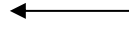


1. YAHYA YİĞİT BİREN

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

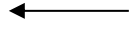
DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2019



Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

(DOKTORA TEZİ)

**TİTANYUM TÜP İLE ELDE EDİLEN TROMBOSİTTEN
ZENGİN FİBRİNİN KEMİK DEFEKTLERİNİN
ONARIMINDA BARIYER MEMBRAN OLARAK
KULLANIMININ İNCELENMESİ**

YAHYA YİĞİT BİREN

**DANIŞMAN
PROF. DR. HALİL ERHAN FIRATLI**

**PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
PERİODONTOLOJİ DOKTORA PROGRAMI**

İSTANBUL-2019

TEZ ONAYI

DOKTORA TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı, Periodontoloji Programında Doktora öğrencisi Yahya Yiğit BİREN tarafından Prof. Dr. H. Erhan FIRATLI'nın danışmanlığında hazırlanan "Titanyum Tüp İle Elde Edilen Trombositten Zengin Fibrinin Kemik Defektlerinin Onarımında Bariyer Membran Olarak Kullanımının İncelenmesi" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 20/06/2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Funda YALÇIN
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Periodontoloji Anabilim Dalı



Jüri-Danışman

Prof. Dr. H. Erhan FIRATLI
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Periodontoloji Anabilim Dalı



Jüri

Doç.Dr. Vakur OLGAÇ
İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji
Enstitüsü Patoloji Bilim Dalı



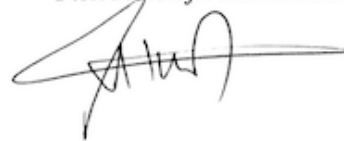
Jüri

Doç. Dr. Mustafa TUNALI
Bezmialem Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Periodontoloji Anabilim Dalı



Jüri

Dr. Öğr. Üyesi Mustafa YILMAZ
Biruni Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Periodontoloji Anabilim Dalı



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Yahya Yiğit BİREN

(İmza)



İTHAF

Kızım Alya' ya ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimime başladığım andan itibaren desteğini, engin bilgi ve deneyimini esirgemeyen danışmanım ve sevgili hocam **Prof. Dr. H. Erhan Fıratlı**' ya

Tezimin başlangıcından sonlanmasına kadar her aradığımda ulaşabildiğim değerli hocalarım **Prof. Dr. Funda Yalçın** ve **Doç. Dr. Vakur Olgaç**'a

Doktora eğitimime katkı sağlayan anabilim dalı öğretim üyeleri **Prof. Dr. Serdar Çintan**, **Prof. Dr. Gülден Işık**, **Prof. Dr. Korkud Demirel**, **Doç. Dr. Ali Çekici**, **Doç. Dr. Ülkü Başer**, **Doç. Dr. Duygu Yaman**, **Doç. Dr. Emine Çiftçi**'na

Tez çalışmamızda desteklerini esirgemeyen **Doç. Dr. Mustafa Tunalı**' ya

Doktora eğitimim boyunca bildiği her şeyi öğreten, bana cesaret veren, en zor zamanlarımızda hep yanımda olan, abim **Dr. Gökhan Kasnak**'a

Bana çaylaklığın en güzel halini tattıran kadroya **Dr. Çağla Yıldız Sekban**, **Dr. Sema Özgen**, **Dr. Fatma Öner**, **Dt. Burak İskefli** ve doktora bana yol arkadaşı olan ara sıra öfkeliendirdiğim sevgili **Dr. Melis Soytürk**'e

Hayatımda tanıdığım en güzel ekibin üyeleri **Dt. Sinan Kargı**, **Dt. Birke Koca**, **Dt. Merve Biçer**, **Dt. Mert Türkmen**, **Dt. Deniz Çağlar**, **Dt. Yiğit Fıratlı** ve **Dt. Cemresu Tabar**'a

Çalışmalarımızın hayvan deneyi aşamasında bize her türlü olanağı ve desteği veren İ.Ü. Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Laboratuvar Hayvanları Bilim Dalı üyelerine ve **Dr. Mutlu Küçük**' e

Tezimin sonuçlarının incelenmesinde emeği geçen İ. Ü. 3 Boyutlu Tıbbi ve Endüstriyel Tasarım Laboratuvarı çalışanlarına ve sayın **Göker Külüşlü**'ye

Beni bu günlere kadar getiren, okutan, destekleyen sevgili annem **Aysu Biren**, babam **Dt. Mustafa Biren** ve bana abiliğin en güzel halini tattıran **Mert Biren**'e

Tez sürecinde sabırla ve anneliğiyle destek olan canım eşim **Dt. Elvan Biren** ve canım kızım **Alya Biren**'e teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 188394

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİ
ÖZET	XV
ABSTRACT	XVİ
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. KEMİK DOKUSU.....	3
2.1.1. KEMİĞİN KİMYASAL YAPISI	3
2.1.1.1. İnorganik Yapı	3
2.1.1.2. Organik Yapı.....	4
2.1.2. KEMİK HÜCRELERİ	5
2.1.2.1. Osteoblastlar.....	5
2.1.2.2. Osteositler	6
2.1.2.3. Osteoklastlar.....	7
2.2. TROMBOSİTTEN ZENGİN KAN ÜRÜNLERİ.....	14
2.2.1. Trombositten Zengin Plazma	15
2.2.2. Trombositten Zengin Fibrin	16
2.3. YÖNLENDİRİLMİŞ KEMİK REJENERASYONU	20
2.3.1. Bariyer Membranlar	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
3.1. GEREÇ	23
3.2. YÖNTEM	24
3.2.1. Deney Hayvanları ve Grupları	24
3.2.2. Cerrahi Operasyon	26

3.3. MİKRO-BİLGİSAYARLI TOMOGRAFİK DEĞERLENDİRME	30
3.4. HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME.....	32
3.5. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	32
4. BULGULAR.....	33
5. TARTIŞMA	54
KAYNAKLAR	64
ETİK KURUL KARARI	75
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	76
ÖZGEÇMİŞ	77



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo1. TZF'in içindeki büyüme faktörlerinin salınım oranları	18
Tablo2. 7.günde grupların kemik mineralizasyon yoğunluğu ortalamaları	34
Tablo3. 7.günde gruplar arası kemik mineralizasyon yoğunluğu farklarının değerlendirilmesi	34
Tablo4. 14.günde grupların kemik mineralizasyon yoğunluğu ortalamaları	35
Tablo5. 14.günde gruplar arası kemik mineralizasyon yoğunluğu farklarının değerlendirilmesi	35
Tablo6. 28.günde grupların kemik mineralizasyon yoğunluğu ortalamaları	36
Tablo7. 28.günde gruplar arası kemik mineralizasyon yoğunluğu farklarının değerlendirilmesi	36
Tablo8. 42.günde grupların kemik mineralizasyon yoğunluğu ortalamaları	37
Tablo9. 42.günde gruplar arası kemik mineralizasyon yoğunluğu farklarının değerlendirilmesi	37
Tablo10. Zamana Göre BMD'nin Grup İçi Değerlendirilmesi	38
Tablo11. Kontrol Grubu için Zamana göre BMD'nin karşılaştırılmasının istatistiksel analizi	38
Tablo12. e-PTFE Grubu için Zamana göre BMD'nin karşılaştırılmasının istatistiksel analizi	39
Tablo13. T-TZF Grubu için Zamana göre BMD'nin karşılaştırılmasının istatistiksel analizi	39
Tablo14. TZF Grubu için Zamana göre BMD'nin karşılaştırılmasının istatistiksel analizi	39
Tablo15. 7.günde grupların hacim ortalamaları	40
Tablo16. 7.günde gruplar arası hacim farklarının değerlendirilmesi	40
Tablo17. 14.günde grupların hacim ortalamaları	40
Tablo18. 14.günde gruplar arası hacim farklarının değerlendirilmesi	40
Tablo19. 28.günde grupların hacim ortalamaları	41
Tablo20. 28.günde gruplar arası hacim farklarının değerlendirilmesi	41
Tablo21. 42.günde grupların hacim ortalamaları	41
Tablo22. 42.günde gruplar arası hacim farklarının değerlendirilmesi	41

Tablo23. Zamana Göre Hacmin Grup İçi Değerlendirilmesi	42
Tablo24. Kontrol Grubu için Zamana göre Hacmin Değerlendirilmesi	42
Tablo25. e-PTFE Grubu için Zamana göre Hacmin Değerlendirilmesi	43
Tablo26. T-TZF Grubu için Zamana göre Hacmin Değerlendirilmesi	43
Tablo27. TZF Grubu için Zamana göre Hacmin Değerlendirilmesi	43
Tablo28. 7.günde grupların yeni kemik oluşumu ortalamaları	44
Tablo29. 7.günde gruplar arası yeni kemik oluşum farklarının değerlendirilmesi	44
Tablo30. 14.günde grupların yeni kemik oluşumu ortalamaları	44
Tablo31. 14.günde gruplar arası yeni kemik oluşum farklarının değerlendirilmesi	44
Tablo32. 28.Günde Grupların Yeni Kemik Oluşumu Ortalamaları	45
Tablo33. 28.günde gruplar arası yeni kemik oluşum farklarının değerlendirilmesi	45
Tablo34. Zamana Göre Yeni Kemik Oluşumunun Grup İçi Değerlendirilmesi	46
Tablo35. Kontrol Grubu için Zamana göre Yeni Kemik Oluşumu Değerlendirilmesi	46
Tablo36. e-PTFE Grubu için Zamana göre Yeni Kemik Oluşumu Değerlendirilmesi	47
Tablo37. T-TZF Grubu için Zamana göre Yeni Kemik Oluşumu Değerlendirilmesi	48
Tablo38. TZF Grubu için Zamana göre Yeni Kemik Oluşumu Değerlendirilmesi	49
Tablo39. 14.günde gruplar arası iyileşme farklarının değerlendirilmesi	50
Tablo40. Zamana Göre İyileşmenin Grup İçi Değerlendirilmesi	51
Tablo41. Kontrol Grubu İçin Zamana Göre İyileşmenin Değerlendirilmesi	51
Tablo42. e-PTFE Grubu İçin Zamana Göre İyileşmenin Değerlendirilmesi	52
Tablo43. T-TZF Grubu İçin Zamana Göre İyileşmenin Değerlendirilmesi	52
Tablo44. TZF Grubu İçin Zamana Göre İyileşmenin Değerlendirilmesi	52
Tablo45. T-TZF Grubu İçin Zamana Göre Fibrozisin Değerlendirilmesi	53

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Osteoblastik Farklılaşma Döngüsü ¹³	6
Şekil 3.1. Membranların Defektlere Yerleşim Şeması	26
Şekil 3.2. A. Tibianın Tıraşlanıp Baticon ile Operasyon Bölgesinin Dezenfeksiyonunun Sağlanması. B. Operasyon bölgesine lokal anestezi uygulanması. C. Cilt ve Cilt Altı İnsizyon. D. Cilt, Cilt Altı ve Periost Elevasyonu.	27
Şekil 3.3. A. Sol Tibia Görüntüsü B. Defektlerin Trefan Frez ile Hazırlanması C. Defekt Görüntüsü D. Sol Tibia Proksimal Defekte TZF membran uygulaması.	27
Şekil 3.4. A. Sağ Tibia Distal Defekte e-PTFE membran uygulaması. B. Sağ Tibia Proksimal Defekte T-TZF Membran Uygulaması. C. Rezorbe Olan Dikiş ile Periost Dikişi. D. Operasyon Sahasının Kapatılması.	28
Şekil 3.5. A-B. Operasyon Sahasının Sakrifikasyon Sonrası Yeniden Açılması. C. Tibianın Total Eksizyonu. D. Mikro-CT ve Histomorfometrik İncelenmeler İçin Defektlerin Tibiadan Ayrılması.	29
Şekil 3.6. Oluşturulan defekt bölgesinin CTvox programı ile görüntülenmesi	30
Şekil 3.7. Analiz programı CTAn (Ver. 1.16.4.1+) görüntüsü	31
Şekil 3.8. Kesitler üzerinde yatay düzlemde ilgili alan (Region of Interest; ROI) çizimi	31
Şekil 4.1. Defekt Bölgelerinde Zamana Göre Grupların Kemik Mineral Yoğunlukları ve Dolum Hacimleri	33
Şekil.4.2. 7.gün Mikro- Bilgisayarlı Tomografi Görüntüleri	34
Şekil.4.3. 14.gün Mikro- Bilgisayarlı Tomografi Görüntüleri	35
Şekil.4.4. 28.gün Mikro- Bilgisayarlı Tomografi Görüntüleri	36
Şekil.4.5. 42.gün Mikro- Bilgisayarlı Tomografi Görüntüleri	37
Şekil 4.6. Gruplar Arası Defekt Bölgesinde Yeni Kemik Oluşumu	45
Şekil 4.7. Kontrol grubu olarak boş bırakılan defektlerin histomorfometrik kesitleri A. 7. günde defekt bölgesinde gevşek yapıda damarlı bağ dokusu içinde yeni oluşan ağsı kemik dokusu (H&Ex100) B. 14.günde defekt bölgesinde defekti dolduran trabeküler yapıda yeni kemik dokusu. (H&Ex100) C. 28. günde defekti tümüyle dolduran trabeküler kemik dokusu, derinde kemik iliği (H&Ex40) D. 42.	47

günde defekt bölgesini dolduran kalın anastomozlar yapan trabeküler kemik dokusu (H&Ex100).

Şekil 4.8. e-PTFE membran uygulanan defektlerin histomorfometrik kesitleri **A.**

7. günde gevşek yapıda damardan zengin bağ dokusu içinde yeni kemik trabekülleri derinde normosellüler kemik iliği (H&Ex100). **B.** 14. günde damardan zengin bağ dokusu içinde defekti dolduran ince trabeküler yeni kemik dokusu (H&Ex100) **C.** 28.günde ince köprüleşme gösteren kemik dokusu altında yağlı kemik iliği (H&Ex40) **D.** 42.günde defekt bölgesini dolduran ve yüzeyde kortikal kemik ile ince bir köprüleşme sağlayan yeni kemik yapımı. (H&Ex100). 49

Şekil 4.9. T-TZF membran uygulanan defektlerin histomorfometrik kesitleri **A.**

7.günde damardan zengin fibröz bağ dokusu arasında defekt kenarlarından başlayan trabeküler yeni kemik yapımı (H&Ex100) **B.** 14.günde defekt bölgesini tümüyle dolduran kalınca trabeküler kemik dokusu. **C.** 28.günde defekt bölgesini büyük oranda dolduran kalın anastomozlar yapan kemik trabekülleri ortada dar bir alanda gevşek yapıda bağ dokusu. (H&Ex100) **D.** 42.günde kalınca kortikal ve trabeküler kemikle köprü biçiminde kapatan yeni kemik yapımı ve derinde damardan zengin aktif fibröz bağ dokusu. (H&Ex100). 49

Şekil 4.10. TZF membran uygulanan defektlerin histomorfometrik kesitleri **A.**

7.günde gevşek yapısı bağ dokusu içinde ince yeni kemik trabekülleri (H&Ex100) **B.** 14.günde gevşek yapıda bağ dokusu içinde tüm defekt bölgesine dağılmış ince trabeküler kemik dokusu. (H&Ex40) **C.** 28.günde defekt bölgesini dolduran ince trabeküler kemik dokusu. (H&Ex40) **D.** 42.günde defekt bölgesinde yüzeyi ince trabeküler kemik ile kapatan yeni kemik dokusu derinde normosellüler kemik iliği (H&Ex100). 50

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

Adenozin Trifosfat (ATP)

Alfa (α)

Beta (β)

Dakika (Dk)

Dakikadaki Dönme Hızı (Round Per Minute, RPM)

Dönüştürücü Büyüme Faktör- β (Transforming Growth Factor- β)

Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)

Fibroblast Büyüme Faktörü (Fibroblast Growth Factor, FGF)

Genişletilmiş Politetraflouroetilen (Expanded Polytetrafluoroethylene, e-PTFE)

Gram (gr)

Hidroklorik asit (HCl)

Hidroksilapatit Kristalleri [$3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2(\text{OH})_2$]

Interlökin (IL)

Intra muskuler (I.M.)

Intra venöz (I.V.)

İlgili Alan (Region of Interest, ROI)

İnsulin Benzeri Büyüme Faktörleri (Insulin-like Growht Factor, IGF)

Kalsiyum (Calcium, Ca)

Kalsiyum Hidroksi Apatit (CaHA)

Kemik Mineral Yoğunluğu (Bone Mineral Density, BMD)

Kemik Morfojenik Protein (Bone Morphogenetic Protein, BMP)

Kilo Volt Pik (kVp)

Kilogram (kg)

Litre (Lt)

Lökosit ve Trombositten Zengin Plazma (L-TZP)

Lökosit ve Trombositten Zengin Fibrin (L-TZF)

Makrofaj-Koloni Uyarıcı Faktör (M-CSF)

Mikro-Bilgisayarlı Tomografi (μ -CT)

Mikrolitre (μ L)

Mikrometre (μ m)

Mili Amper (μ A)

Miligram (mg)

Mililitre (ml)

milimetre (mm)

Nitrik Oksit (NO)

Osteoprotegerin (OPG)

Poli L-laktik (PLLA)

Poli L-laktik-glikolid (PLGA)

Prostaglandin E2 (PGE2)

Prostaglandin I2 (PGI2)

RANK (Receptor activator of nuclear factor kappa-B)

RANKL (Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand)

Saf Trombositten Zengin Plazma (Pure Platelet Rich Plazma, S-TZP)

Santimetre (cm)

Semaforin (Sema)

Titanyum Tüp ile Elde Edilen Trombositten Zengin Fibrin (T-TZF)

Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörleri (Platelet-Derived Growth Factor,PDGF)

Trombositten Zengin Büyüme Faktörü (Platelet Rich Growth Factor, PRGF)

Trombositten Zengin Fibrin (Platelet Rich Fibrin, TZF)

Trombositten Zengin Plazma (Platelet Rich Plazma, TZP)

Tümör Nekrotizan Faktör- α (TNF- α)

Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

Watt (W)

Yoğun Politetraflouroetilen (Dense Polytetrafluoroethylene, d-PTFE)

Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu (Guided Tissue Regeneration, YDR)

Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu (Guided Bone Regeneration, YKR)



ÖZET

Biren, Y.Y. Titanyum Tüp İle Elde Edilen Trombositten Zengin Fibrinin Kemik Defektlerinin Onarımında Bariyer Membran Olarak Kullanımının İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Periodontoloji AD. Doktora Tezi. İstanbul 2019.

Trombositten zengin fibrin (TZF); bünyesinde bol miktarda trombosit ve büyüme faktörü bulunduran, santrifüj işlemi sırasında hiçbir kimyasal ajana ihtiyaç duymayan tamamen otolog ikinci nesil bir kan ürünüdür. TZF, hasar gören dokuya iyileşme ve artmış rejenerasyon kabiliyeti kazandırır. Üçüncü nesil olarak da T-TZF geliştirilmiştir. T-TZF, TZF'e göre daha yoğun bir fibrin ağına sahip olduğu için rezorpsiyon süresi daha uzundur. T-TZF'nin uzayan rezorpsiyon süresinin, kemik oluşumuna katkısı araştırılması hedeflenmektedir.

Çalışmamızın amacı; tavşan tibialarına oluşturulan silindirik defektlerin test ve kontrol gruplarına uygulanan tedaviler sonucunda kemik dolumlarını değerlendirmektir.

Çalışmamızda 28 adet sağlıklı, erkek, Yeni Zellanda tavşanı kullanıldı. Tavşanların her iki tibiasının gövde kısmına silindirik defektler açıldı (3mm çapında, 4mm derinliğinde). Defektler e-PTFE, TZF ve T-TZF membranlarla örtüldü. Bir defekt, normal kemik iyileşmesini inceleyebilmek için boş bırakıldı. Operasyonlar sonrasında tavşanlar 7, 14, 28 ve 42. günlerde sakrifiye edildi ve tibiaları çıkarıldı. Alınan örnekler mikro-bilgisayarlı tomografi (μ BT) ile analiz edildikten sonra histomorfometrik olarak incelendi. μ BT sonuçları istatistiksel olarak analiz edildiğinde, tüm gruplarda ve sakrifikasyon zamanları arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulundu. Histolojik kesitlerden elde edilen sonuçlara göre de iyileşme ve yeni kemik oluşumu değerleri arasında istatistiksel olarak farklılıklar vardır.

Anahtar Kelimeler: Titanyum Tüp ile Hazırlanmış Trombositten Zengin Fibrin, Trombositten Zengin Fibrin, Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu, Rezorbe Olmayan Membran, e-PTFE Membran,

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 188394

ABSTRACT

BIREN, Y.Y. Investigation of Titanium Prepared Platelet Rich Fibrin as A Barrier Membrane in The Repair of Bone Defects. İstanbul University, Institute of Health Science, Periodontology Department. Ph.D Thesis. Istanbul 2019.

Platelet rich Fibrin (PRF) is a second generation product which is enriched with thrombocyte and growth factors. PRF is an autologous product that is produced by centrifuge and does not include any biochemical modification. PRF enhances the regeneration and healing around the injured areas. T-PRF is developed as a third generation product. Resorption time of T-PRF is longer than PRF due to its denser fibrin network. In this study, prolonged resorption time of T-PRF's contribution on bone formation is investigated.

The aim of this study is to evaluate bone fill inside the cylindrical defects randomly allocated to test or control treatments within the same animal model. 28 healthy male New Zealand rabbits were used in this study. The cylindrical defects were surgically created at both tibia (3 mm in diameter and 4 mm in length). Each tibia has two identical defects at the shaft of the bone. Defects were covered up with e-PTFE, PRF and Titanium-PRF (T-PRF) membrane. One defect area was used for a control group for the control of regular bone healing observation. The rabbits were sacrificed at 7, 14, 28, 42 days after operations. The both tibias of the rabbits were excised. The samples were analyzed by micro computerized tomography (μ CT). After μ CT screening, all samples were examined histologically. After analyzation with μ CT, there was a statistical difference between each group and the sacrifice times. The histological samples showed that there was a difference between each groups according to healing and new bone regeneration.

Key Words: Titanium Derived Platelet Rich Fibrin, Platelet Rich Fibrin, Guided Bone Regeneration, Non-Resorbable Membrane, e-PTFE membrane.

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 188394

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kemik dokusu, bünyesindeki hücreler vasıtasıyla sürekli yeniden şekillenen özelleşmiş bir dokudur. Osteoklastlar tarafından kemik yıkımı görülürken, osteoblastlar tarafından da kemik yapımı devam eder. Osteositler de mekanik uyarınları algılayarak, kemiğin yeniden şekillenmesi için hücreleri organize eder. Ayrıca büyüme faktörleri, sitokinler gibi lokal faktörler ve kalsitonin, östrojen gibi sistemik faktörlerin etkileri ile kemik hemostazı kontrol altında tutulmuş olur¹.

Kemik defektlerinin hızlı ve kaliteli dolumunu sağlamak için dokudaki büyüme faktörlerinin uyarılması ile osteoblastların aktivitelerinin artması sağlanmaktadır. Bu durumun otolog yollarla sağlanabilmesi için çalışmalar yapılmaktadır. Sıklıkla cerrahi operasyonlarda Trombositten zengin plazma(TZP) ve trombositten zengin fibrin(TZF) kullanılmaktadır². Lökosit ve trombositten zengin fibrin(L-TZF) ilk olarak 2001 yılında Fransa'da geliştirildi³. L-TZF santrifüj işlemi sırasında hiçbir anti-koagulan ajana veya sığır trombinine ihtiyaç duymaksızın tamamen otojen olarak üretilebilmektedir. Bu yeni gelişim kan ürünleri arasında ikinci jenerasyon olarak görülmektedir. Trombositler cam tüpün duvarlarıyla temasa geçtikten birkaç dakika sonra aktive olmaya başlar ve başlangıçta tübün tabanında bulunan fibrinojeni trombinler vasıtasıyla fibrine dönüştürür. Bu sayede oluşan fibrin, tüpün ortasında toplanır⁴. Yeterli miktarda L-TZF elde edebilmek için toplanan kanın bir an önce santrifüj işlemine tabi tutulması gerekmektedir. Aksi takdirde kan pıhtılaşmaya başlayacak ve elde edilen fibrin miktarı azalacaktır. Yeterli oranda bir fibrin elde etmek için kanın tüpte bekleme süresi büyük önem teşkil etmektedir⁵.

L-TZF ile ilgili bir çok çalışma yapılırken akıllara cam tüpten elde edilen fibrin yapısı içerisinde silika parçacıkları olabileceği ve bu durumunda insan sağlığını ve trombosit aktivasyonunu olumsuz etkileyebileceği öne sürüldü⁶.

Bu gelişmeler üzerine cam tüp yerine daha biyoyumlu bir materyal olan titanyum tüplerde TZF elde edildi⁷. Başlangıçta titanyum kullanılmasıdaki amaç; kuru cam tüpte veya içi cam dışı plastik olan tüplerde oluşan spekülasyonları bertaraf etmektir. Aynı yöntemlerle titanyum tüplerde elde edilen fibrine T-TZF adı verildi⁸.

L-TZF ve T-TZF birlikte incelendiğinde histolojik olarak içerik benzerliği gösterdikleri fakat fibrin yapılarında, mekanik açıdan farklılıklar olduğu görülmektedir. T-TZF içerisindeki liflerin daha kalın ve daha yoğun olduğu mikroskobik incelemelerde görülmektedir. Buna bağlı olarak T-TZF' nin mikro boşlukları L-TZF' ye nazaran ufaktır. Titanyum materyalinin kan ile uyumu, silikaya göre çok daha yüksektir. Fibrin polimerizasyonu; kan, titanyum veya silika yüzeye temas ettiği an başlamaktadır. Titanyum tüpte elde edilen fibrinin polimerizasyonu, silika tüpe göre çok daha organize'dir. Bu sebeple T-TZF, daha sıkı ve daha güçlü bir yapıya sahiptir ve rezorpsiyon süresi de L-TZF' ye göre daha uzundur. TZF'nin rezorpsiyon süresi 7-14 günden, titanyum tüp kullanılarak hazırlanan TZF ile 30-40 gün arasına kadar uzatılmıştır. T-TZF' nin rezorpsiyon süresi, diğer trombosit zengin kan konsantrasyonlarının aksine T-TZF'nin yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu(YKR) operasyonlarında çatı olarak kullanılmasına olanak tanımaktadır⁷.

YKR'da, operasyon bölgesine yumuşak doku erişimi engellenerek yeni kemik oluşumu amaçlanır. Epitel göçünü ve fibroblast infiltrasyonunu engellemek için YKR' nin en gerekli materyali, membranlardır. YKR'da kullanılan membranlar geçmişten günümüze rezorpsiyon özelliklerine göre ikiye ayrılır. Rezorbe olmayan membranlar, birinci jenerasyon membranlar olarak tanımlanırlar. Biyouyumlulukları ve boşluk yaratma kabiliyetleri çok iyi olan bu membranların ikincil bir cerrahi gerektirmelerinden dolayı bir dezavantajları vardır. Bu sebeple ikinci jenerasyon olarak adlandırılan rezorbe olan membranlar geliştirilmiştir ve bir çok klinik çalışmada kullanılmaya başlanmıştır⁹⁻¹¹. Defekt bölgesinde kullanılan membranlar, kemik greftleri ile kullanılmaya devam ederken üçüncü jenerasyon da ise alıcı dokunun kendi rejeneratif potansiyelini tetikleyecek ürünler geliştirilmeye başlanmıştır⁹.

Çalışmamızın amacı; oluşturulan kemik defektlerinde farklı tipte membranlar kullanılarak kemik iyileşmesinin incelenmesidir. YKR' da altın standart olan e-PTFE membranlar ile tamamen otojen TZF ve T-TZF'nin kemik oluşumuna etkilerinin araştırılması hedeflenmektedir. Doğal iyileşmenin takibi için ise kontrol grubu olarak membran uygulanmayan bir defekt bırakılmıştır. Çalışmamızın sonunda kemik oluşumu için gereken sürede T-TZF'nin rezorpsiyon süresi yeterli görülürse; YKR uygulamalarına membranlara alternatif tamamen otojen bir materyal kazandırılması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KEMİK DOKUSU

Kemik, iskelet sisteminin büyük bir kısmını oluşturan özel ve sıkı bir yapıya sahiptir. Ayrıca vücudun ana destek dokusudur. Görevleri; vücudu ve hayati boşlukları desteklemek, hayati organları korumak, vücudun hareketi için mekanik destek sağlamak, mineraller için depo kaynağı olmak ve kemik iliklerinden devamlı bir yeni kan hücresi üretimi sağlamaktır¹². Yani; biyomekanik, metabolik ve hematopoetik görevleri olan özelleşmiş bir bağ dokusudur. Kas dokusu için destek vermesi ve hayati organları koruyucu yapısı biyomekanik görevini, potasyum, kalsiyum ve diğer iyonlar için depo görevi görmesi ve gerekli olduğunda vücuda salınım yapması metabolik görevini ve kemik iliğinden üretilen kan hücreleri de hematopoetik görevini açıklamaktadır¹³.

2.1.1. KEMİĞİN KİMYASAL YAPISI

Kemik matriksi; organik matriks ve inorganik matriks olmak üzere ikiye ayrılır. Kolajen ve ana(esas) madde organik matriksi oluştururken, kalsiyum, fosfor ve diğer bazı elementlerden inorganik matriks oluşur. Organik ve inorganik matriksin içerik farklılıkları kemiğin fiziksel özelliğini belirler. Kemiğin, %30-35'ini organik matriks, %65-70'ini inorganik matriks ve %10-29' unu su meydana getirir¹³. Bu değişken içeriklerden dolayı kemiğin sertliği, yoğunluğu gibi özellikler farklılık gösterir.

2.1.1.1. İnorganik Yapı

İnorganik matriks, kemik dokusunun yaklaşık olarak % 65'ini oluşturur. Kolajen liflerin arasında bulunan hidroksilapatit $[3Ca_3(PO_4)_2(OH)_2]$ kristallerinden meydana gelir. Hidroksilapatit kristalleri yapısında karbonat, sitrat, magnezyum, flor ve stronsiyum bulundurur. Kristaller, kolajen lifler arasında iğne, tabaka ve çubuk şeklinde görülürler¹⁴.

Kolajen lif demetleri ve hidroksilapatit kristalleri birbirlerine kimyasal bağlarla sıkıca bağlıdır. Bu bağlanma; kemik dokusuna, gerilme ve sıkışmaya karşı dirençli bir yapı kazandırır. Ayrıca kemikte kırılmayı önler^{15,16}.

2.1.1.2. Organik Yapı

Organik matriksin %95'ini kolajenler oluştururken, %5'ini de kolajen dışı proteinler oluşturur. Kolajenlerin %90'ını ise tip I kolajen meydana getirir. Sağlıklı dişetinde ise oran daha da yüksektir. %97-99 tip I ve tip III kollajenden oluşur. Tip III kollajen, minör hasarlarda görülmüştür¹. Diğer tüm kollajen tipleri (IV, V, VI, VII) basal membran ile ilişkilidir. Periodontitisli hastalardan alınan biyopsi örnekleri elektron mikroskopunda incelendiğinde, lökosit infiltrasyonu olan alanlarda tip I ve tip III kollajenin tamamen yıkıma uğradığı, bazal membranla ilişkili tip V ve tip VI kolajenin enflame dokuda kaldığı görülmüştür. Artan vaskülarite ve epitel proliferasyonu ile bağlantılı olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca iskelet sistemindeki çoğu kemikleşme endokondral kemikleşme şeklinde olmaktadır. Endokondral kemikleşme safhasındaki büyüme plakalarının etrafını kondrositler çevrelemektedir. Tip II, IX ve XI kondrositler tarafından salgılanmaktadır. Olgun ve hipertrofik kondrositler ise çoğunlukla tip X kollajen salgırlar. Tip I kollajen hariç tüm kolajen tipleri %3' ü geçmemektedir¹⁷.

Osteokalsin, osteonektin, osteopontin, fibronektin, kemik siyaloprotein II, kemik morfojenik proteinler ve büyüme faktörleri de kollajen dışı proteinlerdir. Kolajen ve kolajen olmayan proteinler, inorganik ürünlerle birleşerek hidroksiapatit kristallerinin depolanması için bir çatı oluşturur¹⁸⁻²⁰.

Kemik matriksi, görkemli ve organize bir yapıya sahiptir. Bu yapısı sayesinde dokulara mekanik destek ve kemik homeostazını sağlar. Ayrıca kemik hücrelerinin metabolik aktivasyonu için ortama çok sayıda molekül salgılar. Kemik dokusunun sağlamlığını ve devamlılığını belirleyen en kritik unsur ise kolajendir²¹. Kolajenin heliks yapısındaki mikropoların içerisinde Kalsiyum (Ca) tuzları giriş yaparak kemik dokusunun mineralizasyonunu başlatır²².

Organik matriks sadece kemik hücrelerine destek sağlamakta görev almakla kalmazlar. Aynı zamanda bütün kemik hücrelerinin aktivasyonunu düzenleyen adezyon moleküllerini de organize eder. Örneğin; integrinler, kemik hücreleri ve kemik matriksi arasındaki ilişkiyi sağlayan en bilinen adezyon molekül grubudur. Osteoblastlar, kemik matriksiyle ilişkilerini integrinler sayesinde gerçekleştirirler. Osteoblastların içinde mevcut olan integrinler, $\alpha_1 \beta_1$, $\alpha_2 \beta_1$, and $\alpha_5 \beta_1$ 'dir. Osteoid sentezi sırasında, bu proteinler kemik yüzeyindeki osteoblast organizasyonunda önemli rol oynarlar²³.

Organik matriks, osteoblastlar tarafından sentezlenmektedir ve mineralize olmamış haline ‘osteoid’ adı verilir ve kemik ağırlığının yaklaşık %30-35’ini oluştururlar. Kolajen fibrillerin üzerine kalsiyum ve fosfat iyonlarının çökmesi sonucu hidroksiapatit kristalleri oluşur. Kolajen olmayan proteinler de kolajen fibrillerin yüzeylerine uzunlamasına sıralanarak, mineralizasyonun tamamlanmasına yardımcı olurlar. Matriks proteinlerinin konsantrasyonları; yaşa, beslenmeye, hastalıklara ve osteoporotik tedavilere göre farklılık gösterir. Buna bağlı olarak da kemiklerin mekanik özellikleri farklılık göstererek, fraktüre yatkınlıkları artabilir²⁴.

2.1.2. KEMİK HÜCRELERİ

Kemik içerisinde tanımlanmış farklı hücre grupları mevcuttur. Bunlar osteogenik öncü hücreler, osteoblastlar, osteoklastlar, osteositler ve kemik iliğinin hematopoyetik elementleridir¹³.

2.1.2.1. Osteoblastlar

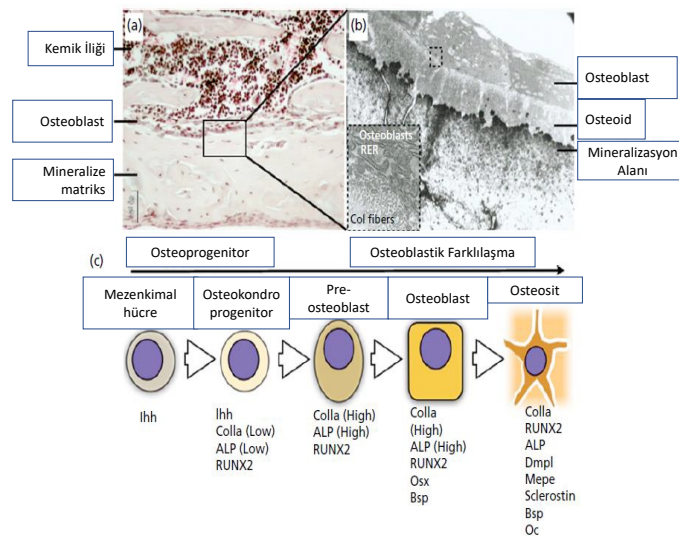
Osteoblastlar, kemik yapımından sorumlu hücrelerdir. Histolojik olarak incelendiğinde kemik yüzeyinde konumlanan kübik formda hücrelerdir. Toplam kemik hücresi sayısının % 4-6’sını oluşturur. Hücre yapısında granüllü endoplazmik retikulum ve gelişmiş golgi aparatı vardır. Granüllü endoplazmik retikulumun granülleri ribozomlardır. Ribozomları sayesinde de protein sentezi yapar²⁵. Kemik matriksinin organik bileşenleri olan glikoproteinlerin, proteoglikanların ve tip I kollagenin sentezini sağlar ve matriks mineralizasyonunu kontrol eder.

Osteoblastlar kemik yüzeyinde konumlanarak aktif matriks depolarlar ve nihayetinde iki farklı hücre tipine farklılaşırlar. Bu hücre tipleri; kemik örtücü hücreler ve osteositlerdir. Kemik örtücü hücreler, periosteum veya endosteum üzerinde yassılaştırmış hücrelerdir ve hiçbir aktivitede bulunmazlar¹.

Osteoblastlar göç ve çoğalma kapasitelerinin eksikliğine göre tamamen farklılaşabilir hücrelerdir. Yeni kemik oluşumu için farklılaşmamış mezenkimal hücreler, osteoproteinitor hücrelere dönüşürler. Bu dönüşümü sağlayan gen formasyonları Indian Hedgehog(Ihh) (Hint Kirpisi) geni olarak bilinen gen ve daha

sonra RUNX2 genidir. Osteoprogenitor hücreler göç ederek kemik yapım alanına giderler ve çoğalarak osteoblast olurlar.

Osteoprogenitor hücreler; kemik iliği içerisinde, endosteum içerisinde, periosteum içerisinde ve kemik yüzeyinde bulunur. Bu hücreler osteoblastlara farklılaşabilecek içsel kapasiteye sahiptirler. Osteoprogenitor hücrelerin, osteoblastlara farklılaşıp çoğalması büyüme faktörlerine bağlıdır. Örneğin; kemik morfojenik Protein(BMP), insulin benzeri büyüme faktörü(IGF), trombosit türevleri büyüme faktörleri (PDGF) ve Fibroblast büyüme faktörleri (FGF)¹³.



Şekil 2.1. Osteoblastik Farklılaşma Döngüsü¹³

2.1.2.2. Osteositler

Osteositler toplam kemik hücre sayısının %90-95' ini oluştururlar. Kemik içerisinde çokça bulunan osteositler 25 yıla kadar uzanan yaşam döngüsünde yaşarlar. Histolojik incelemede yıldız şeklinde hücreler olarak görünürler. Osteoblastlara göre daha ufaktırlar. Lakün içerisinde bulunan osteositlerin morfolojik şekilleri kemik tipine göre farklılık gösterir. Örneğin; trabeküler kemik içerisindeki osteositler, kortikal kemik içerisindeki osteositlere göre daha yuvarlak görünürler. Kortikal kemik içerisindekiler ise daha ince uzun görünürler²⁶.

Osteoblastlardan gelişen osteositler, matriks lamelleri arasındaki lakünlerin içerisinde bulunurlar. Her lakünde sadece bir osteosit bulunur. Lameller boyunca

ilerleyen ve komşu iki lakünü birbirine bağlayan kanal sistemine kanalikül denir. Osteositler, bu kanallardan uzayarak kan damarları ve diğer osteositlerle bağlantı kurarlar²⁷.

Kemikte oluşan mekanik uyarılarda veya kemik deformasyonlarında kanalikuli içerisindeki sıvılar hareket ederler. Bu hareketi algılayan osteosit ağı, hücre seviyesinde organize olarak mekanik sinyalleri biokimyasal mediatörlere iletirler. Mekanik uyarılarda, osteositler; ATP, nitrik oksit(NO), Ca²⁺, prostoglandinler (PGE₂ ve PGI₂) gibi bir çok ikincil mesajcı üretir^{28,29}. Bu sayede hücrede anabolik veya katabolik mekanizma devreye girer. Osteositlerin bu davranış şekilleri göstermektedir ki;

- 1)Kandaki kalsiyum devamlılığının düzenlenmesine katkı sağlamak
- 2)Mekanik uyarılara hassasiyet göstererek osteoblastik veya osteoklastik aktiviteyi düzenlemektir^{13,30}.

2.1.2.3. Osteoklastlar

Osteoklastlar, şekil ve çekirdek sayıları değişkenlik gösteren, kemik iliğindeki granülosit, makrofaj progenitör hücrelerinden köken alan, hareket edebilen, çok çekirdekli dev hücrelerdir^{15,16,31}. Osteoklast oluşumunu, interlökin-1,3,6 ve 11 TGF- β ve tümör nekrotizan faktör- α (TNF- α) tetikleyen faktörler olduğu düşünülmektedir. Kemik rezorpsiyonundan sorumlu olan osteoklastlar, sıklıkla kemik yüzeyindeki Howship lakünaları adı verilen eroziv boşluklarda bulunurlar. Histolojik olarak kemik rezorpsiyonu, osteoklastlara komşu bölgelerde gerçekleşir. Osteoklastların dış yüzeyindeki plazma membranları kemik ile olan kontak yüzeyini arttırmak için girintili çıkıntılı bir şekle dönüşerek kemiğe doğru uzantılar yaparlar. Osteoklastların rezorpsiyon bölgesine doğru yaptıkları fırçamsı yüzeylerine ‘podosom’ adı verilmektedir. Bu bölgeden salgılanan proteolitik enzimler ve asitler aracılığı ile kemiğin organik matriksini ve kemik tuzlarını eritirler. Osteoklastlar osteoblastlarla beraber kemiğin mekanik etkenlerine bağlı olarak şekillenmesini sağlarlar³².

RANKL, osteoklastogenesi etkileyen önemli bir faktördür. Osteoblastlar, osteositler ve stromal hücreler tarafından ortama gönderilirler. RANK ise osteoklast öncü hücrelerinde bulunurlar. RANK-RANKL birleşimi gerçekleştiği zaman osteoklast

oluşumu başlatılır. Osteoklastogenesi engelleyen mekanizma ise osteoprotegerin (OPG)'in RANKL'a bağlanmasıdır. OPG; osteoblastlar, stromal hücreler, gingival ve periodontal fibroblastlar tarafından üretilir. RANKL'a OPG bağlandığı zaman osteoklastogenesi engellenmiş olur. RANK-RANKL-OPG sistemi osteoklast oluşumunun kilit mekanizmasıdır³³⁻³⁵.

Erişkin bir kemiğin depolama ve absorpsiyon hızları birbirine eşit olduğundan kemiğin toplam kitlesi sabit kalır. Osteoklastların etkinliği; bifosfonatlar, kalsitonin ve östrojen ile azalırken; paratiroid, tiroksin ve D vitamini ile artar¹⁵.

2.1.3. KEMİK DOKUSU TİPLERİ

2.1.3.1. Primer Kemik Dokusu

İlk oluşan kemik dokusudur. Embriyo gelişiminde veya kemik tamir olaylarında görülür ve sonrasında yerini sekonder kemik dokusuna devreder. Kemik iyileşmesi safhasında, çok hızlı oluşabildiği için, çok önemli rolü vardır. Günde 30 ile 60 mm arasında oluşabilir. Bu sebeple olgunlaşmamış kemik veya nonlameller kemik olarak da adlandırılır³⁶. İçerisinde çok sayıda osteosit bulundurmasına rağmen, primer kemik dokusu yetişkindeki kemiğin bilinen mekanik özelliklerini taşımaz³⁷. Organik matriksleri belli bir düzen gösteremediği için biyomekanik açıdan dayanıklı kemikler değildir. Vücutta sadece düz kemiklerin suturalarında, diş soketlerinde, kafatasında ve bazı tendonların bağlanma bölgelerinde kalıcı olarak primer kemik dokusu bulunur. Onun haricinde herhangi bir kırık veya kemik hasarına bağlı oluşan bu doku yerini sekonder kemik dokusuna bırakır. Bu değişime de kemiğin yeniden şekillenmesi (remodelling) denir^{1,16}.

2.1.3.2. Sekonder Kemik Dokusu

Primer kemik dokusu faz I kemik olarak geçerken, sekonder kemik dokusu faz II kemik olarak adlandırılmaktadır. Primer kemiğin rezorpsiyonu sırasında 'kompozit kemik' sekonder kemik dokusu için bir kafes oluşturur. Bu değişim sırasında yeni kemik oluşumu daha yavaş gerçekleşir. Yaklaşık günde 0,6 ile 1 mm arasında kemik oluşumu görülür. Daha yavaş oluşan bu kemik daha iyi organize olarak lameller kemiği meydana getirir. Lameller kemik vücuttaki en çok sayıda olan, en olgun ve en dayanıklı kemiktir²⁴.

2.1.4. KEMİKLEŞME TİPLERİ

İskelet sisteminin oluşumu, embriyonik dönemden itibaren direk veya indirek kemikleşme içerisindedir.

Mandibula, maksilla, köprücük kemiği ve kafatası kemiklerinin gelişiminde, mezenkimal öncü hücrelerin, osteoblastlara dönüşmelerini takiben oluşan kemik tipi *intramembranöz kemikleşme* olarak bilinmektedir.

Bir diğer kemikleşme tipi de, mandibular kondilde, uzun kemiklerde ve vertebrada görülen *endokondral kemikleşme*dir. Bu kemikleşme tipinde başlangıçta kemik yerinde kıkırdak taslak vardır. Bu kıkırdak taslak yerini kemik dokusuna bırakarak yeni kemik oluşumu sağlanmaktadır¹³.

2.1.4.1. İntramembranöz Kemikleşme

İntramembranöz kemikleşme döneminde, kemikleşme alanında mezenkimal yoğunlaşma görülür. Kollajenden zengin ekstraselüler matriks gelişir ve olgunlaşır. Osteoprogenitör hücreler farklılaşarak osteoblastlara dönüşürler. Kemikleşme merkezinin dış yüzeyinde, osteoblastların üzerinde fibröz bir periosteum oluşur. Periosteumun altında yeni osteoblastlar oluşmaya başlayarak apozisyonel bir büyüme meydana gelir. Altta kalan osteoblast popülasyonu mineralize matriks içerisinde gömülü kalırlar ve osteositlere dönüşürler. Kraniyofasiyal bölgede kemiklerin çoğu bu mekanizma ile gelişip, büyürler^{1,13}.

2.1.4.2. Endokondral Kemikleşme

Kemikler, oluşan hiyalin kıkırdak şablon üzerinden gelişirler ve mineralize olurlar. Daha sonra osteoklastlar tarafından rezorbe edilirler ve daha sonra yerine yeniden kemik oluşur. Bu kemikleşme, gebeliğin 3. ayında başlar. Endokondral kemikleşme aşamasında kıkırdak yapı, kemikleşme merkezlerinin ayrılmasına neden olur ve böylelikle birinci ve ikinci büyüme merkezi oluşmuş olur. Büyüme merkezlerini ayıran bu kıkırdak yapıya da büyüme plakası adı verilir.

Kemik oluşumu, kemik merkezinden uçlara doğru devam eder. Kemikleşmeye taslak oluşturan kıkırdak hücreleri ölür. Osteoblastlar, kıkırdak trabeküllerinin çevresini süngerimsi kemikle kaplar. Kemikleşme devam ederken, osteoklastlar da oluşan süngerimsi kemiği rezorbe ederek birincil kemik iliği kavitesini genişletirler. Kemik

iliği kavitesinin genişliğini kompanse etmek için periost yüzeyi kalınlaşır ve kemik epifislere doğru uzar.

Yeni kemik matriksi oluşurken; osteoklastların, oluşmasında görev aldığı medullar kavite hızlıca hematopoetik kemik iliği dokusuyla dolar. Mineralize olmayan, fibröz ve medullar kaviteyi içten çevreleyen yapı endosteum'dur. Osteoblastlar endosteumun içerisinde oluşurlar ve endosteal kemiğin oluşumunu başlatırlar. Endosteal kemiğin apozisyonel büyümesinin sebebi kemik iliği kavitelerinin kapanmasını önlemek ve kemik iliği yapısının bozulmasını engellemektir^{1,13,38}.

2.1.5. KEMİK İYİLEŞMESİ

Kırık iyileşmesi, lokal doku hacminin enflamasyona bağlı olarak artmasıyla başlar. Kırık bölgesinde hematoma oluşur. Oluşan hematoma, kök hücrelerin; fibröz dokulara, kırıkdağa ve kemiğe dönüşebilmesi için geçici bir çatı görevi üstlenir. Enflamasyon evresinde; TNF- α , TGF- β , BMPs, IL-1 β , IL-6, IL-17F ve IL-23 salınır. Bu sitokinlere ek olarak hidrostatik basınç ve gerilim gibi mekanik faktörler de kemik iyileşmesinde rol oynar³⁹⁻⁴¹.

Kondrositler, fibroblastlar, osteoblastlar ve endotel hücrelerin aktivitelerinin dışında kemik oluşumuna önemli katkı sağlayan mezenkimal kök hücrelerinin aktiviteleri de, yukarıda bahsedilen biyolojik ve mekanik faktörler tarafından düzenlenir.

İskelet ve endotel hücrelerinin aktiviteleriyle oluşan yumuşak kallus kemik fragmanları arasında köprü görevi görür. Yumuşak kallus sonrasında sert kallusa dönüşür.

2 tip kemik iyileşmesi vardır. Bunlar primer ve sekonder kemik iyileşmesidir. Primer kemik iyileşmesinde kallus yoktur. Direkt olarak osteoblastların aktivitesine bağlı olarak kemikleşme başlar. Kemik iyileşmesinde en sık görülen sekonder kemik iyileşmesinde ise kemik fragmanları arasında bir kallus oluşumu vardır^{41,42}. Sekonder kemik iyileşmesi anabolik bir reaksiyon olarak başlar ve devamında katabolik faza geçer. Böylelikle kallusun hacmi düşer. Osteoblastlar ve osteoklastların aktivasyonuna bağlı olarak kemik yeniden şekillenir. Bu evre remodeling olarak adlandırılır ve aylarca devam eder⁴³.

2.1.5.1. Enflamasyon Evresi

Kemik travmasını takiben; çevre dokulardan ve kemik iliği içerisinde gelen kan hücreleri sayesinde bölgede hematoma oluşur. Hematom, düşük pH ve oksijen azlığı ile karakterizedir ve enflamasyon hücrelerinin invazyonunu aktive etmek için geçici bir çatı oluşturur. Erken enflamasyon fazında çok sayıda pro-enflamatuvar sitokin salgılanır. Bunlar TNF- α , IL-1 β ve TGF- β , BMP-2, BMP-4, BMP-6 içeren büyüme faktörleridir. Bunlara ek olarak kan damarlarının yırtılmasına bağlı olarak gelişen hipoksik durumu düzenlemek için anjiogenik faktörler (anjiopoetin-1, VEGF) de salgılanır. Bu faktörler anjiogenesisi başlatır. Sıçanlarda yapılan bir çalışmaya göre akut enflamasyon fazı ilk 24 saat içerisinde en üst düzeye ulaşır ve kırık oluşumunun 7 gün sonrasında tamamlanmış olur. En ideal iyileşme için kısa süreli iltihabi yanıt gerekli görülmektedir. Kemik kırığının ardından bir kaç gün içerisinde uygulanan anti-enflamatuvar tedavinin iyileşmeyi engellediği görülmüştür. Farelerde yapılan çalışmaya göre de TNF- α 'nın eksikliğinde bozuk kemik iyileşmesi görülmektedir⁴⁴. TNF- α 'nın geçici salınımı da mezenkimal hücrelerin osteoblastik farklılaşmasını tetiklediğini göstermiştir^{39,41}.

2.1.5.2. Onarım Evresi

Onarım evresinin başlıca gereksinimi yeni ekstraselüler matriks depolanmasıdır. Bu durum için de kemik fraktürünün stabil olması gerekmektedir. Daha sonrasında yeterli miktarda matriks seviyesine ulaşabilmek için mezenkimal kök hücrelerinin kondrositlere ve osteoblastlara farklılaşması gerekir. Kök hücreler çoğunlukla kemik iliği, kan damarları, periosteum gibi yakın çevre dokulardan elde edilmelidir⁴³. Kök hücre miktarında, yaşlanmaya ve diyabete bağlı azalma görüldüğünde, fraktür iyileşmeleri problemlili bir hal almaktadır^{39,45,46}.

Kondrositler tarafından fraktür bölgesinde başlangıç ekstraselüler matriksi depolanmaktadır. Bu oluşan ilk kıkırdak yapı yumuşak kallusu oluşturmaktadır. Aynı zamanda fraktür bölgesi hala avasküler yapıda hipoksik bir durumdadır. Mezenkimal kök hücrelerden, ilk kondrositlerin farklılaşmasını bu hipoksik durumun belirlediği düşünülmektedir^{39,47}.

Daha sonrasında endokondral kemikleşme aşamaları başlamaktadır. Kondrositler hipertrofiye uğrayıp, kırıkta yapı mineralize olur. Mineralize kırıkta, osteoklastlar tarafından rezorbe edilir. Rezorpsiyon sonucu oluşan boşluğa osteoblastlar örgü kemiği yaparlar ve böylece fraktür bölgesinde sert kallus oluşarak rijit bir yapı sağlanmış olur. Örgü kemik, dayanıklılık olarak olgun lameller kemikten daha zayıf olsa da hızlı bir şekilde yeni kemikleşme ve mineralizasyon gösterebilmektedir. Örgü kemik, kırık bölgesini çevreleyerek çatı oluşturur ve damarlanmaya destek olur^{39,41}.

2.1.5.3. Yeniden Şekillenme (remodelizasyon) evresi

Yeniden şekillenme döngüsü, oluşacak olan yeni kemik kavitesi içerisinde gerçekleşir. Bu kavite içerisinde, ana çok hücreli birim olarak adlandırılan geçici anatomik bir yapı vardır. Kan damarları ve çevre uyaranlarla alakalı olarak yeni kemik yapımı bölgelerinde osteoblastlar bulunurken, yıkım olan bölgelerde osteoklastlar mevcuttur. Ana çok hücreli birim çevresini, kemik örtücü hücreler çevreler ve kemik remodelizasyon bölümünü oluşturur. Remodelizasyon alanının yüzeyinde kemik matriksi içerisindeki osteositler ile bağlantı sağlanmış olur.

Son safhada, kırık bölgesine oluşan örgü kemiğin yerini lameller kemik doldurmaya başlar. Kemiğin en küçük yapısı olan osteonu oluşturmak için; örgü kemik, lameller kemiğe dönüşür. Bu evre biyokimyasal olarak IL-1 α ⁴⁸, IL-1 β , TNF- α ve BMP-2 ile kontrol edilir. Yeniden şekillenme evresinde, damarlanma kırık öncesindeki seviyelerine kadar indirgenir. Osteoklastlar, kemiğin diyafiz kısmının yeniden şekillenmesi için, periostal ve medullar kallusları rezorbe eder. Bu evre sıçanlarda 5-8 hafta arası bir süreç alırken, insan metabolizmasında yıllar sürer^{39,49}. Ayrıca tavşan çalışmalarında da görülmektedir ki, remodelizasyon evresi sıçanlarda olduğu gibi 6 hafta civarındadır^{8,50}.

Remodelizasyon döngüsü, osteoklastların kemik rezorpsiyonuyla başlar ve osteoblastların kemik yapımıyla devam eder. Bu döngü yapım ve yıkımın dönüşümlü gerçekleştiği bir döngüdür. Osteositlerin ve kemik örtücü hücrelerin düzenlemeleriyle remodelizasyon döngüsü tamamlanır.

Başlangıç safhasında osteoklastların olgunlaşması için RANK-L, Makrofaj-Koloni Uyarıcı Faktör(M-CSF), hematopoyetik kök hücrelerin kemik bölgesinde

bulunması gereklidir. Olgun osteoklastlar kemik rezorpsiyonunu başlatırlar^{51,52}. Son yapılan çalışmalarda, kemik remodelizasyonu sırasında kemik ile hücre arasındaki iletişime dahil olan Semaforin adlı modül grubu olduğu ileri sürülmüştür. Semaforinler, glikoprotein ailesi grubundandır. Hasarlı veya eski kemik ortamdan tamamen uzaklaştırılabilir diye, osteoblastların farklılaşması ve aktivasyonu inhibe edilmektedir. Osteoklastlar, kemik oluşumunu inhibe etmek için Semaforin4D(Sema4D) faktörünü salgırlar⁵³. Sema4D, osteoblastlarda bulunan Plexin-B1 reseptörüne bağlanır. Osteoblast farklılaşmasını ve IGF-1 döngüsünü inhibe eder. Osteoblastlarda da Semaforin grubundan Sema3A bulunmaktadır. Sema3A da kemik oluşumu öncesinde kemik rezorpsiyonunu baskılar⁵⁴. Ayrıca remodelizasyona etki eden bir diğer farklı mekanizma ise EphrinB2 ve EphrinB4 mekanizmasıdır. EphrinB2, olgun osteoklasttan salgılanır. EphrinB4 ise osteoblastların plazma membranında bulunur. Osteoklastogenesi ve kemik yapımını etkileyen bir diğer döngüdür¹.

Remodelizasyon evresinde osteoblastlar ve osteoklastların haricinde osteositlerin de çok önemli görevi vardır. Anabolik ve katabolik döngüler tamamlandıktan sonra osteoblastların ve osteoklastların aktivitelerini koordine ederler. Öreğin, kemiğe mekanik olarak bir kuvvet geldiğinde kemik yüzeyinde anabolik reaksiyonun başlaması için osteositler PGE2, prostasilin(PGI2), NO, ve IGF-1 üretir. Diğer yandan mekanik kuvvetin daha az olduğu tarafta osteositler sklerostin ve DKK-1 üretirler⁵⁵⁻⁵⁸. Sklerostin, SOST geninin ürünüdür ve kemik oluşumunun negatif düzenleyicisi olarak bilinir^{1,59}.

Kemiğin anatomik olarak doğru şekli alması ikinci remodelizasyon ile gerçekleşir. İkincil şekillenme örgü kemiğin yerini lameller kemiğe bırakmasıdır. IL-1 ve IL-6 seviyeleri yükselerek osteoblastik aktivite artar. Sert kallusun yeniden şekillendirilmesi Wolff kanunu'na dayanmaktadır. 'Yüksek stres altındaki bölgelerde kemik oluşumu artar, düşük stres altındaki bölgelerde rezorpsiyon olur.' Bütün bu anabolik ve katabolik mekanizmanın nedeni, medullar kavitenin reformasyonunu sağlamaktır^{38,49,60,61}.

2.2. TROMBOSİTTEN ZENGİN KAN ÜRÜNLERİ

İnsan vücudunda ortalama $200.000 \pm 75000/\mu\text{L}$ trombosit bulunur. Trombositler; küçük, düzensiz şekilli, çekirdeksiz hücrelerdir. Öncü megakaryositlerin parçalanmasından köken alırlar. Hücre yapısında çok az mitokondri, çok sayıda granül ve iki belirgin membranı vardır. Yoğun tübüller sistemi sayesinde kanalikular sisteme bağlanırlar. Trombositlerin 3 farklı granülü vardır. Bunlar; alfa-granülleri, yoğun granüller ve lizozomlardır. Bu 3 granülden birinde bulunan madde ile aktif trombosit gerçek etkisini ortaya çıkartır. En bol bulunan ve birçok bioaktif mediatörü bulunan alfa-granülleridir. Doku hasarı durumunda endotelyum ortaya çıktığında alfa-granülleri direk olarak trombositleri aktive eder ve yara iyileşme faktörlerini ortaya çıkartır. Trombositler tarafından salgılanan büyüme faktörleri:

- Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF)
- Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta (TGF- β)
- Damarsal Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)
- Epidermal Büyüme Faktörü (EBF)
- İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF)²

Trombosit içerikli ürünlerin tıp alanında kullanımı 1990'lı yıllara kadar uzanmaktadır. Periodontoloji, çene-yüz cerrahisi, plastik cerrahi alanlarında ve spor ilaçlarında yaygın olarak kullanılmaktadır^{62,63}. Her geçen gün kullanımı daha da artarak günümüze kadar geliştirilerek gelmiştir. Trombositler, yara bölgesine gelerek iyileşmeyi başlatan ve aktif olarak büyüme faktörleri salgılayarak yara iyileşmesini olumlu yönde destekleyen hücrelerdir. Son 20 yıldır, trombosit ürünleri potansiyel bir rejenerasyon kaynağıdır. Ağız içerisinde, yalnız başlarına veya greft materyalleri ile birlikte kullanılmaktadır.

Trombositler, yara bölgesinde pıhtıyı şekillendirerek lokal kan ve lenf kaybını önlerken yer tutucu olarak görev yaparlar. Ayrıca, trombositler tarafından salgılanan büyüme faktörleri; hücre çoğalmasını uyaran sinyaller göndererek, makrofajların aktivasyonunda, fibroblastların mitogenezinde, bağ dokusu iyileşmesinde, kemik rejenerasyonu ve onarımında etkili olurlar.

Trombosit içerikli ürünlerin yara iyileşmesine olan etkinliği üzerine ilgi her geçen gün artmakta ve daha fazla araştırma yapılmaktadır. Farklı teknikler kullanılarak bir çok trombosit kaynaklı kan ürünü geliştirilmeye başlanmıştır². Trombositten zengin kan ürünleri fibrin yapılarına göre 2 alt grupta incelenecektir.

2.2.1. Trombositten Zengin Plazma

Plazma olarak adlandırılan ürünler, sınıflandırmada Saf Trombositten Zengin Plazma (S-TZP) ve Lökosit ve Trombositten Zengin Plazma (L-TZP) olarak ikiye ayrılmıştır⁶⁴.

S-TZP elde edilmesi için antikoagulan içeren tüp içerisine alınan kanın birinci santrifüjü sonrasında, tüpün en üstünde kalan trombosit fakir plazma tabakasının tamamı ve hemen altındaki sarımtırak tabakanın (buffy coat) yüzeysel kısmı pipetle alınarak farklı bir tüpe aktarılır⁶⁵. İlkinde göre daha yüksek devirde gerçekleştirilen ikinci santrifüj işlemi sonrasında elde edilen ürüne pıhtılaşmayı sağlamak için sığır trombini veya kalsiyum klorid eklenir. S-TZP'nin en büyük dezavantajı; lökositlerin bulunmasına engel olmak için sarımtırak tabakanın sadece üst kısmının kullanılması trombosit miktarının düşük olmasına neden olmaktadır⁶⁴.

L-TZP hazırlanması için antikoagulan içermeyen tüp içerisine alınan kanın birinci santrifüjü sonrasında, S-TZP'de olanın aksine, trombosit fakir plazma, sarımtırak tabaka ve kırmızı kan hücrelerinin de üst tabakası pipetle toplanarak yeni bir tüpe aktarılır. İkinci santrifüj işlemi daha yüksek devirde yapılır ve sonrasında tüpün en üstünde kalan trombosit fakir plazma pipet yardımıyla atılır. Kalan kan ürününe pıhtılaşmanın sağlanması için sığır trombini eklenir. Kalsiyum klorid eklenme nedeni ise trombosit granüllerinin deşarjını sağlamaktır. Elde edilen L-TZP hızlı ve kısa süreli fakat yüksek miktarda büyüme faktörü salınımına olanak vermektedir. Yoğunluk bakımından çok zayıf bir fibrin matriks yapısına sahip olduğu için rezorpsiyonu çok çabuk olur⁶⁴.

TZP hazırlama zamanları literatürler arasında farklılık göstermektedir. Fakat her zaman iki aşamalı santrifüj işlemi toplamda 1 saat içerisinde bitmektedir. Tüm yapılan çalışmalarda dikkat edilen tek ortak nokta, alınan kanın hemen santrifüj cihazına konulmuş olmasıdır.

Trombosit kaynaklı kan ürünlerinin birinci jenerasyon ürünleri arasında TZP' ye ek olarak trombosit zengin büyüme faktörleri (PRGF-TZBF)' de bulunmaktadır. Santrifüj işlemi sonrasında kan, 5 katmana bölünür. İstenmeyen katmanlar pipet yardımıyla ayrılır ve büyüme faktörlerinin en yoğun olduğu katman toplanarak kullanılır⁶⁵.

Birinci jenerasyon kan ürünlerinin yani plazma olarak kullanılan trombosit ürünlerinin hepsi pıhtılaşmayı önlemek için antikoagulan ajan gerektirmektedir. Bu nedenle fibrin polimerizasyonu çabucak gerçekleşir ve zayıf bir fibrin ağı oluşur⁴. TZP ve TZBF' den elde edilen bu sonuçlardan sonra yeni trombosit zengin kan ürünlerinin arayışına geçilmiştir.

2.2.2. Trombosit Zengin Fibrin

Birinci jenerasyondaki zorluklardan sonra ikinci nesil trombosit konsantresi olarak, trombosit zengin fibrin (TZF) geliştirilmiştir³. Yapılan sınıflandırmada Lökosit ve Trombosit zengin fibrin (L-TZF) ve saf trombosit zengin fibrin (S-TZF) olmak üzere 2'ye ayrılmıştır⁶⁴. TZF' nin elde edilmesi için herhangi bir antikoagulan ajana ihtiyaç duyulmamaktadır. Sadece tek bir santrifüj işlemi ile tüpteki kan üç katmana ayrılmaktadır. En alt katmanda kırmızı kan hücreleri, en üst katmanda trombosit fakir plazma ve bunların arasında TZF bulunmaktadır.

Tüp içerisinde antikoagulan olmayışından dolayı alınan kan, tüp içerisindeki cam yüzey ile temas geçtiği anda pıhtılaşma mekanizmasına başlama eğilimi göstermektedir. Bu sebeple alınan kan bir an önce santrifüj cihazına yerleştirilmeli ve süreç başlatılmalıdır. Eğer yeterince hızlı davranılmazsa, fibrin polimerize olmaya başlayacaktır ve elde edilen üründe çok az miktarda fibrin ağ oluşacaktır. Sonuç olarak yöntemin başarısında en önemli faktör, kanın alınması ve santrifüje yerleştirilmesi arasında mümkün olduğunca az zaman harcamaktır.

Alınan venöz kan, boş cam tüplere konulur ve düşük devirde santrifüj edilir(3000rpm-10dk veya 2700rpm-12dk). Herhangi bir antikoagulan ajan konulmadığı için tüplerdeki kan cam yüzeylere temas eder etmez trombosit aktivasyonu ve fibrin polimerizasyonu başlar. Tüpe alınan kandaki fibrinojen, trombinler sayesinde fibrine dönüştürülür. Fibrinojen, fibrine dönüşmeden önce tüpün en üst kısmında konumlandığı bilinmektedir. Oluşan fibrin santrifüj işlemi sonrasında ise tüpün orta bölümünde

bulunmaktadır ve fibrin ağı içerisinde trombositlerin yerleştiği görülmüştür⁴. Bu nedenle santrifüj işlemi sonrası 3 tabaka görülür. Tabanda kırmızı kan hücreleri, en üst bölümde trombositten fakir plazma(TFP) ve orta bölümde de TZF bulunmaktadır.

TZF ile TZP ve fibrin yapıştırıcılar arasındaki en önemli fark herhangi bir katkı maddesi kullanılmamasıdır. TZF tamamen otolog bir üründür. TZP ve fibrin yapıştırıcılarının, fibrin polimerizasyonunu sağlaması için kullanılan sığır trombinini veya kalsiyum klorit hızlı bir matriks oluşumu sağlamaktadır. Fakat bu hızlı oluşan matrikslerde, TZF ile elde edilen matrikse göre daha düşük dirençte ve daha düşük biyolojik özelliklerde bir yapı elde edilmektedir⁶⁶.

TZF, 3 boyutlu esnek bir ağ yapısına sahiptir. Sitokinler ve hücre göçüne izin vermektedirler⁴. TZP'den farklı olarak uygulamadan hemen sonra çözülmez ve kan pıhtısına benzer şekilde yavaş yavaş şekillenir. Bu sırada trombositler aktive olur ve fibrin matrikse trombosit ve lökosit kaynaklı büyüme faktörlerinin abzorbe olmasını sağlar^{67,68}. Çalışmalar trombositlerin, kırmızı kan hücreleri ve fibrinin komşuluğundaki bölgelerde yoğun olarak bulunduğunu göstermiştir⁶⁹.

L-TZF büyük bir tartışma konusu olmuştur. Bazı literatürler, sınıflandırmada iki parametreden biri olan lökositleri göz ardı eder ve çıkarılmasını önerirler⁷⁰. Bazı literatürlerde ise lökositlerin enfeksiyon önleyici özellikleri ve bağışıklık düzenleyici etkileri vurgulanmaktadır.

10 ml venöz kanın santrifüjünden elde edilen fibrinin yapısındakiler aşağıdadır.

- Trombositler
- Trombosit büyüme faktörleri
- Lökositler
- Sitokinler
- Dolaşımdaki kök hücreler
- Protein (Fibronectin,Vitronectin)

İçerisinde bulunan büyüme faktörleri, sitokinler ve yara iyileşmesinde önemli rol oynayan hücreler, bu doğal fibrin yapı içerisinde 7-11 gün boyunca etkilerini gösterirler. Böylelikle doku rejenerasyonuna olumlu yönde büyük bir katkı sağlamış olurlar^{67,71}.

Büyüme faktörü salınımı	5.Dakika	1.Saat	2.Saat	5.Saat
PDGF-AB	29.29	34.12	42.20	52.73
TGFβ-1	43.06	49.52	60.09	72.21
VEGF	0.38	0.42	0.71	1.04
IGF-1	257.40	247.82	244.62	249.16

Tablo1. TZF'in içindeki büyüme faktörlerinin salınım oranları (ng)⁷²

Yapılan başka bir çalışmada 7.güne kadar TZF'nin yavaş salınım gerçekleştirdiği bildirilmiştir. 7.günün sonunda toplam salınım miktarı PDGF-AB, TGFβ-1 ve VEGF için sırasıyla 50.3ng, 273.4ng ve 6071ng olduğu bildirilmiştir⁷³. Sitokinler ve büyüme miktarlarının salınım miktarları başlangıç aşamasında TZP'nin lehine gibi görünse de TZF'nin uzun süreli ve yavaş salınımı rejenerasyon potansiyeli açısından büyük avantaj sağlamaktadır⁶⁷.

Daha çok miktarda, daha yoğun ve büyüme faktörlerince daha zengin bir fibrin elde etmek için konsantre büyüme faktörleri (CGF) ileri sürüldü⁷⁴. Tekniğini TZF eldesinden ayıran etken, santrifüj hızının daha yavaş olmasıdır.

Yapışkan kemik adıyla bilinen fabrikasyon büyüme faktörleriyle zenginleştirilmiş kemik greft matrisini sunmuşlardır. 20-60 cc venöz kanı özel santrifüjüyle 2400-2700 rpm 2 dakika çalıştırıp, tüpte 2 ayrı katman elde etmişlerdir. Tüpün tabanında kırmızı kan hücreleri, üzerinde de hücreden zengin tabaka bulunmaktadır. Hücrece zengin olan tabaka şırınga yardımıyla alınmış ve kemik grefti ile karıştırılarak 5-10 dk polimerizasyon için dinlenmeye bırakılmıştır. Bu işlemler sonrasında oluşan sarı renkli kemik kütlesine 'yapışkan kemik' adını vermişlerdir².

Damar gelişimi ve kemik rejenerasyonunda monositlerin rolü dikkate alınarak yeni bir ürün daha ortaya atılmıştır. Monositler, VEGF üretiminde de önemli rol oynarlar. Ayrıca BMP reseptörleri olduğu ve son çalışmalara göre BMP-2 ürettikleri bilinmektedir. Standart TZF içeriğine monosit ihtiva ederek oluşturulan yeni kan ürünü

A-TZF olarak adlandırılmıştır. Erken yumuşak doku iyileşmesi, daha fazla BMP salınımı, çok ve hızlı damarlanma ve daha fazla sitokin salınımı yapabiliyor olması standart TZF'ye göre avantajlarıdır⁷⁵.

3300 rpm ile 2 dakika santrifüj yaparak TZF'nin enjekte edilebilen formu tanımlanmış, bu yöntemle elde edilen ürün i-TZF olarak tanımlanmıştır⁷⁶. Elde edilen turuncu renkli kan ürünü direk olarak enjekte edilebilir veya kemik grefti ile karıştırılarak kullanılabilir.

Cam tüp içerisindeki silika parçacıklarının TZF eldesi sırasında problem yaratabileceği öne sürülmüştür⁶, L-TZF' nin hücre içeriği ve 3 boyutlu incelenmesi ile ilgili farklı tüpler kullanarak çalışmalar yapılmıştır⁷⁷. İncelenen tüpler içi cam kaplı plastik tüpler veya kuru cam tüplerdir.. Çalışmanın sonucunda L-TZF' nin ağ yapısında ve içeriğinde farklı tiplerde tüp kullanılmasının etkisi olmadığı öne sürülmüştür. Buna karşın 10 ml'lik titanyum tüplerde gerçekleştirilen santrifüj işlemi ile silika parçacıklarının TZF içerisine karışma olasılığı bertaraf edilmiştir⁷. Elde edilen TZF'e T-TZF adı verilmiştir.

Titanyum, yüksek dirence ve düşük yoğunluğa sahiptir. Trombosit aktivasyonunda titanyumun, silika materyaline göre daha etkili olduğu gösterilmiştir⁷. Bu hipotez doğrultusunda, alınan venöz kanlar titanyum tüplere konularak TZF elde edilmiştir. Santrifüj işlemi 2700 rpm hız ile 15 dakika olarak yapılmıştır. 2013 yılında Periodontoloji, oral cerrahi, estetik ve implant diş hekimliği organizasyonu(POSEIDO) tarafından yapılan sınıflandırmaya, L-TZF başlığı altında T-TZF olarak eklenmiştir⁶².

L-TZF ve T-TZF karşılaştırıldığında histolojik olarak içerik benzerliği gösterdikleri fakat fibrin yapılarında, dayanıklılık açısından farklılıklar olduğu görülmektedir. T-TZF içerisindeki liflerin daha kalın ve daha sıkı olduğu mikroskopik incelemelerde görülmektedir. Buna bağlı olarak T-TZF' nin mikroboşlukları L-TZF' ye göre daha küçüktür. Titanyum materyalinin kan ile uyumu, silikaya göre çok daha yüksektir. Fibrin polimerizasyonu, kan titanyum veya silika yüzeye temas ettiği an başlamaktadır. Titanyum tüpte elde edilen fibrinin polimerizasyonu, silika tüpe göre çok daha iyidir. Bu sebeple T-TZF, daha sıkı ve daha güçlü bir yapıya sahiptir ve rezorpsiyon süresi de L-TZF' ye göre daha uzundur. TZF'nin rezorpsiyon süresi 7-14 günden, titanyum tüp kullanılarak hazırlanan TZF ile 30-40 gün arasına kadar uzatılmıştır. T-TZF' nin rezorpsiyon süresi, diğer trombosit zengin kan

konsantrelerinin aksine T-TZF'nin yönlendirilmiş doku rejenerasyonu operasyonlarında çatı olarak kullanılmasına olanak tanımaktadır⁷.

2.3. YÖNLENDİRİLMİŞ KEMİK REJENERASYONU

2.3.1. Bariyer Membranlar

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu(YKR) için membran kullanımı en önemli materyaldir. Bu nedenle kemik oluşumu için farklı materyaller ve modifikasyonları kullanılmıştır. YKR için istenilen membran özellikleri; biyouyumluluk, hücre geçirgenliği özelliği, klinik olarak uygulanabilirlik, boşluk yaratma kabiliyeti, uygun fiziksel ve mekanik özelliklere sahip olmasıdır⁹.

YKR'da kullanılan membranlar geçmişten günümüze resorpsiyon özelliklerine göre ikiye ayrılır. Rezorbe olmayan membranlar, birinci jenerasyon membranlar olarak tanımlanırlar. Çoğunlukla politetraflouroetilen(PTFE)'in genişletilmiş formu kullanılır. Biyouyumlulukları ve boşluk yaratma kabiliyetleri çok iyi olan bu membranların ikincil bir cerrahi gerektirmelerinden dolayı bir dezavantajları vardır. Bu sebeple ikinci jenerasyon olarak adlandırılan rezorbe olan membranlar geliştirilmiştir ve bir çok klinik çalışmada kullanılmaya başlanmıştır⁹⁻¹¹.

Defekt bölgesinde kullanılan membranlar, kemik greftleri ile kullanılmaya devam ederken üçüncü jenerasyon da ise alıcı dokunun kendi rejeneratif potansiyelini tetikleyecek ürünler geliştirilmeye başlanmıştır⁹.

3.3.1.1.Rezorbe Olmayan Membranlar

Rezorbe olmayan membranlar, uygulandıkları andan itibaren yapısal bütünlüğünü koruyan, biyouyumlu materyallerdir. Yer tutucu özellikleri ve hücre geçişini engelleyici özellikleri eriyen membranlara göre çok daha üstündür. Defekt boyutuna göre güçlü yapıları sayesinde çökmeyi engellerler^{78,79}.

Oral ve maksillofasiyel cerrahi alanında genellikle araştırması yapılan rezorbe olmayan membran, genişletilmiş PTFE (e-PTFE) membranlardır⁸⁰. Diş hekimliğinde kullanılan diğer rezorbe olmayan membranlar ise titanyum ile güçlendirilmiş e-PTFE, yüksek yoğunluklu PTFE (d-PTFE) membranlar veya titanyum mesh (kafes) kullanılır⁸¹. Yarı geçirgen e-PTFE membranlar kemik rejenerasyon potansiyeli

açısından d-PTFE membranlara göre daha etkindir⁸². Kemik iyileşmesi aşamasında defekt bölgesine fibroblast göçü engellenmesi hedeflenirken, oluşan granülasyon dokusunun da iyi vaskülarize olması istenir. Eğer defekt içerisine kemik iliği büyümesi engellenir veya geciktirilirse, mineralize kemiğin rejenerasyonu da aynı oranda gecikir^{83,84}.

e-PTFE membranlar, 5-30µm' lik porlu bir yüzey yapısına sahiptir. Bu porlar sayesinde fibroblastların ve bağ dokusu hücrelerinin penetrasyonunu engellerken, damarlanmaya ve kemik iliği geçişine izin verir. Fakat membran ağız ortamında ekspozite olması durumunda, oral patojenlerin penetrasyonunu engelleyemez ve rejenerasyon bölgesinde enfeksiyon gelişir⁸⁵. d-PTFE membranlar, e-PTFE membranlardan daha yoğun olarak üretilmişlerdir. Bu sebeple d-PTFE membranlar oral patojenlerin dahi geçişine izin vermeyecek kadar küçük porlara sahiptirler⁸⁶.

Rezorbe olmayan membranların en büyük dezavantajı; operasyon bölgesinden ikinci bir cerrahi işlem ile çıkarılmak zorunda olmalarıdır. Yeni rejenere olan doku için ikinci cerrahi potansiyel bir risk oluşturmaktadır. Ayrıca bu tip membranların ekspozite olması da ikincil bir enfeksiyon riski teşkil eder^{87,88}.

3.3.1.2. Rezorbe Olan Membranlar

Rezorbe olan membranlar, cerrahi olarak dokudan uzaklaştırma ihtiyacını ortadan kaldırmak için geliştirilen membranlardır. Öncelikli olarak hayvan deneylerinde çalışılmıştır. Sonrasında insanlarda maksillofasial, rejeneratif periodontal ve nöro-cerrahi alanlarında çalışılmıştır⁸⁹⁻⁹¹. Son zamanlardaki klinik çalışmalarda uzun kemik defektlerinin rekonstrüksiyonu için kullanılmıştır. 4-5 cm'den büyük defektlerde veya yumuşak doku kaybı olan defektlerde otolog kemik greftleri tek başlarına kullanıldığında rezorpsiyon riskinin olduğu çalışmalarla gösterilmiştir. Defekt bölgesindeki kemik greftlerine epitel göçünü engelleyerek, bölgeyi korumaya almaktadırlar^{84,87}.

Rezorbe olabilen membranlar, doğal ve sentetik olmak üzere iki alt gruba ayrılır. Doğal membranlar, kolajen yapıdaki membranlardır. Sentetik membranlar ise alifatik polyester yapıdaki membranlardır. Alifatik polyesterlerin başlıcaları, poli L-laktik (PLLA), ve poli L-laktik-glikolid (PLGA)'dır⁸¹. Tek basamaklı cerrahi ile yapılabilimleri, rejenere edilmek istenen kemik şekline ve hacmine göre

tasarlanabilmeleri, rayolüsent görüntü vermeleri ve rejenere olacak kemik üzerinden stres elimine etmeleri, polyester membranların avantajlarıdır. Fakat ortamın pH'ı ve materyalin yapısına bağlı olarak membran rezorpsiyon hızının kontrol edilememesi veya eksikliğine bağlı olarak operasyon bölgesinde enfeksiyon gelişme riskinin olduğu belirtilmiştir^{87,92-94}. PLLA klinik olarak çoğunlukla ortopedik cerrahide kullanılırken, kolajen ve e-PTFE membranlar maksillofasiyel cerrahi, periodontoloji ve nöro-cerrahi alanlarında kullanılmaktadır⁸⁴.

Klinik pratiğinde bir çok sayıda membran kullanılmasına rağmen, şuan kullanılan membranların eksiklikleri göz önünde bulundurularak yeni membranlar geliştirilmektedir. Bu yeni membranlar arasında aljinat membranlar, yeni çözünebilir kopolimerler, hibrit veya nanofibröz membranlar ve amniyotik membranlar da bulunmaktadır^{84,95-99}.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

- 28 adet erkek, 2000-3000 gram ağırlığında 5 aylık Yeni Zelanda Tavşanı
- 4 adet Ketamin hidroklorür (Ketasol %10- 10ml, 100mg/ml Ketamin hidroklorür, Richter Pharma ag, Wels-Austria)
- Ksilazin Hidroklorür (Alfazyne 20mg/ml, Alfasan International B.V)
- Artikain Hidroklorür (Ultracain® D-S Ampul, SanofiAventis)
- Povidone İodine (Batticon®, Adeka, İstanbul)
- Tıbbi Etil Alkol (Aksu Kimya)
- Sodyum Pentothal 150 mg/kg (Pental)
- 100 adet 10ml' lik enjektör
- 30 adet 2 ml' lik enjektör
- 250 adet kırmızı kapaklı EDTA'sız cam kan alma tüpü
- 2 adet Titanyum tüp
- 28 adet steril cerrahi set
- 100 adet 15 no bistüri
- 28 adet Pegalak Sütür (4/0 19 3/8Pl, 45cm, Doğsan)
- 28 adet Trofilen Sütür (4/0 19 3/8Pl, 45cm, Doğsan)
- Fizyodispenser (W&H SI-923, Bürmoos Austria)
- 2 adet 3 mm çapında Trefan Frez
- 2 kutu Cytoplast Titanium Reinforced Non-Resorbable e-PTFE membran (Osteogenics Biomedical, Inc. USA)
- Santrifüj Cihazı (Heraeus Labofuge 200, İngiltere)
- %10' luk Formaldehit çözeltisi
- Serum Fizyolojik
- SkyScan 1174v2 (Kontich- Belgium)
- 250 adet gömme kasedi kapaklı
- 20 kg. Parafin (54-56°C)
- 2 kutu Mikrotom Bıçağı
- 5 kutu Lam

- 1adet (2,5lt.) Formik asit %85 saf
- Mayer's Hematoxylin

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Deney Hayvanları ve Grupları

Yapılan tez çalışması; İstanbul Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'na 21.04.2017 tarihinde sunulmuş olup, 18.05.2017 tarihli ve 188394 sayılı onay ile yapılma izni almıştır. Yapılan laboratuvar çalışmasında hayvan kullanım ve bakım şartları uluslararası etik kurallara uyularak yapılmıştır.

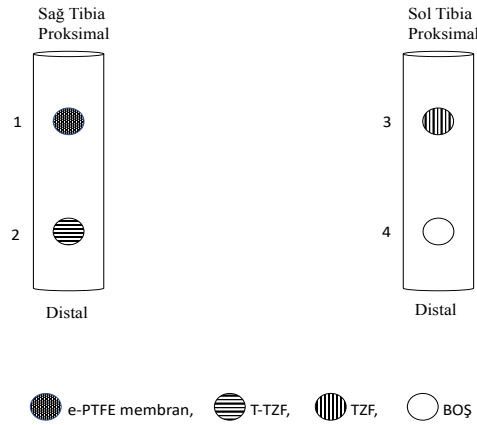
Yapılan çalışmanın denek operasyonları İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda, kemik dokularının histolojik ve histomorfometrik incelemeleri İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Anabilim Dalı'nda, kemik dokularının 3 boyutlu tomografik incelenmesi İstanbul Üniversitesi 3 Boyutlu Tıbbi ve Endüstriyel Tasarım Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada 28 adet 2000 - 3000 gr ağırlığı arasında 5 aylık erkek Yeni Zelanda tavşanları kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar göstermektedir ki oluşturulacak defektlerin hayvanın normal yaşam sürecini etkilememesi ve bundan dolayı da deney sürecinde hayvan kayıplarına sebep olunmaması sebebiyle 5 aylık, 2000 - 3000 gr aralığında Yeni Zelanda tavşan denekler üzerinde çalışma planlanmıştır. Deney süreci boyunca herhangi hormonal bir durumun kemik apozisyon-rezorpsiyonunu etkilememesi istendiğinden erkek erişkin tavşanlar seçilmiştir. Oluşturulacak defektlerin büyüklüğü tavşandan daha küçük hayvan deneklerin yaşam kalitesini düşüreceği ve hareket zorluğuna sebep olup denek kayıplarına sebep olacağı düşünülerek araştırma tavşanlar üzerinde planlanmıştır. Yapılan çalışmada TZF elde edilmesi için gerekli olan miktarda kan tavşan denekleri daha uygundur. Deneğin sağlığını operasyon sonrasında etkilememesi göz önünde bulundurulduğunda tavşan denek kullanımı uygundur. İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda deneyler yürütülmüş olup, deney süreci boyunca 80x60x40 cm

ölçülerine sahip kafeslerde ve her bir denek tek bir kafeste olacak şekilde, 22 ± 1 °C oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık – 12 saat karanlık otomatize odalarda standart laboratuvar yemi ve çeşme suyu ile *ad libitum* bakımları yapılmıştır.

Deney gruplarının oluşturulmasında sakrifikasyon süreleri göz önünde bulundurulmuştur. Bu durumda dört ana deney grubu belirlenmiştir. Sakrifikasyon sürelerine göre oluşturulan grupların her birinde 7 deney hayvanı bulunmaktadır. Sakrifikasyon zamanları deney hayvanlarının metabolizma hızları ve bu konuyla ilgili yapılan çalışmalara bakılarak seçilmiştir. 1. sakrifikasyon zamanı olan 7. gün, cerrahisi yapılan bölgeye yumuşak doku göçünün tamamlanacağı ve gözlemlenebileceği zaman olmasından dolayı seçilmiştir. 2. sakrifikasyon zamanı olan 14. gün yumuşak doku olgunlaşmasının tamamlandığı ve bölgede sert doku oluşumunun başladığı süre olmasından dolayı seçilmiştir. 3. sakrifikasyon zamanı olan 28. gün daha önce TZF ve T-TZF ile yapılan çalışmalarda, T-TZF'nin yara bölgesinde rezorpsiyonunun tam olarak tamamlandığı süre olarak gösterilmiştir. 4. sakrifikasyon süresi olan 42. gün literatürde tavşan denekler üzerinde yapılan çalışmalarda kemik dokusunun yara bölgesinde olgunlaştığı süreç olarak gösterilmiştir. Her bir alt grubun örnek sayısı G*Power version 3.1.9.2 isimli program ile hesaplanmıştır. Benzer bir çalışmada, 15 gün PTH ve S grupları yumuşak doku alanı yüzdelerin histomorfometrik analizi ortalama ve standart sapma değerlerinden faydalanılarak, hesaplanan yüksek etki büyüklüğü=2 etki büyüklüğü ile, çift yönlü test için, %95 güç ve %5 Tip I hata payı ile çalışma için her bir alt grupta örnek sayısı $n=7$ olarak hesaplanmıştır.

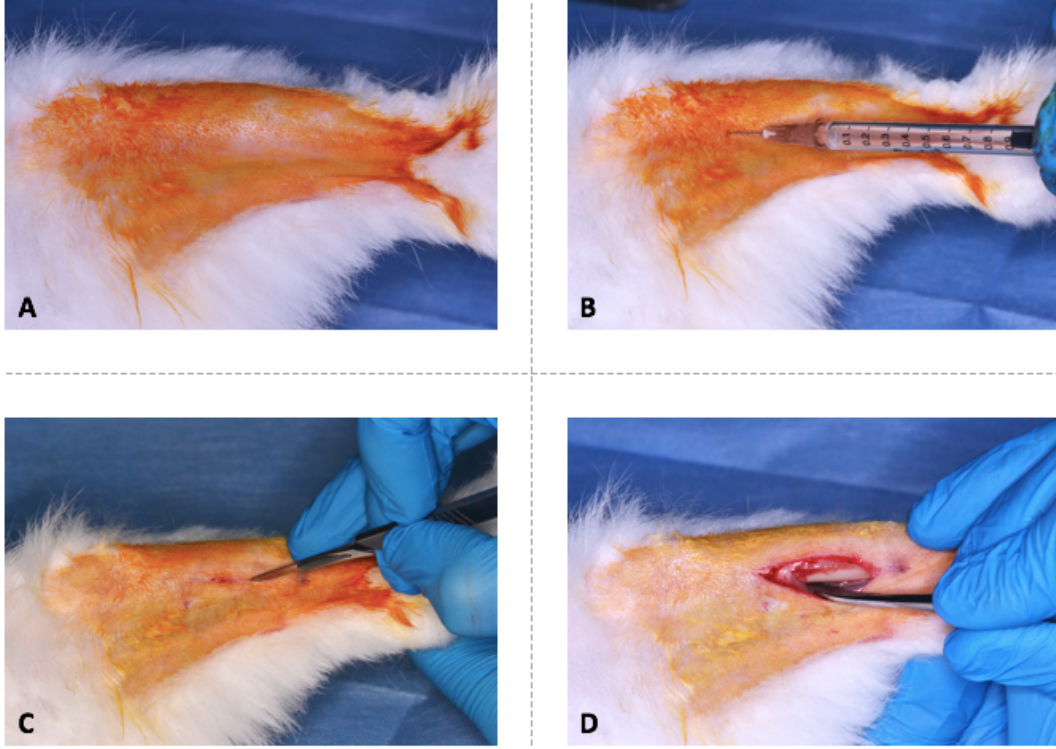
Deneklerin sağ ve sol tibialarına ikişer adet toplamda 4 olacak şekilde standart defektler oluşturulmuştur. Oluşturulan defektlerden biri kontrol grubu olacak şekilde sırasıyla e-PTFE, T-TZF ve TZF konulmuştur.



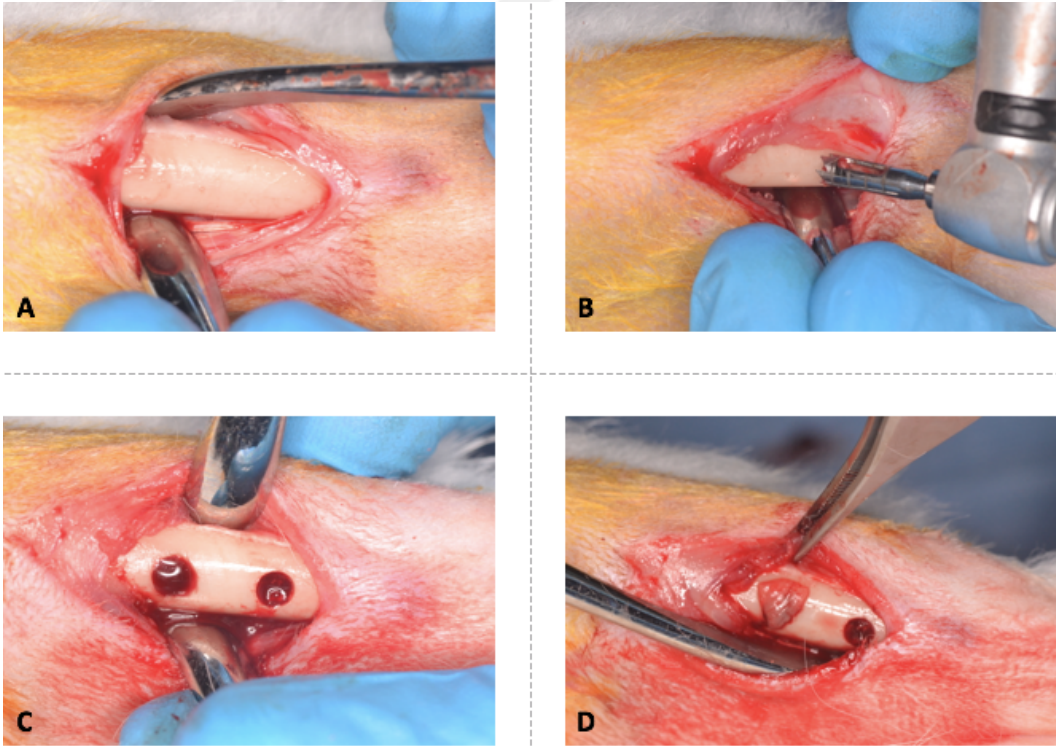
Şekil 3.1. Membranların Defektlere Yerleşim Şeması

3.2.2. Cerrahi Operasyon

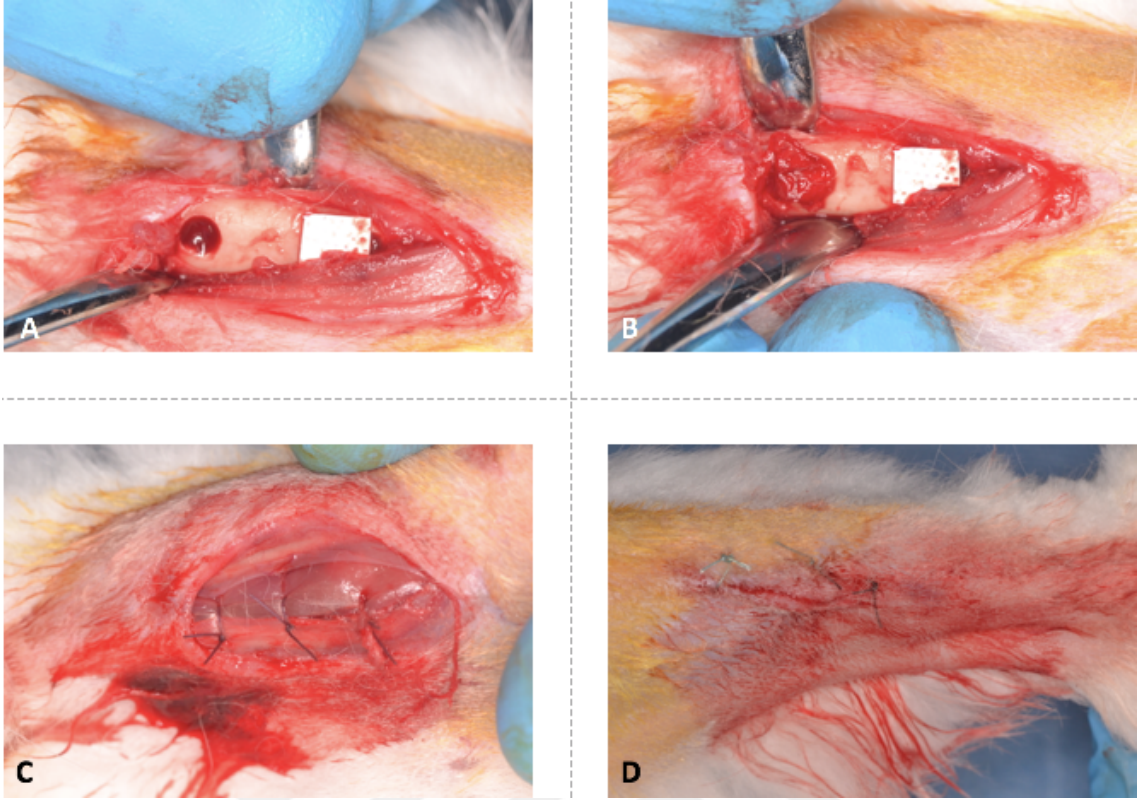
Tavşanlarda operasyondan önce ketamin HCl (50 mg/kg) ve xylazine (10 mg/kg) I.M. enjeksiyon yapılarak anestezi sağlandı. Tavşanların sol ve sağ tibiasında opere edilecek bölgedeki tüyler bölgenin sterilizasyonu için jilet ile traşlandı. Traşlama işlemini takiben operasyon bölgesi povidione-iodine solüsyonu ile dezenfekte edildi. Operasyon esnasında anestezi derinliği takip edilmiş olup, tavşanların her birinin kulaklarındaki marjinal venden, bölgenin alkol ile dezenfeksiyonu sağlandıktan sonra trombosit zengin fibrin (TZF) ve titanyum destekli trombosit zengin fibrin (T-TZF) hazırlanmak üzere mavi uçlu 10 ml'lik enjektörler yardımıyla kan alındı. Alınan kan, TZF ve T-TZF elde etmek için 2700 rpm hızda 15 dakika, saat yönünde 816 RCF ile, 60 derece açıyla yerleştirilen silika ve titanyum tüplerde santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sürerken denekler cerrahi operasyon için hazırlandı. Üretilen TZF ve T-TZF iki titanyum plaka arasına alınarak oluşturulan kemik kavitelelerinin yüzeyine membran olarak uygulanmak üzere 1 mm kalınlığında membran haline getirildi. Traşlanmış bölgede 5 cm uzunluğunda kemik dokuyu açığa çıkaracak şekilde disto proksimal yönde bir diseksiyon yapıldı. Yapılan diseksiyon sonrasında kas ve periostu ekarte etmek amacı ile distal ve proksimaldeki en uç kısımlara cerrahi ekartörler takılarak operasyon bölgesi açığa çıkarıldı. 3 mm çapında, 4 mm derinliğinde silindirik kemik defektleri standart olacak şekilde her bir tibia da hazırlandı. Standart defektler trefin frez yardımıyla kemik yüzeyine dik olacak şekilde serum fizyolojik soğutması altında 800 rpm hızda fizyodispenser (W&H SI-923, Bürmoos Austria) ile oluşturuldu.



Şekil 3.2. A. Tibianın Tıraşlanıp Baticon ile Operasyon Bölgesinin Dezenfeksiyonunun Sağlanması. B. Operasyon bölgesine lokal anestezi uygulanması. C. Cilt ve Cilt Altı İnsizyon. D. Cilt, Cilt Altı ve Periost Elevasyonu.



Şekil 3.3. A. Sol Tibia Görüntüsü B. Defektlerin Trefan Frez ile Hazırlanması C. Defekt Görüntüsü D. Sol Tibia Proksimal Defekte TZF membran uygulaması.



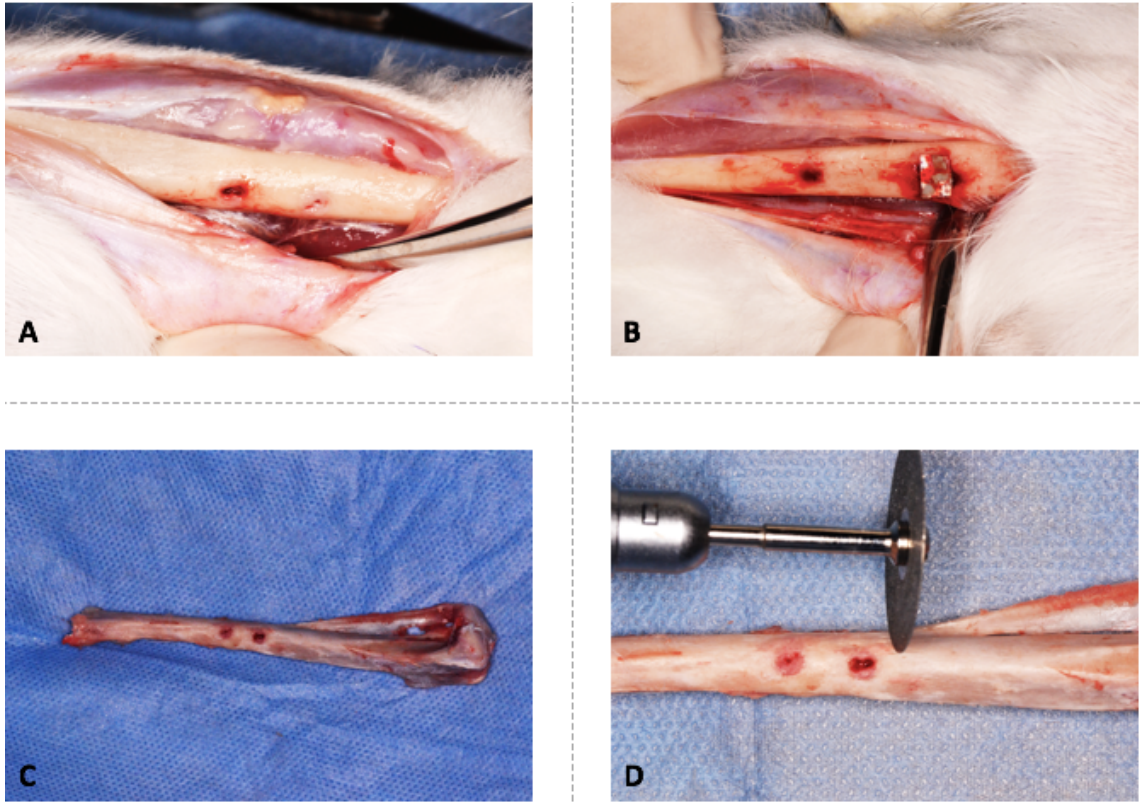
Şekil 3.4. A. Sağ Tibia Distal Defekte e-PTFE membran uygulaması. B. Sağ Tibia Proksimal Defekte T-TZF Membran Uygulaması. C. Rezorbe Olan Dikiş ile Periost Dikişi. D. Operasyon Sahasının Kapatılması.

Her bir tibiada defektler oluşturulurken sol tibiadaki proksimal defekt 1, distal defekt 2, sağ tibiadaki proksimal defekt 3 ve distal defekt 4 olacak şekilde numaralandırıldı.

1. Defekt : e-PTFE (Cytoplast, Osteogenics Biomedical) membran uygulaması
2. Defekt : T-TZF membran uygulaması
3. Defekt : TZF membran uygulaması
4. Defekt : Boş (negatif kontrol grubu)

İşlem tamamlandıktan sonra kas dokusu 4.0 rezorbe dikiş materyali (Pegelak 4/0 19 3/8 Pl,45 Cm, Doğan) ile dikildi. Cilt dokusu 4.0 rezorbe olmayan (Trofilen 4/0 19 3/8 Pl,45 Cm, Doğan) dikiş ile dikilip bölge gaz bandaj ile kapatıldı. Bu işlemler steril cerrahi setler (Dr. Green's steril cerrahi seti) üzerinde tamamen steril ortamda gerçekleştirildi.

Randomize olarak seçilecek denekler opere edilmelerini takiben 7. günde, 14. günde, 28. günde ve 42. günde sakrifiye edildi. Sakrifikasyon dönemlerinde deneklere ketamin HCl (50 mg/kg) ve xylazine (10 mg/kg) I.M. enjeksiyon yapılarak anestezi sağlandı. 140 mg/kg I.V. pentobarbital (Penbital 400 mg/ml enjeksiyon çözeltisi) enjeksiyonu intra-kardiak olarak yapılarak ötenazi sağlandı. Ötenazi sonrasında sol ve sağ tibia diseke edilerek alındı. Alınan tibia örnekleri serum fizyolojik soğutması altında düşük devirde fizyodispenser (W&H SI-923, Bürmoos Austria) yardımı ile sadece örnekleri içerecek büyüklüğe getirildi.



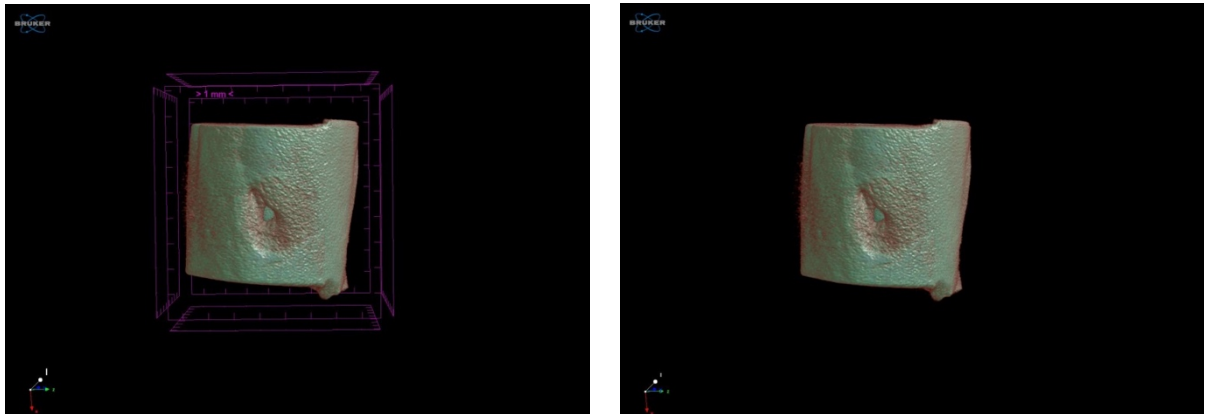
Şekil 3.5. A-B. Operasyon Sahasının Sakrifikasyon Sonrası Yeniden Açılması. C. Tibianın Total Eksizyonu. D. Mikro-CT ve Histomorfometrik İncelenmeler İçin Defektlerin Tibiadan Ayrılması.

3.3. MİKRO-BİLGİSAYARLI TOMOGRAFİK DEĞERLENDİRME

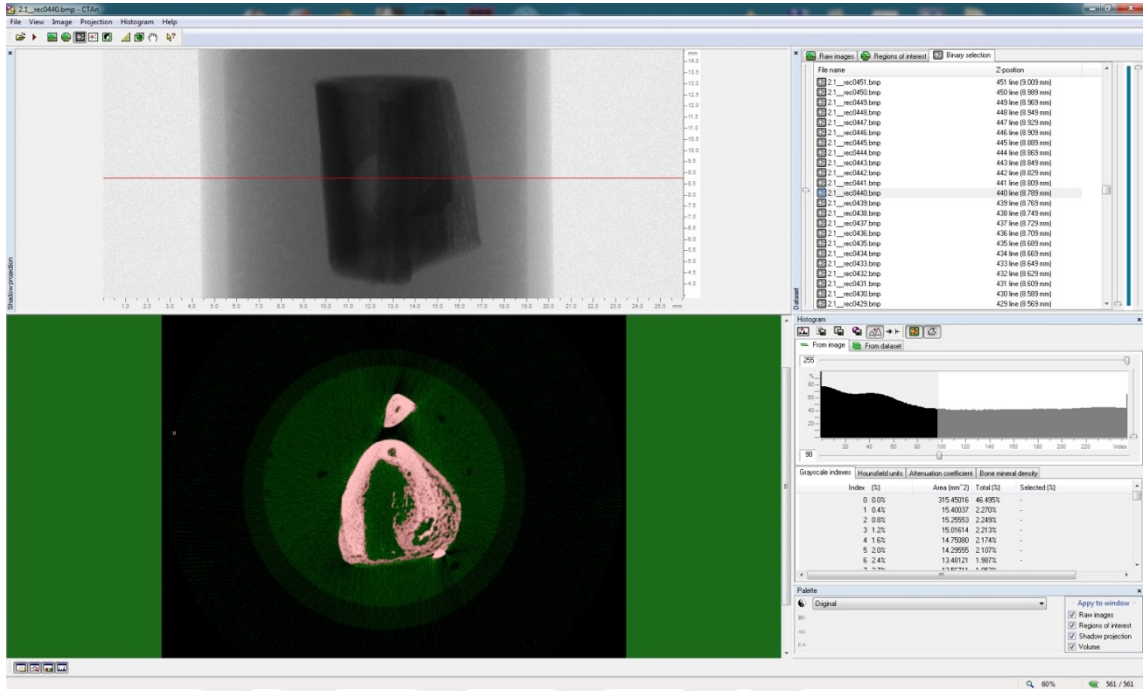
İncelemeler, %10'luk formaldehit içeren tüp içine sabitlenen yeni zellanda tavşan tibia örnekleri SkyScan 1174v2 (Kontich- Belgium) bilgisayarlı tomografi cihazında taranmak üzere hazırlandı. Tarama haznesi içine sabitlenen her bir tibia örneğinin tarama işlemi 50 kVp voltaj, 800 μ A akım ve 40 W güç değerlerinde 0.50 mm'lik Al filtre kullanılarak gerçekleştirildi. Tarama değerleri optimize edilerek 5500 ms pozlama süresi (exposure time), 1024x1304 çözünürlük ve 20 μ m yakınlaştırma faktörü kullanıldı. Her bir örnek yaklaşık 46 dakikada 1.00 derecelik rotasyon ile 360 derece taranmıştır. Tarama sonrası elde edilen TIFF formatındaki 360 ham görüntü NRecon (Ver. 1.6.10.2) programı ile yeniden yapılandırılarak BMP formatında yaklaşık 560 adet yatay kesit elde edildi.

Bu kesitler istenen analizlerin gerçekleştirilmesi için CTAn (Ver. 1.16.4.1+) programına aktarıldı. Ölçüm yapılacak alanın sınırlarını belirlemek amacıyla; kesitler üzerinde yatay düzlemde ilgili alan (Region of Interest; ROI) çizildi. Bu işlemin ardından analiz parametreleri kullanılarak değerler oluşturuldu. Kemik mineral yoğunluğu (KMD(Bone Mineral Density=BMD)) analizleri yoğunlukları 0,25 g/mm³ ve 0,75 g/mm³ olan CaHA kalibrasyon çubukları (fantom) kullanılarak gerçekleştirildi.

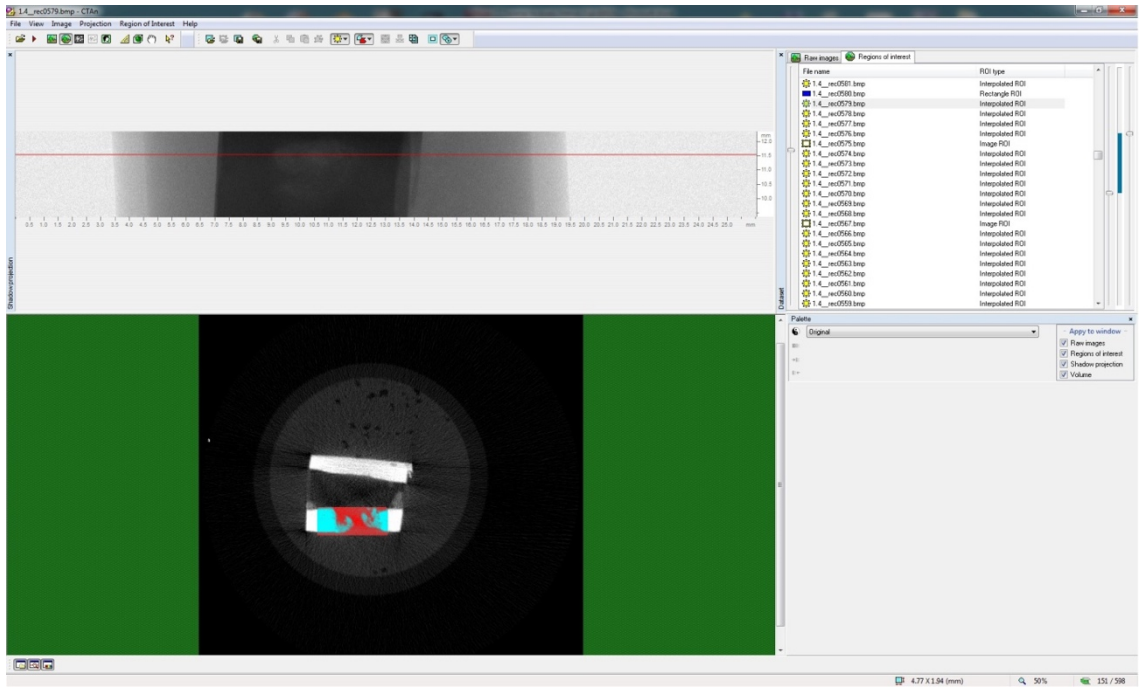
Numunelerde oluşturulan defektlerin görüntülenmesi CTvox(ver. 3.1.1 r1191) programı ile gerçekleştirildi.



Şekil 3.6. Oluşturulan defekt bölgesinin CTvox programı ile görüntülenmesi



Şekil 3.7. Analiz programı CTAn (Ver. 1.16.4.1+) görüntüsü



Şekil 3.8. Kesitler üzerinde yatay düzlemde ilgili alan (Region of Interest; ROI) çizimi

3.4. HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME

Mikro-bilgisayarlı tomografik incelemesi tamamlanan tavşan tibiaları %10'luk formaldehit içerisinde İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Anabilim Dalı'na teslim edildi. Alınan örnekler, dekalsifikasyon için %50 formik asit, %20 sodyum sitrat ve su ile hazırlanan solüsyonda bekletildi. Örneklerin içerisinde bulunduğu solüsyon haftada bir değiştirilerek 30 gün boyunca dekalsifiye edildi.

Dekalsifiye işlemi tamamlandıktan sonra defekt bölgesini içerisine alacak şekilde örnekler kesilerek kasetlendi. Daha sonra kesilen örnekler parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklara gömülü örnekler, 5µ kalınlığında olacak şekilde kesitlere bölündü. Alınan kesitler lam üzerine yerleştirilerek, deparafinizasyon ve şeffaflandırma işlemlerinden sonra Hematoksilen-Eosin ile boyandı. Işık mikroskobunda çeşitli büyütmelerde incelendi. Tez çalışmamızda olan gruplara göre elde edilen sonuçlar skorlandı. İncelemelerde; iltihap, nekroz, fibrozis, yabancı cisim reaksiyonu, yeni kemik miktarı, iyileşme oranları değerlendirildi.

3.5. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Veriler bilgisayarda SPSS 25.0 (Statistical Packages of Social Sciences) programı kullanılarak analiz edilmiştir. Açıklayıcı istatistikler sürekli değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma, medyan, minimum ve maksimum değerler şeklinde, kategorik değişkenler için frekans ve yüzde şeklinde gösterilmiştir. İkiden fazla grubun normal dağılıma uymayan değişkenlerin karşılaştırmasında Kruskal-Wallis testi, ikili karşılaştırmaları (post-hoc) için ise Mann-Whitney U testi yapılmıştır. Sonuçlar Bonferroni düzeltmesi yapılarak yorumlanmıştır. Grup içi zaman içindeki değişim normal dağılıma uymayan değişkenler için Friedman testi ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel anlamlı bulunan değişimlerin ikili karşılaştırmaları Wilcoxon testi ile yapılmıştır. Sonuçlar Bonferroni düzeltmesi yapılarak yorumlanmıştır. Kategorik değişkenlerin gruplar arasında karşılaştırılmasında Ki-Kare testi kullanılmıştır. $p < 0,05$ olması durumunda aradaki fark anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Sakrifikasyon sürelerine göre 4 ana gruba ayrılmış olan toplamda 28 adet tavşanın hiç biri çalışmalar süresince herhangi bir komplikasyon ile karşılaşmamıştır.

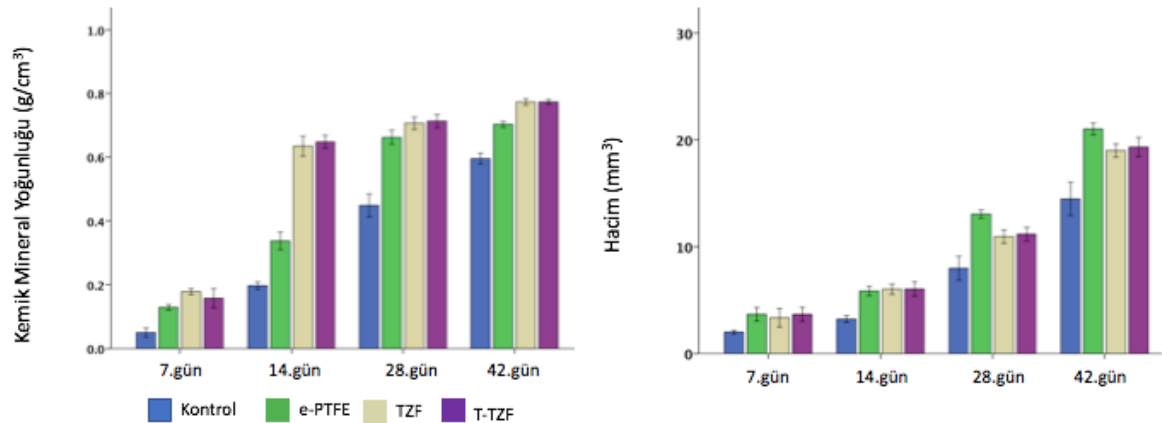
Çalışmamızda toplamda 8 farklı değişken incelenmiştir. Kemik mineralizasyon yoğunluğu(BMD) ve hacim değişkenleri mikro bilgisayarlı tomografi yöntemiyle değerlendirilmiştir.

Yeni kemik oluşumu, iyileşme, fibrozis, iltihap, nekroz ve yabancı cisim reaksiyonu değişkenleri histomorfometrik olarak incelenmiştir. Bulgular hem gruplar arasında hem de grup içinde zamana göre değerlendirilmiştir.

4.1. Mikro-Bilgisayarlı Tomografi Değerleri

Gruplar arasında kemik mineralizasyon yoğunluğu ve hacim değişkenleri bakımından 7., 14., 28. ve 42.günlerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur $p<0,05$.

Bu farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirleyebilmek için gruplar arası ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır. P değerleri Bonferroni düzeltmesi yapılarak yorumlanmıştır.



Şekil 4.1. Defekt Bölgelerinde Zamana Göre Grupların Kemik Mineral Yoğunlukları ve Dolum Hacimleri

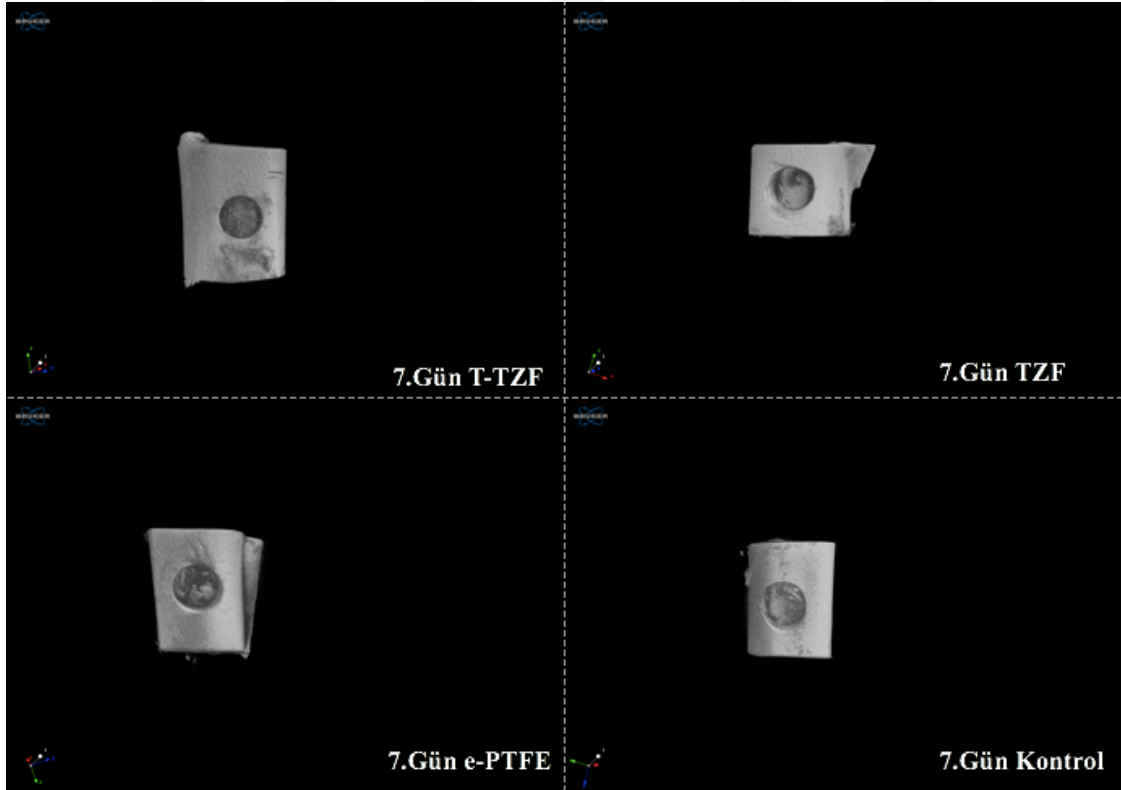
Kemik Mineralizasyon Yoğunluğu 7.Gün				
Gruplar	Kontrol (n=7)	e-PTFE (n=7)	T-TZF (n=7)	TZF (n=7)
Ort ± Ss	0,050 ± 0,014	0,129 ± 0,008	0,157 ± 0,030*	0,178 ± 0,009*

Tablo2. 7.günde grupların kemik mineralizasyon yoğunluğu ortalamaları (*p<0,05)

BMD için; tablo 3'e göre kontrol grubu ile T-TZF grubu ve kontrol grubu ile TZF grupları arasında istatistiksel anlamlı fark vardır p=0,005 ve p=0,000. Kontrol grubunun ortanca değeri, TZF ve T-TZF gruplarına göre daha düşüktür.

Grup2 - Grup1	Ort. ± SS
T-TZF - Kontrol	14,571 ± 4,397*
TZF - Kontrol	19,286 ± 4,397*

Tablo3. 7.günde gruplar arası kemik mineralizasyon yoğunluğu farklarının değerlendirilmesi(* p < 0,05)



Şekil.4.2. 7.gün Mikro- Bilgisayarlı Tomografi Görüntüleri

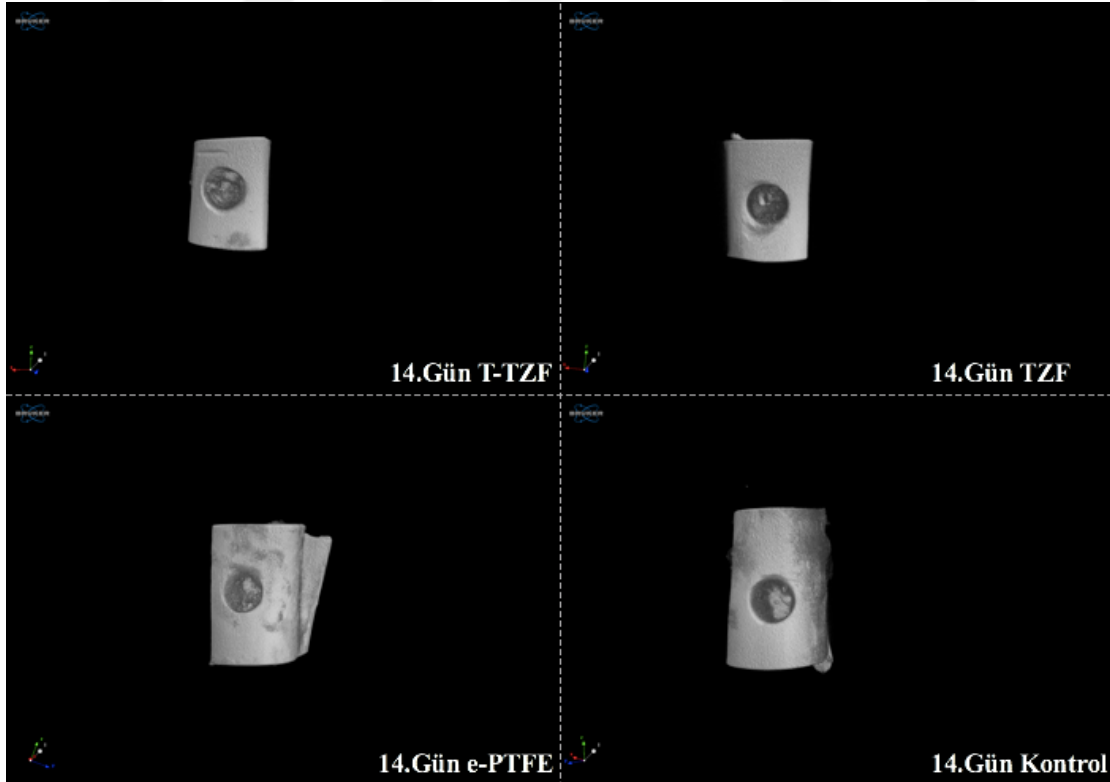
Kemik Mineralizasyon Yoğunluğu 14.Gün				
Gruplar	Kontrol (n=7)	e-PTFE (n=7)	T-TZF (n=7)	TZF (n=7)
Ort. $\pm$ Ss	0,324 $\pm$ 0,346	0,337 $\pm$ 0,027	0,647 $\pm$ 0,020*	0,634 $\pm$ 0,031*

Tablo4. 14.günde grupların kemik mineralizasyon yoğunluğu ortalamaları (*p<0,05)

BMD için; tablo 5'e göre e-PTFE grubu ile T-TZF grubu, kontrol grubu ile T-TZF grubu ve kontrol grubu ile TZF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır p=0,046, p=0,005 ve p=0,031. Kontrol grubunun ortalanca değeri T-TZF ve TZF gruplarına göre daha düşüktür. e-PTFE grubunun ortalanca değeri T-TZF grubuna göre daha düşüktür.

Grup2 - Grup1	Ort. $\pm$ SS
T-TZF - Kontrol	14,714 $\pm$ 4,397*
TZF - Kontrol	12,286 $\pm$ 4,397*
T-TZF - e-PTFE	11,714 $\pm$ 4,397*

Tablo5. 14.günde gruplar arası kemik mineralizasyon yoğunluğu farklarının değerlendirilmesi *p < 0,05



Şekil.4.3. 14.gün Mikro- Bilgisayarlı Tomografi Görüntüleri

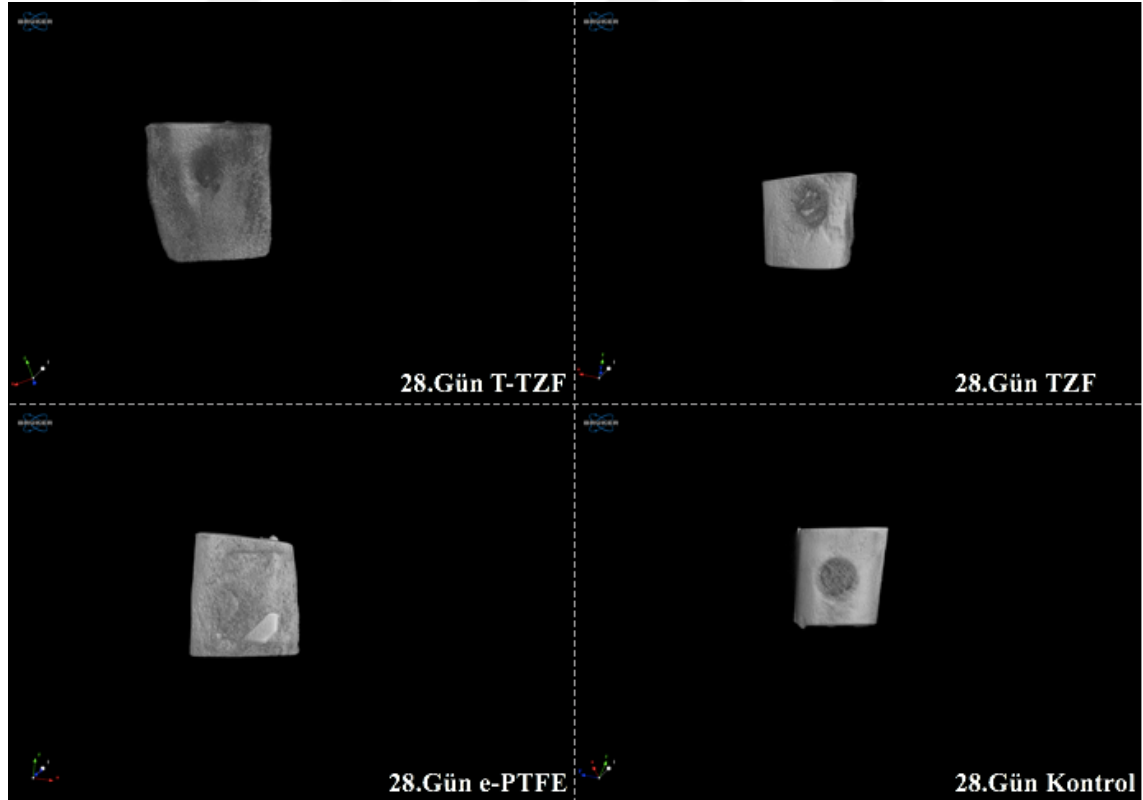
Kemik Mineralizasyon Yoğunluğu 28.Gün				
Gruplar	Kontrol (n=7)	e-PTFE (n=7)	T-TZF (n=7)	TZF (n=7)
Ort ± Ss	0,448 ± 0,036	0,662 ± 0,022	0,713 ± 0,021*	0,706 ± 0,019*

Tablo6. 28.günde grupların kemik mineralizasyon yoğunluğu ortalamaları (*p<0,05)

BMD için; tablo 7'ye göre kontrol grubu ile TZF grubu ve kontrol grubu ile T-TZF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır $p=0,001$ ve $p=0,000$. Kontrol grubunun ortanca değeri TZF ve T-TZF gruplarına göre daha düşüktür.

Grup2 - Grup1	Ort. ± SS
T-TZF - Kontrol	17,857 ± 4,397*
TZF - Kontrol	16,429 ± 4,397*

Tablo7. 28.günde gruplar arası kemik mineralizasyon yoğunluğu farklarının değerlendirilmesi (*p<0,05)



Şekil.4.4. 28.gün Mikro- Bilgisayarlı Tomografi Görüntüleri

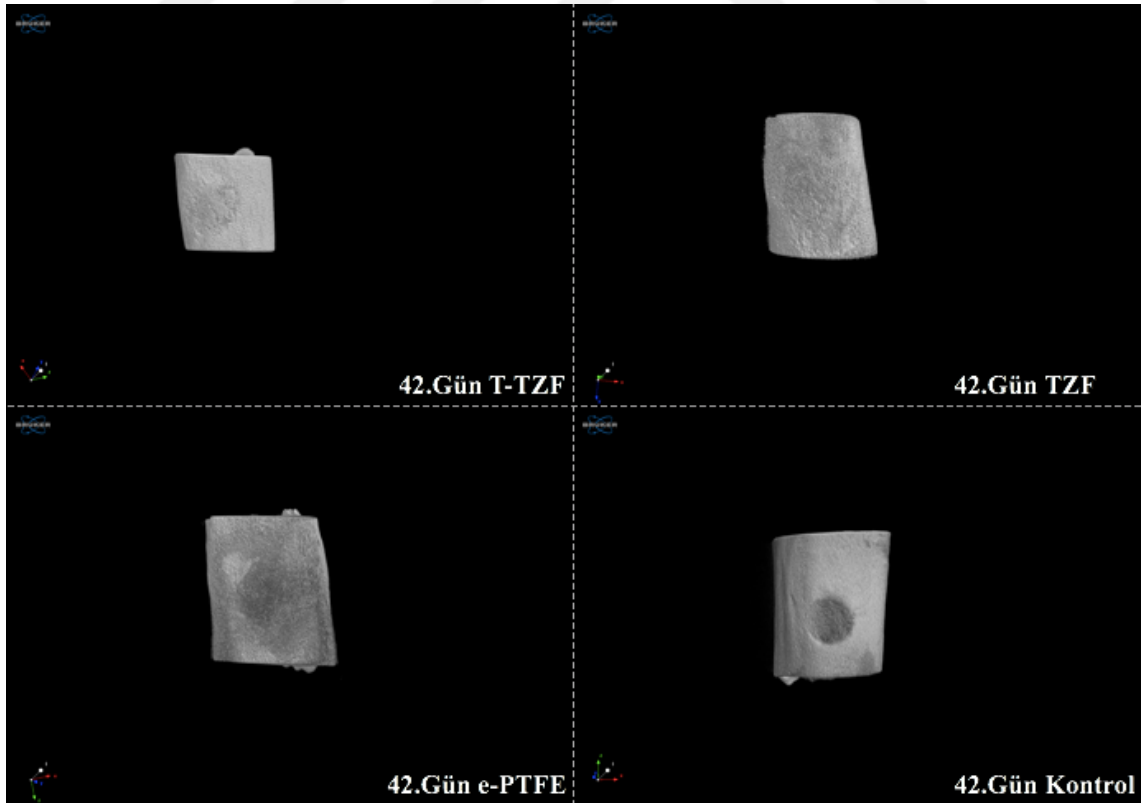
Kemik Mineralizasyon Yoğunluğu 42.Gün				
Gruplar	Kontrol (n=7)	e-PTFE (n=7)	T-TZF (n=7)	TZF (n=7)
Ort. $\pm$ Ss	0,595 $\pm$ 0,017	0,703 $\pm$ 0,009	0,772 $\pm$ 0,007*	0,773 $\pm$ 0,010*

Tablo8. 42.günde grupların kemik mineralizasyon yoğunluğu ortalamaları (*p<0,05)

BMD için; tablo 9'a göre kontrol grubu ile TZF grubu ve kontrol grubu ile T-TZF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır p=0,000 ve p=0,000. Kontrol grubunun ortanca değeri TZF ve T-TZF gruplarına göre daha düşüktür.

Grup2 - Grup1	Ort. $\pm$ SS
T-TZF - Kontrol	17,571 $\pm$ 4,397*
TZF - Kontrol	17,429 $\pm$ 4,397*

Tablo9. 42.günde gruplar arası kemik mineralizasyon yoğunluğu farklarının değerlendirilmesi(*p<0,05)



Şekil.4.5. 42.gün Mikro- Bilgisayarlı Tomografi Görüntüleri

Zamana Göre BMD'nin Grup İçi Değerlendirilmesi

Grup		Ortalama $\pm$ St. Sapma
Kontrol (n=7)	BMD_7.gün	0,050 $\pm$ 0,014*
	BMD_14.gün	0,324 $\pm$ 0,346*
	BMD_28.gün	0,448 $\pm$ 0,036*
	BMD_42.gün	0,595 $\pm$ 0,017*
e-PTFE (n=7)	BMD_7.gün	0,129 $\pm$ 0,008*
	BMD_14.gün	0,337 $\pm$ 0,027*
	BMD_28.gün	0,662 $\pm$ 0,022*
	BMD_42.gün	0,703 $\pm$ 0,009*
T-TZF (n=7)	BMD_7.gün	0,157 $\pm$ 0,030*
	BMD_14.gün	0,647 $\pm$ 0,020*
	BMD_28.gün	0,713 $\pm$ 0,021*
	BMD_42.gün	0,772 $\pm$ 0,007*
TZF (n=7)	BMD_7.gün	0,178 $\pm$ 0,009*
	BMD_14.gün	0,634 $\pm$ 0,031*
	BMD_28.gün	0,706 $\pm$ 0,019*
	BMD_42.gün	0,773 $\pm$ 0,010*

Tablo10. Zamana Göre BMD'nin Grup İçi Değerlendirilmesi (*p<0,05)

Tüm gruplarda kemik mineralizasyon yoğunluğu(BMD) için zamana göre değişim, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur p<0,05. Bu farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirleyebilmek için gruplar arası ikili karşılaştırmalar Wilcoxon testi ile yapılmıştır. P değerleri Bonferroni düzeltmesi yapılarak yorumlanmıştır.

Kontrol grubu için; tablo 11'e göre 7 ile 28 ve 7 ile 42 günleri arasında istatistiksel anlamlı fark vardır p=0,043 ve p=0,000. 28. ve 42. günlerde BMD değeri 7. güne göre artmıştır.

BMD - Zamana Göre	
Kontrol Grubu	
Grup1-Grup2	Ort. $\pm$ SS
7. Gün - 28. Gün	1.857 $\pm$ 0,690*
7. Gün - 42. Gün	2,857 $\pm$ 0,690*

Tablo11. Kontrol Grubu için Zamana göre BMD'nin karşılaştırılmasının istatistiksel analizi (*p<0,05)

e-PTFE için; tablo 12'ye göre 7 ile 28, 7 ile 42 ve 14 ile 42. günler arasında istatistiksel anlamlı fark vardır $p=0,011$, $p=0,000$ ve $p=0,043$. 28. ve 42. günlerde BMD değeri 7. güne göre artmıştır. 42. günde 14. güne göre BMD değeri artmıştır.

BMD - Zamana Göre e-PTFE Grubu	
Grup1-Grup2	Ort. $\pm$ SS
7. Gün - 28. Gün	2,143 $\pm$ 0,690*
7. Gün - 42. Gün	2,857 $\pm$ 0,690*
14. Gün - 42. Gün	-1,857 $\pm$ 0,690*

Tablo12. e-PTFE Grubu için Zamana göre BMD'nin karşılaştırılmasının istatistiksel analizi(* $p<0,05$)

T-TZF için; tablo 13'e göre 7 ile 28, 7 ile 42 ve 14 ile 42. günler arasında istatistiksel anlamlı fark vardır $p=0,023$, $p=0,000$ ve $p=0,023$. 28. ve 42. günlerde BMD değeri 7. güne göre artmıştır. 42. günde 14. güne göre BMD değeri artmıştır.

BMD - Zamana Göre T-TZF Grubu	
Grup1-Grup2	Ort. $\pm$ SS
7. Gün - 28. Gün	2,000 $\pm$ 0,690*
7. Gün - 42. Gün	3,000 $\pm$ 0,690*
14. Gün - 42. Gün	2,000 $\pm$ 0,690*

Tablo13. T-TZF Grubu için Zamana göre BMD'nin karşılaştırılmasının istatistiksel analizi(* $p<0,05$)

TZF için; tablo14'e göre 7 ile 28, 7 ile 42 ve 14 ile 42. günler arasında istatistiksel anlamlı fark vardır $p=0,023$, $p=0,000$ ve $p=0,023$. 28 ve 42. günlerde BMD değeri 7. güne göre artmıştır. 42. günde 14. güne göre BMD değeri artmıştır.

BMD - Zamana Göre TZF Grubu	
Grup1-Grup2	Ort. $\pm$ SS
7. Gün - 28. Gün	2,000 $\pm$ 0,690*
7. Gün - 42. Gün	3,000 $\pm$ 0,690*
14. Gün - 42. Gün	2,000 $\pm$ 0,690*

Tablo14. TZF Grubu için Zamana göre BMD'nin karşılaştırılmasının istatistiksel analizi (* $p<0,05$)

Hacim 7.Gün				
Gruplar	Kontrol (n=7)	e-PTFE (n=7)	T-TZF (n=7)	TZF (n=7)
Ort. $\pm$ SS	1,005 $\pm$ 0,163	4,666 $\pm$ 0,563*	3,944 $\pm$ 0,146	3,919 $\pm$ 0,138

Tablo15. 7.günde grupların hacim ortalamaları (*p<0,05)

Hacim için; 7. günde tablo 16'ya göre sadece kontrol grubu ile e-PTFE grubu arasında istatistiksel anlamlı fark vardır p=0,000. Kontrol grubunun ortanca değeri e-PTFE grubuna göre daha düşüktür.

Hacim 7.gün	
Grup2 - Grup1	Ort. $\pm$ SS.
e-PTFE - Kontrol	20,143 $\pm$ 4,397*

Tablo16. 7.günde gruplararası hacim farklarının değerlendirilmesi (*p<0,05)

Hacim 14.Gün				
Gruplar	Kontrol (n=7)	e-PTFE (n=7)	T-TZF (n=7)	TZF (n=7)
Ort. $\pm$ SS	3,656 $\pm$ 0,348	7,282 $\pm$ 0,557*	4,611 $\pm$ 0,171	4,595 $\pm$ 0,305

Tablo17. 14.günde grupların hacim ortalamaları (*p<0,05)

Hacim için; 14. günde tablo 18'e göre kontrol grubu ile e-PTFE grupları arasında istatistiksel anlamlı fark vardır p=0,000. Kontrol grubunun ortanca değeri e-PTFE grubuna göre daha düşüktür.

Hacim 14.gün	
Grup2 - Grup1	Ort. $\pm$ SS
e-PTFE - Kontrol	21,000 $\pm$ 4,397*

Tablo18. 14.günde gruplar arası hacim farklarının değerlendirilmesi (*p<0,05)

Hacim 28.gün				
Gruplar	Kontrol (n=7)	e-PTFE (n=7)	T-TZF (n=7)	TZF (n=7)
Ort ± SS	9,119 ± 0,172	13,041 ± 0,381*	11,166 ± 0,638	10,937 ± 0,635

Tablo19. 28.günde grupların hacim ortalamaları (*p<0,05)

Hacim için; 28. günde tablo 20'ye göre kontrol grubu ile e-PTFE grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır p=0,000. Kontrol grubunun ortanca değeri e-PTFE gruplarına göre daha düşüktür.

Hacim 28.gün	
Grup2 - Grup1	Ort. ± SS
e-PTFE - Boş	21,000 ± 4,397*

Tablo20. 28.günde gruplar arası hacim farklarının değerlendirilmesi (*p<0,05)

Hacim 42.gün				
Gruplar	Kontrol (n=7)	e-PTFE (n=7)	T-TZF (n=7)	TZF (n=7)
Ort. ± SS	16,323 ± 0,777	21,003 ± 0,553*	19,316 ± 0,902*	18,990 ± 0,622

Tablo21. 42.günde grupların hacim ortalamaları (*p<0,05)

Hacim için; 42. günde tablo 22'ye göre kontrol grubu ile e-PTFE grubu ve kontrol grubu ile T-TZF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır p=0,000 ve p=0,046. Kontrol grubunun ortanca değeri e-PTFE ve T-TZF gruplarına göre daha düşüktür.

Hacim 42.gün	
Grup2 - Grup1	Ort. ± SS
e-PTFE - Kontrol	20,286 ± 4,397*
T-TZF - Kontrol	11,714 ± 4,397*

Tablo22. 42.günde gruplar arası hacim farklarının değerlendirilmesi (*p<0,05)

Zamana Göre Hacmin Grup İçi Değerlendirilmesi

Grup		Ort.±Ss
Kontrol (n=7)	Hacim_7.gün	1,005 ± 0,163*
	Hacim_14.gün	3,656 ± 0,348*
	Hacim_28.gün	9,119 ± 0,172*
	Hacim_42.gün	16,323 ± 0,777*
e-PTFE (n=7)	Hacim_7.gün	4,666 ± 0,563*
	Hacim_14.gün	7,282 ± 0,557*
	Hacim_28.gün	13,041 ± 0,381*
	Hacim_42.gün	21,003 ± 0,553*
T-TZF (n=7)	Hacim_7.gün	3,944 ± 0,146*
	Hacim_14.gün	4,611 ± 0,171*
	Hacim_28.gün	11,166 ± 0,638*
	Hacim_42.gün	19,316 ± 0,902*
TZF (n=7)	Hacim_7.gün	3,919 ± 0,138*
	Hacim_14.gün	4,595 ± 0,305*
	Hacim_28.gün	10,937 ± 0,635*
	Hacim_42.gün	18,990 ± 0,622*

Tablo23. Zamana Göre Hacmin Grup İçi Değerlendirilmesi (*p<0,05)

Tüm gruplarda hacim için zamana göre değişiminde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur $p<0,05$. Bu farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirleyebilmek için gruplar arası ikili karşılaştırmalar Wilcoxon testi ile yapılmıştır. P değerleri Bonferroni düzeltmesi yapılarak yorumlanmıştır.

Kontrol grubu için; tablo 24'e göre 7 ile 28, 7 ile 42 ve 14 ile 42. günler arasında istatistiksel anlamlı fark vardır $p=0,023$, $p=0,000$ ve $p=0,023$. 28. ve 42. günde hacim değeri 7. güne göre artmıştır. 42. günde hacim değeri 14. güne göre artmıştır.

Hacim - Zamana Göre Kontrol Grubu	
Grup1-Grup2	Ort. ± Ss
7. Gün - 28. Gün	2,000 ± 0,690*
7. Gün - 42. Gün	3,000 ± 0,690*
14. Gün - 42. Gün	2,000 ± 0,690*

Tablo24. Kontrol Grubu için Zamana göre Hacmin Değerlendirilmesi (*p<0,05)

e-PTFE grubu için; tablo25'e göre 7 ile 28, 7 ile 42 ve 14 ile 42. günler arasında istatistiksel anlamlı fark vardır $p=0,023$, $p=0,000$ ve $p=0,023$. 28 .ve 42. günde hacim değeri 7. güne göre artmıştır. 42. günde hacim değeri 14. güne göre artmıştır.

Hacim - Zamana Göre e-PTFE Grubu	
Grup1-Grup2	Ort. $\pm$ Ss
7. Gün - 28. Gün	$2,000 \pm 0,690^*$
7. Gün - 42. Gün	$3,000 \pm 0,690^*$
14. Gün - 42. Gün	$2,000 \pm 0,690^*$

Tablo25. e-PTFE Grubu için Zamana göre Hacmin Değerlendirilmesi (* $p<0,05$)

T-TZF grubu için; tablo 26'ya göre 7 ile 28, 7 ile 42 ve 14 ile 42. günler arasında istatistiksel anlamlı fark vardır $p=0,023$, $p=0,000$ ve $p=0,023$. 28. ve 42. günde hacim değeri 7. güne göre artmıştır. 42. günde hacim değeri 14. güne göre artmıştır.

Hacim - Zamana Göre T-TZF Grubu	
Grup1-Grup2	Ort. $\pm$ Ss
7. Gün - 28. Gün	$2,000 \pm 0,690^*$
7. Gün - 42. Gün	$3,000 \pm 0,690^*$
14. Gün - 42. Gün	$2,000 \pm 0,690^*$

Tablo26. T-TZF Grubu için Zamana göre Hacmin Değerlendirilmesi (* $p<0,05$)

TZF grubu için; tablo 27'ye göre 7 ile 28, 7 ile 42 ve 14 ile 42. günler arasında istatistiksel anlamlı fark vardır $p=0,023$, $p=0,000$ ve $p=0,023$. 28. ve 42. günde hacim değeri 7. güne göre artmıştır. 42. günde hacim değeri 14. güne göre artmıştır.

Hacim - Zamana Göre TZF Grubu	
Grup1-Grup2	Ort. $\pm$ Ss
7. Gün - 28. Gün	$2,000 \pm 0,690^*$
7. Gün - 42. Gün	$3,000 \pm 0,690^*$
14. Gün - 42. Gün	$2,000 \pm 0,690^*$

Tablo27. TZF Grubu için Zamana göre Hacmin Değerlendirilmesi (* $p<0,05$)

4.2. Histomorfometrik Değerlendirme

Yeni Kemik Oluşumu 7.Gün				
Gruplar	Kontrol (n=7)	e-PTFE (n=7)	T-TZF (n=7)	TZF (n=7)
Ort. ± Ss	0,162 ± 0,041	0,288 ± 0,088	0,545 ± 0,083*	0,542 ± 0,075*

Tablo28. 7.günde grupların yeni kemik oluşumu ortalamaları (*p<0,05)

7.günde yeni kemik oluşumu için; tablo 29'a göre kontrol grubu ile T-TZF grubu ve kontrol grubu ile TZF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır p=0,001 ve p=0,001. Kontrol grubunun ortanca değeri TZF ve T-TZF gruplarına göre daha düşüktür.

Yeni Kemik Oluşumu 7.gün	
Grup2 - Grup1	Ort. ± Ss
T-TZF - Kontrol	16,857 ± 4,392*
TZF - Kontrol	16,857 ± 4,392*

Tablo29. 7.günde gruplar arası yeni kemik oluşum farklarının değerlendirilmesi (*p<0,05)

Yeni Kemik Oluşumu 14.Gün				
Gruplar	Kontrol (n=7)	e-PTFE (n=7)	T-TZF (n=7)	TZF (n=7)
Ort. ± Ss	0,542 ± 0,197	1,062 ± 0,263*	1,081 ± 0,328*	1,040 ± 0,390

Tablo30. 14.günde grupların yeni kemik oluşumu ortalamaları (*p<0,05)

14. günde yeni kemik oluşumu için; tablo 31'e göre kontrol grubu ile T-TZF grubu ve kontrol grubu ile e-PTFE grupları arasında istatistiksel anlamlı fark vardır p=0,024 ve p=0,016. Kontrol grubunun ortanca değeri T-TZF ve e-PTFE gruplarına göre daha düşüktür.

Yeni Kemik Oluşumu 14.gün	
Grup2 - Grup1	Ort. ± Ss
e-PTFE - Kontrol	13,214 ± 4,396*
T-TZF - Kontrol	12,643 ± 4,396*

Tablo31. 14.günde gruplar arası yeni kemik oluşum farklarının değerlendirilmesi (*p<0,05)

Yeni Kemik Oluşumu 28.Gün				
Gruplar	Kontrol (n=7)	e-PTFE (n=7)	T-TZF (n=7)	TZF (n=7)
Ort. $\pm$ Ss	1,021 $\pm$ 0,306	1,835 $\pm$ 0,503*	1,822 $\pm$ 0,707	1,602 $\pm$ 0,302

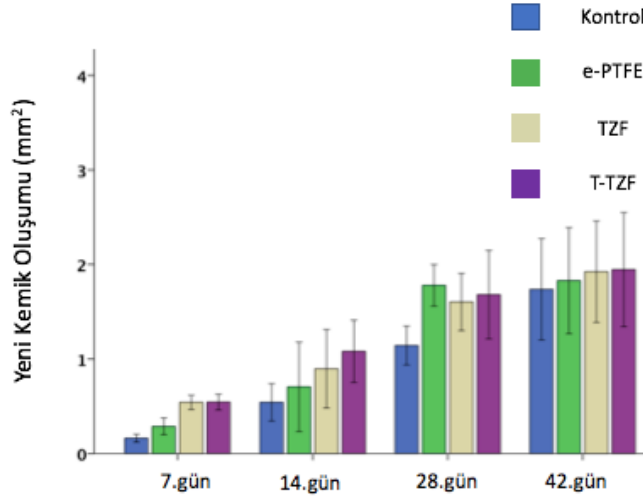
Tablo32. 28.Günde Grupların Yeni Kemik Oluşumu Ortalamaları (*p<0,05)

28.günde yeni kemik oluşumu için; tablo 33'e göre kontrol grubu ile e-PTFE grupları arasında istatistiksel anlamlı fark vardır p=0,013. Kontrol grubunun ortanca değeri e-PTFE gruplarına göre daha düşüktür.

Yeni Kemik Oluşumu 28.gün	
Grup2 - Grup1	Ort. $\pm$ Ss
e-PTFE - Kontrol	13,429 $\pm$ 4,392*

Tablo33. 28.günde gruplar arası yeni kemik oluşum farklarının değerlendirilmesi (*p<0,05)

42.günde yeni kemik oluşumu için; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur.



Şekil 4.6. Gruplar Arası Defekt Bölgesinde Yeni Kemik Oluşumu

Grup		Ort. $\pm$ Ss
Kontrol (n=7)	Y. Kemik_7	0,162 $\pm$ 0,041*
	Y. Kemik_14	0,542 $\pm$ 0,197*
	Y. Kemik_28	1,021 $\pm$ 0,306*
	Y. Kemik_42	1,522 $\pm$ 0,817*
e-PTFE (n=7)	Y. Kemik_7	0,288 $\pm$ 0,088*
	Y. Kemik_14	1,062 $\pm$ 0,263*
	Y. Kemik_28	1,835 $\pm$ 0,503*
	Y. Kemik_42	2,085 $\pm$ 0,442*
T-TZF (n=7)	Y. Kemik_7	0,545 $\pm$ 0,083*
	Y. Kemik_14	1,081 $\pm$ 0,328*
	Y. Kemik_28	1,822 $\pm$ 0,707*
	Y. Kemik_42	2,088 $\pm$ 0,580*
TZF (n=7)	Y. Kemik_7	0,542 $\pm$ 0,075*
	Y. Kemik_14	1,040 $\pm$ 0,390*
	Y. Kemik_28	1,602 $\pm$ 0,302*
	Y. Kemik_42	2,065 $\pm$ 0,559*

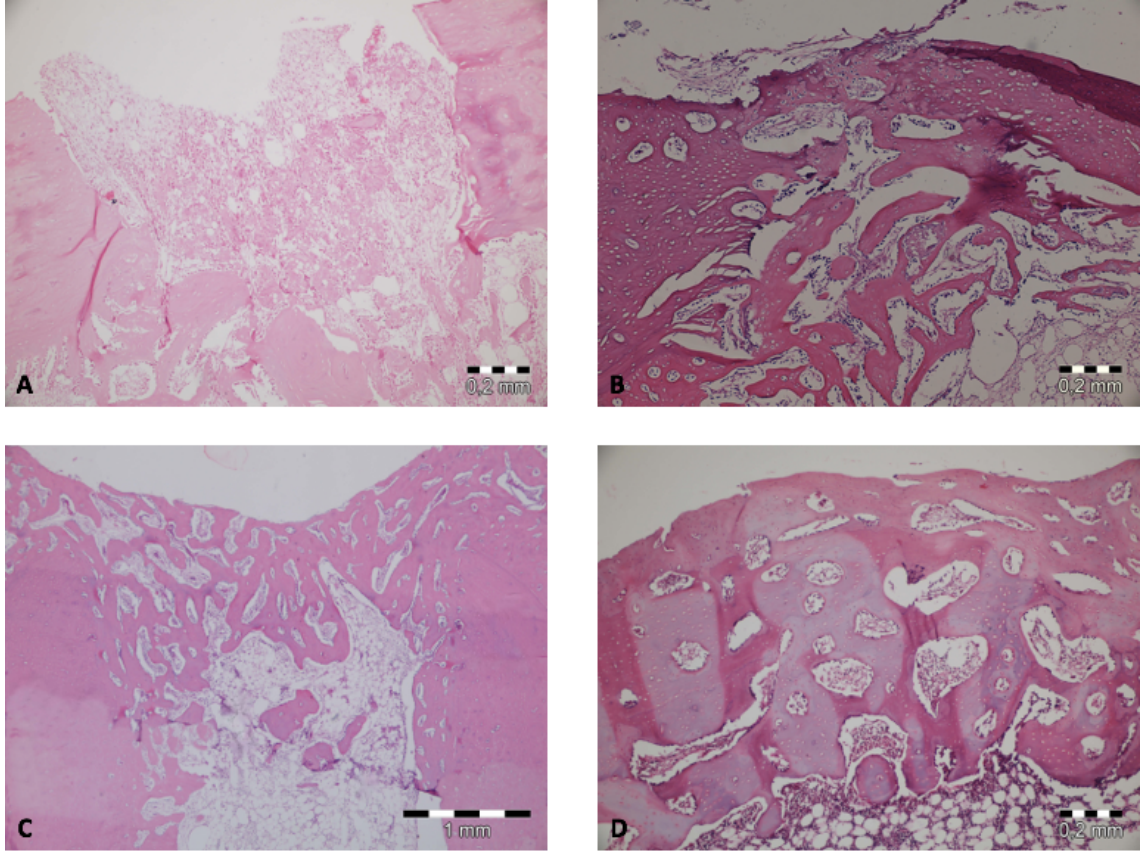
Tablo34. Zamana Göre Yeni Kemik Oluşumunun Grup İçi Değerlendirilmesi (*p<0,05)

Tüm gruplarda yeni kemik oluşumu için zamana göre değişim, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur $p<0,05$. Bu farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirleyebilmek için gruplar arası ikili karşılaştırmalar Wilcoxon testi ile yapılmıştır. P değerleri Bonferroni düzeltmesi yapılarak yorumlanmıştır.

Kontrol grubu için; tablo 35'e göre 7 ile 28 ve 7 ile 42. günler arasında istatistiksel anlamlı fark vardır $p=0,011$ ve $p=0,001$. 28. ve 42. günde yeni kemik oluşum değeri 7. güne göre fazladır.

Yeni Kemik Oluşumu - Zamana Göre	
Kontrol Grubu	
Grup2 - Grup1	Ort. $\pm$ Ss
28. Gün - 7. Gün	2,143 $\pm$ 0,690*
42. Gün - 7. Gün	2,714 $\pm$ 0,690*

Tablo35. Kontrol Grubu için Zamana göre Yeni Kemik Oluşumu Değerlendirilmesi (*p<0,05)

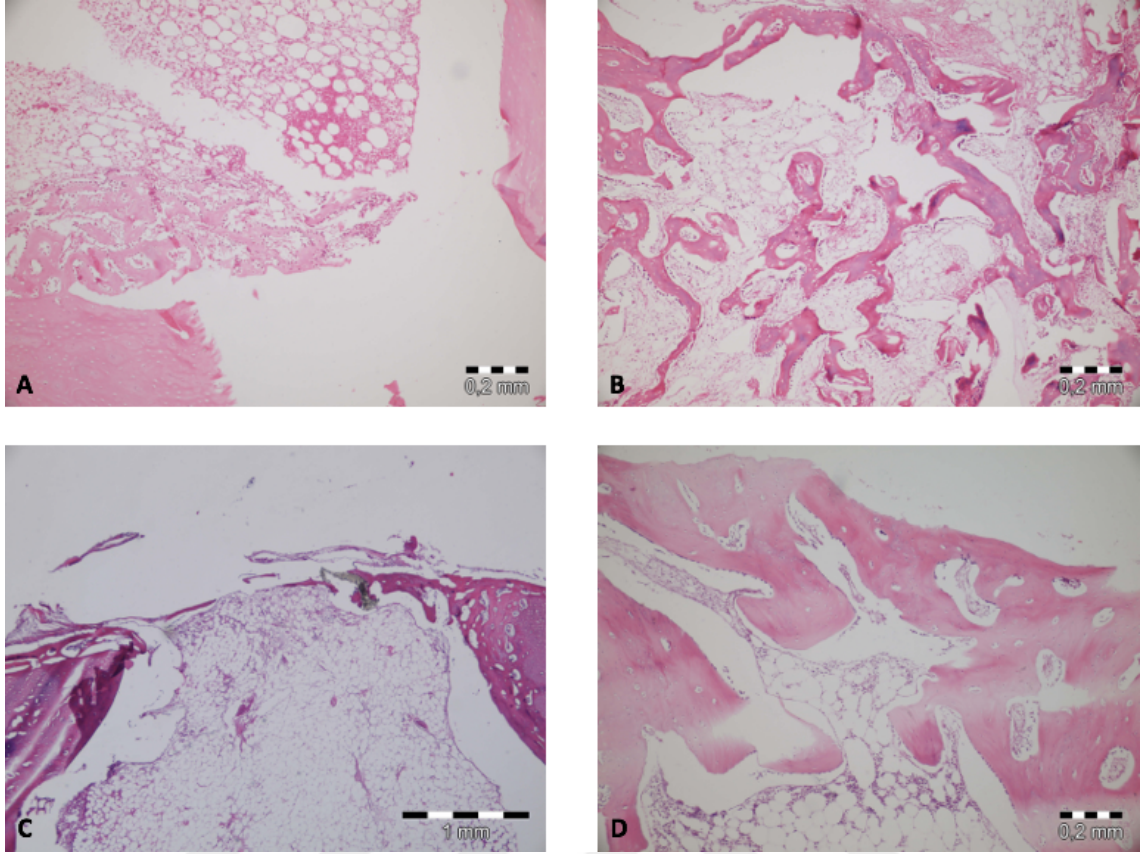


Şekil 4.7. Kontrol grubu olarak boş bırakılan defektlerin histomorfometrik kesitleri **A.** 7. günde defekt bölgesinde gevşek yapıda damarlı bağ dokusu içinde yeni oluşan ağsı kemik dokusu (H&Ex100) **B.** 14.günde defekt bölgesinde defekti dolduran trabeküler yapıda yeni kemik dokusu. (H&Ex100) **C.** 28. günde defekti tümüyle dolduran trabeküler kemik dokusu, derinde kemik iliği (H&Ex40) **D.** 42. günde defekt bölgesini dolduran kalın anastomozlar yapan trabeküler kemik dokusu (H&Ex100).

e-PTFE grubu için; tablo 36'ya göre 7 ile 28 ve 7 ile 42. günler arasında istatistiksel anlamlı fark vardır $p=0,006$ ve $p=0,001$. 28. ve 42. günde yeni kemik oluşum değeri 7. güne göre fazladır.

Yeni Kemik Oluşumu - Zamana Göre e-PTFE Grubu	
Grup2 - Grup1	Ort. $\pm$ Ss
28. Gün 7. Gün -	2,286 $\pm$ 0,690*
42. Gün 7. Gün -	2,714 $\pm$ 0,690*

Tablo36. e-PTFE Grubu için Zamana göre Yeni Kemik Oluşumu Değerlendirilmesi (* $p<0,05$)

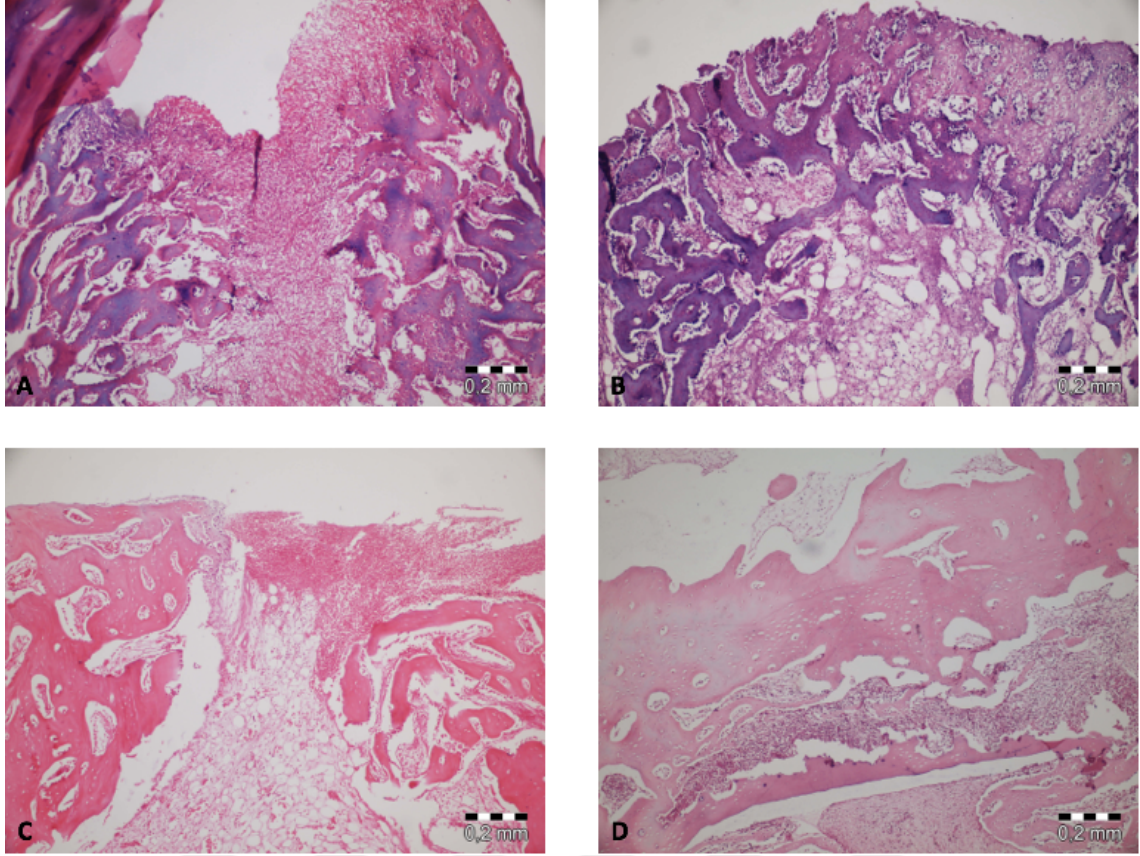


Şekil 4.8. e-PTFE membran uygulanan defektlerin histomorfometrik kesitleri **A.** 7. günde gevşek yapıda damardan zengin bağ dokusu içinde yeni kemik trabekülleri derinde normosellüler kemik iliği (H&Ex100). **B.** 14. günde damardan zengin bağ dokusu içinde defekti dolduran ince trabeküler yeni kemik dokusu (H&Ex100) **C.** 28.günde ince köprüleşme gösteren kemik dokusu altında yağlı kemik iliği (H&Ex40) **D.** 42.günde defekt bölgesini dolduran ve yüzeyde kortikal kemik ile ince bir köprüleşme sağlayan yeni kemik yapımı. (H&Ex100).

T-TZF grubu için; tablo 37'ye göre 7 ile 28 ve 7 ile 42. günler arasında istatistiksel anlamlı fark vardır $p=0,003$ ve $p=0,001$. 28. ve 42. günde yeni kemik oluşum değeri 7. güne göre fazladır.

Yeni Kemik Oluşumu - Zamana Göre T-TZF Grubu	
Grup2 - Grup1	Ort. $\pm$ Ss
28. Gün - 7. Gün	2,429 $\pm$ 0,690*
42. Gün - 7. Gün	2,571 $\pm$ 0,690*

Tablo37. T-TZF Grubu için Zamana göre Yeni Kemik Oluşumu Değerlendirilmesi (* $p<0,05$)

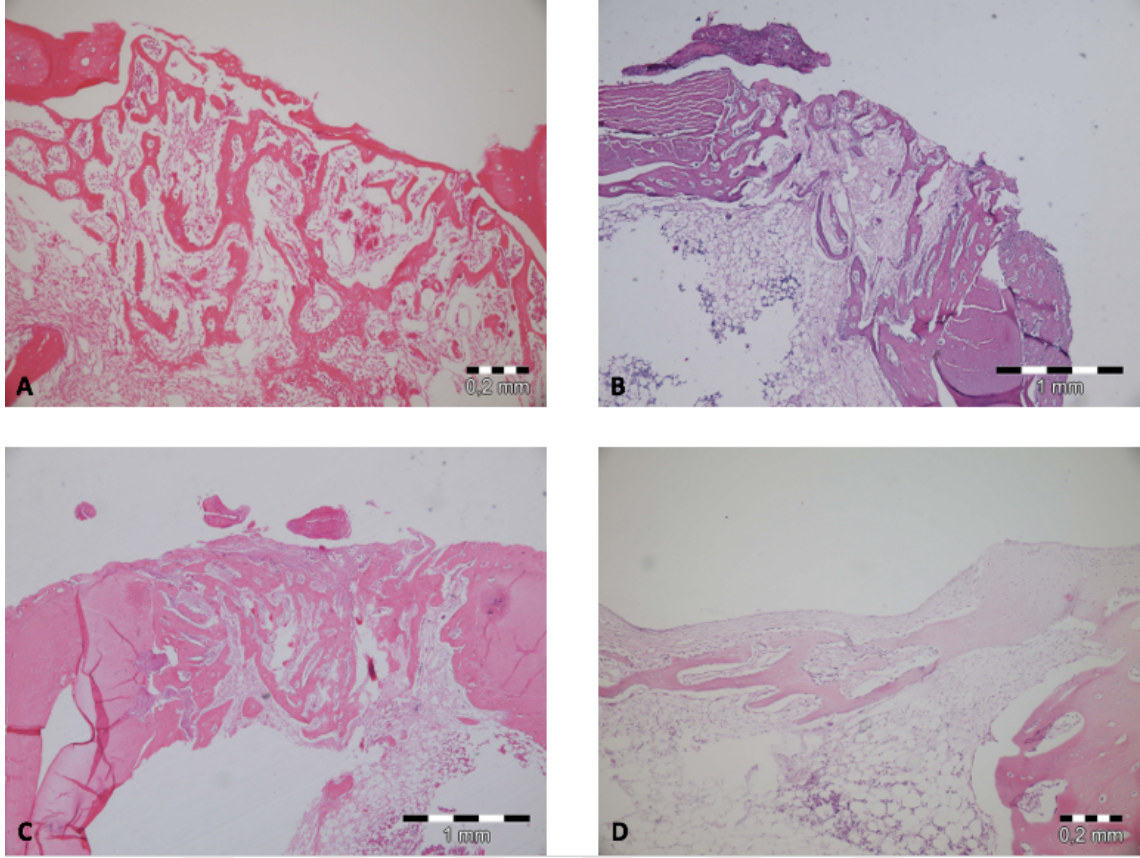


Şekil 4.9. T-TZF membran uygulanan defektlerin histomorfometrik kesitleri **A.** 7.günde damardan zengin fibröz bağ dokusu arasında defekt kenarlarından başlayan trabeküler yeni kemik yapımı (H&Ex100) **B.** 14.günde defekt bölgesini tümüyle dolduran kalınca trabeküler kemik dokusu. **C.** 28.günde defekt bölgesini büyük oranda dolduran kalın anastomozlar yapan kemik trabekülleri ortada dar bir alanda gevşek yapıda bağ dokusu. (H&Ex100) **D.** 42.günde kalınca kortikal ve trabeküler kemikle köprü biçiminde kapatan yeni kemik yapımı ve derinde damardan zengin aktif fibröz bağ dokusu. (H&Ex100).

TZF grubu için; tablo 38'e göre 7 ile 28, 7 ile 42 ve 14 ile 42. günler arasında istatistiksel anlamlı fark vardır $p=0,043$, $p=0,001$ ve $0,043$. 28. ve 42. günde yeni kemik oluşum değeri 7. güne göre fazladır. 42. günde, 14. güne göre yeni kemik oluşumu daha fazladır.

Yeni Kemik Oluşumu - Zamana Göre TZF Grubu	
Grup2 - Grup1	Ort. $\pm$ Ss
28. Gün - 7. Gün	$1,857 \pm 0,690^*$
42. Gün - 7. Gün	$2,714 \pm 0,690^*$
42. Gün - 14. Gün	$1,857 \pm 0,690^*$

Tablo38. TZF Grubu için Zamana göre Yeni Kemik Oluşumu Değerlendirilmesi (* $p<0,05$)



Şekil 4.10. TZF membran uygulanan defektlerin histomorfometrik kesitleri **A.** 7.günde gevşek yapısı bağ dokusu içinde ince yeni kemik trabekülleri (H&E x100) **B.** 14.günde gevşek yapıda bağ dokusu içinde tüm defekt bölgesine dağılmış ince trabeküler kemik dokusu. (H&Ex40) **C.** 28.günde defekt bölgesini dolduran ince trabeküler kemik dokusu. (H&Ex40) **D.** 42.günde defekt bölgesinde yüzeyi ince trabeküler kemik ile kapatan yeni kemik dokusu derinde normosellüler kemik iliği (H&Ex100).

7.günde iyileşme için; Bonferroni düzeltmesi yapılmış ve p değerlerine göre ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır $p > 0,05$.

14.günde iyileşme için; tablo 39'a göre kontrol grubu ile T-TZF grubu ve kontrol grubu ile TZF grupları arasında istatistiksel anlamlı fark vardır $p = 0,005$ ve $p = 0,022$. Kontrol grubunun ortanca değeri T-TZF ve TZF grubuna göre daha düşüktür.

İyileşme 14.gün	
Grup2 - Grup1	Ort. $\pm$ Ss
T-TZF - Kontrol	13,429 $\pm$ 4,024*
TZF - Kontrol	11,714 $\pm$ 4,024*

Tablo39. 14.günde gruplar arası iyileşme farklarının değerlendirilmesi (* $p < 0,05$)

28. ve 42. günlerde iyileşme için; p değerlerine göre ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır $p>0,05$.

Grup		Ort $\pm$ Ss
Kontrol (n=7)	İyileşme_7	2,710 $\pm$ 0,488*
	İyileşme_14	3,430 $\pm$ 0,535*
	İyileşme_28	4,290 $\pm$ 0,488*
	İyileşme_42	5,000 $\pm$ 0,816*
e-PTFE (n=7)	İyileşme_7	3,430 $\pm$ 0,535*
	İyileşme_14	4,290 $\pm$ 0,488*
	İyileşme_28	5,000 $\pm$ 0,577*
	İyileşme_42	5,570 $\pm$ 0,535*
T-TZF (n=7)	İyileşme_7	3,570 $\pm$ 0,535*
	İyileşme_14	4,710 $\pm$ 0,488*
	İyileşme_28	5,140 $\pm$ 0,690*
	İyileşme_42	5,570 $\pm$ 0,535*
TZF (n=7)	İyileşme_7	3,430 $\pm$ 0,535*
	İyileşme_14	4,570 $\pm$ 0,535*
	İyileşme_28	5,000 $\pm$ 0,816*
	İyileşme_42	5,000 $\pm$ 0,816*

Tablo40. Zamana Göre İyileşmenin Grup İçi Değerlendirilmesi (* $p<0,05$)

Tüm gruplarda iyileşme için zamana göre değişim, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur $p<0,05$. Bu farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirleyebilmek için gruplar arası ikili karşılaştırmalar Wilcoxon testi ile yapılmıştır. P değerleri Bonferroni düzeltmesi yapılarak yorumlanmıştır.

Kontrol grubu için; tablo 41'e göre 7 ile 28 ve 7 ile 42. günler arasında istatistiksel anlamlı fark vardır $p=0,006$, ve $p=0,003$. 28 .ve 42. günde iyileşme değeri 7. güne göre artmıştır.

İyileşme - Zamana Göre Kontrol Grubu	
Grup2 - Grup1	Ort. $\pm$ Ss
28. Gün - 7. Gün	2,071 $\pm$ 0,690*
42. Gün - 7. Gün	2,429 $\pm$ 0,690*

Tablo41. Kontrol Grubu için Zamana göre İyileşmenin Değerlendirilmesi (* $p<0,05$)

e-PTFE grubu için; tablo 42'ye göre 7 ile 28 ve 7 ile 42. günler arasında istatistiksel anlamlı fark vardır $p=0,031$, ve $p=0,002$. 28 .ve 42. günde iyileşme değeri 7. güne göre artmıştır.

İyileşme - Zamana Göre e-PTFE Grubu	
Grup2 - Grup1	Ort. $\pm$ Ss
28. Gün - 7. Gün	$1,929 \pm 0,690^*$
42. Gün - 7. Gün	$2,500 \pm 0,690^*$

Tablo42. e-PTFE Grubu için Zamana göre iyileşmenin Değerlendirilmesi (* $p<0,05$)

T-TZF grubu için; tablo 43'e göre 7 ile 28 ve 7 ile 42. günler arasında istatistiksel anlamlı fark vardır $p=0,043$, ve $p=0,004$. 28 .ve 42. günde iyileşme değeri 7. güne göre artmıştır.

İyileşme - Zamana Göre T-TZF Grubu	
Grup2 - Grup1	Ort. $\pm$ Ss
28. Gün - 7. Gün	$1,857 \pm 0,690^*$
42. Gün - 7. Gün	$2,357 \pm 0,690^*$

Tablo43. T-TZF Grubu için Zamana göre İyileşmenin Değerlendirilmesi (* $p<0,05$)

TZF grubu için; tablo 44'e göre 7 ile 28. günler arasında istatistiksel anlamlı fark vardır $p=0,023$. 28. günde iyileşme değeri 7. güne göre artmıştır.

İyileşme - Zamana Göre TZF Grubu	
Grup2 - Grup1	Ort. $\pm$ Ss
42. Gün - 7. Gün	$2,000 \pm 0,690^*$

Tablo44. TZF Grubu için Zamana göre İyileşmenin Değerlendirilmesi (* $p<0,05$)

Gruplar arası iltihap, nekroz, fibrozis, yabancı cisim reaksiyonu değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamıştır.

T-TZF ve TZF gruplarında iltihap için zamana göre değişim, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur $p<0,05$. Bu farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirleyebilmek için gruplar arası ikili karşılaştırmalar Wilcoxon testi ile yapılmıştır. P değerleri Bonferroni düzeltmesi yapılarak yorumlanmıştır.

T-TZF grubu için; bonferroni düzeltmesi yapılmış ikili karşılaştırma sonucunda hiçbir karşılaştırmanın anlamlı olmadığı bulunmuştur $p>0,05$.

TZF grubu için; bonferroni düzeltmesi yapılmış ikili karşılaştırma sonucunda hiçbir karşılaştırmanın anlamlı olmadığı bulunmuştur $p>0,05$.

T-TZF grubunda nekroz için zamana göre değişim istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur $p<0,05$. Bu farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirleyebilmek için gruplar arası ikili karşılaştırmalar Wilcoxon testi ile yapılmıştır. P değerleri Bonferroni düzeltmesi yapılarak yorumlanmıştır.

T-TZF grubu için; bonferroni düzeltmesi yapılmış ikili karşılaştırma sonucunda hiçbir karşılaştırmanın anlamlı olmadığı bulunmuştur $p>0,05$.

e-PTFE grubu hariç diğer tüm gruplarda fibrozis için zamana göre değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur $p<0,05$. Bu farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirleyebilmek için gruplar arası ikili karşılaştırmalar Wilcoxon testi ile yapılmıştır. P değerleri Bonferroni düzeltmesi yapılarak yorumlanmıştır.

Kontrol grubu için; bonferroni düzeltmesi yapılmış ikili karşılaştırma sonucunda hiçbir karşılaştırmanın anlamlı olmadığı bulunmuştur $p>0,05$.

T-TZF için; tablo 45'e göre 7 ile 42. günler arasında istatistiksel anlamlı fark vardır $p=0,023$, $p=0,043$. 42. günde fibrozis değeri 7. güne göre azalmıştır.

Fibrozis - Zamana Göre T-TZF Grubu	
Grup2 - Grup1	Ort. $\pm$ Ss
42. Gün - 7. Gün	1,857 $\pm$ 0,690*

Tablo45. T-TZF Grubu için Zamana göre Fibrozisin Değerlendirilmesi (* $p<0,05$)

TZF için; Bonferroni düzeltmesi yapılmış ikili karşılaştırma sonucunda hiçbir karşılaştırmanın anlamlı olmadığı bulunmuştur $p>0,05$.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda 3 mm çapında ve 4 mm derinliğinde toplamda 4 adet defekt hazırlayabileceğimiz en uygun denek sağlıklı, erkek, Yeni Zelanda tavşanı olarak belirlenmiştir. Menstrual döngülerindeki hormonal değişikliklerinin kemik metabolizmasını etkilememesi için erkek tavşanlarda çalışılmıştır. 2 mm ve daha küçük tek parçalı defektlerde görülmektedir ki herhangi bir materyale ihtiyaç duyulmaksızın iyileşme, pıhtı oluşumu ve dokuların sabit kalması ile sağlanabilmektedir. 2 mm'den daha büyük bir defektin hazırlanabileceği dokular tavşandan daha küçük hayvan deneklerinde, hayvanın yaşam koşullarını bozacak veya deneğin kaybı ile sonuçlanacaktır. Tavşan tibiası üzerinde birbirine eşit uzaklıkta belirlenen çap ve boylarda 2 eşit defekt açılabilir olması tercih nedenimizdir.

Cerrahi operasyon ile hazırlanacak defektler için tavşanların tibiaları seçilmiştir. Tibianın kortikal ve medullar yapısı çalışmamızda planlanan gerekli derinliği ve genişliği deneklerin yaşam standartlarına zarar vermeden sağlayabilmektedir. Çalışmamızda tibianın gövde kısmının operasyonel bölge olarak seçilmesinin sebebi ise her tibiada açılacak silindirik defektlerin aynı özelliklerde ve birbirinden eşit uzaklıklarda olmasına olanak verecek kadar uzun bir kemik olmasıdır. Operasyon esnasında yerleştirilecek membranlardan T-TZF ve TZF'nin bölgede salgılayacakları büyüme faktörleri kısa dönem iyileşmede birbirinden ayırt edilebilmesini zorlaştırmaması açısından farklı bacaklardaki defektlere uygulanmışlardır. Ayrıca aynı tibia içerisinde kontrol grubunun veya e-PTFE membran uygulanan grubun etkilenmemesi için de defektler arasında 5 mm'den fazla aralık bırakılmıştır. Bu sayede TZF ve T-TZF'nin büyüme faktörleri vasıtasıyla oluşturacakları etkinlik sadece defekt bölgesinde sınırlı kalabilecek ve analizler aşamasında herhangi bir şüpheye yer vermeyecektir.

Çalışmamızda operasyon sahasına hücre göçünü engellemek için bir defekt T-TZF ile diğeri TZF ile örtülmüştür. Fibrinlerin elde edilebilmesi için 10 ml ve daha fazla miktarda kana ihtiyaç duyulmaktadır. Tavşanların santral kulak veninden kan alımının kolay ve hızlı olması ve yeterli miktarda kanı denek kaybı yaşamadan elde edebileceğimiz için denek hayvanı olarak tavşan seçilmiştir¹⁰⁰. Defekt büyüklüklerinin

belirlenmesinde ve kullanılacak materyallerin işlem bölgesine uygulanmasında yapılan çalışmalar örnek alınarak tavşan denekler üzerinde yapılmasına karar verilmiştir¹⁰¹.

Çalışmamızda, kemik iyileşmesi ve kullanılan membranların bu iyileşmeyi nasıl etkilediği değerlendirilmiştir. e-PTFE membranlar, kemik rejenerasyonu sürecinde en iyi sonucu veren membran materyalidir^{102,103}. Fakat ikinci bir cerrahi operasyona ihtiyaç duyulması kullanım alanlarının sınırlandırılmasına ve rezorbe olabilen materyallerin kullanımının artmasına sebep olmuştur⁹.

YKR’de kullanılan membranların yüksek maliyetlerinden dolayı, hastaların kendi kanlarından elde edilen tamamen otojen trombosit konsantrasyonlarının yumuşak ve sert doku iyileşmesi üzerine kullanımları araştırılmaya ve bu materyaller geliştirilmeye başlanmıştır. TZF’nin yapısı gereği uygulanan bölgede sabit kalabilmesi ve rezorpsiyon süresinin diğer kan ürünlerine göre daha uzun olması sebebiyle deney gruplarımızdan birini oluşturmaktadır. TZF elde etmek için gereken maliyet, otojen olmayan membranlar ile kıyaslandığında neredeyse yok denecek kadar azdır. Aynı zamanda otojen bir doku olmasından dolayı yabancı cisim reaksiyonu görülmediği gibi içeriğindeki anti-enflamatuvar sitokinler sayesinde enflamasyona engel olmaktadır. TZF’nin içeriğinde bulunan PDGF, TGF- β , VEGF, IGF lokal olarak bölgeye salınarak kemoatraktan madde görevi görüp ilgili iyileşme moleküllerinin yara bölgesine gelmesini hızlandırır. Bu sayede iyileşme süreci hızlanır. Bunun yanı sıra yara bölgesinde yer tutucu görevi gören TZF yara bölgesinde onarım değil rejenerasyon sağlamaktadır. Yeni kemik oluşumu için yapılan çalışmalarda, TZF’nin rezorpsiyon süresinin kemik matriksinin oluşması için gereken süreden önce gerçekleşmesinden dolayı sert doku ogmentasyonlarındansa yumuşak dokudaki etkisi ön plana çıkmaktadır. TZF, kuru cam veya içi cam dışı plastik tüplerin santrifüj cihazı içerisinde 2700 rpm ile 15 dakika veya 3000 rpm ile 10 dakika çevrilmesi ile elde edilmektedir. Kan hücrelerinin cam tüp yüzeylerine çarpması sonucunda silika partikülleri aktifleşmeye başlayan fibrin ağının içerisinde gözlemlenmekte ve bu durum fibrin ağının zayıflamasına sebep olmaktadır. Bu yapının daha güçlenmesi ve fibrin ağının daha sıkı bir yapıya sahip olması sağlanarak TZF’nin rezorpsiyon süresi uzatılmak istenmektedir. Bu sebeple hem trombosit aktivasyonunda daha etkili olduğu hem de cama göre biyouyumluluğu kanıtlanan titanyum yüzeye sahip tüplerde santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Alınan örneklerde titanyum yüzeye sahip olan tüplerden elde edilen T-TZF’ nin histolojik açıdan TZF ile benzerlik gösterdiği fakat fibrin yapısının sıklığı

ve dayanıklılığının daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Bu özelliklerinden dolayı T-TZF'nin rezorpsiyon süresi 30 ile 40 güne kadar uzatılabilmiştir. Uzayan rezorpsiyon süresi materyalin kullanım alanlarını genişletmekte ve YKR işlemlerinde hazır membranlara alternatif olabileceği fikri akıllara gelmektedir⁷.

Çalışmanın operasyonel kısmı steril ortamda yapılmış olup işlem sonrası hiçbir deneğe medikasyon yapılmamıştır. Yapılacak olan medikasyon, işlem bölgesine uygulanacak olan materyallerin iyileşme sürecini farklılığa uğratacağı düşünülmüştür. Bu sebeple hareketi zorlaştırmayacak şekilde yara bölgeleri gazlı bez ile sarılmış ve her gün kontrol edilmiştir. Bu pansuman yumuşak doku iyileşmesinin takibi ile yara bölgesinden alınmıştır.

Günümüzde büyük defektlerde ve çekim soketlerinin kemik kaybını en aza indirmek için kullanılan birçok yöntem mevcuttur. Bu şekilde mevcut kemik dokusu korunmaya çalışılırken çevre dokuların da uyarılması ile operasyon bölgesinde yeni kemik dokusu oluşturulması amaçlanmaktadır. Bu teknikler allojenik kemik materyalleri ile beraber çatı görevi görmesi planlanan membranların tek başına ya da bir arada kullanılması ile sağlanmaktadır^{104,105}. Bu materyallerin yüksek maliyetli olması ve mevcut dokuda oluşturabildiği yabancı cisim reaksiyonlarından dolayı hastaların kendi kanlarından elde edilen materyallerin iyileşme bölgesinde kullanımları denenmeye başlanmıştır. Çift taraflı dişeti çekilmesi olan hastalarda kuronale kaydırılan flap tekniği ile bilateral olarak L-TZF ve bağ dokusu grefti uygulanmıştır. Dişeti kalınlığında, kazanılan keratinize doku miktarında ve kök yüzeyi kapatılma oranlarında benzer sonuçlar elde edilmiştir. TZF ile yönlendirilmiş doku rejenerasyonu operasyonlarında başarı elde edildiği kanıtlanmıştır¹⁰⁶⁻¹⁰⁸.

TZP, birçok farklı büyüme faktörü içeren bir yapıya sahiptir. Bu trombosit ürününün hazırlanma aşaması 2 basamaktan oluşmaktadır. Elde edilen TZP akışkan bir yapıda olmasından ötürü, uygulama alanları sınırlı olmakta ve uygulandığı bölgede uzun süre varlığını gösterememektedir¹⁰⁹. Bu sebeple uygulama ve hazırlama kolaylığı olan TZF yönlendirilmiş doku rejenerasyonu işlemlerine daha uygun bir otojen materyal olarak karşımıza çıkmaktadır.

TZF'nin klinik uygulamalarına bakıldığında, mandibulanın ramus bölgesinde kemikleşmemiş kistik bir lezyon cerrahi operasyon ile kürete edilerek temizlendikten sonra oluşan defekt, TZF ile doldurularak primer olarak kapatılmıştır. Kapalı iyileşmeye bırakılan cerrahi bölgenin 6 ay sonunda radyografik incelemesi yapıldığında tamamen

kemik doku ile dolduğu gözlemlenmektedir¹¹⁰. Sinüs membranı kaldırma işlemleri esnasında allogreftler ile karıştırılarak sinüs tabanına yerleştirilmiş olan TZF'nin ilgili bölgede kemik dokusu oluşumunu hızlandırdığı, iyileşme sürecini 6 aydan 4 aya indirdiği histolojik olarak gösterilmiştir. Bu sayede yapılması planlanan implant operasyonunun daha kısa sürede olgunlaşmış kemik içerisine yerleştirilebileceği gösterilmiştir¹¹¹.

Yapısında barındırdığı lökositler sayesinde uygulandığı bölgede iltihapsal yanıtı hızlandırmakta, ortama salgıladığı TGF- β , VEGF, IGF ayesinde ise osteoblast aktivasyonunu arttırarak kemik oluşum hızını etkilemektedir. Fibrin yapısı sayesinde ise uygulandığı bölgede membran yapısı göstererek dayanım süresi uzamakta ve seçici geçirgen bir yapı oluşturmaktadır⁶⁴. TZF' nin bu özelliklerine bakıldığında yara iyileşmesine bulunacağı katkı ve ortamda bulunması ile kemoatraktan bir materyal olarak osteoblastlar üzerine osteokondüktif etki oluşturmaları, kemik iyileşmesi beklenen bölgelerde kullanımının da önünü açmıştır.

Cam tüplerde elde edilen L-TZF' nin içerisinde silika partikülleri içerdiği görülmüştür. Alınan kanın santrifüj işlemi esnasında kan hücrelerinin içerisinde bulunduğu cam tüpün duvarlarına çarpması ile küçük kırılmaların olduğu ve fibrin yapısı içerisine karıştığı histolojik olarak gösterilmiştir. Bu yapısı sebebi ile de terapötik yapısında bozulma olduğu düşünülmektedir⁶. L-TZF nin kemik dokusu iyileşmesi esnasında kullanımını sınırlandıran bir diğer sebep ise rezorpsiyon süresidir. İnsan bedeninde 7-11 gün içerisinde rezorpsiyona uğradığı gösterilen TZF' nin yumuşak doku iyileşmesi için gayet başarılı ve tercih edilebilir bir materyal olması sağlanırken sert doku iyileşmesinde kullanımına olanak tanımamaktadır¹¹². Kemik dokunun iyileşme süresinde bu süreç içerisinde sadece yumuşak dokunun olgunlaştığı gözlemlenmekte fakat sert doku iyileşmesi için kritik bir süreç olan onarım ve yeniden şekillenme aşaması gerçekleşmemiş olmaktadır. Bu sebeple allogreftler ile kollajen veya sentetik membranlar ile yapılan yönlendirilmiş kemik rejenerasyonlarında sağlanan etki sağlanamamaktadır.

Titanyum tüplerde elde edilen T-TZF yapısı itibariyle herhangi bir silika partikülü içermemekle birlikte daha sıkı bir fibrin ağına sahip olduğu histolojik kesitlerde gösterilmiştir. Bu sayede rezorpsiyon süresi uzamaktadır. Silika partiküllerinin ortaya çıkarabileceği kısa ve uzun dönemde olumsuz olabileceği düşünülen etkilerinin önüne geçilmiştir. Yapısında bulundurduğu büyüme faktörleri ve sitokinler ile TZF ile aynı

kemoatraktan etkileri göstermektedir. Fakat bir aydan daha uzun süren rezorpsiyon süresi sebebiyle de kemik dokusunun rejenerasyonu sürecinde L-TZF' ye göre daha efektif kullanılması söz konusudur¹¹³.

Sakrifikasyon süreleri tavşan fizyolojisi göz önünde bulundurularak, 7, 14, 28 ve 42. günler olacak şekilde belirlenmiştir. 7 günlük süreçte yumuşak doku iyileşmesinin tamamlanması, 14 günlük süreçte defekt içerisinde erken kemik yapımı, enflamasyon ve anjiyogenez evrelerinin görülmesi, 28 günlük süreçte kemik dokusu içerisindeki olgunlaşma ve remodeling safhalarının gözlemlenmesi ve son olarak 42 günlük süreçte geç iyileşme evresi ve olgunlaşma sürecinin takibinin yapılması hedeflenmiştir^{114,115}.

Çalışmamızın sonuçları; micro BT ve histomorfometrik değerlendirmeler ile yapılmıştır. Değerlendirme yöntemi olarak micro BT nin seçilmesi, incelemesi yapılan kemik dokularının hacimsel olarak dolum paternlerinin, kemik doku kalınlığının ve sertlik derecelerinin incelenmesine olanak vermesidir. Bu inceleme 3 boyutlu dijital bir model elde edilerek defektlerin değerlendirilmesi ve iyileşme süreci boyunca bu defektlerdeki değişimin nasıl gerçekleştiğini göstermesi yönünden avantaj sağlamaktadır. Medikal BT yerine mikro BT nin tercih edilme sebebi; alınan örneklerin medikal BT altında milimetrik değerlendirmeye tabi tutulurken mikro BT ile mikronlar değerinde gerçekleşen değişimlerin değerlendirilebilir olmasıdır. Mikro BT sonuçları yoğunluk ve hacimsel olarak fikir vermektedir. Hücresel boyuttaki gelişmelerin takibi için ise histomorfometrik inceleme yöntemi tercih edilmiştir. Bu sayede oluşan yeni kemik dokusu ve iyileşme gruplar arasında ve zamana göre değerlendirilebilmektedir¹¹⁶.

Örneklerin alındığı zamanlara göre gruplar arası farklılıklar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; yapılan çalışmalar ışığında TZF'nin histolojik açıdan 7-11 günlük süreçte defekt bölgesinde rezorpsiyonunun tamamlanacağı⁸ ve erken iyileşme süreci olarak belirlenen 7 günlük süreçte T-TZF ile benzer özellikler göstererek, kontrol grubu ve e-PTFE kullanılan defektlere göre üstünlükleri gözlemlenmiştir. Çalışmamızın sonunda elde edilen bulgulara göre 7 günlük iyileşme sürecini tamamlamış deneklerin örneklerinde TZF ve T-TZF, BMD ve yeni kemik oluşumu bakımından kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir. Bu anlamlı farkın oluşma sebebi erken iyileşme süreci içerisinde ortama salgıladığı büyüme faktörleri ile osteoblastik aktiviteyi arttırması ve osteokondüktif etki oluşturarak iyileşmenin hızlanmasına katkı sağlamasıdır¹¹⁷. Erken iyileşme sürecinde gözlemlenen bir diğer fark ise e-PTFE grubunun, kontrol grubuna göre hacimsel olarak kemik dolumunda istatistiksel olarak

anlamlı bir fark görülmüştür. Bu hacimsel farklılığın temel nedeni; e-PTFE, yumuşak doku ile sert doku arasında seçici geçirgen bir yapı oluşturarak, defekt bölgesine hücre göçünü engellemesidir. Ayrıca rijit yapısı sayesinde defekt bölgesinde çatı oluşturarak dikey kemik kaybına engel olarak hacimsel fark yaratmıştır^{9,101,118}.

İkinci örnek inceleme süreci olan 14. gün verileri göz önünde bulundurulduğunda yapılan istatistiksel analizler sonucunda T-TZF'nin uygulandığı defektlerdeki BMD değerleri, e-PTFE ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermektedir. TZF grubu ise kontrol grubuna göre anlamlı bir farka sahiptir. T-TZF grubunun, e-PTFE grubuna göre üstünlük göstermesi T-TZF'nin sıkı bir fibrin ağına sahip olduğunu ve salgıladığı büyüme faktörleri sayesinde iyi bir mineralizasyon sağladığını göstermektedir. Hacimsel olarak ikinci sakrifikasyon zamanı incelendiğinde 7. günün verilerine benzer e-PTFE grubunun, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. T-TZF ve TZF grupları ile e-PTFE grubu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Yeni kemik oluşumunda 14. gün incelendiğinde T-PRF ve e-PTFE gruplarının kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılığı olduğu görülmektedir. 7.günde anlamlı bulunan TZF grubunun 14. günde kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösterememesinin nedeni olarak TZF'nin 14. günde yapısal bütünlüğünü koruyamaması düşünülmektedir. Alınan örneklerde T-TZF ve TZF gruplarının iyileşme potansiyeli histomorfometrik olarak incelendiğinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermektedir. İçerdiği ve iyileşme süreci içerisinde ortama verdiği büyüme faktörleri sayesinde osteoblastik aktiviteyi artırmış olması iyileşme sürecini hızlandırmıştır. 14.günde TZF'nin iyileşmeyi olumlu yönde etkilemesi fakat yeni kemik oluşumunda anlamlı bir fark yaratamaması TZF' nin YKR işlemlerinden ziyade YDR işlemlerine alternatif olabileceğini göstermektedir. 7. gün ile 14. gün arasında gözlemlenen bu farkın sebebi ilk hafta oluşan kan pıhtısının yerini 14. günde yeni kemik dokusunun almaya başlamış olması olarak düşünülmektedir⁸.

28. günde kemik dokusundaki değişim BMD açısından değerlendirildiğinde T-TZF ve TZF gruplarının, kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık gösterdiği gözlemlenmektedir. Yeni kemik oluşumu ve hacimsel doluluk oranları değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark sadece e-PTFE grubu ile kontrol grubu arasında oluşmuştur. 28. günde BMD değerlerinde T-TZF ve TZF'nin anlamlılığı, defekt bölgesinde yarattıkları olumlu etkinin devam ettiğini göstermektedir.

Daha önce yapılan çalışmada T-TZF'nin 28. günde defekt bölgesinde rezorbe olduğu gösterilmişti¹¹³. Salgıladığı büyüme faktörleri, sitokinler ve çevre kemik dokularda oluşturduğu osteokonduktif etki devam etmektedir.

Geç iyileşme süreci olarak değerlendirilen 42. gün verilerinde T-TZF ve TZF gruplarının BMD değerlerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği gözlemlenmiştir. İyileşme sürecinin tamamında oluşan bu farklılığın sebebi olarak büyüme faktörlerinin etkisi gösterilebilir. Eski kemik yapımı devam ederken defekt bölgesinde oluşan yeni kemiğin indüklenmesi, otojen kan ürünlerinin kullanımının yeni kemiğin kalitesi hakkında farklı görüşler öne sürebilir. Hacimsel artış göz önünde bulundurularak yapılan değerlendirmede e-PTFE ve T-PRF gruplarının, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği görülmektedir. T-TZF grubunun 42.günde hacimsel olarak e-PTFE grubunu yakalaması çalışmamızdaki en spekülatif sonuçtur. 28.günde rezorbe olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilen T-TZF 42. günde mikro-BT sonuçlarına göre yeni kemik dolumunda hacimsel varlığını göstermektedir. T-TZF daha önceki çalışmalarda çekim soketine veya hayvan çalışmalarında oluşturulan defekt içlerine uygulanmaktaydı. Bizim çalışmamızda T-TZF ve TZF, e-PTFE gibi membran olarak kullanıldı. Çıkan sonuca göre rezorbe olmayan, rijit bir materyal olan e-PTFE membran ile yakın sonuçlar vermesi T-TZF hakkında daha fazla çalışma yapılması gerektiğini göstermektedir.

Mikro-BT ve histomorfometri sonuçlarına göre tüm gruplar birbirleri ile karşılaştırıldığı gibi, sakrifikasyon zamanlarına göre de grup içlerinde karşılaştırılarak değerlendirilmişlerdir. Çalışmamızda baktığımız BMD, iyileşme, hacimsel dolum ve yeni kemik oluşumu değerleri grup içi zamana göre anlamlı farklılıklar gösterirken; iltihap, nekroz ve yabancı cisim reaksiyonu değerleri anlamlı farklılık göstermemektedir. Defektlerde kullanılan membranlardan e-PTFE'nin biyouyumlu bir materyal olmasından dolayı, T-TZF ve TZF'nin otolog bir ürün olmasından dolayı immun reaksiyon yaratmaması beklenen bir sonuçtu.

Çalışmamızın sonuçları göz önünde bulundurulduğunda kontrol grubunun BMD 7 ile 28 ve 7 ile 42. Günler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstererek arttığı gözlemlenmiştir. Bu durum diğer deney grupları için 7 ile 28, 7 ile 42 ve 14 ile 42. Günler arasında anlamlı bir farklılık sunmaktadır. Grup içerisi zamansal değişim göz önüne alındığında iyileşme süreci içerisinde kemik yapımı ve olgunlaşması devam

edeceğinden dolayı 7 ile 28 ve 7 ile 42. Günler arasında istatistiksel olarak tüm gruplarda anlamlı sonuç bulunması beklenmektedir. Kontrol grubuna göre deney gruplarında gözlemlenen 14 ile 42. Gün arasındaki farklılığın sebebi; defekt bölgesine yumuşak doku penetrasyonunun engellenmesi olarak gösterilebilir. Kemik içi defektin bariyer membranlar ile izolasyonun sağlanması yeni oluşacak kemiğin mineralizasyonunu etkilemektedir⁸⁴. İyileşme ve yeni kemik oluşumunun zamana göre değerlendirilmesi yapıldığında, kontrol ve deney gruplarının 7 ile 28 ve 7 ile 42. Günler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği gözlemlenmektedir.

T-TZF grubunda 7 ve 42. günler arasında fibrozis görülmesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. E-PTFE, TZF ve kontrol grupları arasında zamana bağlı anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir.

Hacimsel olarak değişimin zamana göre gruplar içerisindeki değerlendirilmesi yapıldığında, tüm gruplar için 7 ile 28, 7 ile 42 ve 14 ile 42. Günler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızdan elde edilen bulgulara göre;

- 1) 7, 14, 28 ve 42. günde elde edilmiş olan BMD değerlerinin T-TZF ve TZF'nin membran olarak kullanıldığı defektlerde membran kullanılmayan boş defektlere göre daha yüksek olduğu,
- 2) T-TZF'nin membran olarak kullanıldığı defektler ile e-PTFE'nin membran olarak kullanıldığı defektlerin 14. gün BMD değerleri karşılaştırıldığında T-TZF'nin e-PTFE'ye göre daha üstün olduğu,
- 3) e-PTFE'nin membran olarak kullanıldığı defektlerde elde edilmiş olan 7, 14, 28 ve 42. gündeki hacimsel değerlerin membran kullanılmayan boş defektlere göre daha yüksek olduğu,
- 4) T-TZF'nin membran olarak kullanıldığı defektlerde, 7 ve 14. günde elde edilen yeni kemik oluşumu değerlerinin, membran kullanılmayan boş gruba göre üstün olduğu,
- 5) e-PTFE'nin membran olarak kullanıldığı defektlerde, 14 ve 28. günde elde edilen yeni kemik oluşumu değerlerinin, membran kullanılmayan boş gruba göre üstün olduğu,
- 6) Yeni kemik oluşumunda membran kullanılmayan defektlere göre TZF'nin kullanıldığı defektler sadece 7. günde farklılık göstermiş olduğu,
- 7) Defektlerin iyileşmesi incelendiğinde sadece 14.günde T-TZF'nin ve TZF'nin membran olarak kullanıldığı defektler, membran kullanılmayan defektlere göre daha iyi iyileşme gösterdiği,
- 8) Zamana göre BMD ve hacim değerlendirildiğinde;
 - a. Membran konulmayan boş defektlerin 28. ve 42.gün değerleri 7. gün değerlerinden, 42.gün değerleri ise 14. gün değerlerinden daha yüksek olduğu,
 - b. T-TZF'nin membran olarak kullanıldığı defektlerin 28. ve 42.gün değerleri 7. gün değerlerinden, 42.gün değerleri ise 14. gün değerlerinden daha yüksek olduğu,
 - c. TZF'nin membran olarak kullanıldığı defektlerin 28. ve 42.gün değerleri 7. gün değerlerinden, 42.gün değerleri ise 14. gün değerlerinden daha yüksek olduğu,
 - d. e-PTFE'nin membran olarak kullanıldığı defektlerin 28. ve 42.gün değerleri 7. gün değerlerinden, 42.gün değerleri ise 14. gün değerlerinden daha yüksek olduğu,
- 9) e-PTFE, TZF, T-TZF'nin membran olarak kullanıldığı defektlerde ve membran kullanılmayan boş defektlerde iltihap, nekroz ve yabancı cisim reaksiyonu görülmediği,

10) Zamana göre iyileşme ve yeni kemik oluşumu değerlendirildiğinde;

a. Membran konulmayan boş defektlerin 28. ve 42.gün değerleri 7. gün değerlerinden daha yüksek olduğu,

b. T-TZF'nin membran olarak kullanıldığı defektlerin 28. ve 42.gün değerleri 7. gün değerlerinden daha yüksek olduğu,

c. TZF'nin membran olarak kullanıldığı defektlerin 28.gün değerlerinin 7. gün değerlerinden daha yüksek olduğu,

d. e-PTFE'nin membran olarak kullanıldığı defektlerin 28. ve 42.gün değerleri 7. gün değerlerinden daha yüksek olduğu,

11) TZF'nin membran olarak kullanıldığı defektlerde 42. gündeki yeni kemik oluşumunun 14. gündeki yeni kemik oluşumundan ve 28. güne ait yeni kemik oluşumu ile iyileşmenin 7. gündeki yeni kemik oluşumu ile iyileşmeden daha belirgin olduğu,

12) e-PTFE ve TZF'nin membran olarak kullanıldığı defektler ile membran kullanılmayan boş defektlerde herhangi bir zaman diliminde fibrozis oluşumunun görülmediği anca T-TZF'nin membran olarak kullanıldığı defektlerde 42.gündeki fibrozis oluşumunun 7.gündeki fibrozis oluşumuna kıyasla daha düşük olduğu, sonuçları elde edilmiştir.

T-TZF kullanılan defektlerin incelenmesi sonucu, fibrozisin düşük, kemik mineralizasyonunun yüksek, yeni kemik oluşumunun iyi olmasından ve nekroz, iltihap, yabancı cisim reaksiyonu görülmemesinden dolayı T-TZF'nin kemik iyileşmesinde bariyer membran olarak kullanılabileceği desteklenmektedir. T-TZF'nin yapısındaki büyüme faktörleri çıkan sonuçların nedeni olarak düşünülmektedir. Yaptığımız çalışma deney hayvanlarında yapıldığı için çıkan sonuçlar klinik çalışmalarla desteklenmelidir. T-TZF ile ilgili daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Florencio-Silva, R., Sasso, G. R. D. S., Sasso-Cerri, E., Simões, M. J. & Cerri, P. S. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. *Biomed Res. Int.* **2015**, (2015).
2. Agrawal, A. A. Evolution, current status and advances in application of platelet concentrate in periodontics and implantology. *World J. Clin. Cases* **5**, 159 (2017).
3. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, V. A. PRF: An opportunity in perio implantology. *Implant. 2000* 55–62 (2001).
4. Dohan, D. M. *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* **101**, e37–e44 (2006).
5. Dohan Ehrenfest, D. M., Del Corso, M., Inchingolo, F., Sammartino, G. & Charrier, J.-B. Platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in human cell cultures: Growth factor release and contradictory results. *Oral Surgery, Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endodontology* (2010). doi:10.1016/j.tripleo.2010.05.059
6. O’Connell, S. M. Safety issues associated with platelet-rich fibrin method. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* **103**, 587; author reply 587-93 (2007).
7. Tunalı, M. *et al.* A Novel Platelet Concentrate: Titanium-Prepared Platelet-Rich Fibrin. *Biomed Res. Int.* **2014**, 1–7 (2014).
8. Tunalı, M., Özdemir, H., Küçükodacı, Z., Akman, S. & Fıratlı, E. In vivo evaluation of titanium-prepared platelet-rich fibrin (T-PRF): a new platelet concentrate. *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.* **51**, 438–43 (2013).
9. Elgali, I., Omar, O., Dahlin, C. & Thomsen, P. Guided bone regeneration: materials and biological mechanisms revisited. *Eur. J. Oral Sci.* **125**, 315–337 (2017).
10. Sam, G. & Madhavan Pillai, B. R. Evolution of barrier membranes in periodontal regeneration-“are the third generation membranes really here?”. *J. Clin. Diagnostic Res.* **8**, ZE14-ZE17 (2014).

11. Bottino, M. C. *et al.* Recent advances in the development of GTR/GBR membranes for periodontal regeneration - A materials perspective. *Dent. Mater.* **28**, 703–721 (2012).
12. Moore, K. L., Dalley, A. F. & Agur, A. M. R. *Clinically Oriented Anatomy (Seventh Edition)*. Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business. (2014). doi:10.1017/CBO9781107415324.004
13. Lindhe, Jan; Lang, N. P. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. WILEY Blackwell (2008). doi:10.1017/CBO9781107415324.004
14. Gheron Robey, P. The biochemistry of bone. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* (1989).
15. Khonsary, S. Guyton and Hall: Textbook of Medical Physiology. *Surg. Neurol. Int.* (2017). doi:10.4103/sni.sni_327_17
16. Junqueira, L. & Carneiro, J. *Basic Histology: Text & Atlas*. The McGraw-Hill Companies (2007).
17. Parenteau-Bareil, R., Gauvin, R. & Berthod, F. Collagen-based biomaterials for tissue engineering applications. *Materials (Basel)*. **3**, 1863–1887 (2010).
18. Aszódi, A., Fässler, R., F. Bateman, J., Boot-Handford, R. & Gustafsson, E. Mammalian Skeletogenesis and Extracellular Matrix. What can We Learn from Knockout Mice? *Cell Struct. Funct.* (2002). doi:10.1247/csf.25.73
19. Christoffersen, J. & Landis, W. J. A contribution with review to the description of mineralization of bone and other calcified tissues in vivo. *Anat. Rec.* (1991). doi:10.1002/ar.1092300402
20. Yagami, K. *et al.* Matrix GLA protein is a developmental regulator of chondrocyte mineralization and, when constitutively expressed, blocks endochondral and intramembranous ossification in the limb. *J. Cell Biol.* (1999). doi:10.1083/jcb.147.5.1097
21. Viguet-Carrin, S., Garnero, P. & Delmas, P. D. The role of collagen in bone strength. *Osteoporosis International* (2006). doi:10.1007/s00198-005-2035-9
22. Turner, C. H. Bone strength: Current concepts. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1068**, 429–446 (2006).
23. Zimmerman, D., Jin, F., Leboy, P., Hardy, S. & Damsky, C. Impaired bone formation in transgenic mice resulting from altered integrin function in osteoblasts. *Dev. Biol.* (2000). doi:10.1006/dbio.2000.9633

24. Assad, D. A. Bone Biology, Harvesting, and Grafting for Dental Implants: Rationale and Clinical Applications. *J. Prosthodont.* (2005). doi:10.1111/j.1532-849x.2005.0037_2.x
25. Capulli, M., Paone, R. & Rucci, N. Osteoblast and osteocyte: Games without frontiers. *Archives of Biochemistry and Biophysics* (2014). doi:10.1016/j.abb.2014.05.003
26. Currey, J. D. The many adaptations of bone. *J. Biomech.* (2003). doi:10.1016/S0021-9290(03)00124-6
27. Bonewald, L. F. Osteocytes as dynamic multifunctional cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1116**, 281–290 (2007).
28. Bonewald, L. F. The amazing osteocyte. *J. Bone Miner. Res.* (2011). doi:10.1002/jbmr.320
29. BURGER, E. H. & KLEIN-NULEND, J. Mechanotransduction in bone—role of the lacuno-canalicular network. *FASEB J.* (2018). doi:10.1096/fasebj.13.9001.s101
30. Marotti, G. The osteocyte as a wiring transmission system. *J. Musculoskelet. Neuronal Interact.* **1**, 133–136 (2000).
31. Herman, L. Histology . C. Roland Leeson , Thomas S. Leeson . *Q. Rev. Biol.* (2004). doi:10.1086/405544
32. Liu, Y. *et al.* in *Current Topics in Bone Biology* (2010). doi:10.1142/9789812701176_0002
33. Phan, T. C. A., Xu, J. & Zheng, M. H. Interaction between osteoblast and osteoclast: Impact in bone disease. *Histology and Histopathology* (2004). doi:10.14670/HH-19.1325
34. Sodek, J. & McKee, M. D. Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontol. 2000* (2000). doi:10.1034/j.1600-0757.2000.2240106.x
35. Longhini, R., Aparecida de Oliveira, P., Sasso-Cerri, E. & Cerri, P. S. Cimetidine Reduces Alveolar Bone Loss in Induced Periodontitis in Rat Molars. *J. Periodontol.* (2013). doi:10.1902/jop.2013.130453
36. Martin, R. B., Burr, D. B., Sharkey, N. A. & Fyhrie, D. P. in *Skeletal Tissue Mechanics* (2015). doi:10.1007/978-1-4939-3002-9_2
37. Kalfas, I. H. Principles of bone healing. *Neurosurg. Focus* (2001). doi:10.3171/foc.2001.10.4.2

38. Sathyendra, V. & Darowish, M. Basic science of bone healing. *Hand Clin.* **29**, 473–481 (2013).
39. Pivonka, P. & Dunstan, C. R. Role of mathematical modeling in bone fracture healing. *Bonekey Rep.* **1**, 1–10 (2012).
40. Einhorn, T. A. & Gerstenfeld, L. C. Fracture healing: Mechanisms and interventions. *Nature Reviews Rheumatology* (2015). doi:10.1038/nrrheum.2014.164
41. Claes, L., Recknagel, S. & Ignatius, A. Fracture healing under healthy and inflammatory conditions. *Nat. Rev. Rheumatol.* **8**, 133–143 (2012).
42. Al-Aql, Z. S., Alagl, A. S., Graves, D. T., Gerstenfeld, L. C. & Einhorn, T. A. Molecular mechanisms controlling bone formation during fracture healing and distraction osteogenesis. *Journal of Dental Research* (2008). doi:10.1177/154405910808700215
43. Schindeler, A., McDonald, M. M., Bokko, P. & Little, D. G. Bone remodeling during fracture repair: The cellular picture. *Seminars in Cell and Developmental Biology* (2008). doi:10.1016/j.semcdb.2008.07.004
44. Gerstenfeld, L. C., Cullinane, D. M., Barnes, G. L., Graves, D. T. & Einhorn, T. A. Fracture healing as a post-natal developmental process: Molecular, spatial, and temporal aspects of its regulation. *J. Cell. Biochem.* (2003). doi:10.1002/jcb.10435
45. Lepperdinger, G. *et al.* Changes of the functional capacity of mesenchymal stem cells due to aging or age-associated disease - Implications for clinical applications and donor recruitment. *Transfusion Medicine and Hemotherapy* (2008). doi:10.1159/000142373
46. Manavalan, J. S. *et al.* Circulating osteogenic precursor cells in type 2 diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* (2012). doi:10.1210/jc.2012-1546
47. Hirao, M., Tamai, N., Tsumaki, N., Yoshikawa, H. & Myoui, A. Oxygen tension regulates chondrocyte differentiation and function during endochondral ossification. *J. Biol. Chem.* (2006). doi:10.1074/jbc.M602296200
48. Tani-Ishii, N., Tsunoda, A., Teranaka, T. & Umemoto, T. Autocrine Regulation of Osteoclast Formation and Bone Resorption by IL-1 α and TNF α . *J. Dent. Res.* (1999). doi:10.1177/00220345990780100601
49. Kon, T. *et al.* Expression of osteoprotegerin, receptor activator of NF- κ B ligand

- (osteoprotegerin ligand) and related proinflammatory cytokines during fracture healing. *J. Bone Miner. Res.* (2001). doi:10.1359/jbmr.2001.16.6.1004
50. Larsson, C. *et al.* Bone response to surface-modified titanium implants: studies on the early tissue response to machined and electropolished implants with different oxide thicknesses. *Biomaterials* **17**, 605–16 (1996).
 51. Nakashima, T. *et al.* Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression. *Nat. Med.* (2011). doi:10.1038/nm.2452
 52. Xiong, J. *et al.* Matrix-embedded cells control osteoclast formation. *Nat. Med.* (2011). doi:10.1038/nm.2448
 53. Negishi-Koga, T. *et al.* Suppression of bone formation by osteoclastic expression of semaphorin 4D. *Nat. Med.* (2011). doi:10.1038/nm.2489
 54. Kenan, S. *et al.* Investigation of the effects of semaphorin 3A on new bone formation in a rat calvarial defect model. *J. Cranio-Maxillofacial Surg.* (2019). doi:10.1016/j.jcms.2018.12.010
 55. Robling, A. G., Bellido, T. & Turner, C. H. Mechanical stimulation in vivo reduces osteocyte expression of sclerostin. *J. Musculoskelet. Neuronal Interact.* (2006).
 56. Robling, A. G. *et al.* Mechanical stimulation of bone in vivo reduces osteocyte expression of Sost/sclerostin. *J. Biol. Chem.* (2008). doi:10.1074/jbc.M705092200
 57. Gaudio, A. *et al.* Increased sclerostin serum levels associated with bone formation and resorption markers in patients with immobilization-induced bone loss. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* (2010). doi:10.1210/jc.2010-0067
 58. Moriishi, T. *et al.* Osteocyte network; a negative regulatory system for bone mass augmented by the induction of Rankl in osteoblasts and sost in Osteocytes at unloading. *PLoS One* (2012). doi:10.1371/journal.pone.0040143
 59. Poole, K. E. S. *et al.* Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation. *FASEB J.* (2005). doi:10.1096/fj.05-4221fje
 60. Buckwalter JA, Einhorn TA, O. R. *American Academy of Orthopaedic Surgeons. Orthopaedic basic science:* (2007).
 61. Castillo, R. C. *et al.* Impact of smoking on fracture healing and risk of complications in limb-threatening open tibia fractures. *J. Orthop. Trauma* (2005). doi:10.1097/00005131-200503000-00001

62. Dohan Ehrenfest, D. M. *et al.* Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. *Muscles. Ligaments Tendons J.* (2014).
63. Zumstein, M. A., Bielecki, T. & Dohan Ehrenfest, D. M. The Future of Platelet Concentrates in Sports Medicine: Platelet-Rich Plasma, Platelet-Rich Fibrin, and the Impact of Scaffolds and Cells on the Long-term Delivery of Growth Factors. *Oper. Tech. Sports Med.* (2011). doi:10.1053/j.otsm.2011.01.001
64. Dohan Ehrenfest, D. M., Rasmusson, L. & Albrektsson, T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology* (2009). doi:10.1016/j.tibtech.2008.11.009
65. Anitua, E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* **14**, 529–35
66. MOESSON, M. W., SIEBENLIST, K. R. & MEH, D. A. The Structure and Biological Features of Fibrinogen and Fibrin. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* (2010). doi:10.1111/j.1749-6632.2001.tb03491.x
67. Dohan, D. M. *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* **101**, e45–e50 (2006).
68. Dohan, D. M. *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* **101**, e51–e55 (2006).
69. CLARK, R. A. F. Fibrin and Wound Healing. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* (2010). doi:10.1111/j.1749-6632.2001.tb03522.x
70. Anitua, E., Sánchez, M., Orive, G. & Andía, I. The potential impact of the preparation rich in growth factors (PRGF) in different medical fields☆. *Biomaterials* **28**, 4551–4560 (2007).
71. Aydınbelge, M. *et al.* A New Centrifugation Method for the Improvement of Platelet-rich Fibrin Products: A Preliminary Study. *Br. J. Med. Med. Res.* **13**, 1–10 (2016).

72. Su, C. Y., Kuo, Y. P., Tseng, Y. H., Su, C.-H. & Burnouf, T. In vitro release of growth factors from platelet-rich fibrin (PRF): a proposal to optimize the clinical applications of PRF. *Oral Surgery, Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endodontology* **108**, 56–61 (2009).
73. Dohan Ehrenfest, D. M., de Peppo, G. M., Doglioli, P. & Sammartino, G. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors* **27**, 63–9 (2009).
74. Sacco L. International academy of implant prosthesis and osteoconnection. (2006).
75. Ghanaati, S. *et al.* Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *J. Oral Implantol.* **40**, 679–89 (2014).
76. Mourão, C. F. de A. B., Valiense, H., Melo, E. R., Mourão, N. B. M. F. & Maia, M. D.-C. Obtention of injectable platelets rich-fibrin (i-PRF) and its polymerization with bone graft: technical note. *Rev. Col. Bras. Cir.* **42**, 421–3 (2015).
77. Dohan Ehrenfest, D. M., 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.* **81**, 546–55 (2010).
78. Gottlow, J. Guided Tissue Regeneration Using Bioresorbable and Non-Resorbable Devices: Initial Healing and Long-Term Results. *J. Periodontol.* (1993). doi:10.1902/jop.1993.64.11s.1157
79. Scantlebury, T. V. 1982-1992: A Decade of Technology Development for Guided Tissue Regeneration. *J. Periodontol.* (2012). doi:10.1902/jop.1993.64.11s.1129
80. Aaboe, M., Pinholt, E. M. & Hjorting-Hansen, E. Healing of experimentally created defects: a review. *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.* (1995). doi:10.1016/0266-4356(95)90045-4
81. McAllister, B. S. & Haghighat, K. Bone Augmentation Techniques. *J. Periodontol.* (2007). doi:10.1902/jop.2007.060048
82. Marouf, H. A. & Ei-Guindi, H. Efficacy of high-density versus semi permeable PTFE membranes in an elderly experimental model. *Oral Surg. Oral Med. Oral*

- Pathol. Oral Radiol. Endod.* (2000). doi:10.1067/moe.2000.98922
83. Nyman, R., Magnusson, M., Sennerby, L., Nyman, S. & Lundgren, D. Membrane-guided bone regeneration: Segmental radius defects studied in the rabbit. *Acta Orthop.* (1995). doi:10.3109/17453679508995515
 84. Dimitriou, R., Mataliotakis, G. I., Calori, G. M. & Giannoudis, P. V. The role of barrier membranes for guided bone regeneration and restoration of large bone defects: Current experimental and clinical evidence. *BMC Med.* **10**, 81 (2012).
 85. Park, S. Y., Kye, S. B., Yang, S. M. & Shin, S. Y. The effect of non-resorbable membrane on buccal bone healing at an immediate implant site: An experimental study in dogs. *Clin. Oral Implants Res.* (2011). doi:10.1111/j.1600-0501.2010.01995.x
 86. Carbonell, J. M. *et al.* High-density polytetrafluoroethylene membranes in guided bone and tissue regeneration procedures: A literature review. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* (2014). doi:10.1016/j.ijom.2013.05.017
 87. Gielkens, P. F. M. *et al.* Vivosorb®, Bio-Gide®, and Gore-Tex® as barrier membranes in rat mandibular defects: An evaluation by microradiography and micro-CT. *Clin. Oral Implants Res.* (2008). doi:10.1111/j.1600-0501.2007.01511.x
 88. Gielkens, P. F. M. *et al.* The influence of barrier membranes on autologous bone grafts. *J. Dent. Res.* (2008). doi:10.1177/154405910808701107
 89. Retzepi, M. & Donos, N. Guided Bone Regeneration: Biological principle and therapeutic applications. *Clinical Oral Implants Research* (2010). doi:10.1111/j.1600-0501.2010.01922.x
 90. Needleman, I. G., Worthington, H. V, Giedrys-Leeper, E. & Tucker, R. J. Guided tissue regeneration for periodontal infra-bony defects. *Cochrane database Syst. Rev.* (2006). doi:10.1002/14651858.CD001724.pub2
 91. Sculean, A., Nikolidakis, D. & Schwarz, F. Regeneration of periodontal tissues: Combinations of barrier membranes and grafting materials - Biological foundation and preclinical evidence: A systematic review. in *Journal of Clinical Periodontology* (2008). doi:10.1111/j.1600-051X.2008.01263.x
 92. Meinig, R. P. Clinical Use of Resorbable Polymeric Membranes in the Treatment of Bone Defects. *Orthopedic Clinics of North America* (2010).

doi:10.1016/j.ocl.2009.07.012

93. Pitaru, S., Tal, H., Soldinger, M., Grosskopf, A. & Noff, M. Partial regeneration of periodontal tissues using collagen barriers. Initial observations in the canine. *J Periodontol* (1988). doi:10.1902/jop.1988.59.6.380
94. Schmidmaier, G. *et al.* Biodegradable polylactide membranes for bone defect coverage: Biocompatibility testing, radiological and histological evaluation in a sheep model. *Clin. Oral Implants Res.* (2006). doi:10.1111/j.1600-0501.2005.01242.x
95. Tokuda, S., Obata, A. & Kasuga, T. Preparation of poly(lactic acid)/siloxane/calcium carbonate composite membranes with antibacterial activity. *Acta Biomater.* (2009). doi:10.1016/j.actbio.2008.10.005
96. Berner, A. *et al.* Biomimetic tubular nanofiber mesh and platelet rich plasma-mediated delivery of BMP-7 for large bone defect regeneration. *Cell and Tissue Research* (2012). doi:10.1007/s00441-011-1298-z
97. Humber, C. C. *et al.* Bone healing with an in situ-formed bioresorbable polyethylene glycol hydrogel membrane in rabbit calvarial defects. *Oral Surgery, Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endodontology* (2010). doi:10.1016/j.tripleo.2009.10.008
98. Kim, J. H. *et al.* Performance of novel nanofibrous biopolymer membrane for guided bone regeneration within rat mandibular defect. *In Vivo (Brooklyn)*. (2011).
99. Jianqi, H., Hong, H., Lieping, S. & Genghua, G. Comparison of calcium alginate film with collagen membrane for guided bone regeneration in mandibular defects in rabbits. *J. Oral Maxillofac. Surg.* (2002). doi:10.1053/joms.2002.36108
100. Dohan Ehrenfest, D. M., Del Corso, M., Inchingolo, F. & Charrier, J.-B. Selecting a relevant in vitro cell model for testing and comparing the effects of a Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) membrane and a platelet-rich plasma (PRP) gel: Tricks and traps. *Oral Surgery, Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endodontology* (2010). doi:10.1016/j.tripleo.2010.05.056
101. El Backly, R. M. *et al.* A Modified Rabbit Ulna Defect Model for Evaluating Periosteal Substitutes in Bone Engineering: A Pilot Study. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2**, 1–8 (2015).
102. Simion, M., Scarano, D., Luca, D. D. S., Dds, G. & Piattelli, A. Guided Bone

- Regeneration Using Resorbable and Nonresorbable Membranes : A Comparative Histologic Study in Humans Guided bone regeneration (GBR) techniques. *Int J Oral Maxillofac Implant.* (1996).
103. Simion, M., Scarano, a, Gionso, L. & Piattelli, a. Guided bone regeneration using resorbable and nonresorbable membranes: a comparative histologic study in humans. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* (2012).
 104. Hämmerle, C. H. F., Jung, R. E., Yaman, D. & Lang, N. P. Ridge augmentation by applying bioresorbable membranes and deproteinized bovine bone mineral: A report of twelve consecutive cases. *Clin. Oral Implants Res.* (2008). doi:10.1111/j.1600-0501.2007.01407.x
 105. Camelo, M. *et al.* Periodontal regeneration with an autogenous bone-Bio-Oss composite graft and a Bio-Gide membrane. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* (2001).
 106. Lee, J. W. *et al.* Restoration of a peri-implant defect by platelet-rich fibrin. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.* (2012). doi:10.1016/j.tripleo.2011.03.043
 107. Knapen, M. *et al.* Effect of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) on bone regeneration: A study in rabbits. *Clin. Implant Dent. Relat. Res.* (2015). doi:10.1111/cid.12146
 108. Eren, G. & Atilla, G. Platelet-Rich Fibrin in the Treatment of Bilateral Gingival Recessions. *Clin. Adv. Periodontics* (2012). doi:10.1902/cap.2012.110074
 109. Mannai, C. Early Implant Loading in Severely Resorbed Maxilla Using Xenograft, Autograft, and Platelet-Rich Plasma in 97 Patients. *J. Oral Maxillofac. Surg.* (2006). doi:10.1016/j.joms.2006.05.028
 110. Magremanne, M., Baeyens, W., Awada, S. & Vervae, C. Solitary bone cyst of the mandible and platelet rich fibrin (PRF). *Kyste osseux solitaire la mandibule fibrine riche en plaquettes (PRF).* (2009).
 111. Choukroun, J. *et al.* Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part V: Histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surgery, Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endodontology* **101**, 299–303 (2006).
 112. Choukroun, J. *et al.* Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surg. Oral Med. Oral*

- Pathol. Oral Radiol. Endod.* **101**, e56-60 (2006).
113. Tunali, M. *et al.* A novel platelet concentrate for guided bone regeneration: Titanium prepared platelet-rich fibrin (T-PRF). *Gulhane Med. J.* **57**, 102–106 (2015).
 114. Murray, D. W., Wilson-MacDonald, J., Morscher, E., Rahn, B. A. & Käslin, M. BONE GROWTH AND REMODELLING AFTER FRACTURE. *J. Bone Joint Surg. Br.* (2018). doi:10.1302/0301-620x.78b1.0780042
 115. Mapara, M., Thomas, B. S. & Bhat, K. M. Rabbit as an animal model for experimental research. *Dent. Res. J. (Isfahan)*. (2012). doi:10.4103/17353327.92960
 116. Leoni, G. B. *et al.* The local administration of parathyroid hormone encourages the healing of bone defects in the rat calvaria: Micro-computed tomography, histological and histomorphometric evaluation. *Arch. Oral Biol.* **79**, 14–19 (2017).
 117. Schär, M. O., Diaz-Romero, J., Kohl, S., Zumstein, M. A. & Nesic, D. Platelet-rich Concentrates Differentially Release Growth Factors and Induce Cell Migration In Vitro. *Clin. Orthop. Relat. Res.* **473**, 1635–1643 (2015).
 118. Bottino, M. C. & Thomas, V. Membranes for periodontal regeneration - a materials perspective. *Biomater. Oral Craniomaxillofacial Appl.* **7**, 90–100 (2015).

ETİK KURUL KARARI

Tarih ve Sayı: 18/05/2017-188394



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı



Sayı :35980450-050.01.04-
Konu :Prof.Dr. Halil Erhan FIRATLI'ya
ait Etik Kurul Onayı

Sayın Prof. Dr. Halil Erhan FIRATLI

İlgi :21.04.2017 tarihli proje başvurunuz.

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, Doktora Öğrencisi Dt. Yahya Yiğit BİREN'e ait
"Titanyum Tüp İle Elde Edilen Trombositten Zengin Fibrinin Kemik Defektlerinin
Onarımında Bariyer Membran Olarak Kullanımının İncelenmesi" başlıklı projeniz Etik
Kurul'muzun 27.04.2017 tarihli toplantısında görüşülmüş olup, Etik Kurul Onayı ilişikte
gönderilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-İmza
Prof. Dr. Fatma Alev KAYMAZ
Başkan

EK :
Etik Kurul Onayı

Doğrulanak için: <http://194.27.128.66/envision.Sorgula/belgedogrulama.aspx?V=BEBVNFKB1>

Ayrıntılı bilgi için iribet Canan SÖNMEZTÜRK

İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı İ.Ü. Veteriner Fakültesi Dekanlık katı A 221
nolu oda Avcılar/İSTANBUL

Tel : (212) 473 7070 Faks : 2124400377

e-posta : hadyek@istanbul.edu.tr Elektronik Ağ : www.istanbul.edu.tr

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

**TİTANYUM TÜP İLE ELDE EDİLEN TROMBOSİTTEN ZENGİN
FİBRİNİN KEMİK DEFİKTLERİNİN ONARIMINDA BARİYER
MEMBRAN OLARAK KULLANIMININ İNCELENMESİ**

ORİJİNALLIK RAPORU

%9

BENZERLİK ENDEKSİ

%7

İNTERNET
KAYNAKLARI

%6

YAYINLAR

%3

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Yahya Yiğit	Soyadı	BİREN
Doğ.Yeri	Samsun	Doğ.Tar.	04.03.1989
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	40576957384
Email	yigitbiren@gmail.com	Tel	0 532 559 99 10

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul Üniversitesi Diş Hek. Fak. Periodontoloji A.D.	2019
Yük.Lis.	Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2013
Lisans	Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2013
Lise	Bafra Anadolu Lisesi	2007

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok İyi	İyi	İyi		IELTS 6

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):