<0,05 (ÇA: Çalışma A, ÇB: Çalışma B, KA: Kontrol A, KB: Kontrol B)

Tablo 4-2: Dişler Arası Mesafede Meydana Gelen Değişikliklerin KIBT Bulgularına Göre Farklı Zaman Aralıklarında İncelenmesi

Dişler arası mesafede meydana gelen değişikliklerin farklı zamanlardaki değerlerinin Wilcoxon testi ile yapılan **grup içi karşılaştırılmasında** ÇA ve KB gruplarının T1-T2 zaman aralığı değerleri dışında bütün gruplarda tüm zaman aralıklarında istatistiksel anlamlı fark gözlenmiştir (Tablo 4-2, Şekil 4-1).



Şekil 4-1: Dişler Arası Mesafenin KIBT Bulgularına Göre Değerlendirilmesi (mm)

Grup içi değerlere bakıldığında T0 zamanındaki ortalama genişlik değeri en yüksek grup 0,49 mm ile KA grubudur. ÇB grubunun T0 zamanındaki ortalama genişlik değeri 0,48 mm, ÇA grubunun 0,36 mm, KB grubunun ise 0,37 mm'dir. Genişletme sonu, pekiştirme başlangıcı T1 zamanındaki ortalama genişlik değeri en yüksek grup ise 1,11 mm ile ÇA grubudur. T1 zamanındaki diğer ortalama değerlere bakıldığında ÇB grubunun 1,08 mm, KA grubunun 1,07 mm, KB grubunun 1,01 mm'dir. Tüm gruplarda T0'dan T1'e dişler arası mesafede artış olmuştur ve bu artışlar tüm gruplar için istatistiksel anlamlı bulunmuştur (T0-T1). T2 zamanındaki ortalama değerlere bakıldığında ÇB grubunun 0,99 mm, ÇA grubunun 0,98 mm, KA grubunun 0,94 mm, KB grubunun ise 0,91 mm'dir. Tüm gruplarda T1'den T2'ye ortalama değerlerde azalma gözlenmiştir. Bu azalma ÇA ve KB gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (T1-T2). Pekiştirme dönemine T2 zamanı itibariyle son verilen ÇB ve KB gruplarının T3 zamanı ölçümlerindeki grup ortalama değerleri ÇB grubunun 0,79 mm, KB grubunun ise 0,61 mm'dir. Pekiştirmeye deney sonu T3 zamanına kadar devam edilen ÇA ve KA gruplarının T3 zamanı ölçümleri ise ÇA grubunun 0,91 mm, KA grubunun ise 0,84 mm'dir. T2'den T3'e dişler arası mesafede azalma tüm gruplarda devam etmiştir. Pekiştirme dönemine T2'de son verilen ÇB ve KB gruplarında bu azalmanın istatistiksel anlamlı olarak daha fazla olduğu gözlenmiştir (Tablo 4-2, Şekil 4-1).

Gruplar arası karşılaştırmada T0'da ve T3'te istatistiksel anlamlı fark görülmüştür (One Way Anova testi). Ayrıntılı incelemede bu farkların T0'da ÇA-ÇB, ÇA-KA ve KA-KB grupları arasında ve T3'te ÇA-KB, ÇB-KB ve KA-KB arasında olduğu bulunmuştur (Tablo 4-3).

Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda (Independent Sample T testi) ÇA grubunun T0 ortalama değeri ($0,36 \pm 0,05$ mm) ÇB ($0,48 \pm 0,14$ mm) ve KA gruplarına ($0,49 \pm 0,08$ mm) göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktür. KA grubunun T0 değeri ($0,49 \pm 0,08$ mm) ise KB grubuna ($0,37 \pm 0,05$ mm) göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. T0 ortalama değerlerinin diğer ikili karşılaştırmalarında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır. T1 ve T2 zamanlarında gruplar arası karşılaştırmada istatistiksel anlamlı fark gözlenmemiştir. Grupların T3 zamanındaki değerlerine gruplar arası ikili karşılaştırmalarla bakıldığında ise; ÇA grubunun T3 değeri ($0,9 \pm 0,09$ mm), KB grubuna ($0,61 \pm 0,17$ mm) göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. ÇB grubunun T3 değeri ($0,79 \pm 0,13$ mm) KB grubuna ($0,61 \pm 0,17$ mm) göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. KA grubunun T3 değeri ($0,84 \pm 0,13$ mm) KB

grubuna ($0,61 \pm 0,17$ mm) göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. (Tablo 4-3, Şekil 4-1).

	ÇA	ÇB	KA	KB	p	ÇA-ÇB p ¹	ÇA-KA p ²	ÇA-KB p ³	ÇB-KA p ⁴	ÇB-KB p ⁵	KA-KB p ⁶
	Ort±s.s.	Ort±s.s.	Ort±s.s.	Ort±s.s.							
T0 (mm)	0,36±,05	0,48±,14	0,49±,08	0,37±,05	**	*	**				*
T1 (mm)	1,11±,30	1,08±,06	1,07±,10	1,01±,11							
T2 (mm)	0,98±,13	0,99±,08	0,94±,13	0,91±,15							
T3 (mm)	0,9±,09	0,79±,13	0,84±,13	0,61±,17	**			**		*	*

p¹:ÇA-ÇB, p²:ÇA-KA, p³:ÇA-KB, p⁴:ÇB-KA, p⁵:ÇB-KB, p⁶:KA-KB (Independent Sample T Testi), p:One Way Anova Testi, ***<0,001, ** <0,005, * <0,05
(ÇA: Çalışma A, ÇB: Çalışma B, KA: Kontrol A, KB: Kontrol B)

Tablo 4-3: Dişler Arası Mesafede Meydana Gelen Değişikliklerin KIBT Bulgularına Göre Gruplar Arasında İncelenmesi

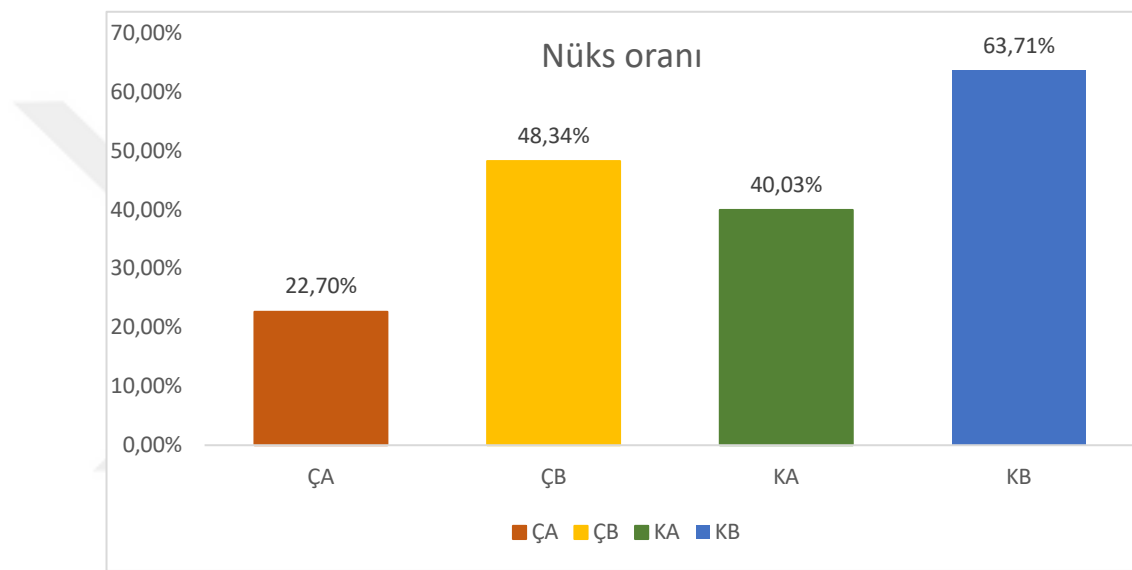
Deney gruplarının nüks oranlarına bakıldığında; pekiştirme dönemi deney sonuna kadar devam ettirilen ve i-TZF uygulanan ÇA grubunda $22,70 \pm 21,74$ ile en düşük nüks oranı gözlenmiştir. Pekiştirme dönemine deney sonuna kadar devam edilen KA grubunda ise nüks oranı $40,03 \pm 17,35$ 'dir. i-TZF uygulanan ve pekiştirme dönemine T2 zamanında son verilen ÇB grubunun nüks oranı $48,34 \pm 19,92$, i-TZF uygulanmayan ve pekiştirme dönemine T2'de son verilen KB grubunda ise nüks oranı $63,71 \pm 24,00$ olarak gözlenmiştir (Tablo 4-4, Şekil 4-2).

Gruplar arası nüks oranı karşılaştırıldığında (One Way Anova testi) ÇA grubu ($22,70 \pm 21,74$) tüm gruplar arasında istatistiksel anlamlı olarak en düşük nüks oranına sahiptir. Yapılan **gruplar arası ikili karşılaştırmalarda** (Independent Sample T testi) ise ÇA grubunun nüks oranı ($22,70 \pm 21,74$), ÇB ($48,34 \pm 19,92$) ve KB ($63,71 \pm 24,00$) gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. KA grubunun nüks oranı değeri ($40,03 \pm 17,35$) ise KB grubuna ($63,71 \pm 24,00$) göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. ÇB ($48,34 \pm 19,92$) ve KB ($63,71 \pm 24,00$) grubunun nüks oranları arasında ortalama değerler arasında farklılık gözlenirse de bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir (Tablo 4-4, Şekil 4-2).

	ÇA	ÇB	KA	KB	p	ÇA-ÇB p ¹	ÇA-KA p ²	ÇA-KB p ³	ÇB-KA p ⁴	ÇB-KB p ⁵	KA-KB p ⁶
	Ort±s.s.	Ort±s.s.	Ort±s.s.	Ort±s.s.							
Nüks Oranı %	22,70±21,74	48,34±19,92	40,03±17,35	63,71±24,00	**	*		**			*

p¹:ÇA-ÇB, p²:ÇA-KA, p³:ÇA-KB, p⁴:ÇB-KA, p⁵:ÇB-KB, p⁶:KA-KB (Independent Sample T Testi), p:One Way Anova Testi, ***<0,001, ** <0,005, * <0,05
(ÇA: Çalışma A, ÇB: Çalışma B, KA: Kontrol A, KB: Kontrol B)

Tablo 4-4: Nüks Oranının KIBT Bulgularına Göre Gruplar Arasında İncelenmesi



Şekil 4-2: Nüks Oranının KIBT Bulgularına Göre Değerlendirilmesi

4.2.2. Kemik Mineral Yoğunluğunun ve Sutural Genişliğin Mikro BT Bulgularına Göre Değerlendirilmesi

Mikro BT değerlendirmelerinde, Kemik Mineral Yoğunluğu (Bone Mineral Density-BMD) ve Sutural Genişlik Ölçümü değerleri gruplar arasında ve grupların ikili karşılaştırılması ile değerlendirilmiştir.

Kemik mineral yoğunluğu (BMD) değerlerinin ortalaması ÇA grubunda $0,77 \pm 0,10$ g/cm³, ÇB grubunda $0,84 \pm 0,15$ g/cm³, KA grubunda $0,59 \pm 0,06$ g/cm³, KB grubunda ise $0,59 \pm 0,04$ g/cm³ olarak hesaplanmıştır. BMD değeri ortalaması istatistiksel anlamlı olarak en yüksek grup ÇB grubudur ($p < 0,001$).

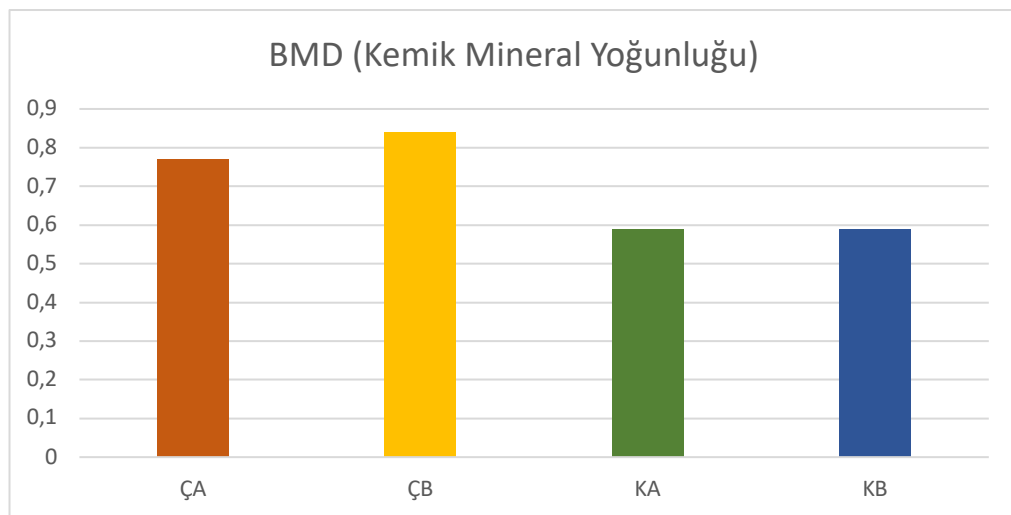
Değerlerin **gruplar arası karşılaştırılmasında** (One Way Anova testi) i-TZF enjeksiyonu yapılan ÇA ($0,77 \pm 0,10$ g/cm³) ve ÇB ($0,84 \pm 0,15$ g/cm³) gruplarının BMD değeri, i-TZF enjeksiyonu yapılmayan KA ($0,59 \pm 0,06$ g/cm³) ve KB ($0,59 \pm 0,04$ g/cm³) gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksektir. ÇB grubunun ortalama BMD

değeri gruplar arasındaki en yüksek değerdir. Grupların **ikili karşılaştırılmasında** (Independent Sample T testi), ÇB ($0,84 \pm 0,15 \text{ g/cm}^3$) ve ÇA ($0,77 \pm 0,10 \text{ g/cm}^3$) grupları arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır. ÇA ($0,77 \pm 0,10 \text{ g/cm}^3$) grubunun KA ($0,59 \pm 0,06 \text{ g/cm}^3$) ve KB ($0,59 \pm 0,04 \text{ g/cm}^3$) grubuyla yapılan ikili karşılaştırmasında, ÇA grubunun BMD ortalaması istatistiksel anlamlı olarak daha yüksektir. ÇB ($0,84 \pm 0,15 \text{ g/cm}^3$) grubunun KA ($0,59 \pm 0,06 \text{ g/cm}^3$) ve KB ($0,59 \pm 0,04 \text{ g/cm}^3$) gruplarıyla yapılan iki karşılaştırmasında, ÇB grubunun BMD ortalaması istatistiksel anlamlı olarak daha yüksektir. KA ($0,59 \pm 0,06 \text{ g/cm}^3$) ve KB ($0,59 \pm 0,04 \text{ g/cm}^3$) gruplarının ikili karşılaştırmasında ise BMD değerleri ortalamalarında istatistiksel anlamlı fark yoktur (Tablo 4-5, Şekil 4-3).

ÇA	ÇB	KA	KB	p	ÇA-ÇB p ¹	ÇA-KA p ²	ÇA-KB p ³	ÇB-KA p ⁴	ÇB-KB p ⁵	KA-KB p ⁶
Ort±s.s.	Ort±s.s.	Ort±s.s.	Ort±s.s.							
BMD 0,77±,10	0,84±,15	0,59±,06	0,59±,04	***		**	**	**	**	

p¹:ÇA-ÇB, p²:ÇA-KA, p³:ÇA-KB, p⁴:ÇB-KA, p⁵:ÇB-KB, p⁶:KA-KB (Independent Sample T Testi), p:One Way Anova Testi, ***<0,001, ** <0,005, * <0,05
(ÇA: Çalışma A, ÇB: Çalışma B, KA: Kontrol A, KB: Kontrol B)

Tablo 4-5: Kemik Mineral Yoğunluğunun Mikro BT Bulgularına Göre Değerlendirilmesi (T3)



Şekil 4-3: Kemik Mineral Yoğunluğunun Mikro BT Bulgularına Göre Değerlendirilmesi (T3)

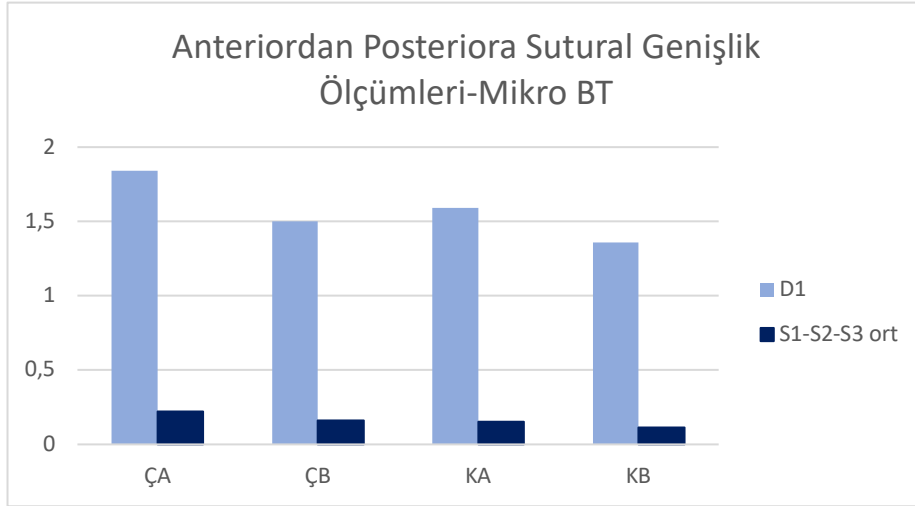
Sutural genişlik ölçümü değerleri **gruplar arasında** (One Way Anova testi) karşılaştırılmıştır. Kesici dişler arası mesafe ölçümü olan D1'in ortalama değerleri; ÇA grubunda $1,84 \pm 0,33$ mm, ÇB grubunda $1,5 \pm 0,12$ mm, KA grubunda $1,59 \pm 0,25$ mm, KB grubunda ise $1,36 \pm 0,29$ mm olarak ölçülmüştür. Sutural genişlik ölçümü S1, S2, S3 noktalarından ölçülen değerlerin ortalaması olarak hesaplanmıştır. Bu ortalama ÇA grubunda $0,22 \pm 0,27$ mm, ÇB grubunda $0,16 \pm 0,02$ mm, KA grubunda $0,15 \pm 0,02$ mm, KB grubunda ise $0,11 \pm 0,01$ mm'dir (Tablo 4-6, Şekil 4-4).

Ölçülen değerlerin **gruplar arası ikili karşılaştırmasında** (Independent Sample T testi) D1 değeri ölçümlerinde ÇA ($1,84 \pm 0,33$ mm) grubu değeri, KB ($1,36 \pm 0,29$ mm) grubu değerine göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulunmuş olup, diğer gruplar arası ikili karşılaştırmalarda anlamlı fark yoktur. Sutural mesafe ölçümü ortalaması değerlerinde; ÇA ($0,22 \pm 0,27$ mm) ve KB ($0,11 \pm 0,01$ mm) grupları arasında yüksek anlamlı fark bulunmaktadır. ÇB ($0,16 \pm 0,02$ mm) ve KA ($0,15 \pm 0,02$ mm) gruplarının değerleri ise KB ($0,11 \pm 0,01$ mm) grubu değerine göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Diğer gruplar arası karşılaştırmalarda sutural mesafe ölçümü ortalaması verilerinde istatistiksel anlamlı fark yoktur.

	ÇA	ÇB	KA	KB	p	ÇA-ÇB p ¹	ÇA-KA p ²	ÇA-KB p ³	ÇB-KA p ⁴	ÇB-KB p ⁵	KA-KB p ⁶
(mm)	Ort±s.s.	Ort±s.s.	Ort±s.s.	Ort±s.s.							
D1	$1,84 \pm 0,33$	$1,5 \pm 0,12$	$1,59 \pm 0,25$	$1,36 \pm 0,29$				*			
S1-S2-S3 ort	$0,22 \pm 0,27$	$0,16 \pm 0,02$	$0,15 \pm 0,02$	$0,11 \pm 0,01$	*			***		**	**

p¹:ÇA-ÇB, p²:ÇA-KA, p³:ÇA-KB, p⁴:ÇB-KA, p⁵:ÇB-KB, p⁶:KA-KB (Independent Sample T Testi), p:One Way Anova Testi, ***<0,001, ** <0,005, * <0,05
(ÇA: Çalışma A, ÇB: Çalışma B, KA: Kontrol A, KB: Kontrol B)

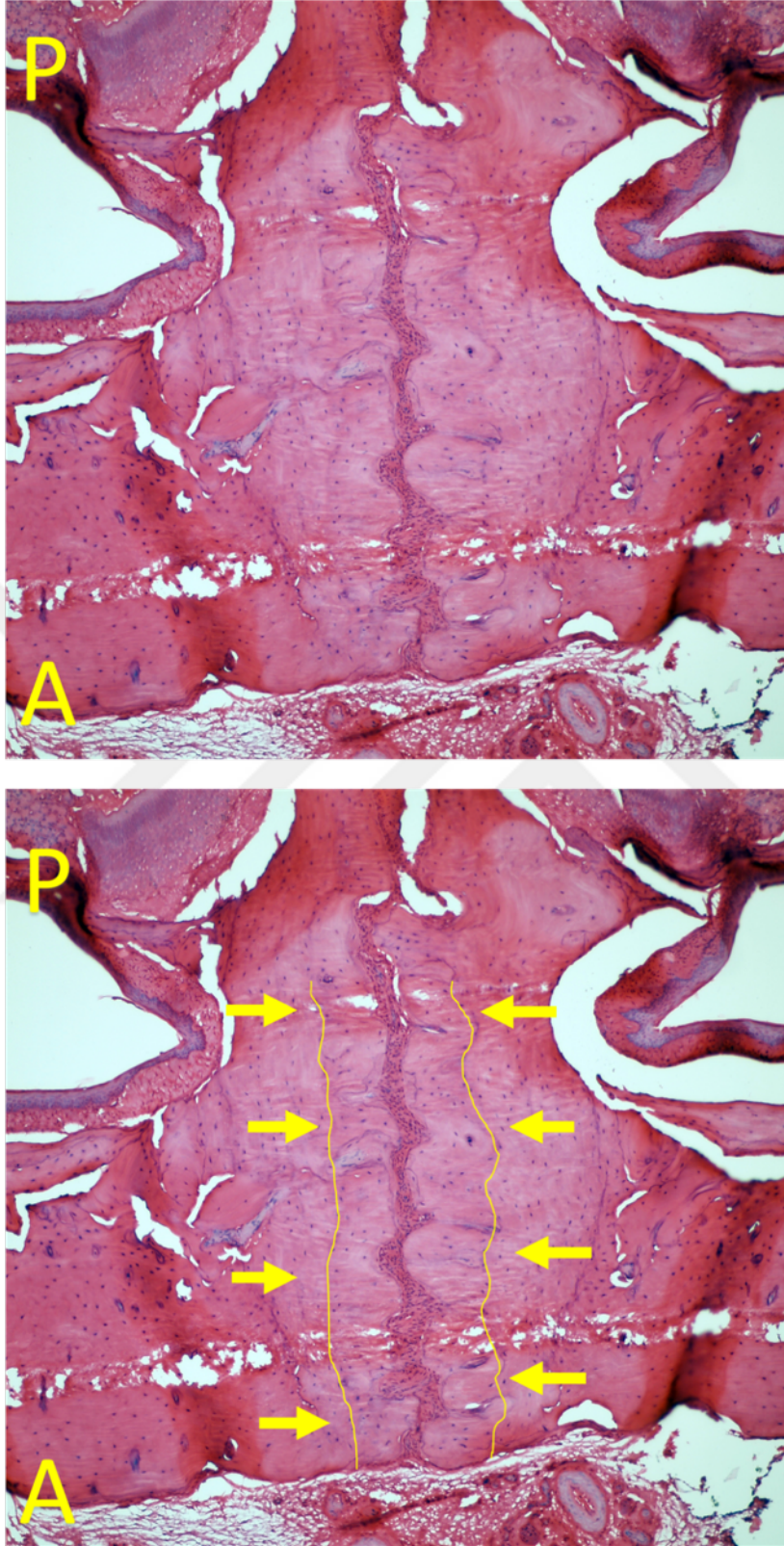
Tablo 4-6: Sutural Genişliğin Mikro BT Bulgularına Göre Değerlendirilmesi (T3)



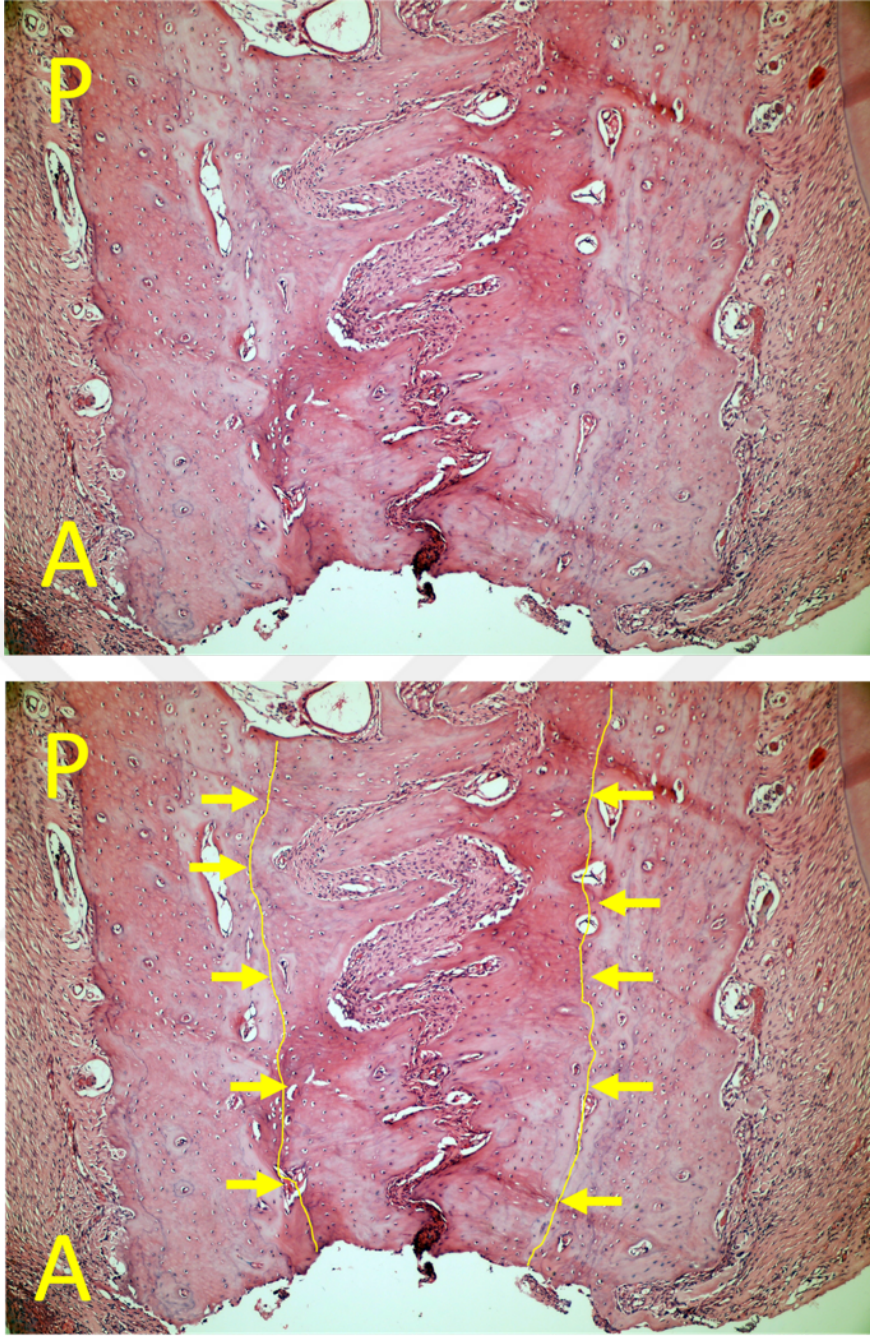
Şekil 4-4: Sutural Genişlik Ölçümlerinin Mikro BT Bulgularına Göre Değerlendirilmesi (T3)

4.3. Histolojik Değerlendirmeler

İncelenen histolojik kesitlerde tüm gruplara ait görüntülerde benzerlik saptanmıştır. Sutura palatina media ölçümlerinde kontrol ve çalışma grupları arasında belirgin farklılık saptanmamıştır. Sutura'nın sağ ve sol bölgelerinde oluşan apozisyon ve rezorpsiyonu gösteren Retzius çizgileri arasında olgunlaşmış kortikal kemik dokusu saptanmıştır. Bu durum genişletme sonrası kemik oluşumunun tamamlandığı ve sutural açıklığın yeni kemik oluşumu ile dolduğu yönünde yorumlanmıştır. Alınan dijital mikroskopik görüntüler üzerinde Retzius çizgileri arasındaki mesafe ölçülmüştür. Deney hayvanlarının hiçbirinde enfeksiyon ya da nekroz bulgusuna rastlanmamıştır (Resim 4-1, Resim 4-2).



Resim 4-1: Kontrol Grubuna Ait Histolojik Kesitin Işık Mikroskobu Görüntüleri
(x100 büyütme, A: Anterior, P: Posterior, Sarı Ok: Retzius çizgileri)



Resim 4-2: Çalışma Grubuna Ait Histolojik Kesitin Işık Mikroskobu Görüntüleri
(x100 büyütme, A: Anterior, P: Posterior, Sarı Ok: Retzius Çizgileri)

5. TARTIŞMA

5.1. Amacın Tartışılması

Deney hayvanları üzerinde planlanan çalışmamızda otolog kan numunesi olma avantajı taşıyan enjekte edilebilir TZF'nin genişleyen sutura bölgesine uygulanmasının bölgedeki yeni kemik yapımına ve kemik yoğunluğuna etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Hızlı maksiller genişletme tedavisinde yatay yönde uygulanan kuvvet ile açılan sutura palatina media bölgesinde oluşan boşluk yeni kemik yapımı ile dolar.⁸¹ Aktif kuvvet uygulanan dönem sonrası elde edilen maksiller genişliğin korunabilmesi için pekiştirme dönemine geçilmektedir. Araştırmacılar literatürde RME sonrası nüksün önüne geçebilmek amacıyla uzun süreli pekiştirme, fazladan genişletme (overcorrection), yavaş maksiller genişletme, farklı genişletme protokollerinin uygulanması, farklı tipteki vida ve apareyler geliştirilmesi, genişletme sonrası fiziksel ya da farmakolojik uygulamalar gibi yöntemler uygulamışlardır.^{139,148}

Hızlı maksiller genişletme tedavisi sonucunda, açılan sutura bölgesinde yeni kemik yapımının tamamlanması ve kemik dokunun olgunlaşması için uzun bir pekiştirme dönemine ihtiyaç vardır. Kemik dokunun yeterli stabiliteye ulaşmasından önce pekiştirme tedavisine son verilirse elde edilen genişlemenin nüksü kaçınılmazdır.¹⁸⁶ Pekiştirme süreleri ile ilgili literatürde farklı yaklaşımlar bulunmakta, 3 aydan 1.5 yıla kadar değişen süreler ile pekiştirme uygulanmaktadır.^{23,136,139,160,191} Nüks genişletme kaynaklı, genetik, çevresel etkenlere bağlı olabilir. Gerilen periodontal ve palatal dokularda biriken stresle birlikte, sutural bölgedeki yetersiz kemik dokusu oluşumunun nüksün temel sebebi olabileceği söylenmektedir.^{13,186} Pekiştirme döneminde sabit ya da hareketli apareyler kullanılmaktadır. Hareketli apareyler hasta kooperasyonu gerektirdiği için dezavantajlıdır.^{89,136} Sabit apareyler ise gerekli pekiştirme süresinin çok uzun olması sebebiyle ağız hijyeninin sağlanmasında yaşanan zorluklara bağlı olarak, periodontal hastalıklar ve diş çürükleri gibi problemlere sebep olabilmektedirler. Ayrıca genişletme tedavisi ardından çoğu zaman gerekli olan sabit ortodontik tedaviye başlanabilmesi için de bu uzun pekiştirme döneminin tamamlanması beklenmektedir. RME tedavisi sonrası gerekli bu uzun pekiştirme döneminin getirdiği ağız hijyeninde kötüleşme, toplam ortodontik tedavi süresinin uzaması gibi bir çok dezavantaj, araştırmacıları bölgedeki kemik oluşumunu hızlandıracak stratejiler bulmaya itmiştir.

RME sonrası sutural bölgedeki kemik oluşumunu uyaracak çeşitli maddeler, araştırmacılar tarafından bölgeye uygulanmış ve yeni kemik miktarı, kemik yoğunluğu, nüks miktarı gibi parametrelerin değerlendirilmesiyle uygulanan maddenin etkinliği araştırılmıştır. Bu amaçla hormonlar, büyüme faktörleri, vitaminler, antioksidanlar gibi maddeler sistemik olarak ya da lokal olarak uygulanmış ve etkileri çeşitli çalışmalarla incelenmiştir.^{10,35,67,86,105,108,117,124,144,153,156,168,174,195,197}

TZF son yıllarda geliştirilen, büyüme faktörü kokteyli içeriğiyle birlikte otolog ajan olma avantajını taşıyan ikinci nesil fibrin adezividir.¹⁵² TZF tıp alanında cerrahi, ortopedi, dermatoloji ve diş hekimliği alanında cerrahi, periodontoloji gibi yumuşak ve sert dokuda rejenerasyon beklenen alanlarda kullanılmıştır. Cerrahi ve periodontoloji alanlarında TZF'nin kemik, yumuşak doku gibi bölgelerdeki yara iyileşmesine etkisi incelenmiş; TZF'nin bölgedeki kanlanmayı ve kemik yapımını uyaran, içerdiği büyüme faktörleri ve sitokinler sayesinde bölgedeki doku cevabını hızlandıran bir ürün olduğu belirtilmiştir.⁶⁵ Ortodonti alanında TZF kullanımı başlangıçta dudak damak yarıklı vakaların greft operasyonlarında^{146,151}, diş hareketinin hızlandırılması amacıyla kortikomi uygulamalarında^{66,149,207} kemik oluşumunu stimüle etmek üzerine olmuştur. Son yıllarda i-TZF'nin geliştirilmesiyle birlikte ortodontik tedavilerdeki kullanımıyla ilgili araştırmalar da artmaya başlamıştır. i-TZF'nin şu ana kadar en yaygın ortodontik kullanımı çekimli vakalarda kanin distalizasyonu safhasında diş hareketinin hızlandırılmasına yönelik^{30,64,209,210} olmuştur. Zeitounlouian ve ark.^{209,210} yapmış oldukları çalışmalarda i-TZF, kanin retraksiyonu yapılacak vakalarda kanin dişin distaline premolar çekiminin yapıldığı ve distalizasyona başlandığı seansta ve distalizasyonun 1. ayında olmak üzere iki defa uygulanmıştır. Araştırmacılar bu uygulama ile kanin retraksiyonunun hızlandırılmasını, distalizasyon sırasında kanin dişte oluşan kök rezorpsiyonunun önlenmesini beklemişlerdir. Split mouth olarak dizayn edilen bu klinik çalışmada i-TZF uygulanan taraf ile kontrol tarafı arasında hipotezi destekler şekilde anlamlı bulgulara rastlanmamıştır. Erdur ve ark.⁶⁴ ve Karcı ve ark.³⁰ yaptıkları çalışmalarda ise yine kanin distalizasyonu aşamasında i-TZF'nin diş hareketini hızlandırıcı yöndeki etkisi incelenmiş, i-TZF uygulanan gruplarda olumlu yönde istatistiksel anlamlı farklar bulunmuştur. Erdur ve ark.⁶⁴ çalışmasında diş hareketini gösteren MMP-8, IL-1 β , RANKL ve OPG mediatörlerine dişeti oluğu sıvısında (DOS) bakılmış ve i-TZF'nin diş hareketini hızlandırdığına yönelik bulgular DOS sıvısındaki markerlarla da desteklenmiştir. Karcı ve ark.³⁰ çalışmasında ise i-TZF, piezosizyon

(piezosiccion) ve kontrol grupları oluşturulmuş, kontrol grubuna göre i-TZF ve piezosizyon yapılan gruplarda diş hareketi daha hızlı bulunmuş, ancak iki çalışma grubu arasında diş hareket hızı açısından anlamlı farka rastlanmamıştır.

i-TZF'nin genişletme bölgesindeki etkisini inceleyen yeterli literatür araştırması gözlenmemiştir. i-TZF'nin hızlı maksiller genişletme tedavisi alanında kullanıldığı çalışmalara literatürde rastlanamasa da, Pripatnanont ve ark.¹⁵⁸ tavşanlarda yaptıkları çalışmada tavşan mandibulasında ramus bölgesinde distraksiyon osteogenezi (DO) modeli oluşturarak bölgedeki kemik yapımını uyarmak ve vertikal kemik yüksekliğini artırmak amacıyla bölgeye TZF uygulamışlardır. Gruplar 4 hafta ve 8 haftalık konsolidasyon sürelerine göre alt gruplara ayrılmıştır. Radyografik ve histomorfometrik incelemelerde en iyi kemik oluşumu değerleri 8 hafta konsolidasyon süresi beklenen distraksiyonla birlikte TZF uygulanan grupta (DO+TZF grubu) bulunmuştur. Mikro BT incelemesinde ise yeni kemik oluşum yüzdesinin en fazla olduğu grup, 4 hafta konsolidasyon süresi beklenen DO+TZF grubudur.

Mutaf ve Bıçakçı'nın 2014 yılında yapılan tez çalışmasında¹⁵⁰, Trombositten Zengin Plazma (TZP) ürünü premaksiller suturalarında genişletme modeli uygulanan tavşanların açılan sutural bölgelerine uygulanmıştır. TZP enjeksiyonları 1.çalışma grubuna genişletme başlangıcından itibaren 24. saatte olacak şekilde bir kez; 2. çalışma grubuna ise 24. saatteki enjeksiyona ek olarak genişletme periyodunun tamamlandığı, pekiştirmeye geçildiği 7.günde olmak üzere iki defa enjekte edilmiştir. Değerlendirme parametresi olarak bilgisayarlı tomografi ve histolojik incelemelerin kullanıldığı tez çalışmasında kemik yoğunluğu artışı çalışma gruplarında anlamlı derecede fazla olup, iki defa enjeksiyonun yapıldığı 2.çalışma grubunda en yüksek değerlere rastlanmıştır.

Seyman'ın 2018 yılında yapılan tez çalışmasında¹⁷⁵ ise, RME uygulanan bireylerde i-TZF 3 haftalık genişletme dönemi boyunca haftalık periyotlarla 3 kez sutural bölgeye enjekte edilmiş ve genişletme sonrası 5. haftada (başlangıçtan itibaren 8.haftada) KIBT görüntüleri alınarak, kontrol ve RME grubundaki kemik formasyonu değerlendirilmiştir. İnsanlarda yapılan bu çalışmanın tek değerlendirme parametresi aktif genişletme sonrası 5.haftada alınan KIBT görüntüsü olmuştur. KIBT ile alınan 3 boyutlu görüntülerde sutural ayrılma bölgesindeki kemik yoğunluğu değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda i-TZF enjeksiyonu yapılan grupta midpalatal suturadaki kemik yapımının istatistiksel anlamlı artışı gözlenmemiştir.

Yukarıda bahsedilen çalışmaların ışığında, RME’de i-TZF’nin etkisini inceleyen bir çalışmaya rastlanmadığından çalışmamızda sutural genişletme yapılan bölgeye genişletmenin 5.günü ve pekiştirme tedavisinin 15.gününde enjekte edilerek, i-TZF’nin bölgedeki kemik yapımına etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Konik Işınlı Bilgisayarlı Tomografi (KIBT) ve Mikro Bilgisayarlı Tomografi (Mikro BT) görüntüleri ile sutural bölgedeki genişleme miktarı ve bölgede oluşan kemik yoğunluğu ölçümleri yapılarak elde edilen radyografik veriler sayesinde çalışmanın özgünlüğü sağlanmıştır.

5.2. Gereç ve Yöntemin Tartışılması

5.2.1. Deney Hayvanlarının Seçimi

Literatürde hızlı üst çene genişletmesini araştıran çalışmalarda hayvan modeli olarak maymunlar, kediler, tavşanlar ve sıçanlar kullanılmıştır.^{45,76,156,186,197,198}

Storey,¹⁸⁶ insanlar ile kediler ve maymunların maksiller suturalarının birçok yönden benzediğini bildirmiştir. Bu sebeple bu hayvanların genişletme deneylerinde kullanıldıklarını, fakat kemik ve sutural yapılarında meydana gelen değişiklikleri hücresel düzeyde açıkça incelemek için tavşan ve sıçanların daha ideal hayvanlar olduğunu bildirmiştir.

Büyük deney hayvanı modelleri daha maliyetli ve üzerinde çalışılması daha zordur. Büyük deney hayvanları biyolojik iyileşmenin gerçekleştiği mikro ortamı küçük hayvan modellerinden daha iyi simüle etmedikleri için araştırmalarda önemli bir avantaj sağlamazlar.¹³⁰ Diğer deney hayvanlarına kıyasla daha kolay elde edilebilir olmaları, örnek sayısının kolaylıkla artırılabilmesi, kolay muhafaza edilebilir olmaları ve maliyetlerinin daha uygun olması sebebiyle literatürde sıçanlar sıklıkla kullanılmaktadır. Temel mekanizmalar insandakine benzerlik gösterse de ortodontik uygulamalara bağlı doku yanıtı sıçanlarda daha hızlı gerçekleşmektedir. Ancak kemik remodelingi sırasında meydana gelen süreçler insanlardaki ile benzerlik gösterir.¹⁶⁴ Bu sebeplerden dolayı hızlı üst çene genişletmesi için sıçanlar sıklıkla kullanılan bir deney hayvanı modelidir.^{10,35,86,117,144,153,156,168,169,174}

Tez çalışmamızda cinsiyetler ve türler arasındaki mevcut farklılıklar (ağırlık, gelişim, metabolik ve hormonal aktiviteler) nedeniyle, standardizasyonu sağlamak için sadece erkek Wistar Albino sıçanlar tercih edilmiştir.

İnsanlarda sutura palatina medianın (SPM) interdijitasyonun tamamlanması kızlarda ortalama yaklaşık 14, erkeklerde 16 yaşlarında tamamlanır ve adölesan dönemden erişkinliğe doğru suturada interdijitasyon artışı gözlenir.¹³⁷ Yapılan hayvan deneyi çalışmalarında 1 sıçan gününün 30 insan gününe denk olduğu belirtilmiştir.⁸ Maksiller genişletme modeli oluşturmak istediğimiz hayvanların yaş gruplarının sutural interdijitasyonlarını da göz önünde bulundurularak preadölesan dönemde olmaları istenmiştir. Bu amaçla literatürdeki benzer çalışmalar örnek alınarak insandaki 11-12 yaşına denk gelen 10 haftalık genç sıçanlar seçilmiştir.^{62,103,168}

5.2.2. Deneyde Uygulanan Aparey Dizaynı ve Deney Süresi

Sıçanlarda üst çene genişletmesi modeli oluşturulan çalışmalarda farklı suturalar (sagital sutura, midpalatal sutura, premaksiller sutura) ekspansiyon bölgesi olarak seçilmiştir. Dişlerden destek alınarak gerçekleştirilen deneylerdeki bazı zorluklar nedeniyle, genişletme modelini sagital suturada uygulayan araştırmacılar mevcuttur.^{6,62,153} Bu yöntemde genişletme apareyi bölgeye cerrahi olarak yerleştirilmektedir. Bölgedeki kemik yapısı anatomik olarak ince bir doku olup, apareyin yerleştirilmesi sırasında gerçekleşebilecek olası perforasyonların beyin dokusuna zarar verme riski söz konusudur. Tekniği uygulanması zor ve dezavantajlı kılan bu riskler sebebiyle çalışmamızda bu yöntem tercih edilmemiştir.

Literatürde sıçanların kemirgen hayvanlar olması sebebiyle, anterior dişlerin sürekli uzaması kaynaklı doğabilecek dezavantajlardan kaçınmak amacıyla posterior dişlerden destek alınarak midpalatal suturada genişletme modeli uygulayan çalışmalar mevcuttur.^{39,86,128,208} Ancak sıçanların orofasiyal yapıları gereği ağızlarının küçük olması, ağız açıklığının az olması, posterior dişlerin küçük ve kron boylarının kısa olması posterior bölgeye bir aparey uygulanmasını güçleştirmektedir. Bu sebeplerle; anteriorda kesici dişlerden destek alarak premaksiller suturada hızlı maksiller genişletme modeli oluşturan çok sayıda çalışma mevcuttur. Kesici dişlerden destek alarak genişletme yapılan çalışmaların bazılarında araştırmacılar, kesici dişler arasına yerleştirdikleri elastomerik ya da metal halka (ring) şeklindeki apareylerle genişletme uygulamışlardır.^{36,156,169,188}

Anteriorda erişimi kolay olan bir bölge olması uygulamayı kolaylaştırdığından, tez çalışmamızda premaksiller suturada genişletme sağlamak amacıyla sıçanların maksiller kesici dişlerinden destek alan tek zemberekli bir aparey hazırlanmıştır. Bu

aparey literatürde uygulama kolaylığı ve avantajları sebebiyle sıkça tercih edilen 0.012 inch paslanmaz çelik telden, 30 gr şiddetinde kuvvet uygulayacak şekilde dizayn edilmiştir.^{10,21,35,104,110} Literatürde bazı araştırmacılar uyguladıkları RME apareyinin mekanik retansiyonunu sağlamak amacıyla üst kesici dişler üzerinde labiolingual yönde oluklar hazırlamışlardır.^{35,168,186,196} Kesici dişlerin kırılma riski göz önünde bulundurularak çalışmamızda bu yöntem tercih edilmemiştir. Retansiyonu arttırmak amacıyla, asit ile mine pürüzlendirmesi yapılmış, bond ve akışkan kompozit ile aparey dişler üzerine uygulanmıştır.^{67,144}

Deney süresi boyunca genişletme ve pekiştirme apareylerinin ağız içindeki durumu günlük olarak kontrol edilmiştir. Genişletme döneminde aparey kaybı ile karşılaşılmamıştır. Pekiştirme döneminde ise retansiyon amaçlı yerleştirilen kompozit yapıda, ihtiyaç görülen durumlarda tamir yapılmıştır.

Literatürde genişletme ve pekiştirme dönemi açısından farklı sürelerde takip yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Sıçanlarda genişletme uygulayan çalışmalarda 5 gün^{21,35,110,117,168,196} ve 7 gün^{10,144,153} RME protokolü uygulanmıştır. 5 günlük RME protokolünün premaksiller suturadaki genişletme protokolü için çoğu çalışmada yeterli olduğu bildirildiğinden çalışmamızda da 5 gün boyunca aktif RME dönemi uygulanmıştır.

Çalışmalarda, uygulanan kemik formasyonunu hızlandıracak yöntemde de bağlı olarak pekiştirme dönemi 7-30 gün arası değişen sürelerde uygulanmıştır.^{110,144,153,156} Literatürde RME tedavisi ardından nüksün incelendiği çalışmalar sınırlıdır. Guo⁸⁶ metal sirküler ring ile gerçekleştirdiği 14 günlük RME döneminin ardından pekiştirme uygulamadan direkt olarak 14 gün boyunca nüks takibi yapmıştır. Öztürk¹⁵³ ise 7 ve 14 gün pekiştirme uyguladığı gruplarda 7 gün nüks için beklemiştir ve nüks oranını geliştirdikleri bir formül ile hesaplamıştır. Pirmoradian¹⁵⁶ da metal sirküler ring ile gerçekleştirdiği genişletme döneminin ardından 30 gün boyunca pekiştirme uygulamış, devam eden 30 günlük dönemde gerçekleştirdiği haftalık ölçümlerle nüks miktarını oransal olarak değerlendirmiştir. Çalışmamızdaki deney grupları pekiştirme ve nüks sürelerine göre alt gruplara ayrılmıştır. i-TZF enjeksiyonlarının zamanlaması da dikkate alınarak gruplar, 15 gün boyunca pekiştirme ve 15 gün boyunca nüks takibi yapılan gruplar (KB ve ÇB) ve 30 gün boyunca pekiştirme yapılan gruplar (KA ve ÇA) olacak şekilde planlanmış, gruplara ait veriler benzer çalışmalarla karşılaştırılmıştır.

5.2.3. Trombositten Zengin Fibrin

Kemik metabolizması çok sayıda hormonal ve lokal faktör tarafından kontrol edilir. Bu metabolik aktivite, hormon ve faktörler dışında mekanik, kimyasal ve elektriksel uyarılardan da etkilenir. Günlük diyetten bulunan ve sağlığa zararı olmayan doğal bileşenler, antioksidanlar ve vitaminler; fizyolojik kemik metabolizmasında etkili olduğu bilinen hormonlar, mediyatörler ve büyüme faktörlerinin tedavide kullanımına yönelik araştırmalar güncel literatürde önem kazanmıştır.

Kemik iyileşmesi ve rejenerasyonu sırasında trombosit, makrofaj ve fibroblast gibi hücreler çeşitli proteinler ve büyüme faktörleri salgılayarak iyileşme sırasındaki hassas biyolojik olayları yerel olarak düzenlemektedir. Bu dengede rol oynayan büyüme faktörleri ve proteinler çeşitli saflaştırma metotlarıyla denekten direkt elde edilebildikleri gibi, istenilen miktarlarda rekombinant olarak da elde edilmeleri mümkündür. Yapılan çalışmalarda bu faktörlerin kemik iyileşmesi üzerindeki olumlu etkileri gösterilmiş olsa da, tek başına kullanım amacıyla üretilmeleri pahalı bir yöntem olan rekombinant teknolojinin kullanımını gerektirmektedir. Bu sebeple rutin klinik kullanımda yer bulamamıştır. Kan konsantreleri, zengin büyüme faktörü içerikleri sebebiyle yara iyileşmesini teşvik etmeyi, yumuşak ve sert dokunun rejenerasyonunu hedefleyen bir çok çalışmada kullanılmıştır. İkinci nesil trombositten zengin biyomateryal olarak tanımlanan Trombositten Zengin Fibrin (TZF)⁵⁷, tamamen otojen olma, zengin büyüme faktörü, trombosit ve lökosit içeriği, üretiminin kolay olması, klinikte geçen zamanı kısaltma avantajlarını taşıdığı için özellikle cerrahi ve periodontoloji alanlarında popülerleşmiştir.^{58,78} TZF ürünleri çoğunlukla jel formunda olup, santrifüj gücü ve süresi modifiye edilerek üretilen i-TZF enjeksiyon ile TZF kullanımının gerekli olduğu alanlarda birinci nesil trombosit ürünü olan TZP'nin yerini almaya başlamıştır.^{41,56,78} i-TZF; dolaşımdaki kök hücreleri ve endotelial hücreleri de içerdiği düşünülen bir materyal olduğundan, bir "kan konsantresi" olarak kabul edilir.^{40,142}

Varela ve ark.²⁰⁰ i-TZF'nin hücre içeriğiyle birlikte morfolojik ve protein yapısını inceledikleri çalışmalarında i-TZF'nin sahip olduğu 3 boyutlu fibrin ağı, zengin trombosit ve lökosit içeriği, tip 1 kollajen, osteokalsin ve büyüme faktörü içeriği sayesinde yumuşak ve sert doku iyileşmelerini stimüle etmek için iyi bir madde olduğu söylenmiştir.²⁰⁰ Wang ve ark.²⁰³ ise yaptıkları doku kültürü çalışmasında, spesifik olarak i-TZF'nin osteoblastik davranış ve kemik dokudaki formasyon üzerine etkisini TZP ile kıyaslayarak

incelemişlerdir. Osteoblastik hücre göçünün uyarılması kontrol preparatlarıyla kıyaslandığında i-TZF uygulanan grupta 3 kat, TZP uygulanan grupta ise 2 kat fazla bulunmuştur. 3. ve 5. günlere gelindiğinde i-TZF çok üstün sonuçlar verirken, 7.ve 14.günlere gelindiğinde yine TZP uygulanan preparatlara göre üstünlüğünü korumuştur. Araştırmacılar ayrıca i-TZF'nin antimikrobiyal potansiyali üzerine de bir çok çalışma yapmış, i-TZF'nin tek başına değerlendirildiği ve diğer TZF materyalleriyle kıyaslandığı çalışmalarda i-TZF'nin antimikrobiyal özelliği kanıtlanmış ve diğer TZF ürünlerine göre de üstün bulunmuştur.^{102,201}

i-TZF'nin literatürde sıkça görülen elde edilme yöntemi; pıhtılaştırıcı bulunmayan plastik tüplere alınan kan örneğinin 3 dakika boyunca, 60 G santrifüj gücü ile 700 rpm devirde santrifüj edilmesi olarak tarif edilmiştir.⁷⁸ Bu yöntem dışında yine plastik tüplerde 2 dk 3300 rpm^{14,147} olarak santrifüj uygulayarak i-TZF elde eden araştırmacılar da mevcuttur. Daha uzun süre ile santrifüj yapılarak elde edilen diğer TZF ürünlerinden farklı olarak, i-TZF üretiminde ilk 2-4 dakikada gerekli tüm faktörleri ve trombositleri oluşturan bileşenlerin tümü tüpün tepesine ulaşır.¹⁷⁶ Bu uygulamanın ardındaki temel mantık, santrifüj süresi ve santrifüj gücünün daha düşük ayarlanması sayesinde kan örneğinin içeriğinin parçalanıp jel formuna dönüşmeden ürünün sıvı formunu korumasının sağlanmasıdır.²⁰⁴ Oda sıcaklığında elde edilen i-TZF sıvı durumunu yaklaşık 15-30 dakika korur ve bu süre klinik uygulamalar için iyi bir çalışma süresidir.²⁰⁴ Yapılan çalışmalarda i-TZF'nin 10 günden uzun bir süre büyüme faktörlerinin salınımına devam ettiği bildirilmiştir.¹⁴² i-TZF'de büyüme faktörlerinin devamlı ve kontrollü salınım süresinin TZP'ye göre daha uzun olması; hücre uyarılması, göçü ve farklılaşması üzerine uyarıcı etkisinin de daha güçlü olmasını sağlamaktadır.

Hayvan deneylerinde kullanılan laboratuvar hayvanlarından farklı amaçlar için çeşitli bölgelerden değişen miktarlarda kan alınabilmektedir. Her tür, vücut ağırlığı ile orantılı olarak farklı kan hacmine sahiptir. Kan alımından sonra canlının yaşamına devam etmesi isteniyorsa vücut dolaşımındaki kan miktarının %10'undan fazlasının alınmaması gereklidir.²¹² Bu bilgiler doğrultusunda vücut ağırlığına bağlı değişmekle birlikte bir seferde alınabilecek maksimum kan miktarı ortalama olarak fareden 0,3 ml, sıçandan 2 ml, tavşandan 30 ml kadardır. Ortalama erişkin bir sıçanın kan hacmi 18-25 ml'dir.¹²⁰ i-TZF eldesi için 8-10 ml periferik kan eldesine ihtiyaç duyulmaktadır.¹⁴² Deney grubundaki sıçanların hayatını tehlikeye atmadan, yeterli miktarda i-TZF eldesi için

gerekli kan miktarının güvenli bir şekilde alınabilmesi amacıyla donör sıçan grubu oluşturulmuştur. Çalışmamızda i-TZF eldesi için pilot deneme yapılmış, sıçandan alınan intrakardiyak kan numunesi 3 dk 700 rpm değerlerinde santrifüj edildiğinde i-TZF ürünü elde edilememiştir. Bunun üzerine Aydınur ve ark.'nın¹⁴ yakın zamanda yayınlanmış çalışmasında da uygulanan 2 dk 3300 rpm değerleri denenmiş ve i-TZF eldesinde başarılı olunmuştur.

RME sonrası açılan sutura bölgesindeki kemik formasyonunu uyarmak ve artırmak amacıyla lokal olarak uygulama yapan farklı çalışmalarda, uygulanan madde farklı zamanlarda tek doz veya tekrarlayan dozlarda uygulanmıştır. Literatürde TZF ya da i-TZF'nin bu amaçla kullanıldığı ve kendi çalışmamızla kıyaslanabilecek örneklerle karşılaşılmamıştır.

Düşük seviyeli lazer terapi, kök hücre, büyüme faktörü gibi hücresel düzeyde etkili ajanlar araştırmacılar tarafından lokal olarak uygulanarak yeni kemik oluşumuna etkileri değerlendirilmiştir. Guo ve ark.⁸⁶, heterolog kemik iliği kaynaklı mononükleer hücre transplantasyonu (BMMC) uygulamasını lokal olarak 14 günlük genişletme periyodunun 6. gününde tek doz olarak yapmıştır. Pirmoradian ve ark.¹⁵⁶, uzun dönem pekiştirme ve nüks takibi yaptığı çalışmasında 14 günlük genişletme dönemi boyunca 2 günde 1 doz düşük seviye lazer terapi uygulamıştır. Mohaghegh ve ark.¹⁴⁴ ise mezenkimal kaynaklı kök hücre ve düşük seviyeli lazer terapinin karşılaştırmalı olarak incelediği çalışmasında her iki uygulamayı da genişletmenin bittiği ve pekiştirme dönemine geçildiği gün uygulamıştır. Düşük seviyeli lazer terapiyi ek olarak 3 haftalık pekiştirme döneminin ortasında ikinci doz olarak uygulamıştır. Literatür incelendiğinde aktif genişletme sonrası açılan sutural bölgedeki kemik oluşumunu uyarmak amacıyla uygulanan bifosfonat¹⁵³, enerji içeceği²¹, hyaluronik asit¹⁶⁸, timokinon (antioksidan madde)¹⁰⁵, ginkgo biloba (antioksidan madde)¹⁰⁴ gibi maddelerin pekiştirme döneminden itibaren uygulandığı gözlenmektedir. i-TZF'nin RME ile birlikte kullanımına literatürde rastlanmadığı için, i-TZF enjeksiyonun yapılacağı günleri belirlerken bu çalışmalardaki uygulamalar örnek alınmıştır.

Bu bilgiler ışığında çalışmamızda, i-TZF enjeksiyonu için uygun günler; RME uygulamasının tamamlandığı ve pekiştirme dönemine geçildiği 5.günde (T1) ilk enjeksiyon, ardından pekiştirme döneminin 15.gününde (toplam deney süresinin 20.günü-T2) ikinci enjeksiyon yapılacak şekilde planlanmıştır.

Çalışma grubuna i-TZF enjeksiyonun yapıldığı günlerde, kontrol grubuna da aynı miktarda serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmıştır. Bu uygulamadaki amaç, çalışma grubuna enjeksiyon yapılması için gerekli anestezinin, sutural bölgede enjeksiyon yapılmasına bağlı oluşan lokal travmanın meydana getirebileceği gruplar arası farklılıkları ortadan kaldırarak deney uygulamaları anlamında gruplar arası standardizasyonun sağlanmasıdır.

5.2.4. Maksiller Genişletme Miktarının ve Yeni Oluşan Kemik Yoğunluğunun Ölçülmesi

Kemik mineral yoğunluğunun (BMD) tespiti farklı radyolojik yöntemlerle yapılabilmektedir. Günümüzde kantitatif ultrasonografi, dual enerji X ışını absorbsiyometri (DEXA) ve kantitatif BT yöntemleri kemik mineral yoğunluğunun değerlendirilmesinde yaygın kullanılan yöntemlerdir. Bilgisayarlı tomografi (BT), X ışını kullanılarak vücudun incelenmek istenen bölgesinin kesitsel görüntüsünü oluşturmayı sağlayan radyolojik bir teşhis yöntemidir. Geleneksel yöntemlerden sonra devrim niteliğinde değerlendirilen, X ışını cihazlarının en gelişmiş versiyonu olan BT kemik, kıkırdak ve yumuşak dokuların incelenmesini sağladığı için tıp ve özellikle ortopedi alanında önemli bir tanı yöntemidir.¹⁵⁰

Çalışmamızda geleneksel X ışını görüntüleme yöntemlerine göre üstünlüğü sebebiyle sutura bölgesindeki genişletme sonrası kesici dişler arasındaki mesafe ölçümleri için tekrarlanabilir, kolay ve güvenilir bir yöntem olan Konik Işınlı Bilgisayarlı Tomografi tercih edilmiştir. Çalışmamızda deney öncesi (T0), genişletme sonrası (T1), pekiştirme ortası (T2) ve pekiştirme/deney sonu (T3) dişler arası genişlik mesafelerinin ölçümünün yapılabilmesi ve bu ölçümler üzerinden nüks oranının hesaplanabilmesi için KIBT görüntüleri alınmıştır. RME alanında incelenen literatürde dişler arası mesafe ölçümünün dijital kumpas gibi direkt dişler üzerinden yapıldığı çalışmalara^{86,124,156} rastlandığı gibi tomografi ölçümleri üzerinden mesafe ölçümü yapan çalışmalar^{117,144,153} da mevcuttur. Çalışmamızda güvenilir ve kolay tekrarlanabilir olması nedeniyle KIBT'den yararlanılmıştır. Aynı zamanda görüntülerde yapılan tüm ölçümler diğer çalışmalarda da olduğu gibi dişlerin gingival sınırından yapılarak, dişlerde görülebilecek uzama ve devrilmeye bağlı ölçümlerde oluşacak yanıltıcı sonuçlardan kaçınılmaya çalışılmıştır.

Sutural alanda oluşan yeni kemik dokunun yoğunluğunu değerlendirmek amacıyla ise Mikro Bilgisayarlı Tomografi (Mikro BT) kullanılmıştır. Sert dokuyu ilgilendiren ölçümlerde altın standart⁷¹ olarak kabul edilen Mikro BT taramalarını yapabilmek için, deney hayvanlarının sakrifiye edilmesi ve sadece ilgili bölgenin cihazda taranması gerekmektedir. Deneyimizin her safhasında Mikro BT kaydı alabilmek için hayvan sayısının ciddi oranda artırılması gerekliliği, etik ve maddi kaygıları beraberinde getirmiştir. Literatürde de benzer amaçla Mikro BT görüntüleri alan çalışmalarda^{84,96,188} sakrifikasyonu takiben Mikro BT taramaları yapılmıştır. Bu sebeple, deney hayvanları için tekrarlanabilir ve basit bir görüntüleme yöntemi sayılabilecek KIBT ara safha kayıtları için kullanılmış, kemik yoğunluğu ölçümü için ise altın standart olan Mikro BT tercih edilmiştir.

5.3. Bulguların Tartışılması

5.3.1. Radyolojik Bulgular

Literatürde RME modeli uygulayarak açılan sutura bölgesine uygulanan çeşitli ajanlar ve farklı yöntemler ile yeni kemik oluşumunun takip edildiği pek çok çalışma bulunmaktadır. Ancak çalışmamızda yapıldığı gibi hem sıçanlarda anterior dişler üzerinden RME modeli uygulayan hem de deney sürecini başlangıçtan itibaren, genişletme, pekiştirme ve nüks sonuna kadar detaylı genişlik mesafesi ölçümleriyle takip eden ve direkt karşılaştırma yapabileceğimiz çalışmalara rastlanmamıştır. Sutural genişlik ölçümü ve nüks oranı takibinin de yapıldığı, sagittal suturada RME modeli uygulayan çalışmalar bulunmaktadır.^{124,153}

Dişler arası mesafede meydana gelen değişimlerin KIBT bulgularına göre grup içi ve gruplar arası değerlendirilmesi (Tablo 4-1)

KIBT bulgularında dişler arası mesafe ölçümlerindeki değişimin grup içi değerlendirmesinde bütün gruplarda T0'dan T3'e kadar ölçülen değerlerde istatistiksel anlamlı değişim gözlenmiştir. Gruplar arası değerlerdeki değişim tekrarlayan ölçümler analizi ile karşılaştırıldığında posthoc analizde benzerlik görülmektedir. Tüm gruplar; deney süresi boyunca ölçüm yapılan farklı zamanlarda hepsi birlikte aynı yönde değişiklik göstermektedir. Tüm gruplarda T0 dönemindeki değerler başlangıç ölçümleri olduğu için düşük mesafe ölçümü, T1 döneminde genişletmeye bağlı artmış mesafe ölçümü, T2 döneminde bu mesafenin çoğunlukla korunduğu ve T3 döneminde nüks takibi için pekiştirmeye erken son verilen gruplarda istatistiksel anlamlı olacak şekilde tüm

gruplarda mesafe ölçümünde azalma gözlenmiştir. Dişler arası mesafede çalışma boyunca gözlenen bu değişim karakteri çalışma akışına bağlı olarak beklenen şekildedir.

Dişler arası mesafede meydana gelen değişimlerin KIBT bulgularına göre farklı zaman aralıklarında değerlendirilmesi (Tablo 4-2)

Farklı zaman aralıklarının grup içi ikili karşılaştırılmasında bütün gruplarda genellikle anlamlı fark görülmüştür. Tüm gruplarda T0-T1 döneminde grup içi karşılaştırmada istatistiksel anlamlı fark bulunmaktadır. Bütün deney gruplarında uygulanan 5 günlük RME dönemi sonrası suturanın başarılı olarak genişlediği tomografi görüntüleri üzerinde yapılan ölçümlerle tespit edilmiştir.

Çalışmamızda tüm gruplarda T0-T2 ve T0-T3 dönemlerinde grup içi karşılaştırmada görülen istatistiksel anlamlı farklar, genişletme ile elde edilen sutural mesafelerin pekiştirmenin terk edildiği gruplardaki nükslere rağmen başlangıç değerlerine göre korunduğunu göstermektedir.

Literatürde bu alanda yapılan çalışmalarda^{35,110,168} anterior dişlerde benzer bir aparey ile 30 gr kuvvet uygulanarak başarılı sutural açılma görülmüş olmasına rağmen, sutural mesafe ölçümü bulgusuna rastlanmamıştır. Bu nedenle karşılaştırma yapılamamıştır.

Öztürk ve ark.¹⁵³ sıçanların sagittal suturalarında genişletme modeli uyguladıkları ve genişleyen sutura bölgesinde bifosfonatların kemik oluşumuna etkisini inceledikleri çalışmalarında; sagittal kemiklerde apareyin uygulanacağı bölgede delikler hazırlayarak uygulama alanındaki başlangıç mesafesini standardize etmişlerdir. Genişlemiş suturanın mesafe ölçümleri ise tüm gruplarda standart sapmayla birlikte yaklaşık 5 mm olarak ölçülmüştür. Genişletme amacıyla uygulanan 120 gr kuvvet, bizim çalışmamızda kesici dişler arasına uygulanan 30 gr'lık kuvvetin 4 katı büyüklüğündedir. Genişletme uygulanan anatomik bölgenin ve uygulanan kuvvetin farklı olması sebebiyle mesafe ölçümlerinin de farklı olması beklenen bir durumdur. Çalışmalarında, genişletme öncesi ve sonrası ile genişletme sonrası ve pekiştirme sonrası ölçümlerinin ikili karşılaştırmasında bizim çalışmamıza benzer şekilde genişletmeye bağlı olarak mesafe ölçümü değerlerinde istatistiksel anlamlı fark görülmektedir. Bu bulgu çalışmamız verileriyle uyumluluk göstermektedir.

Pekiştirmeye tüm gruplarda devam edilen T1-T2 zaman aralığında kesici dişler arasındaki mesafe ölçümlerinin sayısal değerlerinde minimal azalma (nüks) gözlenmektedir. Bu nüks ÇA ve KB gruplarında istatistiksel anlamlı değilken, ÇB ve KA gruplarında ise istatistiksel anlamlı fark mevcuttur. Bu farkın kemirgen hayvanlar olan sıçanların kesici dişlerinde sürekli olarak görülen fizyolojik uzama kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Sutura'nın tekrar kapanması yönünde oluşan rezidüel kuvvetlere karşı direnç göstermesi gereken pekiştirme aygıtı, diş köklerinin zamanla dikleşmesinden dolayı gingivalden insizale yer değiştirmektedir. Bu nedenle, pekiştirme aygıtının etkinliğinin azalmasına bağlı olarak kesici kenarlar arası mesafe ölçümü etkilenmiştir. Bunun yanında deney süreci boyunca rastlantısal olarak pekiştirme apareyinin düşmesi ve tamirinin yapılması sırasında oluşabilecek dişler arası mesafedeki nüksün de bu konuda etkili olabileceği düşünülmektedir.

Mutaf 2014 yılında yaptığı, TZP'nin genişletilen sutura bölgesinde kemik oluşumuna etkinliğini incelediği tez çalışmasında¹⁵⁰ tavşanların kesici dişleri arasına çalışmamızdakine benzer şekilde zemberekli bir aparey ile 7 günlük genişletme ve ardından 14 gün pekiştirme uygulamıştır. Çalışmamızdan farklı olarak nüks takibi yapmamıştır. Genişletme öncesi zamana ait keserler arası genişlik verileri bulunmayan bu çalışmada genişletme sonrası ve pekiştirme sonrası ölçümler değerlendirilmiştir. Pekiştirme sonu yapılan ölçümlerde istatistiksel anlamlı olmasa da çalışmamızda gördüğümüz azalmaya benzer şekilde sayısal değerlerde azalma gözlemlemiştir.

Pirmoradian ve ark.¹⁵⁶ düşük seviyeli lazer terapi uygulamasının genişletme bölgesindeki kemikleşme ve genişletme sonrası nükse etkisini inceledikleri çalışmalarında, sıçanlarda kesici dişler arasına standart 1,5 mm eninde, rijid metal halka apareyi ile genişletme modeli uygulanmıştır. Tüm deney gruplarında uzun dönem pekiştirme (30 gün) sonrasında yine uzun dönem (28 gün) nüks takibi yapılmıştır. 30 günlük uzun pekiştirme dönemine rağmen dişler arası 1,5 mm'lik genişlik korunabilmiştir. Bunu sağlamak amacıyla ara safhalarda apareyin kesici dişlerin uzamasına bağlı yer değiştirmesini önlemek için tekrarlayan uygulamalar yapılarak aparey gingivale yerleştirilmiştir. Bu sayede sıçanların kesici dişlerinde sürekli olarak görülen uzamanın mesafe ölçümlerini etkilemesi önlenmiştir. Çalışmamızda ise sıçanların kesici dişleri arasına uygulanan pekiştirme amacıyla kullanılan kompozit günlük olarak kontrol edilmiş ve tamir gereken durumlarda yeni kompozit uygulaması yapılarak

genişletilmiş mesafenin korunması hedeflenmiştir. Her tamir seansında kompozitin en gingivale uygulanmasına zen gösterilmiştir.

Literatürde genişletme uygulaması sagital suturada yapılan çalışmalarda kesici dişlerin fizyolojik hareketinden kaynaklanan bu azalma gözlenmemektedir. Nitekim ztrk ve ark.¹⁵³ sagital suturada oluşturduğu delikler üzerinden genişletme modeli uyguladığı çalışmalarında dişlere bağlı nüks görülmemiştir. Bu yöntem dişlerin fizyolojik olarak uzaması yönündeki olumsuz etkiyi önleyerek daha standart bir çalışma alanı oluştursa da, tekrarlayan cerrahi operasyonlar gerektirmesi sebebiyle sıçanların ince kafa kemiğine yapılacak işlemin ciddi hayati riskler taşıdığı endişesi ve sagital suturadaki genişletme ve nüks modelinin RME modeline benzerliğinin az olması sebebiyle çalışmamızda tercih edilmemiştir.

T2-T3 zaman aralığında tüm gruplarda dişler arası mesafede anlamlı azalma grlmştir. Çalışma sonuna kadar pekiştirme apareyi yerinde bırakılan gruplardaki nüks miktarı, 15 gün sonra pekiştirme apareyi terk edilen gruplara göre daha azdır. 15 günlük pekiştirme döneminden sonra nüks takibi için pekiştirme dönemine son verilen B ve KB gruplarındaki istatistiksel anlamlı fark beklenen bir sonuçtur. 30 günlük uzun dönem pekiştirme yapılan A ve KA gruplarındaki istatistiksel anlamlı azalmanın ise; yine T1-T2 zaman aralığında olduğu gibi diş köklerinin zamanla dikleşmesinden ve dişlerin fizyolojik uzamasından kaynaklı olarak, uygulanan pekiştirme aygıtının etkinliğinin azalmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca iskeletsel seviyede bir pekiştirme yapılamadığı için, dişsel pekiştirme apareyi kullanılan yöntemlerde de minimal nüks beklenen bir bulgudur. Klinik çalışmalarda da diş destekli pekiştirme apareyleri kullanıldığında iskeletsel seviyede minimal nüks olması kaçınılmazdır.^{85,109,136}

Dişler arası mesafede meydana gelen değişimlerin KIBT bulgularına göre gruplar arasında değerlendirilmesi (Tablo 4-3)

KIBT verileri gruplar arası incelendiğinde; T0 ve T3 zamanlarında dişler arası mesafe ölçümü değerlerinde istatistiksel anlamlı fark bulunurken, T1 ve T2 zamanında yapılan ölçümlerde anlamlı fark bulunmamaktadır.

Gruplar arası karşılaştırmalara bakıldığında T0 zamanındaki anlamlı farkın, grupların oluşturulması sırasında her ne kadar aynı türde, cinsiyette, kiloda ve aynı doğum tarihli deney hayvanları seçilmiş olsa da anatomik farklılıklardan kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Pirmoradian ve ark.'nın alıřmasında¹⁵⁶ genişletme döneminde 1,5

mm'lik genişlik sağlayacak standart bir aparey kullanıldığı için, genişletme öncesi dişler arası mesafe ölçümlerine yer verilmemiştir. Mutaş'ın tez çalışmasında¹⁵⁰ da genişletme öncesi genişlik verilerine yer verilmediği için karşılaştırma yapılamamaktadır. Öztürk ve ark.'nın¹⁵³ sagittal suturada genişletme modeli uyguladıkları çalışmalarında başlangıç değeri olarak sagittal kemikte açılan standart delikler arası mesafe ölçüldüğü için çalışmamızdaki gibi anatomik farklılıklara bağlı T0 değerlerimizde gördüğümüz istatistiksel anlamlı fark bu çalışmada görülmemektedir.

T1 zamanındaki genişlemiş sutural mesafe ölçümüne bakıldığında tüm grupların benzer değerlerde olduğu gözlenmektedir ve T1 değerleri arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamaktadır. T1 döneminde, ekspansiyon miktarını gösteren artmış kesici dişler arasındaki mesafelerin tüm gruplarda birbirine yakın değerlerde olduğu gözlenmektedir (ÇA-T1:1,11 mm, ÇB-T1:1,08 mm, KA-T1:1,07 mm, KB-T1:1,01 mm). T0'daki anlamlı farka rağmen T1 zamanında gruplar arası incelemede istatistiksel anlamlı fark olmaması, tüm gruplarda yapılan genişletme uygulaması ile elde edilen genişlemiş mesafenin anlamlı fark olmayacak şekilde benzer olduğunu göstermektedir. Tüm gruplar benzer genişlik mesafesi ile pekiştirme ve nüks dönemine geçmiştir. T2 zamanındaki ölçümlerde de gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmaması T1-T2 döneminde tüm gruplarda benzer minimal nüks olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızdaki genişletme sonrası T1 ve 15 gün pekiştirme sonrası T2 değerleri gibi, Öztürk'ün çalışmasındaki¹⁵³ genişletme sonrası ve pekiştirme sonrası değerlerde de anlamlı fark bulunmamıştır. Öztürk'ün çalışmasındaki sonuçlarla çalışmamız benzerlik göstermektedir. Mutaş'ın tez çalışmasındaki¹⁵⁰ T1 ve T2 zamanlarındaki genişlik ölçümleri arasında da sayısal azalmaya rağmen anlamlı fark olmaması, çalışmamızdaki verilerle uyumluluk göstermektedir.

T3'te görülen anlamlı farka ikili karşılaştırmalarda bakıldığında, i-TZF uygulanan ve uzun dönem pekiştirme yapılan ÇA grubu ile i-TZF uygulanmayan ve kısa dönem pekiştirme yapılan KB grubu arasında gözlenen fark beklenen bir bulgudur. ÇA grubunda genişletme ile elde edilen değer deney sonuna kadar devam ettirilen pekiştirme uygulamasıyla korunmuş ve i-TZF uygulaması ile birlikte yeni oluşan kemik dokusunun olgunlaşması hızlandırılmıştır. T3 zamanında i-TZF uygulanan ve kısa dönem pekiştirme yapılan ÇB grubu ve i-TZF uygulaması yapılmayan ve kısa dönem pekiştirme yapılan KB grupları arasında gözlenen istatistiksel anlamlı fark, her iki grubun da pekiştirme

dönemine erken son verilmiş olsa da, ÇB grubuna i-TZF uygulanmasının yeni kemik doku oluşumunu hızlandıran olumlu etkisine bağlı olduğu düşünülmektedir. Uzun dönem pekiştirme yapılan KA ve kısa dönem pekiştirme yapılan KB grupları arasında görülen anlamlı fark, KB grubunda pekiştirmeye erken son verilmesinden kaynaklanmaktadır. Bu durum T3 zamanında KA grubunun dişler arası mesafesinin KB grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha fazla olmasını açıklamaktadır. KA ile i ÇB grupları arasında istatistiksel anlamlı fark gözlenmemektedir. Gruplar arasındaki bu benzerlik; i-TZF uygulaması yapıp, nüks takibi için pekiştirme dönemine erken son verilen ÇB grubunun T3 verilerinin, deney sonuna kadar pekiştirme yapılan fakat i-TZF uygulanmayan KA grubu T3 verileri ile benzer olduğunu göstermektedir. Bu durumda i-TZF'nin yeni kemik oluşumuna ve olgunlaşmasına, ve pekiştirmeye olumlu katkı sağladığı söylenebilir.

Varela ve ark.²⁰⁰ yaptıkları çalışmada i-TZF'nin sahip olduğu 3 boyutlu fibrin ağı, zengin trombosit, lökosit ve büyüme faktörü içeriği sayesinde sert doku iyileşmesini stimüle etmek amaçlı kullanılabilecek bir madde olduğunu belirtmişlerdir. Wang ve ark.'nın²⁰³ çalışmasında ise i-TZF'nin osteoblastik aktiviteyi; hücre göçü, proliferasyonu ve diferansiyonu aşamalarında önemli ölçüde etkilediğini ve böylece hücresel aktiviteyi ve kemik doku turn-over'ını uyarma yönünde olumlu etkisi olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızdaki bulgular da i-TZF'nin osteoblastik hücre aktivitesi ve kemik metabolizması üzerindeki olumlu etkilerini destekler niteliktedir.

Nüks oranının KIBT bulgularına göre gruplar arasında değerlendirilmesi (Tablo 4-4)

Çalışmamızda nüks takibi yapılabilmesi amacıyla farklı zaman aralıklarında alınan KIBT görüntüleri üzerinde yapılan dişler arası mesafe ölçümleri kullanılmıştır. Nüks miktarının değerlendirilebilmesi amacıyla literatürde sıklıkla nüks oranı hesaplanması için kullanılan formül, çalışmamız koşullarına göre modifiye edilmiştir. T0'dan T1'e meydana gelen genişletmenin, deney sonundaki T3 döneminde, T0 değerine ne kadar geri döndüğünü değerlendirebilmek amacıyla nüks oranı formülü $((T3-T1)/(T1-T0)) \times 100$ kullanılmıştır. Literatürde (Deney sonu-Pekiştirme sonu)/(Pekiştirme sonu-başlangıç) zamanlarındaki farkların birbirine oranı olarak karşımıza çıkan nüks oranı formülü^{124,153} çalışmamızda (Deney sonu-genişletme sonu)/(Genişletme sonu-başlangıç) zamanlarındaki farklılıkların oranlanacağı şekilde modifiye edilmiştir. Bu değişikliğin sebebi ise, T1-T2 zamanında tüm gruplarda uygulanan pekiştirme dönemi sırasında nüks

yönünde bir değişim gözlenmiş, bu değişim bazı gruplarda istatistiksel anlamlı farka sebep olmuştur. Çalışmamızda T1-T2 zamanında görülen retansiyon prosedüründen kaynaklı nüks, bu formülde değişiklik yapılması ihtiyacını doğurmuştur. Genişletme sonundan deney sonuna kadar olan zaman aralığında görülen total nüks miktarı, elde edilen genişliğe oranlanarak hesaplama yapılmıştır.

i-TZF uygulanan ve uzun dönem pekiştirme yapılan ÇA grubu %22,7 ile tüm gruplar arasındaki istatistiksel anlamlı olarak en düşük nüks oranına sahiptir. En fazla nüks oranı ise %63,71 ile i-TZF uygulanmayan ve pekiştirme dönemine erken son verilen KB grubunda görülmüştür. KB grubunda, nüks oranının en fazla olması beklenen bir sonuçtur. Bu iki grup arasındaki istatistiksel anlamlı fark kuvvetlidir. Bu bulgu, hem pekiştirme aygıtının yeterli sürelerde uygulanması, hem de i-TZF uygulanması sayesinde kemik oluşumunun desteklendiğini ve bu sayede en stabil tedavi sonucuna erişilebileceğini göstermektedir.

i-TZF uygulanan ÇA ile ÇB ve i-TZF uygulanmayan KA ile KB gruplarının nüks oranları karşılaştırıldığında görülen istatistiksel anlamlı fark, ÇB ve KB gruplarının pekiştirme dönemine erken son verilirken, ÇA ve KA gruplarındaki uzun süreli pekiştirme dönemi yapılmış olması ile açıklanmıştır.

Uzun dönem pekiştirme yapılan ÇA (%22,7) ile KA (%40,03) ve kısa dönem pekiştirme yapılan ÇB (%48,34) ile KB(%63,71) grupları arasında nüks oranı değeri açısından istatistiksel anlamlı bir fark bulunmasa da, i-TZF uygulanan ÇA ve ÇB gruplarının nüks oranları ikili karşılaştırıldıklarında KA ve KB gruplarının nüks oranlarına göre sayısal olarak daha düşüktür. ÇA ve KA gruplarının her ikisinde de uzun dönem pekiştirme uygulanmasına karşın, ÇA grubunda i-TZF uygulanmasının bir sonucu olarak kemik oluşumunun desteklendiği, bu sayede daha düşük nüks oranı bulunduğu düşünülmektedir. Pekiştirme dönemlerine erken son verilen ÇB ve KB grupları arasında ise i-TZF uygulanan ÇB grubunda sayısal olarak daha az nüks oranı görülmesine rağmen iki grup arasında istatistiksel fark bulunmamaktadır. Sayısal olarak gözlenen farka rağmen anlamlı fark olmaması, mekanik pekiştirmenin kemik oluşumunu uyaran i-TZF uygulamasına rağmen önem taşıdığını göstermektedir. Bununla birlikte ÇB ve KA grupları arasında istatistiksel anlamlı fark gözlenmemektedir. Bu durum pekiştirme aygıtı ile genişletme bölgesinin fiziksel olarak korunması (KA) ile kısa süreli

pekiştirmeye ek olarak i-TZF uygulaması (ÇB) yapılmasının birbirine hemen hemen alternatif oluşturabileceğine işaret etmektedir.

Pirmoradian ve ark.'nın¹⁵⁶ sıçanlarda düşük seviye lazer terapinin genişletilen sutura bölgesindeki yeni kemik oluşumuna etkinliğini inceledikleri çalışmasında tüm deney gruplarında uzun dönem pekiştirme (30 gün) ve uzun dönem nüks takibi (28 gün) yapılmıştır. Düşük seviye lazer uygulaması genişletme dönemi boyunca iki günde bir sıklıkta uygulanmıştır. Nüks döneminden itibaren yapılan ölçümler haftalık aralıklarla dijital kumpas ile yapılmıştır (Pekiştirmenin sonu itibarıyla 7.gün(T1), 14.gün (T2), 21.gün (T3), 28.gün (T4)). Uzun süreli takip boyunca ara safhada sakrifiye edilen grup olmadığı gibi, deney süresinin uzunluğuna bağlı olduğu düşünülerek histolojik bulgulara da yer verilmemiştir. T1'de lazer uygulanan grupta(P) %10, lazer uygulanmayan grupta (R) %12, T2'de P grubunda %14, R grubunda %24 olarak bildirilmiştir. Deney sonunda toplam nüks oranı P grubunda %22 iken, R grubunda %36 nüks oranı görülmüştür. Nüks oranı incelendiğinde nüks takibi yapılan dönem boyunca nüks hızının lazer uygulanan grupta istatistiksel anlamlı olarak daha yavaş olduğu gözlenirse de, total nüks miktarı açısından kontrol ve çalışma grupları arasında anlamlı fark olmadığı bildirilmiştir. Çalışmamızda nüks hızı değerlendirilmemiş olup deney sonu toplam nüks, nüks oranı şeklinde hesaplanmış ve değerlendirme yapılmıştır. Pirmoradian ve ark.'nın çalışmasının aksine çalışmamızda uzun dönem pekiştirme ve i-TZF yapılan grupta istatistiksel anlamlı olarak en az nüks oranı gözlenirken, pekiştirmeye erken son verilen gruplarda i-TZF uygulanan grubun nüks oranı sayısal değerleri, i-TZF uygulanmayan gruba göre daha az bulunmuştur.

Farhadian ve ark.⁶⁷ yaptıkları çalışmada RME modeli uyguladıkları sıçanlarda diyet suyuyla birlikte verilen sistemik C vitamininin kemik oluşumuna etkisini incelemişlerdir. Pekiştirme ve nüksün de değerlendirildiği çalışmada ara safhalarda (G1-3.gün, G2-9.gün, G3-17.gün) sakrifiye edilen gruplarla deney boyunca bölgedeki histolojik değişiklikler takip edilmiştir. Sakrifikasyon günlerine göre G1, G2, G3 gruplarına ayrılan sıçanlar C vitamini uygulanan çalışma ve uygulanmayan kontrol alt gruplarına ayrılmıştır. Sutural genişleme miktarının da histolojik kesitler üzerinde ölçüldüğü çalışmada, yapılan histolojik incelemeler ile osteogenezin başlangıç safhasında C vitaminin pozitif bir etkisi olduğu görülürken, daha geç dönemde (9.günden sonra) C vitaminin yeni kemik oluşumunu kötü etkilediği bildirilmiştir. Genişlik ölçümleri

arasındaki karşılaştırmada mesafenin en fazla olduğu gruplar G1 iken, nüks takibi amacıyla 9.günden itibaren pekiştirme dönemine son verilen G3 gruplarında en düşük mesafe ölçümleri gözlenmiştir ($G2 > G1 > G3$). G1 grubu 3 gün, G2 grubu 9 günlük genişletme sonrası sakrifiye edilmiş, G3 grubunun genişletme apareyi ise 9. Günde çıkarılarak devam eden 8 gün boyunca nüks takibi yapılmıştır. G3 gruplarında C vit uygulanan alt grup da dahil, en az sutural genişlik ölçümüne sahip olması sutural genişliğin neredeyse başlangıç ölçümüne geri döndüğünü göstermektedir. Çalışmamızdan farklı olarak Farhadian ve ark. sutural genişlik mesafesi ölçümü için ara safhalarda sakrifiye ettikleri hayvanlardan elde ettikleri histolojik kesitler üzerinde ölçüm yapmışlardır. Nüks değerlendirmesi için de bu ölçümlerden elde ettikleri verileri sayısal olarak yorumlamış, herhangi bir oran hesabı yapmamışlardır. Çalışmamızdaki pekiştirme dönemine erken son verilen gruplarda daha fazla nüks oranı gözlenmesi bulgusu, Farhadian ve ark.'nın çalışmasında da görülmektedir. Pekiştirme dönemine erken son verilen G3 gruplarında, C vitamini uygulanan ve uygulanmayan alt gruplarda daha fazla nüks gözlenmiştir. Ayrıca C vitamini uygulanmayan ve kısa dönem pekiştirme yapılan G3 alt grubunda, çalışmamızdaki i-TZF uygulanmayan ve kısa dönem pekiştirme yapılan KB grubunda görülen %63'lük nüks oranına benzer şekilde genişlik ölçümü değerinin başlangıç değerine yüksek oranda döndüğü bildirilmiştir.

Öztürk ve ark.'nın¹⁵³ sıçanlarda, sagittal suturada genişletme modeli uyguladıkları çalışmalarında bifosfonatın kemik oluşumuna etkisi incelenmiş, pekiştirme ve nüks takibi yapılmıştır. Bu çalışmada nüks oranı için farklı zamanlarda alınan ölçümler arası farkın belirlenmesi amacıyla kullanılan formül, çalışmamızda da nüks oranı tespiti için modifiye edilerek kullanılmıştır. Nüks oranları değerlendirildiğinde ise istatistiksel anlamlı farkla en düşük çıkan grup; bifosfonat uygulanan grup olarak belirtilmiştir. En fazla nüks %43 ile 7 gün pekiştirmede beklenen, etken madde verilmeyen grupta gözlenirken, en az nüksün ise %13,33 ile bifosfonat verilen ve 7 gün pekiştirmede beklenen grupta olduğu gözlenmiştir. Bifosfonat uygulanan grupta sadece 7 gün pekiştirme uygulanmış olmasına rağmen 14 gün pekiştirme uygulanan kontrol grubuna (%38,66) göre daha az nüks gözlenmiştir. Çalışmamızda da benzer şekilde, en az nüks oranı i-TZF uygulanan ve uzun dönem pekiştirme yapılan grupta ve en fazla nüks kısa dönem pekiştirme yapılan ve i-TZF verilmeyen kontrol grubunda gözlenmiştir.

Lai ve ark.'nın¹²⁴ sıçanlarda interparietal suturada genişletme modeli oluşturdukları çalışmada genişleyen sutura bölgesine Bone Morfogenetik Protein (rhBMP) ve emilebilir kollajen sünger (absorbable collagen sponge- ACS) uygulayarak bölgedeki kemik oluşumunu uyarmayı hedeflemişlerdir. Genişleme miktarı genişleme öncesi, sonrası ve nüks sonrası zamanlarda dijital kumpas ile ölçülmüş, nüks miktarı çalışmamızdaki gibi bir formül uygulanarak hesaplanmıştır. Genişletme apareyi cerrahi bir operasyonla pariyetal kemiklerde açılan delikler üzerinden uygulanmıştır. Açılan bu delikler arası mesafe araştırmacı tarafından standardize edilmiştir. Bu delikler arası mesafe ölçümü aparey uygulanmadan önce (0.gün-C), genişletmeden hemen sonra, apareyin çıkarıldığı seans(21.gün-A) ve deney sonu(28.gün-B) olmak üzere 4 farklı zamanda yapılmıştır. Bu zamanlarda yapılan ölçüm verileri direkt paylaşılmamış, B-C ve B-A verileri ve nüks oranları gruplar arası karşılaştırılmıştır. Nüks oranı en düşük grubun rhBMP uygulanan grup olduğu bildirilmiştir. Bu veriler çalışmamız bulgularıyla uyumluluk göstermektedir.

Guo ve ark'.nın⁸⁶ sıçanlarda RME modeli oluşturdukları çalışmalarında, bölgedeki kemik oluşumunu uyarmak ve nüks miktarını azaltmak amacıyla uyguladıkları mononükleer hücre transplantasyonu kemik oluşumunu uyarmada etkili bulunmuştur. Bu çalışmada da çalışmamıza benzer şekilde nüks takibi için pekiştirme dönemine erken son verilen gruplar mevcuttur. Suturaadaki genişliğin ölçümü için her sıçanda 3 farklı intermolar mesafeden yapılan ölçümler dijital kumpas ile yapılmıştır. Bu ölçüm sadece deney sonunda yapılmış, ortalama posterior genişlik hesaplaması yapılabilmesi için 3 farklı intermolar mesafeden tekrar gerçekleştirilmiş ve sutural genişleme miktarı hesaplanmıştır. Bölgedeki genişlik mesafesinin ölçümü ve kemik oluşumunun değerlendirilmesi için histolojik incelemelerden yararlanılmıştır. Deney sonu yapılan genişlik ölçümlerinde en yüksek genişlik ölçümü mononükleer hücre transplante edilen ve pekiştirme yapılan grupta gözlenmiştir. Transplantasyon yapıp nüks takibi amacıyla pekiştirme dönemine son verilen grupta ise transplantasyon yapılmayıp nükse bırakılan gruba göre genişlik mesafesi anlamlı olarak fazla bulunmuştur. Çalışmamızdan farklı olarak ara safha verileri olmayan ve sadece deney sonu genişlik mesafesi ölçümleri ile nüks miktarının hesaplandığı bu çalışmanın bulguları, çalışmamıza ait verilerle benzerlik göstermektedir.

En iyi stabilitenin uzun dönem pekiştirme ile birlikte i-TZF uygulanan grupta (ÇA) görülmesi, kemik oluşumunu uyaran ve pekiştirmeyi hücresele düzeyde destekleyen uygulamalar yapılsa da mekanik pekiştirmenin önemini kanıtlamaktadır. Bu çalışmada, uzun pekiştirme döneminde elde edilen genişliğin korunabilmesi amacıyla daha rijid bir pekiştirme aпаратыne ihtiyaç olduğu görülmüştür. Takip süresinin uzun olması sebebiyle günlük kontrollerde pekiştirme aпаратыnın yerinde olmasının sağlanması üzerinde titizlikle durulmuş olsa da, tüm gruplarda minimal nüks gözlenmiştir.

Kemik mineral yoğunluğunun (BMD) Mikro BT bulgularına göre gruplar arası değerlendirilmesi (T3)

BMD değerlerinin gruplar arası karşılaştırmasında i-TZF uygulanan çalışma gruplarının kemik yoğunlukları, i-TZF uygulanmayan kontrol gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Yeni kemik oluşumu uyarmak için i-TZF uygulanan ÇA ve ÇB gruplarının ikili karşılaştırmasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamaktadır. Ancak sayısal değerlere bakıldığında ÇB grubunun ortalama BMD değerinin ÇA grubuna göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu fark, ÇB grubunda kısa dönem pekiştirme sonunda gerçekleşen nüks sonucu, bölgedeki kemiksel aktivitenin tamamlanıp olgun kemiğe geçiş sürecinin daha hızlı tamamlanmasına bağlanmıştır. Uzun süreli pekiştirme uygulanan ÇA ile KA gruplarının BMD değerleri arasında ÇA grubunun kemik yoğunluğu değeri istatistiksel anlamlı olarak daha yüksektir. Bu anlamlılık, ÇA grubuna yapılan i-TZF uygulamasının genişletilen sutura bölgesindeki yeni kemik oluşumu ve kemiğin olgunlaşma hızını olumlu etkilediğini göstermektedir. Her iki grupta da uzun dönem pekiştirme yapılmış olmasına rağmen KA grubunun BMD değerleri ÇA grubuna göre anlamlı olarak daha düşüktür. ÇA grubunun BMD değerleri, KB grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksektir. KB grubunda pekiştirme dönemine erken son verilmiş ve i-TZF uygulanmamış olması sebebiyle bu beklenen bir durumdur. ÇB ile KA grupları arasında BMD değerleri açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmamaktadır. Kısa dönem pekiştirme yapılan ve i-TZF uygulanan ÇB grubunun BMD değerlerinin, uzun dönem pekiştirme yapılan KA grubundan anlamlı şekilde fazla olduğu görülmektedir. Bu durum bize i-TZF uygulamasının yeni kemik oluşumunu ve kemiğin olgunlaşma hızını arttırdığını düşündürmektedir. KA ve KB gruplarının BMD değerleri arasında anlamlı fark bulunmamaktadır. Pekiştirme sürelerinin farklı olmasına rağmen KA ve KB gruplarının BMD değerlerindeki benzerlik ve BMD değerlerinin i-TZF uygulanan ÇA ve

ÇB gruplarından istatistiksel anlamlı olarak daha düşük olması, genişletme sonrasındaki kemiksel turn-over'ın hala devam ettiğini ve daha uzun süreli pekiştirmeye ihtiyaç olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

Mohaghegh ve ark.¹⁴⁴ genişletilen sutura bölgesindeki kemik oluşumuna etkinliğini incelemek amacıyla sıçanlarda RME uygulaması sonrası 21 günlük pekiştirme döneminde mezenkimal kaynaklı kök hücre ve düşük seviye lazer terapi uygulamışlardır. Mezenkimal kaynaklı kök hücre, genişleyen sutura bölgesine enjekte edilmiştir. Uygulamanın kemik oluşumu üzerindeki etkinliğini incelemek için yapılan Mikro BT incelemesinde kök hücrelerin lazerle birlikte uygulandığı grupta kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak en fazla kemik yoğunluğu değerini gösterdiğini bildirmişlerdir. Öztürk ve ark.'nın¹⁹⁷ çalışmasında sıçanlarda sistemik bifosfonat uygulamasının genişletilen sagittal sutura bölgesindeki kemik metabolizmasına etkinliği değerlendirilmiştir. Kemik yoğunluğu ölçümlerinde istatistiksel anlamlı olarak en fazla kemik yoğunluğunun bifosfonat uygulanan grupta olduğu bildirilmiştir. Mutaf'ın tez çalışmasında¹⁵⁰ tavşanlarda RME sırası ve sonrasında TZP uygulanmış ve BT görüntüleri üzerinde yapılan ölçümlerde en fazla kemik yoğunluğu değerleri iki defa TZP enjeksiyonu yapılan deney grubunda gözlenmiştir. Çalışmamızda da en yüksek kemik mineral yoğunluğu değerleri iki defa i-TZF enjeksiyonu yapılan çalışma gruplarında görülmüştür.

Koca ve ark.¹¹⁷ sıçanlarda anterior bölgede genişletme uyguladıkları ve genişletilmiş sutura bölgesine farklı dozlarda sistemik (aralıklı ve sürekli) teriparatid (pTH hormonu türevi) uyguladıkları çalışmalarında bölgedeki kemik mineral yoğunluğunu değerlendirmek amacıyla Mikro BT incelemelerinden yararlanmışlardır. 5 günlük RME döneminin ardından 12 günlük pekiştirme dönemi uyguladıkları ve deneyi sonlandırdıkları çalışmalarında, deney sonu kurban edilen hayvanlardan alınan Mikro BT görüntüleri değerlendirilmiştir. BMD değeri istatistiksel anlamlı fark ile en yüksek olan grup aralıklı dozlarda teriparatid uygulanan grup olarak gözlenmiştir. Bu çalışmada da BMD değeri istatistiksel anlamlı fark ile en yüksek çıkan grubun sutural genişlik değeri en düşüktür. BMD değeri yüksek çalışma gruplarında sutural genişlik ölçümlerinin düşük çıkmasının bölgedeki yeni kemiğin olgun kemiğe dönüşme sürecinin diğer gruplardan daha erken tamamlandığı şeklinde yorumlanmıştır. Koca ve ark.'nın bu bulguları çalışmamız verileriyle benzerlik göstermektedir.

TZF'nin genişleyen suturadaki yeni kemik oluşumuna etkisini inceleyen bir çalışmaya literatürde rastlanmasa da TZF ve i-TZF'nin kemik oluşumuna etkisini inceleyen çalışmalar mevcuttur. i-TZF'nin kemik oluşumunu uyarıcı ve kemik yoğunluğunu artırıcı etkisini gösteren cerrahi, periodontoloji ve ortodonti alanında çeşitli çalışmalar mevcuttur.

Distraksiyon osteogenezisinde ayrılmış kemik bölümleri arasında oluşan kallus adı verilen tamir dokusuna dereceli gerilim uygulanarak, bu gerilimin kallus dokusu üzerinde stres oluşturması sayesinde yeni kemik oluşumu uyarılmaktadır. Kemikte meydana gelen yaralanma ya da uygulanan osteotomi sonucunda kemik rejenerasyonu başlatılıp, aktiflenen büyüme faktörleri sayesinde primer hücreler preosteoblastlara ve ardından osteoblastlara dönüşmesi yönünde etki göstermektedirler. Ortodontik tedavi açısından değerlendirildiğinde genişletme bölgesindeki kemik dokulara germe ve sıkıştırma tipinde kuvvetler uygulanıyor olması distraksiyon osteogenezi ile benzer uygulamalardır. Pripatnanont ve ark.'nın¹⁵⁸ çalışmasında ise araştırmacılar tavşan mandibulasında distraksiyon osteogenezi (DO) modeli oluşturup, operasyon esnasında bölgeye uygulanan TZF'nin kemik oluşumuna etkisini incelemişlerdir. Mikro BT incelemesinde istatistiksel anlamlı olarak en iyi yeni kemik oluşumunun 4 hafta konsolidasyonda beklenen DO ve TZF grubunda olduğunu bildirmişlerdir.

Acar ve ark.⁸⁴ tavşan kafa kubbesinde kritik boyutta defekt oluşturup TZF ve kemik oluşumunu uyarıcı diğer çeşitli materyalleri uygulamışlardır. 4 ve 8 haftalık takip sürelerine göre alt gruplara ayrılan çalışma gruplarının deney sonu alınan Mikro BT görüntüleri ile yeni kemik hacmi değerlendirilmiştir. 4.ve 8.haftalardaki kemik hacmi değerleri; greft+TZF uygulanan grupta; kontrol, sadece TZF ve sadece greft uygulanan gruplara göre istatistiksel anlamlı farkla yüksek bulunmuştur. Sadece greft ve sadece TZF uygulanan gruplarda istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır.

Aydinyurt ve ark.'nın¹⁴ sıçanların molar dişlerinde deneysel olarak oluşturulmuş periodontitis modelinde, i-TZF'nin subgingival enjeksiyonunun bölgedeki inflamasyona, kemik hacmi ve yoğunluğuna etkisini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Bu amaçla sadece periodontal tedavi (1.grup), periodontal tedavi + i-TZF enjeksiyonu (2.grup) ve sadece i-TZF enjeksiyonu (3.grup) yapılan deney grupları oluşturmuşlardır. Çalışma sonucunda kemik yoğunluğu değerleri sırasıyla en yüksek değerler sadece i-TZF uygulanan 3.grupta, sonra i-TZF ile periodontal tedavi uygulanan grupta gözlenirken en

düşük kemik yoğunluğu değerleri sadece periodontal tedavi uygulanan grupta gözlenmiştir.

Ortodonti alanındaki çalışmalara bakıldığında ise Erdur ve ark.⁶⁴ ve Karcı ve ark.³⁰ yaptıkları split mouth olarak dizayn edilmiş klinik çalışmalarda kanin distalizasyonu aşamasında i-TZF'nin diş hareketini hızlandırıcı yöndeki etkisi incelenmiş, i-TZF uygulanan gruplarda olumlu yönde istatistiksel anlamlı farklar bulunmuştur. Erdur ve ark.⁶⁴ çalışmasında diş hareketini gösteren MMP-8, IL-1β, RANKL ve OPG mediatörlerine dişeti oluşu sıvısında (DOS) bakılmış ve i-TZF'nin diş hareketini hızlandırdığına yönelik bulgular DOS sıvısındaki markerlarla da desteklenmiştir. Seyman'ın 2018 yılında yaptığı yayınlanmamış klinik tez çalışmasında¹⁷⁵ ise i-TZF genişletme tedavisi uygulanan hastalara palatal bölgeye enjekte edilerek bölgedeki yeni kemik oluşumuna etkisini incelemek amaçlanmıştır. 3 hafta boyunca uygulanan aktif RME döneminde 7 günde bir, toplam 3 defa olmak üzere i-TZF sutura boyunca anteriordan posteriora enjekte edilmiştir. 5 haftalık pekiştirme süresinin sonunda (deney başlangıcından itibaren 8.haftada) KIBT görüntüleri alınmış ve i-TZF'nin etkinliği sadece bu yöntemle incelenmiştir. i-TZF'nin SPM'deki kemik yoğunluğunu artırdığını ancak farkın anlamlı olmadığı sonucunu bildirmişlerdir. Çalışmamızın gereç ve yöntemi ile benzerliği olmayan yukarıdaki çalışmalarla bir karşılaştırma yapılamamıştır.

Sutural genişliğin Mikro BT bulgularına göre değerlendirilmesi

Mikro BT ölçümlerinin değerlendirilmesinde dişler arası mesafe ölçümü olan D1 ölçümünde sadece ÇA-KB grupları arasında istatistiksel anlamlı fark gözlenmekte, diğer ikili karşılaştırmalarda dişler arası mesafe ölçümünde anlamlı fark bulunmamaktadır. Uzun dönem pekiştirme yapılan ve i-TZF uygulanan ÇA grubu ile kısa dönem pekiştirme yapılan ve i-TZF uygulanmayan KB grubu arasındaki dişler arası mesafe ölçümü farkı yapılan uygulamaların farklılığı sebebiyle beklenen bir bulgudur. D1 ölçümünde KIBT bulgularından farklı olarak diğer gruplar arasında anlamlı fark olmaması; bu ölçümün dişlere bağlı bir parametre olması ve ölçümün yapıldığı düzlem seviyesinin iki teknik arasında değişebilme ihtimaline bağlanmıştır.

Genişletilen suturada anteriordan posteriora doğru seçilen 3 noktadan yapılan ölçümlerin ortalaması alınarak yapılan sutural genişlik ölçümü değerlerinde ise ÇA-KB, ÇB-KB, KA-KB grupları arasında istatistiksel anlamlı fark gözlenmiştir. Mikro BT

ölçümleri ile yapılan değerlendirmeler, her iki incelemenin de deney sonu T3 zamanında yapılmış olması nedeniyle T3-KIBT bulguları ile karşılaştırılmıştır. Yapılan karşılaştırmada Mikro BT verileri ile KIBT verileri uyumluluk göstermektedir. Kemik doku ölçümlerinde radyolojik görüntüleme yöntemleri arasında Mikro BT incelemelerinin altın standart olduğu bilinmektedir.⁷¹ Altın standart olarak kabul edilen Mikro BT bulguları ile, ara safhalarda tekrarlanabilir ve non-invaziv olması sebebiyle tercih edilen KIBT görüntülerinin sağlaması yapılmış ve verilerin benzerlik gösterdiği görülmüştür.

Koca ve ark.'nın ¹¹⁷ genişleyen sutura bölgesine farklı dozlarda teriparatid (pTH hormonu türevi) uyguladıkları çalışmalarında 5 gün RME uygulaması ardından 12 gün pekiştirme uygulayıp deney sonu materyalleri Mikro BT ile incelemişlerdir. Mikro BT'deki sutural genişlik ölçümü bulgularında, istatistiksel anlamlı olarak en fazla sutural genişliğe sahip grubun sadece genişletme yapılan grupta olduğu bildirilirken, en az sutural genişliğe sahip grup ise BMD değeri en yüksek olan teriparatid grubudur. Çalışmamızdan farklı olarak nüks takibi yapılmayan bu çalışma ile birebir karşılaştırma yapılamamaktadır. Bununla birlikte literatürde Mikro BT görüntülerinde sutural genişlik ölçümü yapan farklı çalışmalara da rastlanmamış ve karşılaştırma yapılamamıştır.

5.3.2. Histolojik Bulgular

Çalışmamızda ait histolojik bulgular, deney sonu 35.günde tüm deney hayvanlarının sakrifiye edilmesi sonucu elde edilen kesitler incelenerek elde edilmiştir. 5 günlük aktif RME döneminden sonraki 35.günde yapılan incelemede sutural bölgede yeni oluşan kemik olgunlaşmıştır. Kemik apozisyon-repozisyon izleri olarak da ifade edebileceğimiz Retzius çizgileri üzerinden suturanın yer değiştirdiği gözlenmiştir. Hücresel faaliyetin sona ermiş olması sebebiyle buna yönelik incelemeler yapılamamıştır.

Literatüre baktığımızda hücresel düzeyde veri elde edilen çalışmalarda ise 5-7 günlük RME döneminin ardından, 10-15 günlük pekiştirme yapıldığı gözlenmektedir.^{39,67,110,117} Toplam deney süresi 15-20 gün arası değişen çalışmaların bazılarında ara safhalarda sakrifikasyon grubu oluşturulmuş, bazılarında ise sadece deney sonu histolojik kesitler elde edilmiş ve değerlendirmeler yapılmıştır. Toplam takip süresi sutural bölgedeki kemik oluşumunun tamamlanmasından önce bitirilecek şekilde planlanan bu çalışmalar, hücresel düzeyde inceleme yapılması için daha uygun kesitler elde edilmesini sağlamıştır. Sutural genişletme sonrası histolojik olayların kronolojik

sıralanmasına bakıldığında, 3. günden itibaren hücrel aktivite başlamakta ve 7. günden itibaren de kemik oluşumu osteoblastlarca başlatılmaktadır.³⁴ 14.günden itibaren fibröz doku ile dolmaya başlayan sutural bölgede kemikleşmenin, bölgede dengeye ulaşıncaya kadar devam ettiği bilinmektedir.⁹³

Çalışmamıza ait histolojik kesitler kemikleşmenin geç dönemine ait veriler olup, genişleyen sutura bölgesindeki hücrel aktivitenin tespiti bu seviyede mümkün değildir. Deney süresince ara dönemde sakrifiye edilen grupların olmaması sebebiyle, genişletme ve pekiştirme sonrası zamanlardaki değişiklikler, detaylı histolojik incelemeye tabii tutulamamıştır. Kesitlerimizde sutural bölgede eski sutural çizgilerin hayaleti gibi gözüken apozisyon-repozisyon çizgileri olan Retzius çizgilerine bakılarak suturanın kemik oluşumunun tamamlandığı ve hatta olgunlaştığı söylenebilir (Resim 4-1, 4-2). Pirmoradian ve ark.'nın çalışmasında¹⁵⁶ da çalışmamıza benzer şekilde, hatta daha uzun sürelerde pekiştirme ve nüks takibi yapılmıştır. Deney sonu ve ara safhalarda sakrifiye edilen gruplar bulunmamaktadır. Toplam takip süresinin uzun olması sebebiyle sadece kesici dişler arasındaki mesafe ölçümü parametresi üzerinden değerlendirme yapılmış ve histolojik incelemeye bu çalışmada yer verilmemiştir. Osteoblast sayısı, osteoklast sayısı, vaskülarizasyon artışı gibi histolojik değerlendirmelerin yapılabilmesi için ara dönemlerde sakrifikasyon gruplarının oluşturulacağı yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

5.4. Sonuç

- Uygulanan genişletme apareyi başarılı bir genişletme sağlamış ve tüm hayvanlarda premaksiller sutural genişletme elde edilmiştir (Ort 1,06 mm).
- Genişletme döneminin tamamlanmasının ardından bütün gruplarda pekiştirme yapılan T1-T2 dönemi arasında minimal nüks gözlenmiştir (Ort 0,11 mm).
- T2 zamanından sonra pekiştirmeye son verilen ÇB ve KB gruplarında T2-T3 döneminde görülen nüks, T2 zamanından sonra pekiştirmeye devam edilen ÇA ve KA gruplarından istatistiksel anlamlı olarak daha fazladır. (T2-T3: ÇB ort nüks miktarı: 0,22 mm; KB ort nüks miktarı: 0,3 mm; ÇA ort nüks miktarı: 0,07 mm; KA ort nüks miktarı: 0,09 mm)
- T3 zamanındaki KIBT ölçümlerinde dişler arası mesafelerinde en yüksek değer ÇA grubunda (ort 0,91 mm) görülürken, en düşük değer KB grubunda (0,61 mm) görülmüştür.
- T3 zamanında alınan Mikro BT görüntülerinde ölçülen sutural genişlik mesafelerinde, en yüksek sutural genişlik ÇA grubunda (ort 0,22 mm) görülürken, en düşük sutural genişlik KB grubunda (ort 0,11 mm) görülmüştür.
- Mikro BT görüntüleri üzerinden hesaplanan kemik mineral yoğunluğu (BMD) hesaplamalarında, istatistiksel anlamlı olarak en yüksek kemik mineral yoğunluğu değerleri i-TZF uygulanan ÇA (ort 0,77 mg/cm³) ve ÇB (ort 0,84 mg/cm³) gruplarında görülürken, i-TZF uygulanmayan KA (ort 0,59 mg/cm³) ve KB (0,59 mg/cm³) gruplarının BMD değerleri anlamlı olarak düşüktür. Bu bulgu i-TZF'nin kemik metabolizmasının hızlandırması ve yeni oluşan kemiğin olgunlaşmasına olumlu etkisini göstermektedir.
- KIBT görüntüleri üzerinden hesaplanan nüks oranı değerlendirmelerinde istatistiksel anlamlı olarak en az nüks oranı i-TZF uygulanan ve uzun dönem pekiştirme yapılan ÇA (%22,7) grubunda, en yüksek nüks oranı ise kısa dönem pekiştirme yapılan ve i-TZF uygulanmayan KB (%63,71) grubundadır.
- i-TZF uygulanan ve kısa dönem pekiştirme yapılan ÇB (%48,34) grubu nüks oranı ile i-TZF uygulanmayan ve uzun dönem pekiştirme yapılan KA (%40,03) grubu nüks oranları benzerdir. Bu grupların nüks oranlarının birbirine yakın olması, i-

TZF'nin sutura bölgesindeki kemik oluşumunu olumlu etkilediği ve uzun dönem pekiştirmeye alternatif olabileceği şeklinde yorumlanabilir.

Sonuç olarak i-TZF'nin genişleyen sutura bölgesine uygulanmasının kemik yoğunluğunu artırmada ve nüksü önlemede olumlu sonuç verdiği görülmüştür. i-TZF uygulaması tek başına mekanik pekiştirmeye alternatif bir yöntem olmasa da, bölgedeki yeni kemik oluşumunu ve oluşan kemiğin olgunlaşmasını hızlandırdığı düşünüldüğünden klinik uygulamalarda pekiştirme süresinin kısaltılması ve nüksün önlenmesine katkısı olabileceği düşünülmektedir.

i-TZF'nin farklı hazırlanma yöntemleri ile, farklı dozlarda uygulanarak kemik metabolizmasına etkisinin araştırıldığı yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu sebeple gelecekte ara safhalarda sakrifikasyon gruplarının olduğu, detaylı histolojik verilerle desteklenen hayvan çalışmalarının i-TZF'nin nüks üzerine etkinlik mekanizmasının anlaşılmasında katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Adkins MD, Nanda RS, Currier GF. Arch perimeter changes on rapid palatal expansion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1990;97(3):194-199.
2. Agrawal AA. Evolution, current status and advances in application of platelet concentrate in periodontics and implantology. *World J Clin cases*. 2017;5(5):159-171.
3. Akay MT. *Genel Histoloji*. Palme Yayıncılık; 2001.
4. Akyildiz S, Soluk-Tekkesin M, Keskin-Yalcin B, et al. Acceleration of fracture healing in experimental model: Platelet-rich fibrin or hyaluronic acid? *J Craniofac Surg*. 2018;29(7):1794-1798.
5. Al-Aql Z, Alagl A, Graves D, Gerstenfeld L, Einhorn T. Molecular mechanism controlling bone formation during fracture healing and distraction osteogenesis. *J Dent Res*. 2009;49(4):376-393.
6. Alyessary AS, Yap AUJ, Othman SA, Ibrahim N, Rahman MT, Radzi Z. Bone-borne accelerated sutural expansion: A microcomputed tomography study in rabbits. *Am J Orthod Dentofac Orthop*. 2018;154(2):260-269.
7. Andersen TL, Sondergaard TE, Skorzynska KE, et al. A physical mechanism for coupling bone resorption and formation in adult human bone. *Am J Pathol*. 2009;174(1):239-247.
8. Andreollo NA, Santos EF dos, Araújo MR, Lopes LR. Rat's age versus human's age: what is the relationship? *Arq Bras Cir Dig*. 2012;25(1):49-51.
9. Angell EC. Treatment of irregularities of the permanent or adult teeth. *Dent Cosm*. 1860;1:540-544.
10. Aras M, Erkilic S, Demir T, Demirkol M, Kaplan D, Yolcu U. Effects of low-level laser therapy on osteoblastic bone formation and relapse in an experimental rapid maxillary expansion model. *Niger J Clin Pract*. 2015;18(5):607.
11. Arndt W V. Nickel titanium palatal expander. *J Clin Orthod*. 1993;27(3):129-137.
12. Arnez MFM, Ribeiro LSN, Barretto GD, Monteiro PM, Ervolino E, Stuardi MBS. RANK/RANKL/OPG expression in rapid maxillary expansion. *Braz Dent J*. 2017;28(3):296-300.
13. Arvind Kumar S, Gurunathan D, Muruganandham, Sharma S. Rapid maxillary expansion: A unique treatment modality in dentistry. *J Clin Diagnostic Res*.

- 2011;5(4):906-911.
14. Aydinyurt HS, Sancak T, Taskin C, Basbugan Y, Akinci L. Effects of injectable platelet-rich fibrin in experimental periodontitis in rats. *Odontology*. 2020;(0123456789).
 15. Baccetti T, Franchi L, Cameron CG, McNamara JAJ. Treatment timing for rapid maxillary expansion. *Angle Orthod*. 2001;71(5):343-350.
 16. Baer MJ. Patterns of growth of the skull as revealed by vital staining. *Hum Biol*. 1954;26(2):80-126.
 17. El Bagdadi K, Kubesch A, Yu X, et al. Reduction of relative centrifugal forces increases growth factor release within solid platelet-rich-fibrin (PRF)-based matrices: a proof of concept of LSCC (low speed centrifugation concept). *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2019;45(3):467-479.
 18. Bench RW. The quad helix appliance. *Semin Orthod*. 1998;4(4):231-237.
 19. Betts NJ, Vanarsdall RL, Barber HD, Higgins-Barber K, Fonseca RJ. Diagnosis and treatment of transverse maxillary deficiency. *Int J Adult Orthodon Orthognath Surg*. 1995;10(2):75-96.
 20. Biederman W. A hygienic appliance for rapid expansion. *JPO J Pract Orthod*. 1968;2(2):67-70.
 21. Birlik M, Kazancioglu HO, Aydin MŞ, Aksakalli S, Ezirganli S. Effect of energy drink on bone formation in the expanded inter-premaxillary suture. *J Craniofac Surg*. 2017;28(1):285-289.
 22. Bishara SE. *Textbook of Orthodontics*. 1st ed. WB Saunders Company; 2001.
 23. Bishara SE, Staley RN. Maxillary expansion: clinical implications. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1987;91(1):3-14.
 24. Björk A, Skieller V. Growth of the maxilla in three dimensions as revealed radiographically by the implant method. *Br J Orthod*. 1977;4(2):53-64.
 25. Blair P, Flaumenthaft R. Platelet α -granules: Basic biology and clinical correlates. 2010;23(4):177-189.
 26. Bonewald LF. The amazing osteocyte. *J Bone Miner Res*. 2011;26(2):229-238.
 27. Borzini P, Balbo V, Mazzucco L. Platelet concentrates for topical use: bedside device and blood transfusion technology. Quality and versatility. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012;13(7):1138-1144.
 28. Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R. Bone biology. I: Structure,

- blood supply, cells, matrix, and mineralization. *Instr Course Lect.* 1996;45:371-386.
29. Caffesse RG, Quiñones CR. Polypeptide growth factors and attachment proteins in periodontal wound healing and regeneration. *Periodontol 2000.* 1993;1(1):69-79.
 30. Çağlı Karcı İ, Baka ZM. Assessment of the effects of local platelet-rich fibrin injection and piezocision on orthodontic tooth movement during canine distalization. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 2021;160(1):29-40.
 31. Cao X, Chen D. The BMP signaling and in vivo bone formation. *Gene.* 2005;357(1):1-8.
 32. Caprioglio A, Fastuca R, Zecca PA, et al. Cellular midpalatal suture changes after rapid maxillary expansion in growing subjects: A case report. *Int J Mol Sci.* 2017;18(3).
 33. Carlson NE, Roach RBJ. Platelet-rich plasma: clinical applications in dentistry. *J Am Dent Assoc.* 2002;133(10):1383-1386.
 34. Ten Cate AR, Freeman E, Dickinson JB. Sutural development: structure and its response to rapid expansion. *Am J Orthod.* 1977;71(6):622-636.
 35. Cesur MG, Gülle K, Şirin FB, et al. Effects of curcumin and melatonin on bone formation in orthopedically expanded suture in rats: A biochemical, histological and immunohistochemical study. *Orthod Craniofacial Res.* 2018;21(3):160-167.
 36. Chang HN, Garetto LP, Potter RH, Katona TR, Lee CH, Roberts WE. Angiogenesis and osteogenesis in an orthopedically expanded suture. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1997;111(4):382-390.
 37. Chang I-C, Tsai C-H, Chang Y-C. Platelet-rich fibrin modulates the expression of extracellular signal-regulated protein kinase and osteoprotegerin in human osteoblasts. *J Biomed Mater Res A.* 2010;95(1):327-332.
 38. Chaudhary Z, Kumar YR, Mohanty S, Khetrapal A. Amalgamation of allogenic bone graft, platelet-rich fibrin gel, and PRF membrane in auto-transplantation of an impacted central incisor. *Contemp Clin Dent.* 2015;6(2):250-253.
 39. Cheng Y, Lv C, Li T, et al. Palatal expansion and relapse in rats: A histologic and immunohistochemical study. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 2020;157(6):783-791. doi:10.1016/j.ajodo.2019.06.017
 40. Choukroun J. Advanced PRF & i-PRF: platelet concentrates or blood concentrates?

- J Periodont Med Clin Pr.* 2014;1.
41. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. Une opportunité en parodontologie: Le PRF. *Implantodontie.* 2001;42:55-62.
 42. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology.* 2006;101(3):56-60.
 43. Choukroun J, Ghanaati S. Introducing the Low-Speed Centrifugation Concept. *Platelet Rich Fibrin Regen Dent Biol Backgr Clin Indic.* Published online June 2, 2017:33-46.
 44. Choukroun J, Ghanaati S. Reduction of relative centrifugation force within injectable platelet-rich-fibrin (PRF) concentrates advances patients' own inflammatory cells, platelets and growth factors: the first introduction to the low speed centrifugation concept. *Eur J Trauma Emerg Surg.* 2018;44(1):87-95.
 45. Cleall JF, Bayne DI, Posen JM, Subtelny JD. Expansion of the midpalatal suture in the monkey. *Angle Orthod.* 1965;35(1):23-35.
 46. Cochran DL, Wozney JM. Biological mediators for periodontal regeneration. *Periodontol 2000.* 1999;19:40-58.
 47. Cohen M, Silverman E. A new and simple palate splitting device. *J Clin Orthod.* 1973;7(6):368-369.
 48. Cohen MMJ. Sutural biology and the correlates of craniosynostosis. *Am J Med Genet.* 1993;47(5):581-616.
 49. Croes M, Öner FC, van Neerven D, et al. Proinflammatory T cells and IL-17 stimulate osteoblast differentiation. *Bone.* 2016;84:262-270.
 50. Darendeliler MA, Lorenzon C. Maxillary expander using light, continuous force and autoblocking. *J Clin Orthod.* 1996;30(4):212-216.
 51. Datta HK, Ng WF, Walker JA, Tuck SP, Varanasi SS. The cell biology of bone metabolism. *J Clin Pathol.* 2008;61(5):577-587.
 52. Dellinger EL. A preliminary study of anterior maxillary displacement. *Am J Orthod.* 1973;63(5):509-516.
 53. Demling RH. The role of anabolic hormones for wound healing in catabolic states. *J Burns Wounds.* 2005;4:e2.
 54. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. *Oral*

- Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2006;101(3).
55. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic features. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2006;101(3).
 56. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: Leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates? *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2006;101(3).
 57. Dohan Ehrenfest DM, Del Corso M, Diss A, Mouhyi J, Charrier J-B. Three-Dimensional Architecture and Cell Composition of a Choukroun's Platelet-Rich Fibrin Clot and Membrane. *J Periodontol*. 2010;81(4):546-555.
 58. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol*. 2009;27(3):158-167.
 59. Dohle E, El Bagdadi K, Sader R, Choukroun J, James Kirkpatrick C, Ghanaati S. Platelet-rich fibrin-based matrices to improve angiogenesis in an in vitro co-culture model for bone tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med*. 2018;12(3):598-610.
 60. Doruk C, Bicakci AA, Basciftci FA, Agar U, Babacan H. A comparison of the effects of rapid maxillary expansion and fan-type rapid maxillary expansion on dentofacial structures. *Angle Orthod*. 2004;74(2):184-194.
 61. Downey PA, Siegel MI. Bone biology and the clinical implications for osteoporosis. *Phys Ther*. 2006;86(1):77-91.
 62. Duarte C, Kobayashi Y, Morita J, Kawamoto T, Moriyama K. A preliminary investigation of the effect of relaxin on bone remodelling in suture expansion. *Eur J Orthod*. 2017;39(3):227-234.
 63. Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton M. Platelet-rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery. *Plast Reconstr Surg*. 2006;118(6):147e-159e.
 64. Erdur EA, Karakaslı K, Oncu E, Ozturk B, Hakkı S. Effect of injectable platelet-rich fibrin (i-PRF) on the rate of tooth movement: A randomized clinical trial. *Angle Orthod*. 2021;91(3):285-292.
 65. Eren G, Atilla G. Trombositten Zengin Fibrinin Yumuşak ve Sert Dokuların İyileşme Mekanizmalarındaki Rolü. *Türkiye Klin JPeriodontal-Special Top*. 2017;3(3):122-128.

66. Esenlik E, Günaydin A, Findik Y. Segmental Corticotomy-Assisted Orthodontic Treatment With Platelet-Rich Fibrin Augmentation of Class III Anomaly. *J Craniofac Surg*. 2019;30(8):2565-2569.
67. Farhadian N, Miresmaeili A, Azar R, Zargaran M, Moghimbeigi A, Soheilifar S. Effect of dietary ascorbic Acid on osteogenesis of expanding midpalatal suture in rats. *J Dent (Tehran)*. 2015;12(1):39-48.
68. Feng G yao, Zou B shuang, Zeng X long. Comparative characterization of maxillary expansion and alternate maxillary expansions and constrictions in rats. *J Huazhong Univ Sci Technol - Med Sci*. 2014;34(6):935-941.
69. Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil I, Alobera-Gracia MA, del-Canto-Pingarrón M, Blanco-Jerez L. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2006;11(1):E47-51.
70. Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil I, Alobera-Gracia MA, del-Canto-Pingarrón M, Blanco-Jerez L. Physiological bases of bone regeneration II. The remodeling process. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2006;11(2):E151-7.
71. Ferrare N, Leite AF, Caracas HCPM, 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. doi:10.1007/s00276-013-1080-x
72. Fini M, Giavaresi G, Torricelli P, et al. Osteoporosis and biomaterial osteointegration. *Biomed Pharmacother*. 2004;58(9):487-493.
73. Freire MO, Van Dyke TE. Natural resolution of inflammation. *Periodontol 2000*. 2013;63(1):149-164.
74. Fujioka-Kobayashi M, Miron RJ. Biological Components of Platelet Rich Fibrin: Growth Factor Release and Cellular Activity. *Platelet Rich Fibrin Regen Dent Biol Backgr Clin Indic*. Published online June 2, 2017:15-31.
75. Fujioka-Kobayashi M, Miron RJ, Hernandez M, Kandam U, Zhang Y, Choukroun J. Optimized Platelet-Rich Fibrin With the Low-Speed Concept: Growth Factor Release, Biocompatibility, and Cellular Response. *J Periodontol*. 2017;88(1):112-121.
76. Gardner GE, Kronman JH. Cranioskeletal displacements caused by rapid palatal expansion in the rhesus monkey. *Am J Orthod*. 1971;59(2):146-155.

77. Garg AK. *Bone Biology, Harvesting & Grafting For Dental Implants: Rationale and Clinical Applications*,. Quintessence Publishing Company; 2004.
78. Ghanaati S, Booms P, Orłowska A, et al. Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *J Oral Implantol*. 2014;40(6):679-689.
79. Ghanaati S, Herrera-Vizcaino C, Al-Maawi S, et al. Fifteen years of platelet rich fibrin in dentistry and oromaxillofacial surgery: How high is the level of scientific evidence? *J Oral Implantol*. 2018;44:471-492.
80. Gonen ZB, Alkan A, Ekizer A, Kutuk N, Tasdemir Z. Evaluation of Vestibular Bone Thickness in Class I Malocclusion Treatment With Corticotomy-Assisted Rapid Orthodontics. *J Craniofac Surg*. 2019;30(8):e727-e733.
81. Graber L, Vanarsdall R, Vig K. *Current Principles and Techniques*. 5th ed. Mosby; 2012.
82. Graber TM, Swain BF. *Current Orthodontic Concepts and Techniques*. WB Saunders Company; 1975.
83. Grassi F, Cattini L, Gambari L, et al. T cell subsets differently regulate osteogenic differentiation of human mesenchymal stromal cells in vitro. *J Tissue Eng Regen Med*. 2016;10(4):305-314.
84. Gul Amuk N, Kurt G, Karsli E, et al. Effects of mesenchymal stem cell transfer on orthodontically induced root resorption and orthodontic tooth movement during orthodontic arch expansion protocols: an experimental study in rats. *Eur J Orthod*. Published online 2019:1-12.
85. Gunyuz Toklu M, Germec-Cakan D, Tozlu M. Periodontal, dentoalveolar, and skeletal effects of tooth-borne and tooth-bone-borne expansion appliances. *Am J Orthod Dentofac Orthop*. 2015;148(1):97-109. doi:10.1016/j.ajodo.2015.02.022
86. Guo J, Wang L, Xu H, Che X. Effect of heterologous bone marrow mononuclear cell transplantation on midpalatal expansion in rats. *Exp Ther Med*. 2015;9(4):1235-1240.
87. Haas A. Rapid expansion of the maxillary dental arch and nasal cavity by opening the midpalatal suture. *Angle Orthod*. 1961;31(2):73-90.
88. Haas A. The treatment of maxillary deficiency by opening the midpalatal suture. *Angle Orthod*. 1965;35:200-217.
89. Haas AJ. Long-term posttreatment evaluation of rapid palatal expansion. *Angle*

- Orthod.* 1980;50(3):189-217.
90. Haas AJ. Palatal expansion: just the beginning of dentofacial orthopedics. *Am J Orthod.* 1970;57(3):219-255.
 91. Harvold EP, Chierici G, Vargervik K. Experiments on the development of dental malocclusions. *Am J Orthod.* 1972;61(1):38-44.
 92. Harvold EP, Tomer BS, Vargervik K, Chierici G. Primate experiments on oral respiration. *Am J Orthod.* 1981;79(4):359-372.
 93. Hou B, Fukai N, Olsen BR. Mechanical force-induced midpalatal suture remodeling in mice. *Bone.* 2007;40(6):1483-1493.
 94. Howe RP. Palatal expansion using a bonded appliance. Report of a case. *Am J Orthod.* 1982;82(6):464-468.
 95. Howes AE. Case analysis and treatment planning based upon the relationship of the tooth material to its supporting bone. *Am J Orthod.* 1947;33(8):499-533.
 96. Hsu JT, Chen YJ, Tsai MT, et al. Predicting Cortical Bone Strength from DXA and Dental Cone-Beam CT. *PLoS One.* 2012;7(11):18-20. doi:10.1371/journal.pone.0050008
 97. Isaacson RJ, Ingram AH. Forces produced by rapid maxillary expansion. Part II. Forces present during treatment. *Angle Orthod.* 1964;34:261-269.
 98. Işeri H, Özsoy S. Semirapid maxillary expansion - A study of long-term transverse effects in older adolescents and adults. *Angle Orthod.* 2004;74(1):71-78.
 99. Ivanovic A, Nikou G, Miron RJ, Nikolidakis D, Sculean A. Which biomaterials may promote periodontal regeneration in intrabony periodontal defects? A systematic review of preclinical studies. *Quintessence Int.* 2014;45(5):385-395.
 100. Jalowiec JM, D'Este M, Bara JJ, et al. An In Vitro Investigation of Platelet-Rich Plasma-Gel as a Cell and Growth Factor Delivery Vehicle for Tissue Engineering. *Tissue Eng Part C Methods.* 2016;22(1):49-58.
 101. Janquerira LC. *Basic Histology.* Barış Kitabevi; 2005.
 102. Jasmine S, A. T, Janarthanan K, Krishnamoorthy R, Alshatwi AA. Antimicrobial and antibiofilm potential of injectable platelet rich fibrin—a second-generation platelet concentrate—against biofilm producing oral staphylococcus isolates. *Saudi J Biol Sci.* 2020;27(1):41-46.
 103. Kanekawa M, Shimizu N. Age-related changes on bone regeneration in midpalatal suture during maxillary expansion in the rat. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.*

- 1998;114(6):646-653.
104. Kara MI, Altan AB, Sezer U, et al. Effects of Ginkgo biloba on experimental rapid maxillary expansion model: A histomorphometric study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2012;114(6):712-718.
 105. Kara MI, Erciyas K, Altan AB, Ozkut M, Ay S, Inan S. Thymoquinone accelerates new bone formation in the rapid maxillary expansion procedure. *Arch Oral Biol.* 2012;57(4):357-363.
 106. Kasnak G, Tunalı M, Fıratlı E. Trombositten Zengin Fibrinlerin Yarımı ve Biyolojik Dil. *Türkiye Klin Periodontoloji - Özel Konular.* 2017;3(3):169-172.
 107. Kasnak G, Tunalı M, Fıratlı HE. Geçmişten Günümüze Kan Kaynaklı Ürünler ve Trombositten Zengin Fibrinler. *Turkiye Klin J Periodontol.* 2017;3(3):109-112.
 108. Kayalar E, Deynek GT, Tok OE, Kucuk S. Effect of salvianolic acid B on new bone formation in the orthopedically expanded suture: A histological and immunohistochemical study. *Angle Orthod.* 2021;91(2):248-254. doi:10.2319/042620-360.1
 109. Kayalar E, Schauseil M, Kuvat SV, Emekli U, Firatli S. Comparison of tooth-borne and hybrid devices in surgically assisted rapid maxillary expansion: A randomized clinical cone-beam computed tomography study. *J Cranio-Maxillofacial Surg.* 2016;44(3):285-293. doi:10.1016/j.jcms.2015.12.001
 110. Kazancioglu HO, Aksakalli S, Ezirganli S, Birlik M, Esrefoglu M, Acar AH. Effect of caffeic acid phenethyl ester on bone formation in the expanded inter-premaxillary suture. *Drug Des Devel Ther.* 2015;9:6483-6488.
 111. Khan SN, Bostrom MP, Lane JM. Bone growth factors. *Orthop Clin North Am.* 2000;31(3):375-388.
 112. Kierszenbaum AL. *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology.* 1st ed. Mosby Elsevier; 2002.
 113. Kingsley CS. Blood coagulation: Evidence of an antagonist to factor VI in platelet-rich human plasma. *Nature.* 1954;173(4407):723-724.
 114. Kirschneck C, Proff P, Fanghaenel J, Behr M, Wahlmann U, Roemer P. Differentiated analysis of orthodontic tooth movement in rats with an improved rat model and three-dimensional imaging. *Ann Anat.* 2013;195(6):539-553.
 115. Knaup B, Yildizhan F, Wehrbein H. Age-related changes in the midpalatal suture. A histomorphometric study. *J Orofac Orthop.* 2004;65(6):467-474.

116. Kobayashi E, Flückiger L, Fujioka-Kobayashi M, et al. Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. *Clin Oral Investig.* 2016;20(9):2353-2360.
117. Koca CG, Sadry S, Asker H, Çiçek MF, Kösehasanoğulları M, Kaya G. Effects of the different administration frequencies of teriparatide (PTH [1-34]) on new bone formation of expanded midpalatal sutures in rats: A histomorphometric and micro-computed tomography analysis. *Orthod Craniofacial Res.* 2021;24(3):449-457.
118. Korbmacher H, Schilling A, Püschel K, Amling M, Kahl-Nieke B. Age-dependent three-dimensional microcomputed tomography analysis of the human midpalatal suture. *J Orofac Orthop.* 2007;68(5):364-376.
119. Koudstaal MJ, van der Wal KGH, Wolvius EB, Schulten AJM. The Rotterdam Palatal Distractor: Introduction of the new bone-borne device and report of the pilot study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2006;35(1):31-35.
120. Küçük M, Çevik A, Kalaycı R. Laboratuvar Hayvanlarında Temel Uygulamalar: Laboratuvar Hayvanlarından Kan Alma Teknikleri. *Deney Tıp Araştırma Enstitüsü Derg.* 2017;7(14):11-20.
121. Küçükodacı Z. Makroskobik ve Mikroskobik Olarak Fibrinin Bize Kazandırdıkları. *Türkiye Klin JPeriodontal-Special Top.* 2017;3(3):(3):113-121.
122. Kutin G, Hawes RR. Posterior cross-bites in the deciduous and mixed dentitions. *Am J Orthod.* 1969;56(5):491-504.
123. Lagravère MO, Major PW, Flores-Mir C. Skeletal and dental changes with fixed slow maxillary expansion treatment: a systematic review. *J Am Dent Assoc.* 2005;136(2):194-199.
124. Lai RF, Zhou ZY, Chen T. Accelerating bone generation and bone mineralization in the interparietal sutures of rats using an rhBMP-2/ACS composite after rapid expansion. *Exp Anim.* 2013;62(3):189-196. doi:10.1538/expanim.62.189
125. Landsberger R. Indications for the expansion of the maxilla. *J Am Dent Assoc.* 1910;52:121.
126. Larsson E. The effect of dummy-sucking on the occlusion: a review. *Eur J Orthod.* 1986;8(2):127-130.
127. Laurens N, Koolwijk P, de Maat MPM. Fibrin structure and wound healing. *J Thromb Haemost.* 2006;4(5):932-939.
128. Li J, Wang X, Wang Y, Lu C, Zheng D, Zhang J. Isoquercitrin, a flavonoid

- glucoside, exerts a positive effect on osteogenesis in vitro and in vivo. *Chem Biol Interact.* 2019;297:85-94.
129. Li Q, Wang W, Gu S, Wang L. Measurement of somatosensory-evoked potential to evaluate function of the trigeminal nerve after rapid palatal expansion treatment in a rabbit model. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2012;114(SUPPL. 5):54-59.
 130. Liebschner MAK. Biomechanical considerations of animal models used in tissue engineering of bone. *Biomaterials.* 2004;25(9):1697-1714.
 131. Liou EJ-W, Tsai W-C. A new protocol for maxillary protraction in cleft patients: repetitive weekly protocol of alternate rapid maxillary expansions and constrictions. *Cleft Palate Craniofac J.* 2005;42(2):121-127.
 132. Martin TJ, Sims NA. Osteoclast-derived activity in the coupling of bone formation to resorption. *Trends Mol Med.* 2005;11(2):76-81.
 133. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998;85(6):638-646.
 134. McNamara JA. Maxillary transverse deficiency. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2000;117(5):567-570.
 135. McNamara JA, Lione R, Franchi L, et al. The role of rapid maxillary expansion in the promotion of oral and general health. *Prog Orthod.* 2015;16(1):1-7.
 136. McNamara Jr JA, Brudon WL. *Orthodontics and Dentofacial Orthopedics.* Needham Press; 2001.
 137. Melsen B. A histological study of the influence of sutural morphology and skeletal maturation on rapid palatal expansion in children. *Trans Eur Orthod Soc.* Published online 1972:499-507.
 138. Melsen B. Palatal growth studied on human autopsy material. A histologic microradiographic study. *Am J Orthod.* 1975;68(1):42-54.
 139. Mew J. Relapse following maxillary expansion. *Am J Orthod.* 1983;83(1):56-61.
 140. Miller SC, de Saint-Georges L, Bowman BM, Jee WS. Bone lining cells: structure and function. *Scanning Microsc.* 1989;3(3):951-953.
 141. Miron RJ, Chai J, Zheng S, Feng M, Sculean A, Zhang Y. A novel method for evaluating and quantifying cell types in platelet rich fibrin and an introduction to horizontal centrifugation. *J Biomed Mater Res - Part A.* 2019;107(10):2257-2271.

142. Miron RJ, Fujioka-Kobayashi M, Hernandez M, et al. Injectable platelet rich fibrin (i-PRF): opportunities in regenerative dentistry? *Clin Oral Investig.* 2017;21(8):2619-2627.
143. Mitsuda ST, Pereira MD, Passos AP, Hino CT, Ferreira LM. Effects of surgically assisted rapid maxillary expansion on nasal dimensions using acoustic rhinometry. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;109(2):191-196.
144. Mohaghegh S, Mohammed-Rahimi H, Eslamian L, et al. Effect of mesenchymal stem cells with platelet-rich plasma carriers on bone formation after rapid maxillary expansion: An Animal Study. *Am J Stem Cells.* 2020;9(5):78-88.
145. Mommaerts MY. Transpalatal distraction as a method of maxillary expansion. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1999;37(4):268-272.
146. Mossaad A, Badry T El, Abdelrahman M, et al. Alveolar Cleft Reconstruction Using Different Grafting Techniques. *Open access Maced J Med Sci.* 2019;7(8):1369-1373.
147. Mourão CF de AB, Valiense H, Melo ER, Mourão NBMF, Maia MD-C. Obtention of injectable platelets rich-fibrin (i-PRF) and its polymerization with bone graft: technical note. *Rev Col Bras Cir.* 2015;42(6):421-423.
148. Muguerza OE, Shapiro PA. Palatal mucoperiostomy: an attempt to reduce relapse after slow maxillary expansion. *Am J Orthod.* 1980;78(5):548-558.
149. Muñoz F, Wilcko T, Acuña S, et al. Periodontally Accelerated Osteogenic Orthodontics (PAOO) technique in cleft patients: A complement to orthognathic surgery in dentoalveolar expansion. A case series report. *J Craniomaxillofac Surg.* 2020;48(11):1028-1034.
150. Mutaflı H, Bıçakçı AA. Hızlı Üst Çene Genişletmesi Sırasında ve Sonrasında Trombositten Zengin Plazma Uygulamasının Tavşan Midpalatal Sütüründeki Kemik Oluşumu Üzerine Etkisinin Deneyisel Olarak İncelenmesi. Published online 2014.
151. Omidkhoda M, Jahnabin A, Khoshandam F, et al. Efficacy of Platelet-Rich Fibrin Combined with Autogenous Bone Graft in the Quality and Quantity of Maxillary Alveolar Cleft Reconstruction. *Iran J Otorhinolaryngol.* 2018;30(101):329-334.
152. Özdemir H. Kemik Kaybı Olan Bölgelerde Trombositten Zengin Fibrin Uygulamaları ve Sert Doku Rejenerasyonları. *Türkiye Klin JPeriodontol-Special Top.* 2017;3(3):148-152.

153. Öztürk F, Babacan H, Nan S, Gümüş C. Effects of bisphosphonates on sutural bone formation and relapse: A histologic and immunohistochemical study. *Am J Orthod Dentofac Orthop*. 2011;140(1):31-41.
154. Persson M, Magnusson BC, Thilander B. Sutural closure in rabbit and man. *Plast Reconstr Surg*. 1978;125(2):313-321.
155. Persson M, Thilander B. Palatal suture closure in man from 15 to 35 years of age. *Am J Orthod*. 1977;72(1):42-52.
156. Pirmoradian M, Safiaghdam H, Nokhbatolfoghahaei H, Ashnagar S, Fekrazad R. Effect of Photobiomodulation on Relapse in an Experimental Rapid Maxillary Expansion Model in Rat. *Photochem Photobiol*. 2021;97(3):634-640.
157. Premkumar S. *Textbook of Craniofacial Growth*.; 2011.
158. Pripatnanont P, Balabid F, Pongpanich S, Vongvatcharanon S, Effect SV. Effect of osteogenic periosteal distraction by a modified Hyrax device with and without platelet-rich fibrin on bone formation in a rabbit model: a pilot study. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2015;44(5):656-663.
159. Pritchard JJ, Scott JH, Girgis FG. The structure and development of cranial and facial sutures. *J Anat*. 1956;90(1):73-86.
160. Proffit Fields, Henry W., Larson, Brent E., Sarver, David M., WR. *Contemporary Orthodontics*.; 2019.
161. Pullen HA. Expansion of the dental arch and opening the maxillary suture in relation to the development of the internal and external face. *Dent Cosm*. 1912;54:509-528.
162. Quillen M. Editorial comments on Treatment of irregularities of permanent or adult teeth. *Dent Cosm*. 1890;1:540-541.
163. Reed GL, Fitzgerald ML, Polgár J. Molecular mechanisms of platelet exocytosis: insights into the “secrete” life of thrombocytes. *Blood*. 2000;96(10):3334-3342.
164. Ren Y, Maltha JC, Kuijpers-Jagtman AM. Optimum force magnitude for orthodontic tooth movement: a systematic literature review. *Angle Orthod*. 2003;73(1):86-92.
165. Ricketts RM, Grummons D. Frontal Cephalometrics: Practical Applications, Part I. *World J Orthod*. 2003;4:297-316.
166. Roodman GD. Advances in bone biology: The osteoclast. *Endocr Rev*. 1996;17(4):308-332.

167. Rowe SL, Lee S, Stegemann JP. Influence of thrombin concentration on the mechanical and morphological properties of cell-seeded fibrin hydrogels. *Acta Biomater.* 2007;3(1):59-67.
168. Sadikoglu TB, Nalbantgil D, Ulkur F, Ulas N. Effect of hyaluronic acid on bone formation in the expanded interpremaxillary suture in rats. *Orthod Craniofacial Res.* 2016;19(3):154-161.
169. Saito S, Shimizu N. Stimulatory effects of low-power laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in the rat. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1997;111(5):525-532.
170. Saluja H, Dehane V, Mahindra U. Platelet-Rich fibrin: A second generation platelet concentrate and a new friend of oral and maxillofacial surgeons. *Ann Maxillofac Surg.* 2011;1(1):53.
171. Sánchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003;18(1):93-103.
172. Sandikçioglu M, Hazar S. Skeletal and dental changes after maxillary expansion in the mixed dentition. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1997;111(3):321-327.
173. Sarver DM, Johnston MW. Skeletal changes in vertical and anterior displacement of the maxilla with bonded rapid palatal expansion appliances. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1989;95(6):462-466.
174. Sawada M, Shimizu N. Stimulation of bone formation in the expanding mid-palatal suture by transforming growth factor-beta 1 in the rat. *Eur J Orthod.* 1996;18(2):169-179.
175. Seyman İZ, Baka ZM. Plateletten Zengin Fibrin (PRF)'nin Hızlı Üst Çene Genişletmesi (RME) Sonrası Kemik Yapım Miktarına Etkisi. Published online 2018.
176. Shah R, M G T, Thomas R, Mehta DS. An Update on the Protocols and Biologic Actions of Platelet Rich Fibrin in Dentistry. *Eur J Prosthodont Restor Dent.* 2017;25(2):64-72.
177. Shamloo A, Xu H, Heilshorn S. Mechanisms of vascular endothelial growth factor-induced pathfinding by endothelial sprouts in biomaterials. *Tissue Eng Part A.* 2012;18(3-4):320-330.
178. Sharma KN. Platelet-rich fibrin: Emerging biomaterial in regeneration. *Natl J*

- Maxillofac Surg.* 2018;9(1).
179. Simonpieri A, Del Corso M, Vervelle A, et al. Current knowledge and perspectives for the use of platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in oral and maxillofacial surgery part 2: Bone graft, implant and reconstructive surgery. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012;13(7):1231-1256.
 180. Smith SE, Roukis TS. Bone and wound healing augmentation with platelet-rich plasma. *Clin Podiatr Med Surg.* 2009;26(4):559-588.
 181. Sommerfeldt D, Rubin C. Biology of bone and how it orchestrates the form and function of the skeleton. *Eur Spine J.* 2001;10(2):86-95.
 182. Soydan N. *Genel Histoloji.* İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Yayınları; 1985.
 183. Spolyar JL. The design, fabrication, and use of a full-coverage bonded rapid maxillary expansion appliance. *Am J Orthod.* 1984;86(2):136-145.
 184. Staley RN, Stuntz WR, Peterson LC. A comparison of arch widths in adults with normal occlusion and adults with class II, Division 1 malocclusion. *Am J Orthod.* 1985;88(2):163-169.
 185. Starnbach H, Bayne D, Cleall J, Subtelny JD. Facioskeletal and dental changes resulting from rapid maxillary expansion. *Angle Orthod.* 1966;36(2):152-164.
 186. Storey E. Tissue response to the movement of bones. *Am J Orthod.* 1973;64(3):229-247.
 187. Subtelny JD. Oral respiration: facial maldevelopment and corrective dentofacial orthopedics. *Angle Orthod.* 1980;50(3):147-164.
 188. Takenouchi H, Mayahara K, Arai Y, Karasawa Y, Shimizu N. Longitudinal quantitative evaluation of the mid-palatal suture after rapid expansion using in vivo micro-CT. *Arch Oral Biol.* 2014;59(4):414-423.
 189. Textor J. Platelet-Rich Plasma (PRP) as a therapeutic agent: Platelet biology, growth factors and a review of the literatur. In: *Platelet-Rich Plasma - Regenerative Medicine: Sports Medicine, Orthopedic, and Recovery of Musculoskeletal Injuries.* Springer Berlin Heidelberg; 2013:61-94.
 190. Timms DJ. A study of basal movement with rapid maxillary expansion. *Am J Orthod.* 1980;77(5):500-507.
 191. Timms DJ. *Rapid Maxillary Expansion.* Chicago: Quintessence Pub. Co.; 1981.
 192. Tsay RC, Vo J, Burke A, Eisig SB, Lu HH, Landesberg R. Differential growth

- factor retention by platelet-rich plasma composites. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005;63(4):521-528.
193. Ülgen M. *Ortodonti Anomaliler, Sefalometri, Etioloji, Büyüme ve Gelişim, Tanı.* T.C. Yeditepe Üniversitesi Yayınları; 2000.
 194. Ülgen M. *Ortodontik Tedavi Prensipleri.* 7. Edition. Ankara Üniversitesi Basımevi; 2005.
 195. Uysal T, Amasyali M, Enhos S, Sonmez MF, Sagdic D. Effect of ED-71, a new active vitamin D analog, on bone formation in an orthopedically expanded suture in rats. A histomorphometric study. *Eur J Dent.* 2009;3(3):165-172.
 196. Uysal T, Amasyali M, Olmez H, Karslioglu Y, Gunhan O. Stimulation of bone formation in the expanding inter-premaxillary suture by vitamin E, in rat. *Korean J Orthod.* 2009;39(5):337-347.
 197. Uysal T, Ustdal A, Sonmez M, Ozturk F. Stimulation of bone formation by dietary boron in an orthopedically expanded suture in rabbits. *Angle Orthod.* 2009;79(5):984-990.
 198. Vardimon AD, Brosh T, Spiegler A, Lieberman M, Pitaru S. Rapid palatal expansion. Part 2: Dentoskeletal changes in cats with patent versus synostosed midpalatal suture. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1998;113(5):488-497.
 199. Vardimon AD, Graber TM, Voss LR, Verrusio E. Magnetic versus mechanical expansion with different force thresholds and points of force application. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1987;92(6):455-466.
 200. Varela HA, Souza JCM, Nascimento RM, et al. Injectable platelet rich fibrin: cell content, morphological, and protein characterization. *Clin Oral Investig.* 2019;23(3):1309-1318.
 201. Varshney S, Dwivedi A, Pandey V. Antimicrobial effects of various platelet rich concentrates-vibes from in-vitro studies-a systematic review. *J Oral Biol Craniofacial Res.* 2019;9(4):299-305.
 202. Wagemans PA, van de Velde JP, Kuijpers-Jagtman AM. Sutures and forces: a review. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1988;94(2):129-141.
 203. Wang X, Zhang Y, Choukroun J, Ghanaati S, Miron RJ. Effects of an injectable platelet-rich fibrin on osteoblast behavior and bone tissue formation in comparison to platelet-rich plasma. *Platelets.* 2018;29(1):48-55.
 204. Wend S, Kubesch A, Orlowska A, et al. Reduction of the relative centrifugal force

- in fl uences cell number and growth factor release within injectable PRF-based matrices. *J Mater Sci Mater Med*. 2017;28:188.
205. Wertz RA. Skeletal and dental changes accompanying rapid midpalatal suture opening. *Am J Orthod*. 1970;58(1):41-66.
 206. Wilmes B, Nienkemper M, Drescher D. Application and effectiveness of a mini-implant- and tooth-borne rapid palatal expansion device: the hybrid hyrax. *World J Orthod*. 2010;11(4):323-330.
 207. Xu M, Sun X-Y, Xu J-G. Periodontally accelerated osteogenic orthodontics with platelet-rich fibrin in an adult patient with periodontal disease: A case report and review of literature. *World J Clin cases*. 2021;9(6):1367-1378.
 208. Yi J, Mei L, Li X, Zheng W, Li Y, Zhao Z. Effects of continuous and intermittent parathyroid hormone administration on midpalatal suture expansion in rats. *Arch Oral Biol*. 2019;99(2019):161-168.
 209. Zeitounlouian TS, Zeno KG, Brad BA, Haddad RA. Effect of injectable platelet-rich fibrin (i-PRF) in accelerating orthodontic tooth movement: A randomized split-mouth-controlled trial. *J Orofac Orthop*. 2021;82(4):268-277.
 210. Zeitounlouian TS, Zeno KG, Brad BA, Haddad RA. Three-dimensional evaluation of the effects of injectable platelet rich fibrin (i-PRF) on alveolar bone and root length during orthodontic treatment: a randomized split mouth trial. *BMC Oral Health*. 2021;21(1):1-10.
 211. Zimring JF, Isaacson RJ. Forces produced by rapid maxillary expansion. Part III. Forces present during retention. *Angle Orthod*. 1965;35:178-186.
 212. Zutphen L, Baumans V, Beynen A. *Laboratuvar Hayvanları Biliminin Temel İlkeleri*. Medipres Yayınları, Özkan Matbaacılık, Ankara; 2003.

HAM VERİLER



FORMLAR

PATENT HAKKI İZNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

SIÇANLARDA HIZLI MAKSİLLER GENİŞLETMEDE
TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN UYGULANMASININ KEMİK
OLUŞUMUNA ETKİSİNİN İNCELENMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 12	% 11	% 1	% 5
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 6
2	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	% 1
3	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	% 1
4	openaccess.bezmialem.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
5	acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1
6	eskidergi.cumhuriyet.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
7	dspace.gazi.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
8	Submitted to Suleyman Demirel University Öğrenci Ödevi	<% 1

Submitted to Sağlık Bilimleri Üniversitesi