

T.C.

**İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DIŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**KEMİK GREFTİNE UYGULANAN
ENJEKTE EDİLEBİLİR TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİNİN
YENİ KEMİK OLUŞUMUNA VE GREFT REZORBSİYONUNA
ETKİSİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYA, HİSTOMORFOMETRİ İLE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dt. Keremcan KURU

Doktora Tezi

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin AKÇAY

**2018
İZMİR**

T.C.

İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DIŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

KEMİK GREFTİNE UYGULANAN
ENJEKTE EDİLEBİLİR TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİNİN
YENİ KEMİK OLUŞUMUNA VE GREFT REZORBSİYONUNA
ETKİSİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYA, HİSTOMORFOMETRİ İLE
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Keremcan KURU

Doktora Tezi

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin AKÇAY

2018
İZMİR

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı **Programı** Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma,
aşağıdaki jüri tarafından Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : / /

Tez Danışmanı :

*(Ünvanı, Adı Soyadı) (Üniversite) (İMZA)

Üye :

*(Ünvanı, Adı Soyadı) (Üniversite) (İMZA)

Üye :

*(Ünvanı, Adı Soyadı) (Üniversite) (İMZA)

Üye :

*(Ünvanı, Adı Soyadı) (Üniversite) (İMZA)

Üye :

*(Ünvanı, Adı Soyadı) (Üniversite) (İMZA)

ONAY : Butezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki
jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

(İMZA)

(Ünvanı, Adı Soyadı)

Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini İzmir Katip Çelebi Üniversitesi'ne verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

o **Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**

o **Tezimin/Raporumun tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını istemiyorum (İç kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç)**

o **Tezimin/Raporumun..... tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**

o **Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

.../.../...

İmza

Ad-Soyad

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Tez Danışmanım Dr. Öğretim yesi Hüseyin AKÇAY danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve İzmir Katip elebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığımı beyan ederim.

15/01/2019

Dt. Keremcan KURU

TEŞEKKÜR

Hayatımın her döneminde yanımda, aldığım her kararda destek olan, ailelerimin bir üyesi olmaktan gurur duyduğum, en büyük zenginliğim olan babam Dt. Coşkun KURU' ya, annem Yelda KURU' ya, kardeşlerim Egecan KURU ve Efecan KURU'ya,

Mutluluğum, sabrım, azmim ve destekçim olan güzel eşim Dt. Gülşah Dumlupınar KURU' ya,

Doktora eğitimim boyunca tüm bilgi birikimini ve yardımlarını esirgemeyen, başarımdaki en büyük pay sahibi olan, sahip olduğumdan daha fazlasını hedeflememi sağlayan, mesleki birikiminin yanında insani özelliklerini de örnek aldığım, öz abim kadar değer verdiğim danışman hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin AKÇAY' a

Lisans sonrası eğitimimde adeta ikinci bir danışman gibi bilgisini, vaktini ve emeğini esirgemeyen, kendimi geliştirmemde etkili olan ve her defasında daha iyisini nasıl yapabileceğimi gösteren, mesleği öğrendiğim hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Murat ULU' ya,

En zor zamanlarımda moral ve cesaret veren, hayatıma yön veren kararların sahibi, idol olarak gördüğüm ve bulunduğum konumdaki en büyük pay sahiplerinden olan hocam sayın Prof. Dr. M. Cemal AKAY' a,

Tez çalışmamda emeklerinin karşılığını ödeyemeyeceğim, destekleriyle çalışmalarımın daha değerli olmasını sağlayan hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Fatma ŞİMŞEK' e,

Sahip olduğun dostun senin aynandır, birlikte en çok güldüğüm, en çok ağladığım, ne zorlukla karşılaştıysam birer birer aştığım, kardeşim, sırdaşım, mutluluklarımda en yakın şahidi Dt. Nuri ÜNAL' a,

Doktora sürecimde yol gösterenim olan, cerrahi yetisini örnek aldığım insanlardan olan, bana karşı hiç bir desteğini esirgemeyen, kendimi geliştirmemde en etkili olan kişilerden, dostum Dr. Toghrol ALİYEYEV' e,

Teorik ve pratik olarak kendimi geliştirmemi sağlayan, örnek aldığım insanlardan olan, üzerimde emekleri çok olan, dönemin baş asistanları Dr. Seyfi KELEBEK ve Dr. M. Furkan CİCIK' a,

Çalışkanlıklarıyla buldukları ortama değer katan, yardımlarını, emeklerini esirgemeyen dostlarımda Dt. Bayram Fatih EFEÖĞLU' na ve Dt. Birkan TATAR' a,

Güzel kalpleriyle kliniğe iyilik, mutluluk getiren, birbirinden değerli Çene Cerrahisi asistan ekibine,

Çene cerrahisi kliniğinin en değerli insanlarından, hayatımızı kolaylaştıran, en çalışkanımız olan değerli abim Mustafa SÖNMEZ' e,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

KURU K. Kemik Greftine Uygulanan Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrinin Yeni Kemik Oluşumuna ve Greft Rezorpsiyonuna Etkisinin İmmünohistokimya ve Histomorfometri İle Değerlendirilmesi. İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi, İzmir, 2018

Amaç: Düşük santrifüj hızı konsepti ile elde edilen i-TZF likidinin allogreft ile karıştırılmasıyla oluşan putty greftin kemik oluşumuna ve yeni oluşan kemiğin kalitesine etkilerinin çekim soketi koruma modeli kullanılarak histomorfometri ve immünohistokimya ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: 25 çekim soketinde i-TZF & allogreft karışımı ile soket koruma uygulanıp greftlenen saha, elde edilen TZF membran ile örtülmüştür. Kontrol grubundaki 25 sokette ise herhangi bir soket koruma uygulanmamış, pıhtının stabilizasyonu sağlamıştır. Tüm olgularda flep esnetilmemiş, yumuşak doku kenarlarını yaklaşıtııcı çapraz matres suture uygulanmıştır. 2 aylık iyileşme dönemi sonunda implant uygulaması planlanmış, bu aşamada histolojik inceleme amacıyla trefan frez ile kemik dokusu örneği alınmıştır. Soket driller ile şekillendirildikten sonra uygun boyutlardaki dental implant yerleştirilip Osstell Mentor cihazı ile primer stabilizasyon değerleri ölçülmüştür. Elde edilen kemik dokuları histolojik, histomorfometrik ve immünohistokimyasal olarak incelenmiştir.

Sonuç: Kemik dokusu örneklerinin histomorfometrik analiz sonuçlarına göre i-TZF ile soket koruma yapılan grupta hem kontrol grubuna göre hem de literatürde yalnızca allogreft ile soket koruma yapılan çalışmalara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yeni kemik oluşumu gözlenmiştir. İmmünohistokimyasal incelemede, ALP, OCN ve PCNA primer antikorlarına karşı çalışma grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha fazla hücreyel immünoreaktivite gözlenmiştir. İmplantların primer stabilite değerleri karşılaştırıldığında çalışma grubunda istatistiksel olarak yüksek ISQ değerleri elde edilmiştir. Çalışmamızın sonuçlarına göre kemik oluşumunu hızlandırdığını ve yeni oluşan kemik miktarı ve kalitesini arttırdığını gözlemlediğimiz bu yöntemin uzun dönem etkisinin gözlenmesi için farklı klinik ve deneysel çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: PRF, allogreft, histoloji, ogmentasyon

ABSTRACT

KURU K. Evaluation of the Effect of Injectable Platelet-Rich Fibrin Applied to Bone Graft on New Bone Formation and Graft Resorption by Immunohistochemistry and Histomorphometry. Izmir Katip Celebi University Health Science Institute, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Doctoral Thesis, Izmir, 2018.

Aim: The aim of this study is to evaluate the effects of new bone formation by histomorphometry and immunohistochemistry of the putty graft which is formed by mixing allograft with i-PRF liquid which is obtained with low speed centrifugation concept.

Material-Method: In the 25 extraction areas, the socket preservation was applied using the i-PRF & allograft mixture and the grafting areas were covered with the PRF membranes obtained simultaneously. In the 25 sockets in the control group, no socket preservation was applied and stabilization of the clot was ensured. In all cases, the flap was not released or advanced, only cross mattress sutures were performed. At the end of the 2-month recovery period, bone tissue samples were taken for histological examination using trephine bur. After the socket was prepared with drills, appropriate size dental implant was placed and the primary stabilization values were measured with Osstell Mentor device. Obtained bone tissues were examined histologically, histomorphometric and immunohistochemically.

Results: According to the results of histomorphometric analysis of bone tissue samples, there were significantly more new bone formation in the socket preservation group using i-PRF compared to the control group and socket preservation studies were used only allograft in the literature. In immunohistochemical examination, more cellular immunoreactivity was observed in the study group against ALP, OCN and PCNA primary antibodies compared to the control group. When the primary stability values of the implants were compared, statistically high ISQ values were obtained in the study group.

Different clinical and experimental animal studies are needed to observe the long-term effect of this method which we observed to accelerate bone formation and increase the amount and quality of the newly formed bone according to the results of our study.

Keyword: PRF, allograft, histology, augmentation

İÇİNDEKİLER

Onay.....	i
Yayımlama ve Fikri Mülkiyet Hakları Beyanı.....	ii
Etik Beyan Sayfası.....	iii
Teşekkür.....	iv
Özet.....	v
Abstract.....	vi
İçindekiler.....	viii
Simgeler ve Kısaltmalar.....	x
Şekiller.....	xi
Resimler.....	xiii
Tablolar.....	xv

1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kemik Dokusu.....	3
2.1.1. Kemik Tipleri.....	3
2.1.1.1. Primer Kemik.....	3
2.1.1.2. Sekonder Kemik.....	4
2.1.2. Kemiğin Biyokimyasal Yapısı.....	4
2.1.3. Kemik Hücreleri.....	6
2.1.4. Kemik Metabolizması.....	7
2.2. Alveolar Kemik.....	11
2.3. Dış Çekim Soketinin İyileşmesi.....	12
2.3.1. İç Değişiklikler.....	13
2.3.2. Dış Değişiklikler.....	14
2.4. Alveolar Kret Rezorpsiyonu Ve Rezidüel Kret.....	15
2.5. Kret Koruması Ve Kret Ogmentasyonu.....	16
2.5.1. Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu.....	17
2.5.2. Kret Koruma İşlemlerinde Kullanılan Materyaller.....	17
2.5.2.1. Bariyer Membranlar.....	17
2.5.2.2. Kemik Greftleri.....	19
2.6. Kemik Greftlerinin Sınıflandırılması.....	20
2.7. Trombosit Konsantratları.....	26
2.7.1. Trombositleri Yara İyileşmesindeki Rolü.....	27
2.7.2. Trombositten Zengin Plazma (TZP).....	28
2.7.3. Trombositten Zengin Fibrin (TZF).....	28
2.7.4. Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrin (i-TZF).....	34
2.7.5. TZF Membran Ve i-TZF'nin Uygulama Alanları.....	35
2.8. Çalışmanın Değerlendirme Kriterleri.....	37

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
3.1. Hastaların Seçilmesi.....	39
3.2. Klinik Uygulamalar.....	40
3.2.1. i-TZF Ve TZF Membran Hazırlanması.....	40
3.2.2. Partiküllü Greftin Putty Forma Dönüştürülmesi.....	43
3.3. Cerrahi Yöntem.....	45
3.4. Histolojik İncelemeler.....	50
3.4.1. Hematoksilen-Eozin Boyaması.....	50
3.4.2. İndirekt İmmünohistokimya Boyaması.....	51
3.5. İmplant Stabilesinin Ölçümü.....	52
3.6. İstatistiksel Analiz Yöntemleri.....	53
4. BULGULAR.....	54
4.1. Klinik Bulgular.....	54
4.2. İmplant Stabillite Değeri Ölçüm Bulguları.....	56
4.3. Histolojik Bulgular.....	57
4.4. İstatistiksel Bulgular.....	65
5. TARTIŞMA.....	70
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	106
KAYNAKLAR.....	108
ÖZGEÇMİŞ.....	126

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	Derece Santigrat
A-PRF	Advanced Platelet Rich Fibrin
A-PRF +	Advanced Platelet Rich Fibrin Plus
ADP	Adenozin Di Fosfat
ALP	Alkaline Phosphatase
ANOVA	Analysis of Variance
ATP	Adenozin Tri Fosfat
BGP	Bone Glicoprotein
BMP	Bone Morphogenetic Protein
BRONJ	Biphosphonate Related Osteonecrosis of the Jaw
Ca	Kalsiyum
Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂	Hydroxyapatite
cc	Cubic Cantimeter
CGF	Concentrated Growth Factor
CT	Connective Tissue
DAB	Diaminobenzidin
DBM	Demineralized Bone Matrix
DDKG	Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Grefti
DFDBA	Demineralized Freezed Dried Bone Allograft
Dk	Dakika
e-PTFE	Expanded Polytetrafluoroethylene
EGF	Epidermal Growth Factor
FDBA	Freeze-dried bone allograft
FDBA	Freezed Dried Bone Allograft
FGF	Fibroblast Growth Factor
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
HA	Hidroksiapatit
HCL	Hydrochloric Acid
Hz	Hertz
IGF	Insulin like growth factor
IL-1β	Interleukin 1 Beta
IL-4	Interleukin 4
IL-6	Interleukin 6
ISQ	Implant Stability Quotient
i-TZF	Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrin
KV	Kardiyovasküler
LP-PRP	Leukocyte Poor Platelet Rich Plazma
Max	Maximum
Mg	Magnezyum
mg	Miligram
Min	Minimum

ml	Mililitre
mm	Milimetre
mm³	Milimetreküp
MMP	Matrix Metalloproteinase
mRNA	Massenger ribonucleic acid
N	Örnek sayısı
N/cm	Newton / cantimeter
N/mm	Newton / Milimetre
NB	New bone
NCP	Non Collagen Protein
nm	nanometre
OCP	Osteocalcin
Ort	Ortalama
P	Fosfat
P	Proportion
P-LRP	Leukocyte Platelet Rich Fibrin
PBS	Posphate Buffer Solution
PCNA	Proliferating Cell Nuclear Antigen
PCR	Polymerase Chain Reaction
PD-ECGF	Platelet Derived Endothelial Cell Growth Factor
PDGF	Platelet-Derived Growth Factor
ph	Power of Hydrogen
PLG	Platelet Leukocyte Rich Gel
PRGF	Plasma Rich in Growth Factor
PRP	Platelet Rich Plazma
PTFE	Politetrafloroetilen
PTH	Paratiroid Hormon
RCF	Relative Centrifugal Force
RFA	Rezonans Frekans Analizi
RG	Rezidüel Greft
Rpm	Revolutions Per Minute
RUNX2	Runt-related transcription factor 2
Sig	İstatistiksel olarak anlamlılık
SLA	Sealed Lead Acid
SS	Standart Sapma
TGF-β	Transforming Growth Factor Beta
TME	Temporomandibuler Eklem
TNF-α	Tumor Necrosis Factor Alfa
TZF	Trombositten Zengin Fibrin
TZP	Trombositten Zengin Plazma
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
YDR	Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu
YKR	Yeni Kemik Rejenerasyonu
β -TCP/ HA	Beta Tricalcium Phosphate / Hidroxyapatite
μm	Mikrometre

ŞEKİLLER

Şekil 1: Kemik oluşumu ağının görünümü.

Şekil 2: Osteoblast, osteosit ve spiküllerin histolojik görünümü.

Şekil 3: Trabeküler kemik kesitinin görünümü.

Şekil 4: Osteosit ve osteoblastların Hematoksilen-Eozin ile boyanmış görünümü.

Şekil 5: Kompakt kemik kesitinin görünümü.

Şekil 6: TZF' nin 3 ana içeriği.

RESİMLER

- Resim 1:** Santrifüj sonrası TZF membranın görünümü.
- Resim 2:** Santrifüj sonrası i-TZF' nin ve TZF membranların görünümü
- Resim 3:** Santrifüj cihazına tüplerin simetrik şekilde yerleştirilmesi.
- Resim 4:** Santrifüj sonunda i-TZF ve TZF membranın tüplerin içerisindeki görünümü.
- Resim 5:** Kompres edilmesi için PRF Box'a yerleştirilen TZF membranların ve enjektöre çekilen i-TZF likidinin görünümü.
- Resim 6:** Partikülize greftin i-TZF ile ıslatılması.
- Resim 7:** i-TZF likidiyle ıslatılan greft materyalinin görünümü.
- Resim 8:** Bir kaç dakika içinde greft materyalinin polimerizasyonunun gözlenmesi.
- Resim 9:** Putty kıvam kazanan greft materyalinin bir presel ile ogmentasyon sahasına taşınması.
- Resim 10:** Vertikal kırık nedeniyle çekim endikasyonu bulunan dişin görünümü.
- Resim 11:** Çekim sonrası soketin görünümü.
- Resim 12:** i-TZF & allogreft karışımından elde edilen putty greftin sokete yerleştirilmesinden sonra greftlenen alanın TZF membran ile örtülenip, çapraz matress sütur ile yara kenarlarının stabilize edilmesi.
- Resim 13:** Operasyondan 7 gün sonra bölgenin görünümü.
- Resim 14:** İmplant yerleştirildikten 3 ay sonra osteointegrasyon sürecinin sonunda iyileşme başlıklarının yerleştirilmesi.
- Resim 15:** Protetik restorasyonun uyumlandırılması.
- Resim 16a,b,c:** i-TZF & allogreft ile soket koruma uygulandıktan 2 ay sonra flep kaldırılması ve trefan frez ile kemik dokusu örneği elde edilmesi.
- Resim 17a,b,c:** Trefan frez ile kemik örneği alındıktan sonra soketin drillerle hazırlanması ve uygun boyuttaki dental implantın yerleştirilmesi.

Resim 18a,b,c: İmplant sokete yerleştirildikten sonra transduseri yerleştirilerek Ostell Mentor cihazı ile 5 farklı yönden RFA ölçümü yapılması.

Resim 19: Boş laküna ve sement çizgileri ile karakterize olan rezidüel allogreftin Hematoksilen-Eozin boyanması sonrası histolojik kesitte görünümü.(x200)

Resim 20: Canlı osteositler ve Havers kanalları izlenen yeni oluşan kemiğin eozinofilik boyanmış olan histolojik kesit görüntüsü.(x100)

Resim 21: Bağ dokusunun Hematoksilen-Eozin ile boyanması sonucu histolojik kesitte görünümü.(x200)

Resim 22: Tüm grupların Hematoksilen-Eozin ile boyanmış görünümü (**A:** Kontrol, **B:** i-TZF). (**a**) vital kemik, (**b**) non-vital kemik, (**c**) rezidüel greft, (**d**) bağ doku. (x40)

Resim 23: Kontrol ve i-TZF gruplarının indirekt immünohistokimyasal yöntem kullanılarak ALP, OCN ve PCNA primer antikorları ile boyanmış görünümü (**Ok:** pozitif immünoreaktivite). X200

Resim 24: Tüm grupların Hematoksilen-Eozin ile boyanmış görünümü (**A:** Kontrol grubu, **B:** i-TZF grubu). (**a**) vital kemik, (**b**) non-vital kemik, (**c**) rezidüel greft, (**d**) bağ doku, (**e**) osteoblast, (**f**) kan damarı. x100

TABLolar

Tablo 1: Hematoksilen-eozin boyama protokolü.

Tablo 2: İndirekt İmmünohistokimya Boyama Protokolü

Tablo 3: Kemik dokusu örneklerinin histomorfometrik analiz sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi ($p < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilecektir) (**NB:** yeni oluşan kemik, **RG:** rezidüel greft, **CT:** bağ dokusu, **N:** örnek sayısı, **SS:** standart sapma, **Sig:** istatistiksel olarak anlamlılık)

Tablo 4: Kemik örneklerinin ALP, OCN ve PCNA primer antikorlarına gösterdikleri immünoaktivitenin analizi (**N:** örnek sayısı, **%:** verinin o gruptaki toplam sayıya oranı, **ALP:** alkalin fosfataz, **OCN:** osteokalsin, **PCNA:** proliferasyon hücre nükleer antijeni) (-: boyanma yok, +: kötü boyanma, ++: orta derecede boyanma, +++: iyi derecede boyanma, ++++: çok iyi derecede boyanma)

Tablo 5: Kemik örneklerinin ALP, OCN ve PCNA primer antikorlarına gösterdikleri immünoaktivitenin analizi (**N:** örnek sayısı, **%:** verinin o gruptaki toplam sayıya oranı, **ALP:** alkalin fosfataz, **OCN:** osteokalsin, **PCNA:** proliferasyon hücre nükleer antijeni) (-: boyanma yok, +: kötü boyanma, ++: orta derecede boyanma, +++: iyi derecede boyanma, ++++: çok iyi derecede boyanma)

Tablo 6: Kemik dokusu örneklerinin histomorfometrik analiz sonuçlarının Mann-Whitney U testi ile istatistiksel olarak değerlendirilmesi ($p < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilecektir) (**NB:** yeni oluşan kemik, **RG:** rezidüel greft, **CT:** bağ dokusu, **N:** örnek sayısı, **SS:** standart sapma, **Sig:** istatistiksel olarak anlamlılık)

Tablo 7: Kemik örneklerinin ALP, OCN ve PCNA primer antikorlarına gösterdikleri immünoaktivitenin Pearson Ki-Kare Testi ile istatistiksel analizi (**N:** örnek sayısı, **%:** verinin o gruptaki toplam sayıya oranı, **ALP:** alkalin fosfataz, **OCN:** osteokalsin, **PCNA:** proliferasyon hücre nükleer antijeni) (-: boyanma yok, +: kötü boyanma, ++: orta derecede boyanma, +++: iyi derecede boyanma, ++++: çok iyi derecede boyanma)

Tablo 8: Allogreft kullanılarak soket koruma uygulanmış olan çalışmaların histomorfometrik olarak yeni kemik oluşumu ham verileri ile kendi çalışmamızın verilerinin Bonferroni analiz yöntemi ile istatistiksel olarak karşılaştırılması. (**Ort. Fark:** ortalama fark, **SS:** standart sapma, **Sig:** istatistiksel olarak anlamlılık)

Tablo 9: İyileşme dönemi sonunda hazırlanan sokete yerleştirilen implantların primer stabilitesinin ölçümü amacıyla uygulanan rezonans frekans analizinin Mann-Whitney U testi ile istatistiksel olarak değerlendirilmesi. ($p < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilecektir) (**ISQ:** implant stabilite katsayısı, **N:** örnek sayısı, **Ort:** ortalama değer, **SS:** standart sapma, **Min:** minimum değer, **Max:** maksimum değer, **Sig:** istatistiksel olarak anlamlılık)

Tablo 10: Allogreft kullanılarak soket koruma uygulanmış olan çalışmalar (DFDBA: demineralize dondurulmuş kurutulmuş allogreft, FDBA: mineralize dondurulmuş kurutulmuş allogreft, ADM: aselüler dermal matriks, PTFE: politetrafloroetilen, **NB:** yeni oluşan kemik, **RG:** rezidüel greft, **CT:** bağ dokusu)

GİRİŞ

Aşınma, çürük, dişeti hastalıkları ve kazalar gibi fizyolojik ya da patolojik olaylar nedeniyle dişlerin ya da diş gruplarının tümünden kaybı sıklıkla görülmektedir. Kaybedilen dişlerin implant destekli protezlerle tedavisi, geleneksel tedavi yöntemleriyle karşılaştırıldığında hastalar için eşsiz avantajlar sağlamaktadır. Alveoler kemiğe implant yerleştirilebilmesi için önerilen standart cerrahi protokol, yeterli hacimde ve kalitede kemik bulunmasını gerektirmektedir. İmplant uygulamasında, hazırlanan soket duvarlarıyla implant yüzeylerinin maksimum teması geleneksel ön koşullardandır.

Diş çekimi sonrasında özellikle ilk 6 ay içerisinde kemik dokusu hacminde önemli miktarda kayıp görülürken, bu duruma uyum gösteren yumuşak dokuda da vertikal ve horizontal yönde kayıp görülmektedir. Estetik ve fonksiyonun temin edilmesi amacıyla implant uygulamasının yanında kemik dokusunun da tekrar kazanılması gerekmektedir. İmplant uygulamalarının popülaritesinin artmasıyla birlikte kemik rejenerasyonu ve greftleme prosedürlerinde birçok çalışma yapılmaktadır. Kemik iyileşmesinin hızlandırılması ve yeni oluşan kemiğin kalitesinin artırılması amacıyla çeşitli modifikasyonlar uygulanmıştır. Yeni kemik oluşumu süresinin kısaltılması amacıyla greft materyaline çeşitli hücre ve büyüme faktörü içeriğinin eklenmesi dişsiz kalma süresinin kısalmasına yardımcı olabilmektedir. Literatürde henüz çok yeni olan yöntemde i-TZF ile karıştırılan partikülize greft materyalinin putty kıvam alması sağlanabilmektedir. Trombosit ve lökosit açısından zengin içeriği ve bir çok büyüme faktörünü bulundurması sayesinde i-TZF' nin kullanımı yeni kemik oluşumuna olumlu etki etmektedir.

Greftleme yönteminin etkinliğinin değerlendirilmesinde sinüs yükseltme cerrahisi, vertikal ve/veya horizontal augmentasyon yöntemleri gibi bir çok prosedür kullanılabilir. Greftin iyileşmesi ve yeni oluşan kemiğin histolojik olarak değerlendirilebilmesi amacıyla diş çekim soketi modelinin kullanılması klinik olarak pratik ve yöntemin standardizasyonuna izin veren bir çalışma metodudur.

Diş çekimi sonrasında fizyolojik olarak, daha çok horizontal yönde olmak üzere vertikal ve horizontal alveoler kret rezorpsiyonu görülmektedir. Kemik rezorpsiyonunun en hızlı gerçekleştiği dönem ilk 6 aydır ve bir yılın sonunda soket

hacminin yaklaşık %50' sinin kaybedildiği bilinmektedir. Diş çekimi sonrasında bölgedeki sert ve yumuşak dokuların hacim ve mikromimarisinin korunması amacıyla "çekim socketinin korunması" önerilmektedir.

Çekim socketinin greftlenmesinde otojen greft, allogreft, xenogreft ve sentetik greft materyalleri uygulanırken, greftlenen sahanın örtülenmesinde rezorbe olabilen ya da rezorbe olmayan membranlar sıklıkla kullanılmaktadır.

Çekim socketinin partikülize greft materyali ile ogmente edilmesinde operasyon sahası ile ağız ortamının ilişkisinin kesilmesi gerekliliği nedeniyle flebin primer olarak kapatılması amacıyla esnetilmesi, post-operatif ağrı ve ödem oluşumunu arttırmakta, yapışık dişetin kaybedilmesine neden olmaktadır. Greftlenen sahanın örtülenmesi amacıyla membran kullanımı ise hasta için ek maliyet gerektirmektedir.

Çalışmada çekim socketinin greftlendiği grupta i-TZF & allogreft karışımı ile elde edilen putty greft sokete yerleştirilip greftlenen alanın üzerinin TZF membran ile örtülenmesi planlanmıştır. Yöntem uygulanırken flep kaydırılmayarak yapışık dişetin ve yumuşak doku profilinin korunması hedeflenmiştir. Kontrol grubunda ise herhangi bir uygulama yapılmadan yalnızca pıhtının stabilizasyonunun sağlanması planlanmıştır. Tüm çekim bölgelerinden 2 aylık iyileşme dönemi sonrasında implant yuvası hazırlanırken elde edilen kemik dokusu örneklerinin histolojik incelemesinin yapılması amaçlanmıştır.

Bu klinik çalışmanın amacı i-TZF ile karıştırılan greft materyalinin yeni kemik oluşumu üzerindeki etkilerinin histolojik, histomofometrik ve immünohistokimyasal analiz yöntemleriyle değerlendirilmesidir. Çalışmada TZF membran ve TZF likidi elde etmek amacıyla düşük hızda santrifüj konseptini kullanılmıştır. Bu klinik çalışmanın sonuçları ışığında farklı greftleme yöntemlerinde bu prosedürün uygulanmasının kemik oluşumu miktarını ve oluşan kemiğin kalitesini arttıracakını, kemik iyileşme süresinin kısılacakını öngörmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kemik Dokusu

Kemik, vücut ağırlığının %30-40' ını oluşturan, vücuda destek sağlayan ve iç organları koruyan bir yapıdır ve aynı zamanda vücutta bulunan en sert dokulardan biridir. Vücuttaki diğer dokulardan farklı olarak yaralanmaya uğrayan kemik dokusunda onarımdan ziyade yenilenme görülerek skar oluşumu olmaksızın iyileşme gerçekleşmektedir. Sağlıklı bir bireyde rezorpsiyon ve rejenerasyon remodelling olarak adlandırılan bir metabolizma ile birbirine eşlik eder.(1) Cerrahi osteotomi ya da kırık oluşumu sonrasında segmentlerin ideal fiksasyonları sağlandığı takdirde kemik dokusu orijinal yapısında kendini yenileyerek iyileşir. Vücudun destek görevini sağlayan kemik dokusu kompresif kuvvetlere karşı dirençli iken esneme özelliği sınırlılığı olduğu için rotasyonel kuvvetlere karşı dayanıklılığı düşüktür.(2)

Periost denilen bağ dokusu yapısındaki sıkı ve ince bir zar ile kaplı olan kemik dokusu, vasküler beslenmesini ve rejeneratif potansiyelini yine bu yapıdan sağlamaktadır. Ayrıca, periost üzerini örttüğü kemik dokusu için osteojenik hücre kaynağı görevi de görür. Periost, kemiğe Sharpey lifleri denilen kollajen lifler ile sıkıca tutunur.(3)

2.1.1 Kemik Tipleri

Kemik dokusunun mikroskopik araştırmaları primer ve sekonder olmak üzere 2 farklı kemik tipinin olduğunu göstermiştir. Primer kemik, intrauterin dönemde, kırık oluşumu ve diğer tamir olaylarında ilk oluşan kemik türüdür. Lamellar halde organize olmuş kollajen lifleri bulunan sekonder kemiğin aksine primer kemikte düzensiz ince kollajen lifler ayırıcıdır. Primer kemik geçici oluşan kemik formudur ve zamanla yerini sekonder kemiğe bırakır.

2.1.1.1 Primer Kemik

Primer kemik embriyolojik gelişim döneminde oluşur, immatür ve lamelsiz yapıda bulunur ve ağsı kemik (woven kemik) olarak da adlandırılabilir. Yetişkin kalvaryumundaki yassı kemikler, alveol kemiği ve tendonların kemiğe yapışma yerleri dışında zaman içinde yerini sekonder kemiğe bırakır. Organize olmamış bir yapıda olan primer kemikte mineralize içerik ve osteosit miktarı daha azdır. Kollajen lifler düzensiz yerleşimlidir ve dayanıklılığı azdır. (4)

2.1.1.2 Sekonder Kemik

Vücuttaki kemikler arasında yük taşıma kapasitesi en yüksek olan sekonder kemik; lamellar kemik olarak da bilinen, düzenli ve birbirine paralel seyirli kollajen liflerden oluşan kemik dokusudur. Yüksek mineralize içeriği sayesinde sert bir yapıdadır ve osteositler primer kemiğe kıyasla daha çok miktardadır. Sekonder kemiğin spongios (süngerimsi, kansellöz) ve kortikal (kompakt, lameller) kemik olmak üzere 2 türü vardır.(5)

- **Spongios (Süngerimsi, Kansellöz) Kemik**

Genellikle kemiklerin orta kısmında yer alır ve birbirleriyle anastomoz yapan ince kemik trabeküllerinden oluşur. Trabeküller arasında kalan düzensiz boşluklarda bulunan kemik iliği sayesinde vasküler ve hücresel açıdan zengin içeriğe sahiptir.

- **Kortikal (Lamellar) Kemik**

Vücutta bulunan tüm kemiklerin dış yüzeyinde bulunur ve lamelsiz kemiklerin mineralize olması ile oluşur. Spongios kemiğe göre çok daha dayanıklıdır ve kollajen lifler düzenli yerleşim gösterir.(6)

2.1.2 Kemiğin Biyokimyasal Yapısı

Kemik dokusu diş minesinden sonraki en sert dokudur. Tüm destek dokularında olduğu gibi hücrelerden ve dokunun esasını oluşturan ekstrasellüler matriksten oluşur. Diğer destek dokularında yalnızca organik içerik bulunurken kemik dokusunda inorganik maddeler de bulunmaktadır. Kemik dokusunun ağırlığının yaklaşık % 2'si sudan oluşurken, kuru kemik ağırlığının %60-70'i inorganik kalsiyum fosfat, %30-35'i ise organik fibröz protein ve kollajenden oluşur. Kalsiyum fosfat (CaPO₄),

kemikte hidroksiapatit (HA) kristalleri ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) formunda bulunur. HA iğne biçimli kristallerdir. Bunun dışında; inorganik kısımda bikarbonat, sitrat, magnezyum, sodyum, potasyum, florid bulunmaktadır. Bunlar temel maddenin kuru ağırlığının yarısını oluşturur ve dokuya sertlik kazandırır. Mineral kristaller HA'ı meydana getirir. Osteoid; osteoblastlar tarafından meydana getirilen mineralize olmamış organik matrikstir. %90'ı tip I kollajen; %10'u ise nonkansellöz proteinler, glikoproteinler, proteoglikanlar, peptitler, karbohidratlar ve lipidlerden oluşur. Osteoid mineralizasyonu inorganik mineral tuzlar tarafından oluşturulur, kemiğin gücünü ve sertliğini sağlar. Diğer destek dokularda olduğu gibi fibriller ve şekilsiz temel maddeden meydana gelir. Organik maddelerin %95'ini tip I kollajen lifler oluşturur. Diğer kısmı proteinler ile ilgili glikozaminoglikanları içeren amorf temel maddeden oluşur. Çok sert olmasına karşın kemiklerin kolay kırılmamasını sağlar. HA ile kollajen lifler arasındaki ilişki, kemiğin karakteristik sertliğinden ve dayanıklılığından sorumludur. Kemik dokusunda az miktarda bulunan şekilsiz temel maddeyi oluşturan proteoglikanlar; kondroitin-4-sülfat, kondroitin-6- sülfat, keratan sülfat ve yine bir glikoprotein olan osteonektin, osteokalsin, osteopontin, kemik sialoproteini meydana getirir (7).

Kemiğin İnorganik İçeriği

Kemik dokusunun inorganik olarak asıl bileşeni $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ formundaki hidroksiapatittir. Kristaller yaklaşık 25-75 nm çapında ve 200 nm uzunluğundadır. Bu sayede yüzey-hacim oranı arttırılmış olur. En dış tabakadaki kristallerin etrafında sudan oluşan bir kabuk bulunur ve hidrasyon kabuğu adını alır. Bu tabaka iyonların kristal yüzeyinde serbestçe hareket etmesine olanak sağlar.(8)

Kemiğin Organik İçeriği

Organik içerik kemiğin formunu oluşturur ve inorganik tuzların şekillenmesini sağlar. Matriksin %90' dan fazlasını az miktarda proteoglikan ile birlikte kollajen oluşturur. Kemik glikoproteini (BGP) olarak da bilinen osteokalsin asidik karakterlidir ve sentezi K vitaminine bağlıdır. Bir diğer non-kollajen protein (NCP) olan osteonektin ise osteoblast ve fibroblast tarafından sentezlenir ve kollajen ile

hidroksiapatit ile etkileşir. Sadece kemik dokusunda bulunur ve mineral matriks ile köprü görevi görerek osteopontin adını alır.(5)

2.1.3. Kemik Hücreleri

Osteoblastlar

Osteoblastlar kemik oluşumundan sorumlu tek çekirdekli hücrelerdir. Çok sayıda mitokondri, lizozom, belirgin golgi aygıtı, yoğun granüllü endoplazmik retikulum gibi organeller içerirler. Osteoprogenitör hücreden türeyen ve kemik matriksinin organik kısımlarının (Tip I kollajen, proteoglikanlar, glikoproteinler) sentezinden sorumlu hücrelerdir.

Kemikleşme bölgelerinde, gelişmekte olan kemiklerde periosteumun kemiğe temas eden derin bölgelerinde diziler halinde bulunurlar. Kemikte yeni matriks oluşumu sırasında kübik veya kısa silindirik epitel hücreleri şeklinde yan yana gelerek tabaka oluştururlar. (4,5)

Osteositler

Osteoblastlardan kaynak alan osteositler matriksin lamelleri arasında bulunan lakünalar içinde yer alır. Kalsiyum tuzlarının birikmesiyle kalsifiye kemik matriksi içinde sıkışmış durumdadırlar. Dolayısıyla osteositler, tamamen oluşmuş kemikte esas hücrelerdir. Kemik matriksinde oldukça derinlerde yer alan osteositlerde golgi, endoplazmik retikulum ve mitokondri gibi organellerde epey bir gerileme görülür. Her ne kadar bu hücreler protein sentezi açısından daha az aktif görünseler de bu, onların metabolik olarak hareketsiz olduklarını göstermez (5).

Osteositlerin, kemiğin diğer hücre tiplerine dönüşebilme özelliği vardır. Kemik yıkımı sırasında içinde buldukları lakünlerden dışarı çıkınca hemen dinlenme halindeki osteoprogenitor hücelere, bunlar da osteoblastlara dönüşebilir.(4,5)

Osteoklastlar

Osteoklastlar birçok dalları olan büyük hücrelerdir. Rezorpsiyona uğrayan kemik bölgelerinde Howship lakünaları diye bilinen matriksteki enzimatik yıkıma uğramış alanlara yerleşmiş olarak bulunurlar. Kemiğin yeniden biçimlenme sürecinde, kemiğin çözünüp çevre dokularca emilmesinden sorumlu çok çekirdekli

hücreler olan osteoklastlar, kalsiyumun kemik dokusundan kana salınmasında aktif rol oynayarak, vücut sıvılarında kalsiyum derişiminin hemostatik düzenlenmesinde çok önemli rol oynar.(9)

2.1.4 Kemik Metabolizması

Kemik dokusu stabil bir destek dokusu değildir ve farklı uyarılara cevap vererek sürekli yapılanmaya (modeling) devam eder.(3) Kemiğin olgunlaşması sağlandıktan sonra yapının korunması ve dayanıklılığının artırılması için remodeling denilen yapım ve yıkımın birbirini takip ettiği dönemin dengeli bir şekilde devam etmesi gerekir. Kemiğin remodelingi 10-15 günlük rezorpsiyon ve bunu takip eden 2-3 aylık formasyon dönemlerinden oluşur.(10) Geniş çerçeveden bakıldığında remodeling, kemik dokusunun osteoklastlar tarafından rezorbe edilmesi ve rezorpsiyona uğrayan bölgede osteoblastlarca yeni kemik formasyonunun uyarılmasını içeren; aktivasyon, rezorpsiyon, reperasyon ve formasyon periyotlarından oluşur. (11)

Remodelasyon kemiğin oluşumundan sonra hayat boyu devam eder. Kemik dokusu bölgeye yapışan kas ataşmanları ve mekanik etkisi altında olduğu kas kuvvetlerine göre şekillenir. Yapılan bazı çalışmalarda kemik morfojenik proteinlerinin, özellikle TGF-B ailesinin osteoindüktif etkileri olduğu belirtilmiştir.(12)

İnorganik bileşen, kollajen lifler üzerinde çökelmiş olan kristal yapıdan oluşur ve hidroksiapatit kristalleri vücudun en büyük kalsiyum (Ca) deposunu oluşturur. Kemik dokusunun sıkıştırma kuvvetlerine olan direnci mineral içeriğine bağlı iken, gerilim kuvvetlerine olan dayanıklılığı kollajen içeriği tarafından sağlanmaktadır. Ayrıca kemikte, Ca dışında magnezyum (Mg) ve fosfat (P) iyonları da depolanır. Ca ve P iyonlarının metabolizmasını hormonların kontrolünde osteositler sağlar ve vücut için gerekli olduğunda osteosit lakün duvarlarında rezorpsiyon oluşarak iyonlar çözünüp serbestleşir ve sistemik dolaşıma katılır.(13)

Ca ve P salınımı 2 şekilde gerçekleşir. Hızlı olan salınımında Paratiroid hormonu (PTH) osteoklastik aktiviteyi arttırarak Ca iyonlarının ekstraselüler alana atılmasını sağlar. Yavaş gerçekleşen diğer mekanizmada ise monositlerin osteoklastlara farklılaşması PTH tarafından stimule edilir ve ayrıca osteoblastların aktivitesi azaltılarak Ca iyon depolanması azalır. Kalsitonin ise ters etki göstererek

osteoblastların etkinliğini artırır, osteoklastların ise aktivitesini azaltır, böylece Ca depolanması sağlanır.(13)

2.1.5 Kemik Oluşumu (Ossifikasyon, Osteogenesis)

Kemik gelişimi 2 yolla gerçekleşir.

I) İntramembranöz kemikleşme: Embriyonik bağ dokusu olan mezenşimdeki indiferansiye mezenkimal kök hücrelerden direk kemik dokusu farklanmaktadır. Kafatasının yassı kemikleri, mandibula ve maksilla, klavikula bu tür kemik oluşumuna örnektir.

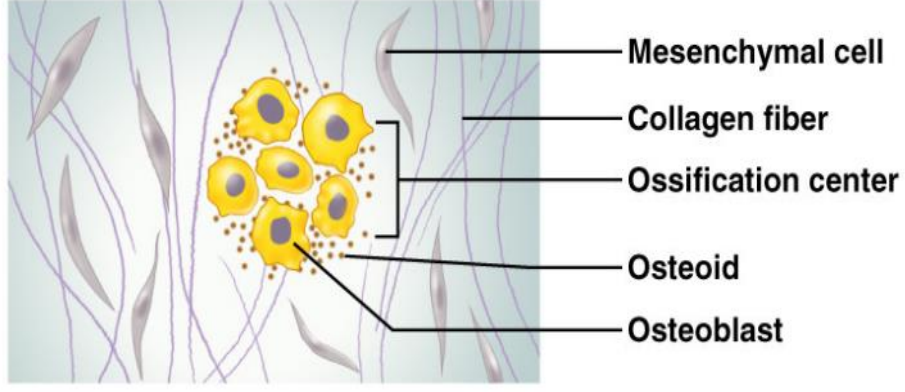
II) Endokondral Kemikleşme: Embriyonik bağ dokusu olan mezenşimdeki indiferansiye mezenkimal kök hücrelerden önce hiyalin kıkırdak bir model oluşur. Sonra kıkırdak dokusu yıkılır ve yerine kemik dokusu yapılır. Üst ve alt ekstremitte kemikleri, kostalar, vertebralar ve sternum, pelvis kemikleri bu tür kemik oluşumuna örnektir.(11-13)

Kemik oluşumunu; büyüme hormonu (GH), parathormon (PTH), kalsitonin (C) ve cinsiyet hormonları (Östrojen/Testosteron) kontrol eder.

İntramembranöz yolla kemik meydana gelecek alanlarda bulunan mezenşim hücreleri önce uzantılarını çekip biraraya gelerek yoğunlaşırlar. Bu yoğun hücre alanlarına Kemik Blastemi (Ossifikasyon merkezi) adı verilir. Birçok alanda minik blastem odakları oluşur.

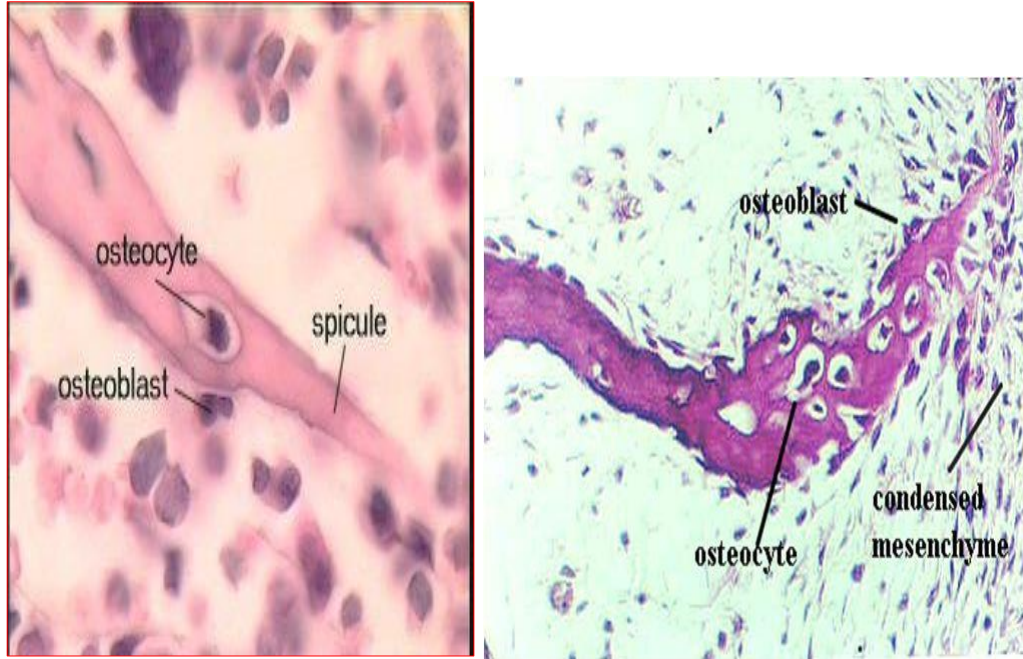
Blastemdeki hücreler hızlı bölünerek osteoprogenitör hücrelere (CBFA1) farklanırlar, daha sonra bu hücreler de osteoblastlara dönüşerek kemik matriksini sentezleyerek kemik dokusunu şekillendirmeye başlarlar.

Osteoblastların yaptığı henüz kalsifiye olmamış bu ilk öncül kemik dokuya osteoid adı verilir.(13)



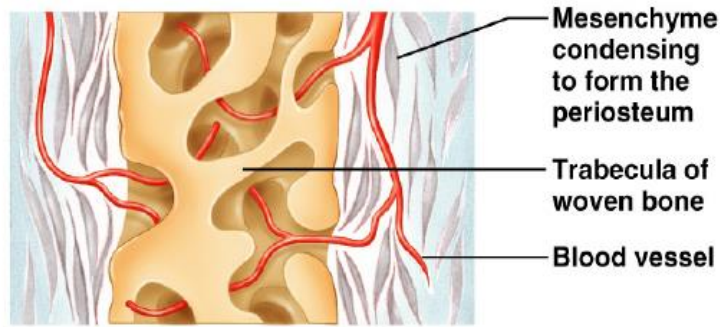
Şekil 1: Kemik oluşumu ağının görünümü(232)

Mezenşim dokunun bir bölümünde de bol kapiller damar gelişir ve şekillenmekte olan kemiğin mineralize yani kalsifiye olabilmesi için buraya kalsiyum ve fosfat taşınır. Osteoblastların salgıladığı Alkalin fosfataz ve Pirofosfatazlar aracılığıyla kalsiyum fosfat molekülleri oluşur ve osteoid dokunun mineralize olmaya başlamasıyla kemik kalsifiye olup sertleşir. Mezenşim havuzundaki bir çok farklı bölgede spikül adı verilen minik minik primer kemik doku parçacıkları oluşturulur. Spikül içinde osteositler, hemen çevresinde dizilmiş halde de osteoblastlar yerleşir.(12-13)

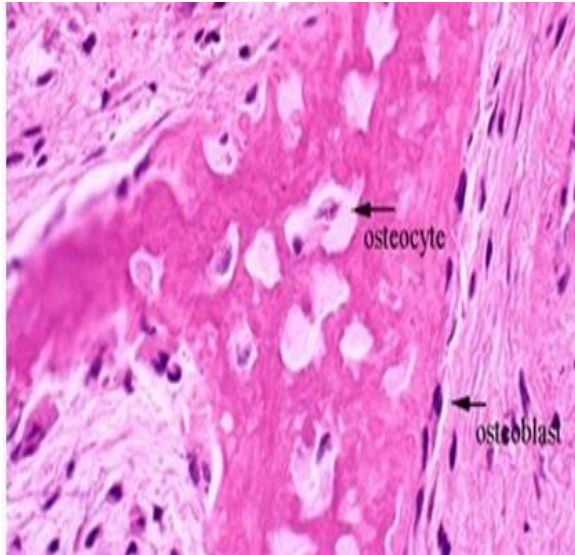


Şekil 2: Osteoblast, osteosit ve spiküllerin histolojik görünümü(232)

Değişik şekil ve büyüklükteki bu kemik parçaları olan spiküller birleşerek kemik trabekülleri adını alır. Trabeküller içinde kalan osteoblastlar aktivitelerini azaltır ve osteosite dönüşürler. Şekillenen trabeküllerin yüzeyine osteoprogenitör hücreden farklı osteoblastlar tek sıra halinde dizilir ve kemik lamellerini yapmaya başlarlar. Bu yapımın üst üste tekrarlanması sonucu primer kemik trabeküllerinin yüzeyinde ve kenarında lamelli sekonder kemik yapısı meydana gelir ve trabeküller kalınlaşıp uzarlar. (12)



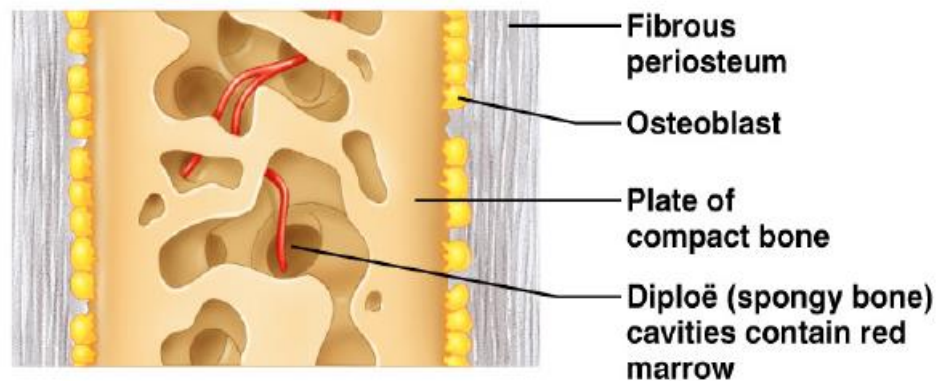
Şekil 3: Trabeküler kemik kesitinin görünümü(232)



Şekil 4: Osteosit ve osteoblastların Hematoksilen-Eozin ile boyanmış görünümü(232)

Bu sırada osteoklastlar da kemiklerin iç yüzlerini rezorbe ederken osteoblastlar da bir taraftan yeni kemik lamelleri eklerler. Böylece primer kemik dokusu içeren trabeküller tamamen ortadan kalkar geriye sadece sekonder kemik yapısındaki trabeküller kalır. Kemiğin dış sınırından da periosteum şekillenir.

Bu arada trabeküllerin aralarında kalan mezenşim dokusundan da kırmızı kemik iliği şekillenir.(13)



Şekil 5: Kompakt kemik kesitinin görünümü(232)

2.2 Alveoler Kemik

Alveoler kemik çene kemiklerinin, dişleri destekleyen ve diş soketlerini içeren kısmıdır. Kretin fasiyal ve lingual duvarlarını, interdental ve interradyiküler septaları oluşturan kortikal kemikten ve bu tabakalar arasındaki trabeküllerden meydana gelir. Damar ve sinir iletiminin sağlandığı kanal sistemiyle periodontal ligament aracılığıyla etkileşim halindedir. (14)

Alveoler kemik diğer kranial kemiklerde olduğu gibi intramembranöz kemikleşme ile oluşur. Kemiğin formasyonu osteoblastlar tarafından sentezlenen ve henüz mineralize olmayan, osteoid olarak adlandırılan matriksin depolanması ile başlar. Her osteoid oluşumunda alt tabakada kalan osteoidin mineralizasyonu gerçekleşir. Kemik rezorpsiyonu ise osteoklastların varlığında gerçekleşen kemik yüzeylerinin deformasyonu ile karakterize bir durumdur. Kemik yıkıcı hücreler olarak bilinen osteoklastların aktivasyonunda tırtıklı kenar (ruffled border) olarak da bilinen yüzeylerden hidrolitik enzim salınımı gerçekleşir. Kemiğin organik içeriği bu

hidrolitik enzimler tarafından sindirime uğratılırken, kemik yüzeylerinde asidite hakim olur. Bu asidik ortam mineralize komponentin çözülmesini sağlar.(14)

Alveolar socketin yapısında ise yuvayı çevreleyen kompakt yapıda kemik dokusu ve periodontal ligament ile temasını sağlayan çok sayıda Sharpey lifleri bulunur. Radyografik görünümü lamina dura olarak bilinen bu kemik dokusu demet kemiği (bundle bone) olarak da adlandırılır. Alveolar kemiğin süngerimsi kısmı ise kemik iliği boşluklarını çevreleyen trabeküllerden oluşur. Kemik iliği boşluklarının çeperleri, osteojenik öncü hücreler olan endosteal hücre tabakası ile kaplıdır. Osteogenetik aktivitenin kaynağı olarak görülen spongiyöz kemik ağırlıklı olarak interdental ve interradiküler bölgelerde ve mandibulaya kıyasla daha fazla miktarda maksiller kemiklerde yer alır.(11)

Alveolar kemik her ne kadar sert bir yapıda olsa da lokal ve sistemik etkenlere bağlı olarak genişliği ve yüksekliği değişebilir. Alveolar kemik üzerine gelen mekanik kuvvetlere adapte olabilmek için basınç bölgelerinde rezorpsiyon, gerilim alanlarında ise yeni kemik oluşumu göstererek remodeling' e uğrar.(14)

Diğer kemiklerden farklı olarak alveolar kemiğin yüksekliğini, konturunu ve yoğunluğunu etkileyen en önemli etkenler; dişin varlığı ve aktif fonksiyon görmesidir. Diş çekimi sonrası alveolar kemiğin boyutları dramatik şekilde etkilenir ve koruyucu bir tedavi yapılmadığı takdirde yaklaşık %50' sini kaybedebilir. Bu durumda kret atrofisi devam eder ve ciddi fonksiyonel ve estetik problemler meydana gelir.(14)

2.3 Diş Çekim Socketinin İyileşmesi

Diş çekim socketinin iyileşmesi sırasında görülen olaylarla uzun kemiklerde kırık sonrası meydana gelen iyileşme biçimi benzerlik gösterir. Ağız, diş ve çene cerrahisinin en geniş ilgi alanını oluşturan çekim olayı ise hem sert hem yumuşak dokuları içerdiği için karmaşık bir yara türüdür. Çekim yarasında büyük miktarda doku kaybı görülmesi iyileşmeyi daha karmaşık hale getirir ve herhangi bir koruyucu uygulama yapılmaz ise kayıp miktarı artar, defekt oluşumu görülür. Çekim socketinin iyileşmesinde yara kenarlarının yaklaştırılıp uç uca getirilmesi söz konusu olmadığı için sekonder yara iyileşmesi görülür. Diş çekim socketinde meydana gelen değişiklikler iç ve dış değişiklikler olarak adlandırılır.(15)

2.3.1 İç Değişiklikler

Diş çekimini takiben soket içinde meydana gelen hücresel seviyedeki metabolizma cevabını kapsar. Doku iyileşmesinin temelini bakıldığında çekim yarasının iyileşmesi kırık iyileşmesine benzerlik gösterir. Fakat sekonder bir yara iyileşmesi olması ve kırık dokunun oluşumu gözlenmemesi nedeniyle kırık iyileşmesinden ayrılır.

Diş çekimi gerçekleştiğinden hemen sonra soket kan ile dolar ve eritrositler kümeleşerek çökler. Sokete kan dolmasını sağlayan asıl kaynaklardan olan periodontal ligamentteki damarlarda vazokonstriksiyon gözlenir ve kan akımı yavaşlar. Çekimden sonraki ilk saatlerde soketin içinde pıhtının stabilize edilmesi yara iyileşmesinde görevli çeşitli hücrelerin ve sitokinlerin bölgeye gelmesinde ve de soket içindeki debrisin uzaklaşmasında önemlidir. Pıhtının erken dönemde uzaklaşması yara iyileşmesinin gecikmesine veya alveolitis oluşumuna neden olabilir.(16) Diş çekimi gerçekleştiğinden sonra;

1.gün: 24 saat içinde vazodilatasyon ile birlikte lökositler damar dışına çıkar ve pıhtı içinde yer alır. Trombositlerin oluşturduğu ve tüm soketi kaplayan kan pıhtısı fiziksel bir matris gibi davranarak mezenşimal hücreleri de içeren hücrelerle birlikte büyüme faktörlerinin hareketlerini yönlendirir. Nötrofiller, daha sonra da makrofajlar yara yerine girerek yarayı sterilize etmek için bakterileri ve doku artıklarını parçalarlar. Nötrofiller ve makrofajlar büyüme faktörlerini ve sitokinleri salgılayıp mezenşimal hücrelerin pıhtı içine migrasyonunu başlatır ve artırır.

2.gün: Periodontal ligamentten çıkan fibroblastlar yaranın periferinden sokete yayılmaya başlar. Yüzey epitelinde proliferasyon başlar ve alveol kemiğinde osteoklastik aktivasyon belirir. Bu aşamada az sayıda endotel hücresi görülür. Ayrıca granülasyon dokusu özellikle soket tabanından pıhtı içine infiltre olmaya başladığı için pıhtı bozulmaya başlar (fibrinolizis).

5.gün: Soketin tabanında fibroblast ve damar endotellerinden yapılabir doku görülür. Yeni kemik oluşumu ile ilgili herhangi bir belirti görülmez ve soket yüzeyinde kalın bir lökosit tabakası ile kenarlarında yüzey epitel proliferasyonu bulunur. Soket çevresinde ise immature bağ dokusu oluştuğı gözlenir.

7.gün: Pıhtı ağı içerisindeki fibroblastlar çoğalır, granülasyon dokusu tamamen infiltre olur ve pıhtı ile yer değiştirir. Neovaskülarizasyon sonucu damarsal

ağın arttığı görülür. Periodontal ligament artıklarında dejenerasyon ve alveolar kemikte rezorpsiyonlar belirgindir. Soket yüzeyinde epitelizasyon ilerler ve küçük boyuttaki yaraların tamamen epitelize oldukları görülür.

14.gün: Doku iskeletinin yerini olgun granülasyon dokusu almaya başlar. Soketin kenarlarında mineralize olmamış immatür trabeküller görülür. Olgunlaşmamış kemik trabekülleri periodontal ligament kaynaklı hücrelerin osteoblastlara differansiye olmalarıyla meydana gelirler. Alveoler soketin dış kortikal kemiğinde yeniden formasyon görülür fakat yüksekliği azalır ve yüzeysel epitelizasyonu tamamlanmıştır.

21.gün: Çekim soketi iyileşmesinin son dönemidir ve kemikleşmenin gerçekleşeceği sürecin başlangıcıdır. Osteoid doku çökmesiyle birlikte kısmen mineralize olan trabeküller radyografik olarak görülebilir haldedir. Soketin koronaline doğru mineralizasyon ve reepitelizasyon 6 hafta boyunca devam eder. Maksimum radyografik yoğunluk gösterecek şekilde kemik dolumu 100 gün içinde gerçekleşir. Fakat kemik dokusu hiçbir zaman komşu dişlerin alveoler seviyesine kadar renejenere olamaz ve %100'lük kemik dolumu gerçekleşmez.(16,17).

2.3.2 Dış Değişiklikler

Diş çekimi sonrası ilk haftanın sonunda soketin büyük kısmının epitel ile dolduğu görülür. Çekimden sonraki ilk 8 haftada ise alveoler kret tepesinin bukkal ve lingual duvarlarında rezorpsiyonla sonuçlanan osteoklastik aktivite belirgindir. Bukkal duvarlarda daha fazla yükseklik kaybı görülürken her iki alveoler yüzde de horizontal kayıp gerçekleşir. Diş eksikliğinin implant ile rehabilite edilmesi planlanan bölgeler için kret genişliğinin ve yüksekliğinin yeterli olması gereklidir. Özellikle kas ataşmanlarının yapışma bölgeleri ve kas kuvvetlerinin etki alanı olan bukkal bölgelerde daha fazla vertikal yıkımın görülmesi, yapılacak implant destekli protetik restorasyonun estetik başarısını azaltır.(18,19) Diş çekimi sonrası en hızlı kemik kaybı ilk yıl içinde görülür ve geri dönüşsüz ve kumulatif olarak yaşam boyu devam eder. Diş çekiminden 40 gün sonra alveoler kret yükseliğinin 3'te 1'ini kaybeder. (20) Mandibulaya gelen kuvvetlerin daha fazla olması nedeniyle çekim sonrası kemik kaybı maksillaya göre 4 kat daha fazladır.(20,21).

Diş çekimi sonrasında soket önemli bir sorun olmadan iyileşebildiği gibi, kemiğin iyileşme süreci içinde bir defekt oluşumu ve kemik kaybı da görülebilir.

Rezorpsiyon genellikle ön bölgelerde ve çekim öncesinde kemik miktarının az olduğu durumlarda sorun yaratır. Alveoler kemik, diş çekimi esnasında geri dönülmez olarak travmaya uğrar ve herhangi bir koruyucu önlem alınmadığında soket daralarak iyileşme gösterir. Çekim boşluğunun büzülmesi sadece dişin çekimiyle ilgili değildir, sokette oluşan pıhtının retraksiyonu ve bağ dokusu rejenerasyonu uygun kemik oluşumunu engeller ve bu da kemik konturlarının bozulmasına neden olur. (22,23) Soketin iyileşmesini birkaç faktör daha etkileyebilir. Geniş soketlerde onarımın gerçekleşmesi için dar soketlere kıyasla daha fazla zaman geçmesi gerekir. Ayrıca tek köklü diş soketlerine göre çok köklü diş soketlerinde kemik oluşumu daha çabuk gerçekleşir. (18,19)

2.4 Alveoler Kret Rezorpsiyonu ve Rezidüel Kret

Diş çekimi sonrasında görülen alveoler kemik kaybı özellikle implant ile tedavi edilmesi planlanan bölgelerde önemli sorunlara neden olabilir. Rezidüel kret; diş çekildikten sonra geride kalan çene kemiğidir ve hayat boyu devam edecek bir rezorpsiyon sürecine girer. En hızlı atrofiyeye uğrayan yapı alveoler sırttır fakat rezorpsiyonun devam etmesiyle bazal kemiği de etkilenebilir. Diş keybedildikten sonra, periodontal ligament aracılığıyla iletilen uyarımlar ortadan kalkar ve işlev görmeyen alveoler kret atrofiye uğrar. Kret rezorpsiyonu üst çenede yukarı ve geriye doğru seyrederken, alt çenede aşağı ve öne doğru ilerler. Bu durum özellikle posterior bölgelerde kretler arası uyumsuzluk yaratarak restorasyon uygulanmasını zorlaştırır.(24)

Yapılan çalışmaların çoğunda alveoler kretlerin fasiyal yüzündeki rezorpsiyon nedeniyle kret tepesinin lingual yöne doğru yer değiştirdiği belirtilmiştir.

Petrovski ve Massler yaptıkları çalışmada, diş çekimi yapılan 149 hastanın modellerini incelemişler, hem maksilla hem de mandibulada bukkal duvarın daha hızlı rezorbe olduğunu ve kret tepesinin linguale doğru kaydığını rapor etmişlerdir.(25).

Schropp ve ark, çalışmalarında 46 hastada premolar veya molar diş çekim soketinin iyileşmesini 12 aylık sürede takip etmişler ve rezorpsiyonun büyük kısmının (3' te 2) ilk 3 ayda gerçekleştiğini gözlemlemişlerdir. (26)

Yılmaz ve ark, 5 hastanın 10 ayrı bölgesinde maksiller keser çekimlerinden sonra 1 yıllık bir süreçte kret genişliğinin %17 azaldığını rapor etmişlerdir.(27) Bu oran literatürdeki diğer çalışmalarda %60 'lara kadar çıkabilmektedir.

Lekovic ve ark. yaptıkları çalışmada diş çekiminden 6 sonra alveoler kret yükseliğinin 1.50mm, genişliğinin ise 4.56mm azaldığını belirtmişlerdir.(28)

2.5 Kret Korunması ve Kret Ogmentasyonu

Kret korunması, diş çekimi gerçekleştirildikten sonra mevcut kemik hacminin korunması ve rezorpsiyonun önlenmesi amacıyla kullanılan bir yöntemdir. Uygulanan prosedürün içeriğine bakıldığında yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu (YKR) ile aynı prensiplere sahiptir. Diş çekimi sonrasında granülasyon dokuları temizlendikten sonra soket içerisine daha sonra kemik dokusuna dönüşebilme potansiyeli olan veya pıhtıyı stabilize ederek yeni kemik oluşumuna katkıda bulunabilen biyomateryaller yerleştirilir. Böylelikle çekim sonrasında alveoler kemik ve yumuşak dokuda görülen büzülme önlenerek öncelikle soketin çatısı korunur, sonrasında yeni kemik oluşumu sağlanır. Kret korunmasında başarıyı etkileyen bir diğer faktör de operasyon alanının primer kapatılmasıdır. Çekim boşluğuna greft materyali uygulandığında bunun ağız ortamıyla ilişkisinin kesilmesi gerekir. Tükrük ile kontamine olan greft partikülleri rezorbe olarak yeni kemik oluşumuna katılmaz, ayrıca ağız florası ve de gıda retansiyonu nedeniyle enfeksiyon gerçekleşebilir. Operasyon sahasının primer olarak kapatılması amacıyla bukkalden ilerletilen flep, palatinalden çevrilen flep, serbest diş eti greftleri sıklıkla kullanılmaktadırlar. Operasyon sahasının primer kapatılmasında ise flebin esnetilerek kaydırılması sonrasında mevcut keratinize dokunun kaybedilmesinin önlenmesi ve yumuşak doku konturlarının korunması amacıyla rezorbe olabilen ve rezorbe olmayan membranlar kullanılabilir.(29,30) Bu biyomateryallerin de ağız ortamına açık bırakılması enfekte olma riskini barındırdığı için primer olarak üzerinin kapatılması önerilmektedir.(31,32)

Kret ogmentasyonu ise farklı sebeplerden rezorpsiyona uğramış ve boyutları azalmış olan alveoler kretin hacmini arttırmaya yönelik yapılan uygulamalardır. Rezidüel kretin morfolijisi, miktarı ve kalitesine göre yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu, kret split osteotomisi, sinüs yükseltme operasyonu, distraksiyon osteogenezisi, onley-inley greftleme gibi çeşitli yöntemler kret ogmentasyonunda uygulanabilir.(9)

2.5.1 Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu (YKR)

İlk olarak 1970 ' li yıllarda periodontal kayba uğramış bölgelerin rekonstruksiyonu amacıyla teflon esaslı membranlar kullanılarak uygulanmıştır. Kemik ve periodontal ligamente kıyasla daha hızlı göç etme ve çoğalma potansiyeli olan bağ dokusu ve epitel hücrelerinin bölgeye göç etmesi engellenmiş ve periodontal dokuların rejenerasyonu sağlanmıştır. Bu yöntem yönlendirilmiş doku rejenerasyonu (YDR) olarak adlandırılmıştır. Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda aynı prensip ile farklı materyaller kullanılarak mekanik bir bariyer ile kemik oluşumunun sağlanabileceği ortaya konmuştur. Buser ve ark. tarafından YKR olarak adlandırılan bu yöntemde bariyer membranlar ve/veya greft materyali kullanılarak kemik yetersizliği olan bölgelerde yeni kemik oluşumu sağlanabilmektedir. YKR' da YDR' da olduğu gibi bağ dokusu ve epitel hücrelerinin defekt bölgesine göç etmesinin engellenmesi amacıyla bariyer membran uygulanması ve kemik yapıcı hücrelerin bölgede organize olmasının sağlanması amaçlanır. Böylelikle kemik oluşumu ve olgunlaşması için daha uzun süre tanınarak, osteojenik hücreler bölgede organize olur ve daha fazla kemik formasyonu görülür. Klinik pratiklerinde sık kullanılan bir yöntem olan YKR öngörülebilir sonuçları olan ve geniş endikasyon aralığına sahip bir yöntemdir.(33,34,35).

2.5.2 Kret Koruma İşlemlerinde Kullanılan Materyaller

2.5.2.1 Bariyer membranlar

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunda rezorbe olabilen ve rezorbe olamayan membranlar, planlanan rejenerasyonun spesifik amaçlarına yönelik olarak kullanılırlar. Bunyaratavej ve Wang yaptıkları araştırmada YKR' da kullanılan materyallerin uygun olması gereken kriterleri belirtmişlerdir;

1. Biyouyumluluk: Yabancı cisim reaksiyonu oluşturmamalı
2. Örtücülük: Yumuşak dokuların göçüne engel olarak yara bölgesini örtülemeli
3. Kullanım kolaylığı: Klinik uygulaması kolay olmalı

4. Yer tutuculuk: Defekt hacmini korumalı, kas ve mukoza baskısına dirençli olmalı

5. Hem yumuşak dokuyla hem de kemik ile iyi bir kaynaşma sağlamalıdır.(36)

YKR tarihçesinde ilk olarak Teflon esaslı (PTFE) rezorbe olmayan membranlar kullanılmıştır. Daha sonra teflon geliştirilerek, gerilmiş politetrafloroetilen (e-PTFE) membranlar üretilmiştir. Yapılan insan ve hayvan çalışmalarında e-PTFE membranlar YKR yönteminde histolojik olarak yeni kemik oluşumu açısından değerlendirilmiş ve ogmentasyon uygulamalarında uygun bir materyal olduğu sonucuna varılmıştır.(35,37,38) Sonrasında üretilen yüksek densiteli (d-PTFE) membranların tamamen hücre-geçirmez olması, ekspoz olunca minimal enflamasyon göstermesi ve dokulara tam entegre olmayarak rahat uzaklaştırılabilmesi gibi avantajları bulunmaktadır.(39,40). Titanyum destekli PTFE membranların kullanımı ile dış kuvvetler ile membran kollapsı ve greftlenen alanın hacminin kaybı gibi sorunlar ortadan kaldırılmıştır.(41,42).

YKR'da rezorbe olmayan membran kullanımı operasyon sonrasında dehisens oluşumuna ve enfeksiyon gelişmesi sonucu kemik kazanım miktarının önemli ölçüde azalmasına neden olabilmektedir. Ayrıca rezorbe olmayan membranın çıkarılması için ikinci bir cerrahi işleme gerek duyulmaktadır.

Rezorbe olmayan membranların komplikasyonlarını elimine etmek amacıyla rezorbe olabilen membran üzerine araştırmalar yapılmıştır. Doğal ve sentetik olarak 2 farklı kaynaktan elde edilirler. Doğal membranlar hayvan kaynaklı tip I kollajenden üretilirken sentetik olanlar alifatik polyester, polilaktik ve poliglukolik asit kopolimerlerinden sentezlenir. Kollajen membranlar enzimatik degradasyona uğrarken, sentetik membranlar hidroliz ile degrade olur.

Rezorbe olmayan membranlarda olduğu gibi rezorbe olabilen membranlarda da yumuşak doku dehisensi ve ekspoz görülebilir. Fakat ağız ortamına açılan membranın yıkımı hızlanır ve yeni oluşan kemik miktarı azalır.(43). Rezorbe olmayan membranlara kıyasla rezorbe olabilen membranların doku uyumu daha iyi olmasına karşın greftlenen alanın hacmini korumasında daha az başarılıdır ve kollaps görülebilir.(44).

Kollajen membranın insan osteoblast proliferasyonunu ve alkalin fosfataz aktivitesini arttırdığını gösteren çalışmalar yapılmıştır.(45). İasella ve ark greft ve

kollajen membran ile tedavi edilen çekim soketlerinin iyileşmesini normal iyileşmeye bırakılan soketlerle karşılaştırmışlar ve YKR uygulanan grupta çok daha az kemik kaybı olduğunu saptamışlardır. Alveoler kemik defektlerinde kollajen membran kullanımının e-PTFE membrana bir alternatif olabileceğini gösteren çalışmalar yapılmıştır.(46). Çavdar ve ark yaptığı çalışmada çekim soketlerine greft ve kollajen membran uygulanan grupta herhangi bir materyal uygulanmayan gruba göre kret hacminin korunması, rezorpsiyonun azalması açısından daha başarılı sonuçlar saptanmıştır.(13).

Uygulanacak olan membranın seçimi greftlenen bölgeye yerleştirildikten sonra kalması istenilen süreye göre yapılır. Operasyon sonrası 3 ay kadar bölgede bariyer görevi görmesi istenildiği durumlarda rezorbe olan membranlar tercih edilebilirken, yaklaşık 6 ay bölgede kalması istenilen durumlarda rezorbe olmayan membranlar kullanılır. (47,48). Kullanılan membranın rezorpsiyonu lokal pH seviyesinden de etkilenebilir. Kollajen membranların hemostaz sağlaması, diş eti kaynaklı fibroblastlar için kemotaktik olması, manipülasyonunun PTFE' ye kıyasla kolay olması, doku kalınlığını arttırabilmesi gibi birçok avantajı vardır. Membranın ekspoz olduğu durumlarda bile kemotaktik özelliği ile üzerinde epitelizasyonun devamını sağlayarak geç dönemde yara kapanmasına izin verir.(36).

2.5.2.2 Kemik Greftleri

Vücutta bulunan kemik dokusuna ait deformitelerin rekonstruksiyonunda, yer tutucu özelliği ile birlikte kemik yapımını stimule eden tüm biyomateryaller bu tanıma uyarlar. Kemik greftleri 4 farklı mekanizma ile iyileşme gösterirler;

1. Osteointegrasyon
2. Osteogenezis
3. Osteoindüksiyon
4. Osteokondüksiyon (49).

Osteointegrasyon: Uygulanan kemik greft materyali ile rezidüel kemik arasında fibrotik herhangi bir tabaka oluşmadan mekanokimyasal bir bağın meydana gelmesidir.(50,51)

Osteogenezis: Defekt bölgesine uygulanan kemik oluşturma potansiyeline sahip hücrelerin (osteoprogenitör hücreler) veya kemik yapıcı hücrelere farklılaşma yeteneğine sahip hücrelerin (osteoprokürsor hücreler) kemik rejenerasyonunu sağlamasıdır. Osteogenetik potansiyele sahip greftler hem osteoindüktif hem de osteokondüktif özelliğe sahiptirler. Bu özelliğe sahip tek greft materyali otojen kemik greftleridir.(49,52,53,54)

Osteoindüksiyon: Uygulanan kemik greftindeki indükleyici proteinlerin veya kemik morfojenik proteinlerin etkisiyle mezenşimal hücrelerin osteoprogenitör hücrelere dönüşümü ile gerçekleşir. (49,55,56) Farklılaşmamış mezenşimal hücrelerin osteoblastlara ve kondroblastlara dönüşümü gerçekleşir. Allogreftler, heterogreftler ve BMP (bone morphonetic protein) osteoindüktif potansiyele sahip kemik grefti materyalleridir. (55)

Osteokondüksiyon: Defekt bölgesine yerleştirilen kemik greftinin bir çatı görevi görmesi ve zamanla rezorbe olup yeni oluşan kemik ile yer değiştirmesidir. Osteokondüktif özellikte olan greft materyalleri, yeni oluşan vaskülarize dokunun greftin arasına ilerleyip organize olmasına ve osteojenik potansiyeldeki hücrelerin migrasyonuna izin vererek osteojenik rejenerasyonu sağlarlar. Sentetik kemik greftleri yalnızca osteokondüktif özellikteki kemik greftleridir.(49,52,53,54)

2.6 Kemik Greftlerinin Sınıflandırılması

Otojen greftler: Aynı canlıya ait kemik dokusunun alınıp yine aynı canlıya ait başka bir alana transplantasyonunda kullanılan greftlerdir.

Allogreftler: Aynı türden fakat farklı canlıdan alınan kemik dokularıdır.

Ksenogreftler: Farklı türden bir canlıdan elde edilen greft materyalleridir.

Alloplastik biyomateryaller: Canlı dokudan elde edilmeyen, sentetik olarak üretilen inorganik greft materyalleridir.(14,49)

Kemik greftleri şu şekilde sınıflandırılmaktadır;

- A. Kemik Kaynaklı Biyomateryaller
 - a. Otojen Kemik Grefti
 - 1. Kortikal Kemik
 - 2. Kansellöz Kemik
 - İntraoral kaynaklı
 - Ekstraoral kaynaklı
 - 3. Kortikokansellöz Kemik
 - b. Homojen Kemik Grefti
 - 1. İzogreft: Taze kansellöz kemik iliği
 - 2. Allogreft
 - Taze dondurulmuş kemik
 - Dondurulmuş kurutulmuş kemik
 - Dondurulmuş kurutulmuş dekalsifiye kemik
 - Solventlerle dehidrate edilmiş kemik
 - c. Heterojen Kemik Grefti (Ksenogreft)
 - 1. Demirealize edilmiş kemik
 - 2. Deproteinize edilmiş kemik
- B. Kemik kaynaklı olmayan sentetik biyomateryaller (Alloplastlar)
 - a. Doku Kaynaklılar
 - 1. Dentin
 - 2. Sement
 - 3. Kıkırdak
 - 4. Sklera
 - 5. Duramater
 - b. Metaller
 - c. Jelatin Film
 - d. Polimerler
 - 1. Polimetilmetakrilat
 - 2. Proplast
 - 3. Polialioxanone
 - 4. Poliamide Metch
 - 5. Poliglactin 910
 - 6. Sert doku replasmanı
 - 7. Polietilen

8. Polipropilen
9. Silikon
10. Politetraflouroetilen (Teflon)

e. Seramikler

1. Kalsiyum Sülfat
2. Kalsiyum Alimurat
3. Kalsiyum Karbonat
4. Bioaktif cam ve cam seramikler
5. Kalsiyum Fosfat

a. Rezorbe olanlar

1. Trikalsiyum-fosfat
2. Hidroksiapatit

b. Rezorbe olmayanlar

1. Yoğun Hidroksiapatit
2. Poröz Hidroksiapatit

C. Doğal Materyaller

- a. Kollajen
- b. Demiralize kemik matriksi (DBM)
- c. Kemik morfojenik proteinler (BMP)
- d. Trombositten zengin plazma (TZP) (49)
- e. Trombositten zengin fibrin (TZF)
 1. Membran formu
 2. Likid formu (i-TZF)

Kemik Kaynaklı Biyomateryaller

Otojen Kemik Greftleri

Aynı tür canlıdan alınan greft materyalleridir. Canlılığını koruyabilen, osteogenetik potansiyele sahip ve osteoprogenitör hücreler içeren tek greft türüdür. Transplante edilen canlı hücre sayısı ile doğru orantılı olarak kemik kazanım miktarı da artmaktadır. (57,58)

Otojen kemik greftleri konağa ait osteoblastlar ve osteoblastlara diferansiyasyon yeteneği olan mezenşimal hücreler içerdiğinden defektlerin

rekonstrüksiyonunda sıklıkla kullanılırlar. Kemik formasyonunda çatı görevi görerek yeni oluşan kemiğe uygun ortam sağlamaları ve osteoindüktif potansiyele sahip büyüme faktörleri içermesi avantajları arasındadır. Bu bağlamda osteogenetik, osteoindüktif ve osteokondüktif özelliklere sahip tek greft materyalidir. Elde edilmesi esnasında başka bir operasyon sahası gerekliliği, sınırlı miktarda temin edilebilmesi, manuplasyonunun zor olması ve hasta konforunun azalması gibi dezavantajlara sahiptir. (58,59)

Vücudun çeşitli bölgelerinden kansellöz, kortikal veya kortikokansellöz formlarda elde edilebilirler.

1. Kansellöz Kemik Greftleri: Medullar kemik ve kemik iliğini içerir, osteojenik hücre açısından zengindir. Partiküllü yapısı ve geniş yüzey alanı sayesinde revaskülarizasyon hızlı gerçekleşir, hücreler vitalitesini korur. Kortikal ve kortikokansellöz kemiklere göre daha hızlı revaskülarize olur fakat mekanik basınca daha dayanıksızdır. Endosteal osteoblastlar proliferasyon olduktan sonra kansellöz kemik trabeküller çevresinde osteoid oluştururlar. Bu formdaki greftler için en uygun alıcı bölge iliak kemiktir. (58,59)

2. Kortikal Kemik Greftleri: Lamel yapılarından oluşan kemik parçalarıdır. Transplante edilen asıl hücre tipi osteositlerdir. Kansellöz kemiklere göre çok daha yavaş revaskülarize olur. Bu greftlerde osteoblastik aktiviteden önce osteoklastik aktivite başlar. Havers sistemleri ilk olarak rezorbe olur, daha sonra osteoblastik aktivite ile bu alanlar doldurulur. Transfer edilen hücrelerden ve endosteumdan oluşan osteoid konsolidasyon döneminde birleşir.(49,59)

3. Kortikokansellöz Kemik Greftleri: Kansellöz kemik yapısı üzerinde kortikal tabakayı içerir. Basınca karşı yapısal bütünlük sağlamalarının yanı sıra canlı osteoblastları içerdiklerinden revaskülarizasyon potansiyelleri de yüksektir. Bu tip kemikler iliak kemikten rahatlıkla elde edilebilirler.(59)

Allojenik Greftler

Aynı türden farklı canlılardan elde edilen greftlerdir. Alıcı ve verici canlılar arasında genetik farklılıklar olduğu için doku reddini önlemek amacıyla çeşitli yöntemler uygulanır. Bu yöntemler; kaynatma, kurutma ve ısıtma, kurutma ve

dondurma, deproteinize etme ve dondurma şeklinde uygulanır. Bu uygulamalar ile greftteki osteojenik hücreler yok edilir, bu nedenle bu tür greftlerin osteogenetik özellikleri bulunmaz, yalnızca sert doku matriksi oluştururlar. Allogreftlerin başlıca formları;

1. Dondurulmuş kemik (Frozen bone)
2. Taze dondurulmuş kemik (Fresh frozen bone)
3. Dondurulmuş kurutulmuş kemik (FDBA: Freeze-dried bone allograft)
4. Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik (DFDBA: Demineralized freeze-dried bone allograft)
5. Radyasyon ile işlem görmüş kemik (Irradiated bone) olarak sınıflandırılır. (59,60)

Temin edilmesinin kolay olması, ikinci bir cerrahi bölgeye ihtiyaç duyulmaması, anestezi ve operasyon süresinin azalması, hasta konforunun artması gibi avantajları nedeniyle otojen greftlere alternatif olarak öne çıkmıştır. Transplante edilen bireyde antijenik reaksiyon geliştirme riski taşınması dezavantajını bulundurlar. Taze allogreftler en fazla antijenik olanlarıdır. Diğer doku ve organ nakillerinde olduğu gibi kadavra kemiği de reddedilebilir. Dondurma veya kurutulup dondurma işlemleri antijeniteyi azaltır. Osteojenik olmadıkları için kemik oluşumu otojen greftlerden daha uzun sürede gerçekleşir. Greftleme başarısının artırılması için otojen greftler ile karıştırılarak kullanılabilirler. (61)

Klinik pratiklerinde en sık kullanılan allogreft kurutulmuş dondurulmuş kemik greftleridir. Demineralizasyon işlemi greftin mineralize yüzeyini ortadan kaldırarak altta bulunan kollajenlerin, büyüme faktörlerinin ve morfojenetik proteinlerin açığa çıkmasını sağlar. (61,62).

Ksenojenik Greftler

Farklı tür canlıdan elde edilen greftlerdir. Biyouyumlu ve osteokondüktif potansiyele sahip olan bu greftler genellikle sığır, doğal mercan, domuz ve at gibi canlılardan elde edilirler. (60)

Ayrı bir operasyon sahası gerektirmemesi, istenilen miktarda temin edilebilmeleri gibi avantajlara sahiptir. Osteogenezis için canlı hücre içermemeleri ve antijenik potansiyele sahip olmaları gibi dezavantajları bulunur. Yeni kemik

oluşumunda yalnızca çatı görevi görür ve matriks oluştururlar. Organik solventler ile hazırlanan ve bu esnada immunojenitesinin çoğunu kaybeden sıgır kemiği en sık kullanılan heterogreft kaynağıdır. Etilen diaminde 24 saat bekletildikten sonra organik bileşenlerinden ayrılır, geriye kalan kalsiyum matriks sterilize edilir. Böylelikle herhangi bir immün reaksiyona neden olmaz. (64)

Deminerale formunda kemik matriksindeki kollajen olmayan proteinler ortaya çıkar. Kemik demineralizasyonları sınırlı uygulanan non-kollajen proteinlerin geniş fraksiyonları osteoindüktif özelliğe de sahiptir. Orjinal dokunun trabeküler kollajen yapısı korunur ve yeni oluşacak kemik için osteokondüktif iskelet yapısı oluşur. Kemik demineralizasyonu ile tüm kemik büyüme faktörleri elimine edilmez. (50,63).

Ekstraselüler kemik matriksi kollajenden zengin içeriğe sahiptir. Kollajen, kemik oluşumunda mineral çökmesi, damarsal büyüme ve büyüme faktörlerinin bağlanması sırasında uygun bir ortam sağlar. Bir diğer yandan, kollajen immüjenite riskini taşır ve minimal yapısal destek sağlar. Sıklıkla diğer kemik greftleri ile birlikte etkin doldurucu olarak kullanılır. (50,64).

Bu greftler osteoblastlar tarafından gerçekleştirilen rejenerasyona uygun çatı sağlarlar. Kist boşluklarında, ogmentasyon prosedürlerinde ve implant uygulamalarında sıklıkla kullanılırlar. Partiküllü, jel, puty kıvamda veya blok formunda bulunabilirler. (64,65).

Dondurulup kurutulma işlemi geçiren greftlerin geç dönemde vasküler penetrasyon, yavaş kemik iyileşmesi, hızlı kemik rezorpsiyonu, tamamlanmayan greft-kemik kaynaşması gibi dezavantajları görülebilmektedir. (66).

Sentetik Greftler (Alloplastlar)

Otojen greftlerin elde edilmesi için ikinci bir cerrahi saha gerektirmesi, allogreftlerin ve ksenogreftlerin ise rezorpsiyon riskleri nedeniyle alternatif olarak üretilen, yapay olarak elde edilen greftlerdir. Kullanımları kolaydır ve istenildiği miktarda temin edilebilirler. Yapısal olarak kemiğin inorganik yapısına benzerler. Yalnızca osteokondüktif potansiyellerinin olması ve yabancı doku reaksiyonu meydana getirebilmesi dezavantajlarıdır. (67)

Oral cerrahide, defektin rekonstrüksiyonunda fiziksel bir iskelet görevi görürler fakat osteogenetik ve osteoindüktif özellikleri olmaması nedeniyle genellikle

diğer greft materyalleriyle karıştırılarak uygulanırlar. Pörözitelere göre yoğun, makropöröz veya mikropöröz yapıdadırlar. Biyoaktif camlar, biyoseramikler ve polimerler olarak gruplandırılabilirler. Oral cerrahi pratiklerinde en sık kullanılan alloplastik greftler hidrosiapatit ve trikalsiyum fosfat formlarıdır.(68)

2.7 Trombosit Konsantratları

Oral ve maksillofasiyal cerrahi pratiklerinde kritik boyuttaki cerrahi defektlerin onarımında çeşitli greft materyalleri ile yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu uygulamaları başarılı sonuçlar göstermiştir. Araştırmacılar kemik iyileşmesinin hızlandırılması ve operasyon maliyetinin düşürülmesi amacıyla büyüme faktörleri ve otolog preparatları biomateryaller ile kombine ederek uygulamaya başlamışlardır. (69,70) Fakat büyüme faktörlerinin elde edilmesinin zor olması, uygulanan kemik greftlerinin osteindüktif potansiyellerinin artırılmasında otolog konsantralara yönelime neden olmuştur. İlk olarak 1970'li yıllarda cerrahi adeziv ve doku yapıştırıcıları tanımlanmıştır. Ancak maliyetinin yüksek olması ve fibrin yoğunluklarının istenilen seviyede olmaması nedeniyle başarıya ulaşamamıştır.(69,71)

Sonraki yıllarda hastaların kendi kanındaki yüksek trombosit içeriği ve trombosit kaynaklı büyüme faktörlerinden faydalanma fikri ile ilk olarak 1997' de trombositten zengin plazma (TZP) bulunmuştur. (72)

2.7.1 Trombositlerin Yara İyileşmesindeki Rolü

Trombositler, disk şeklinde ve 2-4 mikron çapındaki hücrelerdir. İnsanda periferel kanda 150.000-400.000/mm³ miktarında bulunurlar ve çekirdeksizdirler. Sentezlenmeleri kemik iliğinde bulunan ve megakaryosit olarak bilinen, dev polipoid hücreler tarafından gerçekleştirilir. Bir megakaryositten ortalama 1000-3000 trombosit üretilir. Trombositlerin ömrü yaklaşık 9-10 gün kadardır ve yaklaşık 1/3 ü dalakta depolanır. Trombositlerin yıkıma uğradıkları yer de yine dalaktır.(73,74)

Trombositler, lizozomal, α -granülleri ve electron dense organelleri (γ -granülleri) olmak üzere 3 çeşit granül içerir. α -granülleri bazı trombosit-spesifik proteinler bulundururlar. Bu proteinler β - tromboglobulin ve trombosit kaynaklı

büyüme faktörü (PDGF), endotel hücresi büyüme faktörü (PD-ECGF) ve dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β) gibi çeşitli büyüme faktörleridir. α -granülleri ayrıca fibrinojen, faktör-5 ve Von Willebrand faktörü gibi hemostatik proteinler de içerir. Her bir trombositte ortalama 50-80 adet α -granülü olduğu bilinmektedir. γ -granülleri ise adenozin trifosfat (ATP), ADP, Ca^{+2} ve serotonin içerir. (73,74)

Trombositler kollajen yapımını ve hücre mitozunu arttıran, diğer hücrelerin yara bölgesine gelmesini sağlayan, vaskülarizasyonu başlatan ve hücrelerin transformasyonunu indükleyen büyüme faktörlerini içerir. Bu büyüme faktörleri trombositler aktivasyona uğradığında ortama salınırlar. TGF- β ve PDGF, sert ve yumuşak dokuların iyileşmesine önemli yarar sağlarlar ve kollajen üretimini uyarır, kallus formasyonunu başlatırlar. VEGF ise doku iyileşmesinin primer basamağı olan damarsal ağın oluşumunu sağlayan önemli bir anjiyojenik büyüme faktörüdür. (74,75)

Yara bölgesine hücre salınımı ve büyüme faktörlerinden zengin içeriği nedeniyle araştırmacılar doku iyileşmesinin hızlandırılmasında trombosit yoğunluğunun artırılmasının etkileri üzerine bir çok çalışma yapmaya başlamışlardır.

2.7.2 Trombositten Zengin Plazma (TZP)

Otojen bir kan komponenti olan TZP, trombositlerin bir miktar serum içerisinde yoğunlukları ve aktivasyonları artırılarak elde edilir.(76,77)

Büyüme faktörlerinden zengin içeriği ile uygulanan cerrahi sahada osteoblastik aktiviteyi artırarak yara iyileşme potansiyelini destekler. Kısa sürede ve kolay temin edilebilmesi araştırmacıların ilgisini çekerek cerrahi pratiklerinde bir çok çalışması yapılan osteoindüktif bir kan ürünü haline gelmiştir. (77,78)

Oral cerrahide ilk kez Whitman ve ark yaptığı çalışmada kullanılmıştır. Bu çalışmanın yazarları, jel içerisindeki trombositlerin aktive olması ve büyüme faktörü ihtivası sonucunda yara iyileşmesinin hızlandığını rapor etmişlerdir.(72)

TZPnin popolaritesi 1998 yılında Marx ve ark yaptığı çalışma ile artmıştır. Mandibular defektlerde otojen greftler ile kombine uygulanan TZP' nin radyolojik ve histolojik olarak kemik rejenerasyonunu arttırdığı görülmüştür.(76,78)

Köpeklerde oluşturulan mandibular defektlerde TZP ' nin etkisinin incelendiği bir çalışmada, TZP ile kombine edilen ve edilmeyen otojen greftlerin iyileşme düzeyleri karşılaştırılmıştır. Çalışmanın histolojik ve radyolojik sonuçlarına göre PRP' nin otojen greftler ile birlikte mandibular defektlere uygulanmasının erken dönemdeki kemik rejenerasyonunu hızlandırdığı görülmüştür. (79)

TZP, hastanın kendi kanından bir dizi santrifüj işlemiyle elde edilen, osteoindüktif yapıdaki yüksek trombosit içeriğine sahip bir plazmadır. Sağlıklı bireylerde periferel kandaki trombosit yoğunluğu %4 iken, TZP'deki trombosit oranı yaklaşık %95 tir ve mikrolitrede 2 milyondan fazla aktif trombosit bulunur. Güncel yöntemlerde TZP oluşumuyla trombosit yoğunluğunda %300-700 oranında artış sağlanabilmektedir. Yapılan çalışmalarda TZP uygulanan bölgelerde trombosit kaynaklı büyüme faktörlerinin %338 arttırılabildiği belirtilmiştir. (74)

TZP'nin yara iyileşmesi üzerine birçok avantajı bulunmasına rağmen bir dizi santrifüj işlemi gerektirmesi ve ekstrinsik hayvan kaynaklı antikoagulan ilavelerinin enfeksiyon riski taşıması nedeniyle araştırmacılar yalnızca otolog orijinli ve basit prosedürlü bir preparat arayışına girmişlerdir.

2.7.3 Trombositten Zengin Fibrin (TZF)

TZP ' nin kemik oluşumuna etkilerinin erken dönemde gerçekleştiği ve ilerleyen dönemlerde azaldığı veya tamamen ortadan kalktığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Lacoste ve ark yaptıkları çalışmada TZP ile elde edilen yüksek konsantrasyondaki trombositlerin periferdeki osteoblastlar bölgeye henüz ulaşmadan büyüme faktörlerinin olması gerektiğinden hızlı ortama salınmasına neden olduğunu rapor etmişlerdir. Bu nedenle trombosit kaynaklı büyüme faktörleri osteoblastlarla karşılaşamayarak kemik iyileşmesine olumlu etki edememişlerdir.(80)

Kemik rejenerasyonunda TZP'nin sınırlı etkisi olması nedeniyle ikinci nesil trombosit konsantrasyonu olan ve herhangi bir ekstrensik trombin ilavesi gerektirmeyen trombositten zengin fibrin (TZF) geliştirilmiştir.

TZF, TZP'den farklı olarak santrifüj esnasında doğal ve kademeli bir polimerizasyon ile meydana gelir. Polimerizasyon hızının azalması sitokinlerin fibrin ağı ile bütünlüğünü artırır. Bu sayede TZF'nin fibrin ağıdaki çözülebilir moleküllerinin daha kontrollü ve uzun süre salınımını yapabilirler.(81)

TZF, ilk olarak 2000' li yılların başında Choukroun ve ark (82) tarafından, geniş kronik yaralarda ve amputasyona neden olan büyük ülserlerin tedavisinde kullanılmıştır. Araştırmacılar TZP'nin içerdiği antikoagulan ilavesinin trombosit kaynaklı büyüme faktörlerinin oluşumuna engel olabileceğini savunmuşlardır. (83-84) Bu noktada, Choukroun ve arkadaşlarının bulduğu yöntemde TZF' nin oluşturma protokolü PRP' ye göre çok daha kolaydır. 9ml tüplere alınan kan 2700 rpm (dakikadaki devir sayısı)' de 12 dakika santrifüj edilir. Tüplerde antikoagulan ilavesi olmadığı için 1-2 dakika içerisinde trombositler aktive olarak koagülasyonu başlatırlar. Öncelikle fibrinojen tüpün üst kısmında konsantre olur ve trombinler fibrine dönüşür. Santrifüj işlemi sona erdiğinde ise trombositten zengin olan fibrin ağı kısmı orta kısımda yer alırken, üstte aselüler plazma ve alt kısımda kırmızı kan hücreleri yer alır. Yoğun bir jel kıvamında olan TZF bir presel yardımıyla tüpün içerinden alınarak TZF kutusuna yerleştirilir ve metal kapağın fiziksel ağırlığı ile ezilerek membran formu alması sağlanır. Yaklaşık 1 dakika sonunda otojen bariyer membran elde edilir.(83)

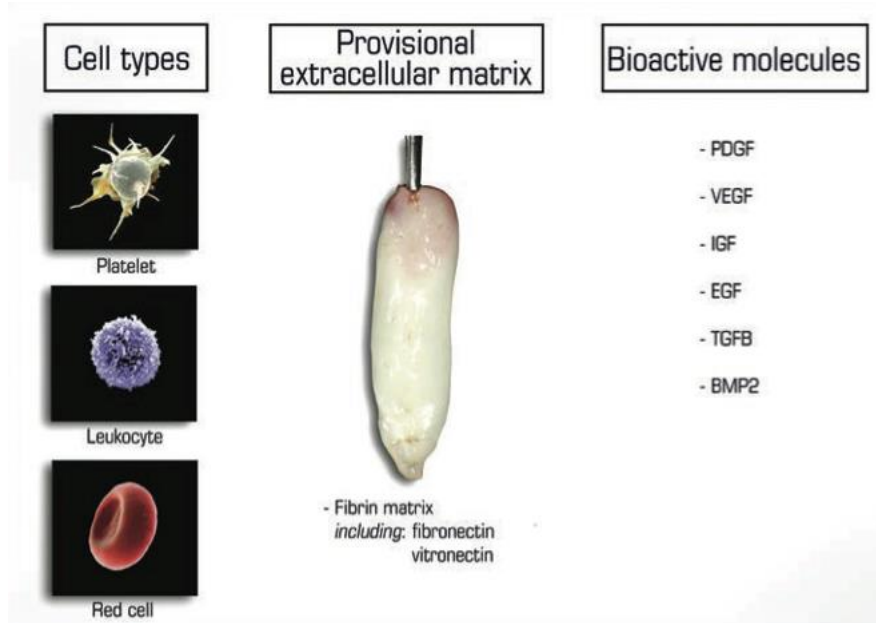
TZF elde etmede başarı, tamamiyle kan elde edilmesi ve santrifüj işleminde transfer hızına bağlıdır. Çünkü antikoagulan içermeyen tüpler ile kan temas ettiği anda koagüle olmaya başlar. Klinik olarak elverişli TZF elde etmede, alınan kan örneğinin olabildiğince hızlı manipülasyonu en önemli unsurdur. Transfer süresi uzarsa TZF membran eldesi başarısızlıkla sonuçlanır.(81)

Oluşturma protokolü trombositlerin ve sitokinlerin bir fibrin ağı içinde toplanması esasına dayanmaktadır. Fiziksel olarak çözülebilir olan sitokinler enflamasyon ve doku iyileşmesi için kilit hücrelerdir. (81)

İlk olarak uygulanan TZF protokolünde (L-TZF) %97 trombosit ve %50' den fazla miktarda lökosit içeren, kan ile kıyaslandığında çok daha yüksek densiteli bir fibrin ağı elde edilebilmiştir.(85)

Doku rejenerasyonunda kilit rol almasını TZF' nin üç ana içeriği sağlar. TZF, sadece lökosit, makrofaj, nötrofil ve trombosit gibi konak hücreleri içermekle kalmaz, aynı zamanda 3-boyutlu fibrin matriks ve içerisinde çeşitli büyüme faktörleri de barındırır. Bu büyüme faktörleri TGF- β , PDGF, VEGF (damarsal endotelial büyüme faktörü), IGF (insulin benzeri büyüme faktörü) ve EGF (epitelyal büyüme faktörü)' dür. Son yıllarda yapılan araştırmalarda lökositlerin trombositlere kıyasla

yeni kan damarı oluşumunu ve doku formasyonunu daha fazla desteklediği belirtilmiştir. (81,82,86-88)



Şekil 6: TZF' nin 3 Ana İçeriği (83)

1. **Konak Hücreler** (lökosit, makrofaj, nötrofil ve trombosit)
2. **Üç boyutlu fibrin matriks**
3. **Büyüme faktörleri** (TGF- β , PDGF, VEGF, IGF ve EGF)

Doku adezivleri ve TZP'nin aksine TZF santrifüj anında doğal ve kademeli bir polimerizasyon ile oluşur. Böylelikle bütünüyle homojen ve fibrin pıhtıya göre daha adeziv bir yapı meydana gelir. Ek olarak polimerizasyon sırasında sitokinler de fibrin ağı içerisine hapsolürler. TZP nin aksine yalnızca sikatrisyel matriks oluşumunda salınırlar ve bu sayede etki süreleri uzar. Kanın fizyolojik trombin ile yavaş polimerize olması elastikiyeti yüksek bir matriks yapısı oluşumunu sağlar. TZP' de ise hızlı polimerizasyon fibrin matriks içindeki sitokin bütünleşmesini zorlaştırır. (80)

Ayrıca oluşturulan birçok çalışma grubunda fibrin matriks içerisinde yer alan beyaz kan hücreleri sayesinde yara iyileşmesiyle birlikte yabancı patojenlere karşı bir defans gerçekleştirdiği saptanmıştır. Bu sayede TZF uygulanan gruplarda daha düşük enfeksiyon oranları görülmüştür. Araştırmacılar PTZF' nin bu etkisini enfeksiyonda ilk olarak bölgeye gelen makrofaj ve nötrofillerin fibrin matriks içerisinde yer almasına bağlamışlardır. Ayrıca lökositlerin interlökin-1 β (IL-1 β), interlökin-6 (IL-

6), interlökin-4 (IL-4) ve tumor nekroz faktörü- α (TNF- α) gibi anahtar immun sitokinler salgılanmasını sağlaması da anti-enfektif etki oluşturur. Bu nedenle, cerrahi esnasında TZF kullanıldığında debrislerin, mikroorganizmaların ve nekrotik dokuların fagozitozunda asıl görevli olan bu hücrelerin sayısı artarak doku iyileşmesinin başlangıç evrelerinde konak savunmasına destek verirler.(89-91)

Yara iyileşmesinde enflamasyon genellikle 3 fazdan oluşan bir süreçtir. Bunlar; vasküler faz, hücresel faz ve sikatrizasyon fazlarıdır. Vasküler fazda hemostaz gelişir ve lökositler aktive olarak yara sahasına ulaşır. Enflamasyon alanına ilk olarak lökositler gelir ve sitokinler ile büyüme faktörleri salınımını sağlayarak yara iyileşmesine direkt etki ederler. Enflamasyon mediyatörleri fibroblast aktivasyonunda, proliferasyonda, biyosentetik aktivitenin uyarılmasında ve proteazların (MMP, plazmin) salgılanmasında etkilidir. Sitokinler ise dokunun hemostatik dengesinin sağlanmasında rol oynarlar.(92)

Anjiyogenezisin arttığı dönemlerde TZF kök hücreler için fizyolojik bir fibrin matriks rolü oynar. Mezenşimal kök hücreler ve çeşitli dokuların rejenerasyonunu sağlar. Başkalaşmamış bu hücreler kan ile yaralanan bölgelere gelerek bir çok farklı hücre tipine dönüşebilirler. Farklılaşma periyodu için fibrin ve fibronektinden oluşturulan bir skar matriksi gereklidir. Bu durum fibrinin hücreler için önemini ortaya koymaktadır. Yapılan bir çok çalışmada kemik defektlerinin rehabilitasyonunda mezenşimal hücrelere destek bir yapı sağlayan fibrin matriksinin önemi vurgulanmıştır. (82)

Zengin lökosit içeriği sayesinde TZF yalnızca bir trombosit konsantrasyonu değil, aynı zamanda dokunun defans mekanizmalarını uyaran bir immün ağ görevi görür.(81)

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada TZF matriksin histolojik yapısında lökositlerin fibrinin alt sınırına yakın alanda yoğunluğunun arttığı görülmüştür. Bu sonuca göre santrifüj hızının oluşturduğu kuvvetin (G-force) lökositleri daha fazla aşağıya ittiği ve fibrinden uzaklaştırmaya çalıştığı anlaşılmıştır. Fibrin matriks içerisindeki lökosit miktarının artırılması ve homojen olarak dağılmalarını sağlamak için Choukroun ve ark düşük santrifüj hızı konsepti üzerine çalışmalar yapmışlardır. (93)

Önceki TZF elde etme yönteminde cam tüplere alınan kanın santrifüj edilmesinde 708 g değerindeki yüksek rölatif santrifüj kuvvetinin etkimesi

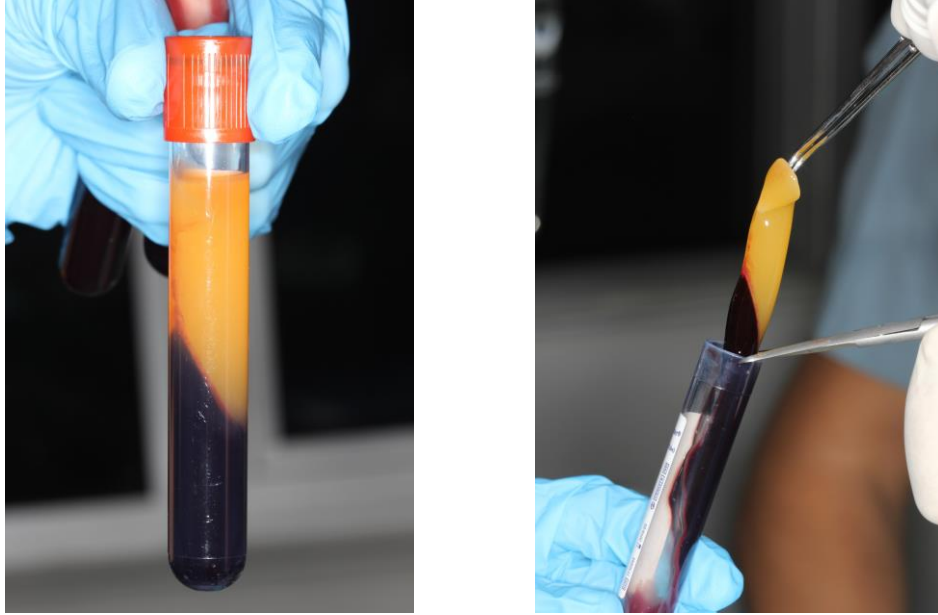
sağlanırken, dens yapıda, minimal interfibröz boşluk içeren solid bir fibrin elde edilir. Cam tüplerin spesifik yüzeyleri santrifüj esnasında koagülasyon kaskadının devam etmesine izin vererek solid fibrin oluşumunu sağlar. Bu fibrin iskeletinde trombositler, lökosit ve alt grupları gibi çeşitli inflamatuvar hücreler, lenfositler, makrofajlar ve kök hücreler bulunur. (94,95)

Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada daha pöröz yapıdaki A-PRF (Advanced Platelet Rich Fibrin)'de hücrel penetrasyon ve vaskülarizasyon açısından TZF'ye göre daha yüksek değerler görülmüştür. Farelere subkutanöz yerleştirilen A-PRF'nin vaskülarizasyon paterninin TZF' ye kıyasla 10 gün sonrasında anlamlı şekilde yüksek değerler gösterdiği belirtilmiştir. (96) Bu sonuçların elde edilmesi, düşük hızda santrifüj konseptinin büyüme faktörü salınımını artırması ve 10 günden fazla yavaş ve sürekli akümülyasyon göstermesi ile açıklanabilmektedir. Klinik uygulama açısından TZF' ye yakın dens bir yapı bulundurmasının yanı sıra pöröz özellikte olması ve sürekli büyüme faktörü salınımı yapması nedeniyle A-PRF kullanımının daha başarılı sonuçlar gösterdiği görülmüştür. (96).

Daha düşük santrifüj değerinde ortaya çıkan ısı değerinin daha düşük olması ve daha fazla canlı hücre elde edilebilmesi prensibiyle çalışmalar yapılarak Advanced PRF Plus (A-PRF+) geliştirilmiştir. Santrifüj değerlerinde hafif bir azaltma ile 208 g rölatif santrifüj kuvveti kullanılarak elde edilmiştir. Önceki PRF formlarıyla kıyaslandığında oluşan fibrinin kırmızı hücreli kısımdan ayırımı daha kolaylaştırılmıştır. Elde edilen A-PRF+ 'ın fibrin ağının porözitesi A-PRF'e benzer yapıda iken hücrel içerik ve büyüme faktörü içeriği açısından daha zengin olduğu görülmüştür. (97) Yapılan in vitro bir çalışmada uygulamadan 10 gün sonra TZF ve A-PRF' e kıyasla özellikle VEGF gibi büyüme faktörü salınımında A-PRF+ 'ta anlamlı şekilde yüksek değerler görüldüğü belirtilmiştir. Bu sonuçların düşük santrifüj değerlerinin, oluşan çeşitli büyüme faktörlerini fibrin ve fibrinojen içerisine gömmesi ve aktive hücreler ile etkileşmesini sağlaması nedeniyle gerçekleştiği düşünülmüştür. Yine aynı çalışmada A-PRF+ ve konak hücrelerin etkileşimleri incelendiğinde TZF' e kıyasla daha fazla büyüme faktörü salınımıyla birlikte tip 1 kollajen üretimiyle ilişkili mRNA seviyelerinde anlamlı şekilde artış saptanmıştır. (98).

Düşük hızda santrifüj konsepti, rölatif santrifüj kuvvetini azaltarak TZF matriksinin rejeneratif kapasitesini artırır. Flow sitometri kullanılarak analiz edilen

TZF, A-PRF ve A-PRF+ matriks örneklerinde rölâtif santrifüj değeri azaldıkça trombosit sayısının anlamlı şekilde arttığı görülmüştür. Lökosit sayısının ise A-PRF ve A-PRF+ 'ta TZF' ye göre daha fazla olduğu saptanmıştır. A-PRF+ matriksindeki lökosit sayısı ve büyüme faktörü salınımı miktarı arasındaki bu korelasyon, lökositlerin büyüme faktörü salınımında etkili olduğu ve rölâtif santrifüj kuvvetinin azalmasıyla TZF matrisinin rejeneratif kapasitesinin artırılmasını açıkladığı şeklinde yorumlanmaktadır. (83).



Resim 1: Santrifüj sonrası TZF membranının görünümü

2.7.4 Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrin (i-TZF)

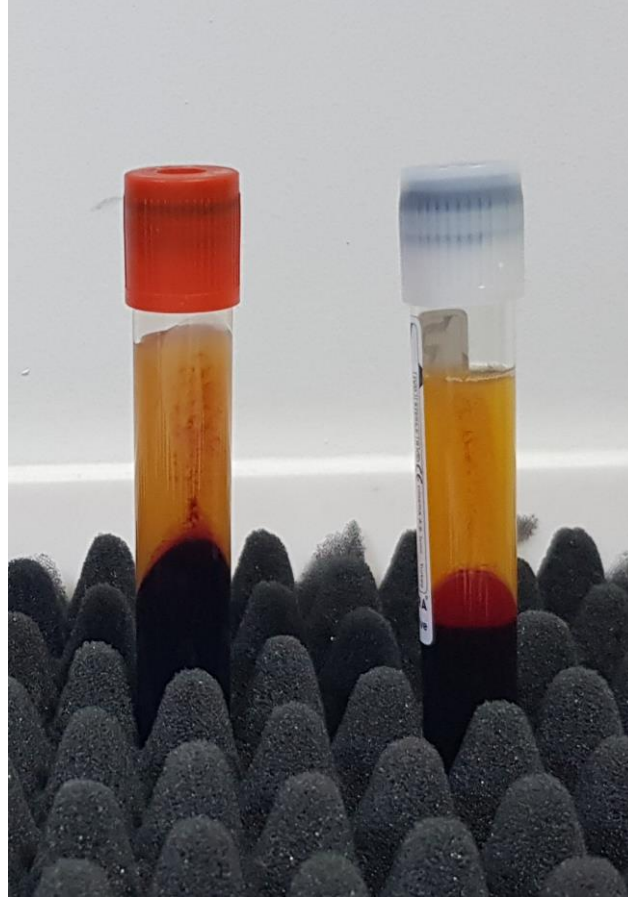
TZF bazlı matriks preparatlarının tek başına ya da biomateryaller ile kombine olarak başarılı ile uygulandığı birçok çalışma yapılmıştır. Fakat, sıvı formda uygulanabilir biyolojik bir sistemin eksikliği nedeniyle araştırmacılar hücresel açıdan çok zengin olan TZF' nin likid formunu elde etmek için araştırmalara yönelmişlerdir. Bu noktada cevaplamaları gereken kilit sorular şunlar olmuştur: rölâtif santrifüj kuvveti ne kadar azaltılmalı, ideal santrifüj değeri ne olmalı, sıvı formda TZF matriksi elde edebilmek için kaç rpm devirde ne kadar süre santrifüj uygulanmalı? (83)

Eksternal bir antiokoagulan ilavesine gerek kalmadan tamamen otojen orijinli, efektif ve sıvı formdaki kan konsantrasyonu elde edilmesi için ilk olarak özel plastik tüpler kullanılmıştır. Solid TZF elde edilmesinde kullanılan cam tüplerin aksine

plastik yüzeyli tüpler santrifüj süresince koagülasyon kaskatını aktive etmedikleri için düşük hızda santrifüj konseptine göre rölatif santrifüj kuvveti 60 g olacak şekilde ve plastik tüpler kullanılarak, herhangi bir antikoagulan ilave edilmeksizin sıvı formda TZF (i-TZF) elde edilebileceği belirtilmiştir.(99) Belirtilen yöntemde yapılan santrifüj sonunda kan, sarı-turuncu üst kısım (i-TZF) ve kırmızı alt kısım (kırmızı hücre fraksiyonu) olmak üzere 2'ye ayrılır. Bir şırınga yardımıyla kontrollü olarak aspire edilerek i-TZF kısmı elde edilir. Enjektör içine çekilen bu i-TZF matriksi 10-15 dk boyunca sıvı fazını korur. 60 g'a kadar düşürülerek üzerine etkiyen rölatif santrifüj kuvveti azaltılarak elde edilen i-TZF' nin flow sitometri ile incelemede diğer tüm TZF bazlı matrikslere kıyasla daha fazla sayıda trombosit ve lökosit içerdiği belirtilmiştir. Ayrıca i-TZF ile PRGF ve TZF gibi diğer likid formdaki kan konsantrasyonlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada trombosit, lökosit, monosit ve granulosit sayılarının anlamlı derecede fazla olduğu rapor edilmiştir.(98)

Az sayıdaki çalışmaların verilerine göre düşük hızda santrifüj konsepti ile solid TZF bazlı matriksler hücresel açıdan daha zengin ve rejeneratif kapasitesi artırılmış sıvı TZF formuna geliştirilebilmektedir. (99)

Henüz son yıllarda kullanılmaya başlanan i-TZF konsantratu, TZF ile benzer olmakla birlikte genellikle bir biyomateryal eşliğinde, çeşitli medikal ve cerrahi tedavilerde rejenerasyon amaçlı uygulanabilmektedir. Klinik olarak hücre-bazlı doku mühendisliğinde tamamen otojen kaynaklı olması sayesinde güvenle kullanılabilir. Kemik grefti materyalleriyle kombine edildiğinde bunların manüplasyonunu ve operasyon sahasında stabilizasyonunu artırarak önemli katkıda bulunur. Ayrıca, standart YKR tekniklerinde kullanılan kollajen içerikli biyomateryallere ilave edilerek fiziksel ve hücresel postansiyelleri geliştirilebilir. Biyomateryallerin, içeriği ne olursa olsun, i-TZF kullanılarak fonksiyonalizasyon ve biyolojik özelliklerinin geliştirilmesi, hastanın kanındaki rejeneratif komponentlerin, rejenerasyon sürecini hızlandırması olarak tarif edilebilir. (83)



Resim 2: Santrifüj sonrası i-TZF' nin ve TZF membranının görünümü

2.7.5 TZF Membran ve i-TZF' in Uygulama Alanları

TZF' nin ilk olarak bulunduğu 2001 yılından sonra modifiye edilmesiyle (A-PRF+, i-TZF) birlikte TZF bazlı konsantratların birçok cerrahi uygulama alanına penetre olduğu görüldü. Kolay elde edilebilirliği, minimal invaziv uygulamalara olanak sağlaması ve operasyon süresini kısaltması sayesinde TZF bazlı matrisler daha da önem kazandı. Özellikle oral ve maksillofasiyal cerrahi alanında, TZF matrisler çeşitli uygulama endikasyonlarıyla tanıştı.

Diş kaybı, travma veya çeşitli hastalıklar nedeniyle çenelerin atrofiye uğraması dental implant uygulamasını sınırlandıran major faktörlerdir. Bu nedenle, kemik rejenerasyonu ve ogmentasyonu amacıyla, özellikle yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu (YKR) gibi birçok cerrahi yaklaşım belirtilmiştir. A-PRF+ ve i-TZF' nin diş çekimi sonrasında soketin korunması amacıyla kullanımını alveolar atrofisinin önlenmesini sağlayan profilaktik bir yöntem olarak görülebilir.(100) Çene kemiklerinin atrofisinin önlenmesinin yanı sıra yara iyileşmesini desteklemekte ya da

kemik grefti materyali ile kombine uygulanmasıyla kemik ogmentasyonu yatağında rejenerasyon sürecini hızlandırmakta ve arttırmaktadır, böylelikle daha fazla miktarda kemik oluşumunu sağlamaktadır.(101)

Bir diğer yandan, periodontolojinin en önemli araştırma alanlarından yumuşak doku rejenerasyonunda TZF bazlı matrisklerin kullanımı, özellikle de i-TZF likidinin cerrahi alana uygulanması ile yöntemin kolaylaştırılması ileriki dönemlerde popüler olması beklenen konulardandır.

TZF bazlı matrikslerin kullanıldığı diğer alanlar arasında ise kronik periodontitis tedavisi, diş eti çekilmelerinde rejeneratif uygulamalar yer alır. (102-103) Ayrıca, vaskularizasyonun sınırlı olduğu ve yara iyileşmesinin baskılandığı çenelerin bifosfonatlarla ilişkili osteonekrozu (BRONJ) vakalarında TZF matriksleri uygulanmaktadır. BRONJ' un konvansiyonel tedavisinde etkilenmiş alanın eksizyonu ile elektif cerrahi tedavi uygulanmaktadır. (104) Fakat, TZF' in içeriği sayesinde daha minimal invaziv yaklaşımların klinik uygulamaları mümkün olabilmektedir. TZF matriksin membran olarak ya da i-TZF enjeksiyonları şeklinde uygulanması klinik olarak umut verici sonuçlar sağlamaktadır. (105)

Bir diğer yandan, diyabetik hastalarda veya rejeneratif potansiyelleri baskılanmış hastaların kronik yaralarında çeşitli büyüme faktörlerinin eksikliği söz konusudur. TZF bazlı matriksler, özellikle düşük hızda santrifüj konsepti ile elde edilenler otojen inflamatuvar hücrelerin rezervuarı ve devamlı büyüme faktörü salınımı rolünü üstlenirler.(98) Bu nedenle kronik yaraların TZF bazlı matriskler ile örtülmesi çok yaygın bir seçenektir. Bu yöntemin uygulanması kronik yaraların tedavisinde yara iyileşmesinin rejeneratif potansiyelini arttırmakta ve iyileşme sürecini hızlandırmaktadır.(83)

i-TZF'nin geliştirilmesi ile ortopedik cerrahi, eklemde artrit tedavisi ve spor yaralanmaları alanında yeni yaklaşımlar kazandırabileceği düşünülmektedir.(106,107)

Maksillofasial cerrahinin önemli bir alanını oluşturan temporomandibular eklem (TME) hastalıklarından eklem disfonksiyonu kronik ağrı ile karakterize bir durumdur. TME boşluğuna i-TZF enjeksiyonu sonrasında ağrının azaldığı ve klinik semptomların gerilediği belirtilen çalışmalar yapılmıştır. Bu nedenle, özellikle kronik ağrıya sahip hastalarda ağrıya neden olan alana i-TZF uygulanmasının ağrı kesici ihtiyacını ve bu ilaçların yan etkilerini azalttığı belirtilmiştir.(83)

Bir diğerk taraftan, estetik tedavilerde cildin gençleştirilmesi amacıyla otojen materyal olarak i-TZF kullanımının iyi sonuçlar verdiği ve eksternal materyallerin sebep olduğu enfeksiyon riskini azalttığı rapor edilmiştir.(83)

TZF bazlı matriksler çeşitli otojen komponentlerden oluşan ve birçok alanda etkin ve pratik olarak uygulanabilen kompleks sistemlerdir. Fakat, henüz yeni bir yöntem olan düşük hızda santrifüj konsepti ile ilgili yapılan klinik çalışmaların ve araştırmaların sonuçlarının ve hastaya yararlarının görülmesine ihtiyaç duyulmaktadır.(83)

2.8 Çalışmanın Değerlendirme Kriterleri

Rezonans Frekans Analizi (RFA)

Rezonans Frekans Analizi dental implantın stabilitesini ölçmek için kullanılan non invaziv ve güvenilir bir yöntemdir. İmplantın yerleştirildiği anda primer stabilitesinin, osteointegrasyon dönemi sonunda fonksiyonel yüklemeye öncesinde ise sekonder stabilitesinin değerlendirilmesini sağlar. (108,109)

Primer stabilite, implantın mevcut kemiğe yerleştirilerek iyileşmeye bırakılabilmesi için gerekli iken, sekonder stabilite ise fonksiyon esnasında ortaya çıkan kuvvetlerin karşılanması için gereklidir.(110)

İki farklı RFA cihazı geliştirilmiştir. Bunlardan elektronik metotta transducer ile aygıt arasında direkt bağlantı kurulur. İmplant abutment parçasına veya vidasına bir vida ile sıkıştırılan L şeklinde küçük bir iletici kullanılır. Vertikal kısma ise 2 seramik parça tutturulur. Bir frekans yanıt analiz edicisi ya da bir bilgisayar ile ileticinin dikey parçası piezoseramik elemanlarının birinin içinden frekanslar aracılığıyla titreştirilir. Diğereleman ise ileticinin titreşime verdiği yanıtı analiz eder. RFA, kemik-implant arayüzünün rijiditesi ve ileticiden ilk kemik-implant temasına kadar olan mesafe ile saptanır. Normalde frekans Hertz (Hz) ile ölçülürken, bunun değerlendirilebilir olmaması nedeniyle Hertz ISQ (implant stability quotient) değerine çevrilmiştir. Bu değerler 1-100 aralığında yer almaktadır.(111)

Diğeryöntemde ise transducer ve aygıt arasında manyetik frekans kurularak ölçüm gerçekleştirilir. Tepesinde mıknatıs olan bir çubuk, implant ve dayanağa vidalanır. Mıknatıs, kablosuz probdan gelen manyetik atış ile uyarılır ve ölçüm gerçekleştirilir.(111)

Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda; kemik greftine büyüme faktörlerinden ve hücresel açıdan zengin içeriğe sahip i-TZF ilavesinin yeni oluşan kemiğin kalitesine ve kemiğin iyileşme süresine etkisinin histolojik, histomorfometrik ve immünohistokimyasal olarak incelenmesi amaçlanmıştır. Greftin iyileşmesinin incelenmesinde çekim soketi ortamı kullanılarak greftleme prosedürünün standardize edilmesi planlanmıştır. Detaylı literatür araştırması sonucunda çekim soketinin korunması amacıyla uygulanan allogreft materyali için 4-12 ay arasında değişen iyileşme süreleri belirlendiği görülmüştür. Çalışmamızda yeni oluşan kemiğin kalitesini arttıracak ve daha hızlı kemik oluşumunu sağlayacağımızı düşündüğümüz yöntemin uygulandığı çalışma grubunda i-TZF ile karıştırılan greft materyalinin 2 aylık iyileşme dönemi sonundaki histopatolojik değerlendirme verilerinin diş çekimi sonrası herhangi bir biyomateryal uygulanmayan, fizyolojik diş çekim soketi iyileşmesi gerçekleşen kontrol grubunun histopatolojik verileriyle karşılaştırılması planlanmıştır. Ayrıca implant yerleştirilirken RFA ile primer stabilizasyon değerleri ölçülerek bu yöntem ile kazanımı sağlanan kemiğin implanta sağladığı desteğin fizyolojik iyileşme gerçekleşen kemik ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Hastaların Seçilmesi

Çalışmaya İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı' na diş çekimi ve implant yaptırmak için başvuran, sistemik olarak sağlıklı, 20-70 yaş aralığında toplam 50 hasta dahil edildi. Rastgele seçilen hastalardan 25' inde soket koruma amacıyla i-TZF & allogreft karışımı ve TZF membran uygulanırken, 25 hastada herhangi bir soket koruma işlemi uygulanmadan

pıhtının stabilizasyonu sağlandı. Hastalara yapılan her türlü uygulama İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Onayı' nın dahilinde gerçekleştirildi ve çalışmaya alınan her hastaya operasyondan 1 gün önce Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu verilip dikkatlice okuyarak onaylamaları istenildi.

Hastaların alışma kapsamına alınma kriterleri:

- Kontrol altında olmayan veya ciddi sistemik hastalığının olmaması (KV problemleri, diabet, nörodejeneratif hastalıklar vs.)
- Diş ekimi endikasyonunun bulunması.
- ekim socketinin diş çekimi sonrası boyutsal yapısının bozulmaması.
- Hastanın periyodik kontrollere gelebilmesi.
- Dental implant uygulanacak olması.

Hastaların alışma kapsamı dışında bırakılma kriterleri:

- Ağız hijyeni kötü olması.
- Akut veya kronik sinüzit varlığı olması.
- Hamile veya emziren hasta olması.
- Klinik takip için kontrollere düzenli gelemeyecek olması.
- Kontrol altına alınamayan sistemik hastalığın olması (Diyabet, kardiyak problemler vb.),
- Metabolik, immünolojik veya otoimmün hastalıklar olması.
- Kronik kemik hastalıkları olması.
- Kemoterapi yada radyoterapi görmüş ve/veya gören hastalar
- Sigara, ilaç ve alkol bağımlılığı

- Diş çekimi sırasında kemikte ve yumuşak dokuda ciddi hasar olması şeklinde belirlendi.

3.2 Klinik Uygulamalar

Hastaların başlangıç periodontal tedavileri gerçekleştirildi ve ağız hijyeni eğitimi verildi. Cerrahi uygulama planlanan alanın dışındaki dişlerin gerekli restoratif, endodontik ve periodontal tedavileri tamamlandıktan sonra hastalara operasyon randevusu verildi.

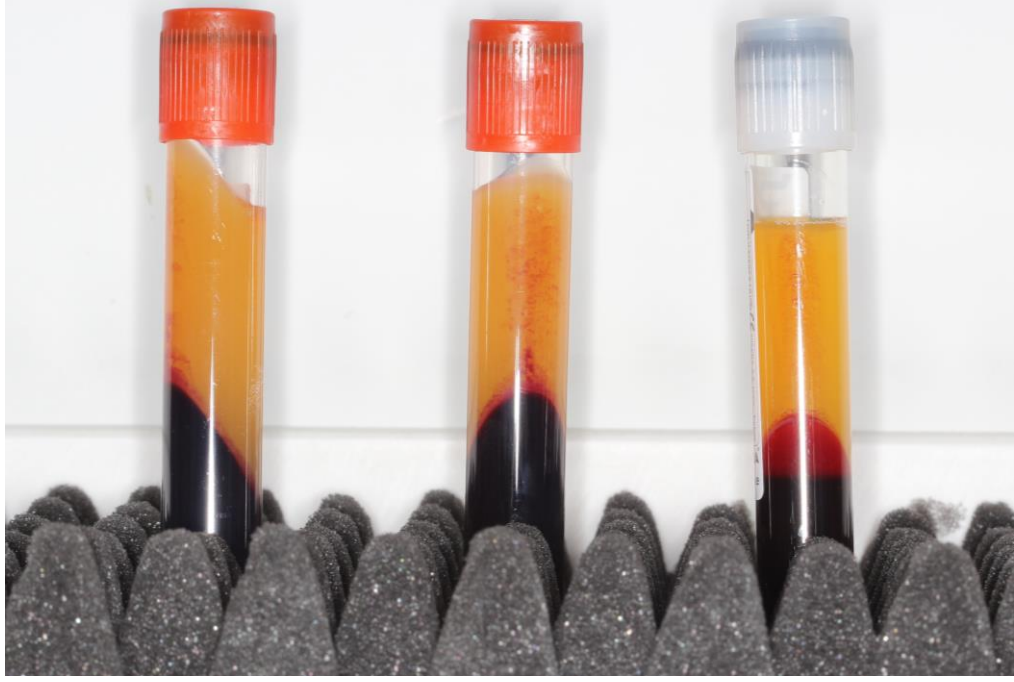
3.2.1 i-TZF ve TZF Membran Hazırlanması

Çalışma grubunda yer alan hastaların lokal anesteziyi uygulandıktan sonra anestezi etkinlik süresinde i-TZF ve TZF membranın hazırlığı gerçekleştirildi. Kan alımı için 10ml'lik beyaz ve kırmızı kapaklı vakumlu tüpler, iğne ve holder (Vacutainer, BD Life Sciences, Franklin Lakes, NJ) kullanıldı. Kırmızı kapaklı pıhtı aktive edici içeren tüpler TZF membran oluşturulmasında kullanılırken, beyaz kapaklı boş tüpler i-TZF likidi oluşturulmasında kullanıldı. Trombositlerin aktive edilmemesi ve alyuvarların hemolize uğramaması için kanın hızlı alınmamasına dikkat edildi. Tüm hastaların antekubital veninden bir beyaz kapaklı, bir kırmızı kapaklı tüpü dolduracak kadar toplamda 20 ml kan alındı ve tüpler santrifüj cihazının bölmelerine yerleştirildi. Santrifüj sırasında ağırlık farklılıklarından oluşan mikrosalinim ve ısı artışının elimine edilmesi için beyaz kapaklı ve kırmızı kapaklı tüplerin karşısına içerisine serum fizyolojik çekilmiş olan aynı renkli tüpler dengeli şekilde yerleştirildi.(Resim 3) Böylelikle oluşan hücrelerin ısı artışı ile birlikte apoptozisine engel olundu. Bu çalışmada 8 dk boyunca 1500 rpm devir santrifüj değerleri kullanılarak tek santrifüjde hem i-TZF likidi hem de TZF membran eşzamanlı olarak üretilebildi.(Resim 4) Santrifüjün sonunda beyaz kapaklı tüpün içerisinde üst kısımda oluşan trombosit zengin sarı renkli sıvı steril 10 ml lik enjektör içerisine çekildi. Kırmızı kapaklı tüpün içerisinde orta kısımda oluşan trombosit zengin sarı renkli fibrin dokusu bir presel yardımıyla tutularak alt kısımdaki trombosit fakir kısımdan bir makas yardımıyla dikkatlice ayrıldı. Bu işlem yapılırken sarı ve kırmızı kısım arasındaki turuncu renkli hücresel içeriği zengin kısmın da fibrin üzerinde kalmasına

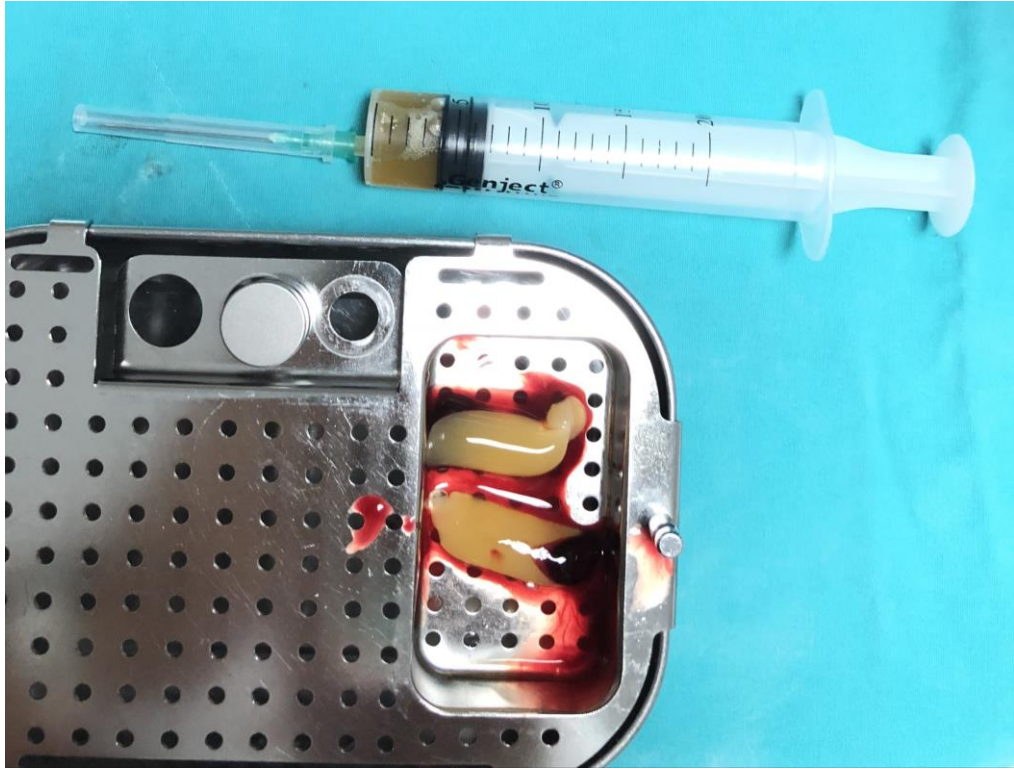
özen gösterildi. Elde edilen TZF membran PRF Box (Nice, France) içerisindeki gözenekli bölmeye yerleştirilerek üzerine yerleştirilen kapağın kendi ağırlığıyla homojen, ince membran formu kazanması sağlandı.(Resim 5) Üzerindeki kapağın ağırlığıyla ezilen TZF membrandan uzaklaşan fazla sıvı PRF Box' ın alt kısmındaki haznede biriktirildi.



Resim 3: Santrifüj cihazına tüplerin simetrik şekilde yerleştirilmesi



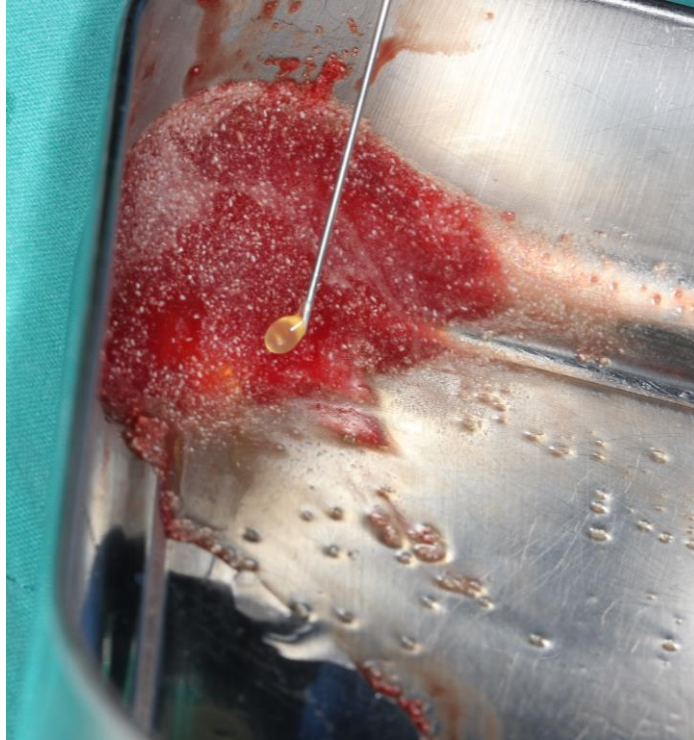
Resim 4: Santrifüj sonunda i-TZF ve TZF membranın tüplerin içerisindeki görünümü



Resim 5: PRF Box'a yerleştirilen TZF membranların ve enjektöre çekilen i-TZF likidinin görünümü.

3.2.2 Partiküllü Greftin Putty Forma Dönüştürülmesi

Çalışmada rutin olarak 0.5-1 mm partiküllü büyüklüğü bulunan dondurulmuş kurutulmuş insan kaynaklı kemik grefti (Bislife, Netherlands) kullanıldı. Steril bir gode içerisinde her çekim soketi için 1cc miktarında allogreft döküldükten sonra, PRF Box' ın alt haznesinde biriken TZF membranının fazla sıvısı ile ıslatılıp karıştırıldı. Daha sonra steril bir gaz tampon ile sıvı kısım dikkatlice emdirildi ve beyaz tüpten elde edilen i-TZF sıvısı greftin üzerine sıkıldı.(Resim 6) Bir periost elevator yardımıyla karıştırıldıktan sonra yaklaşık 1 dk süre beklenilerek greftin putty kıvam alması gözlemlendi.(Resim 7,8) Sürenin sonunda greftin bir presel ile tutulup, taşınabilir özellikte olan putty formda, kolayca kondanse edilebilir bir kıvam kazandığı görüldü.(Resim 9)



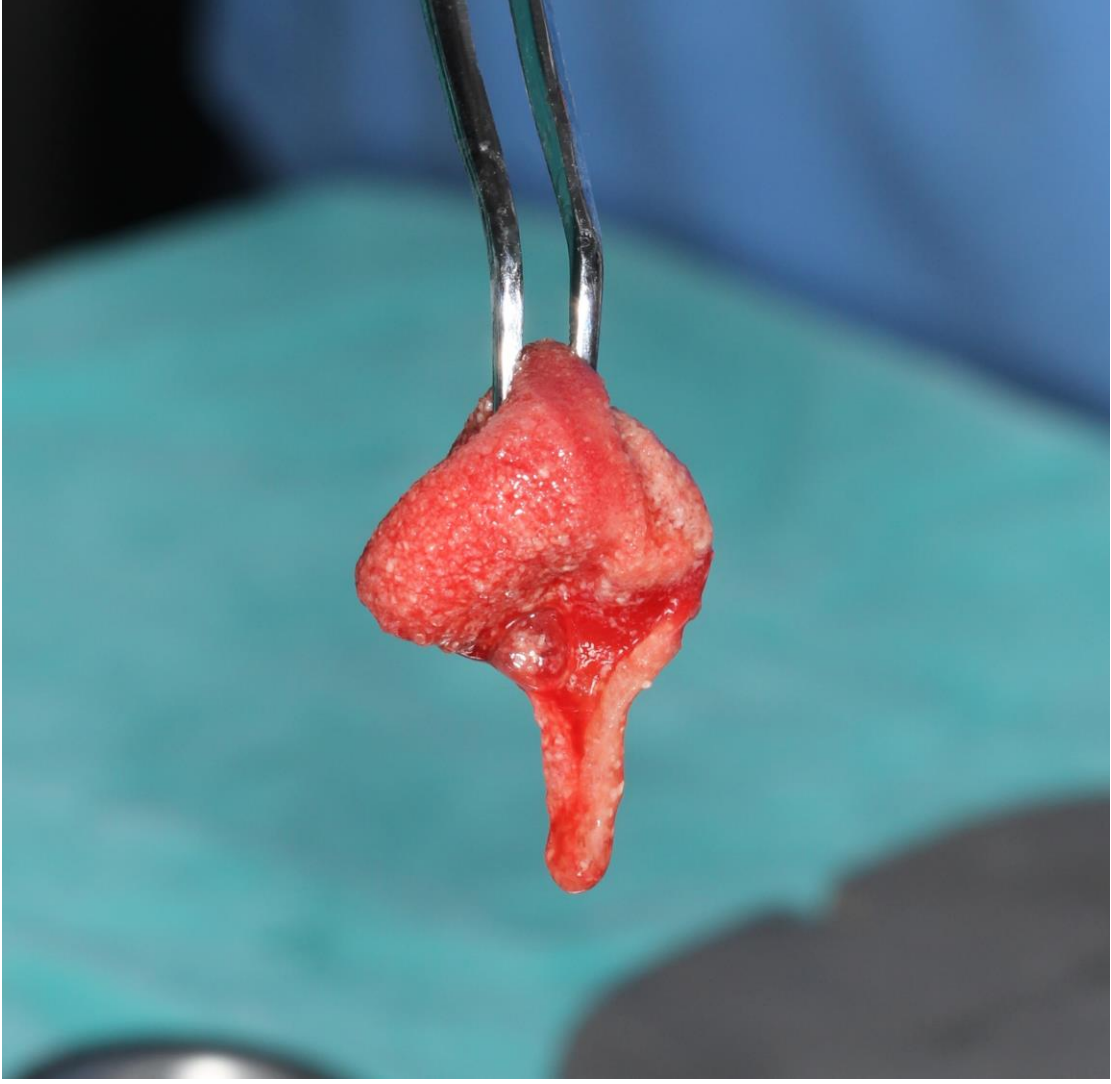
Resim 6: Partikülize greftin i-TZF ile ıslatılması



Resim 7: i-TZF likidiyle ıslatılan greft materyalinin görünümü



Resim 8: Bir kaç dakika içinde greft materyalinin polimerizasyonunun gözlenmesi.



Resim 9: Putty kıvam kazanan greft materyalinin bir presel ile ogmentasyon sahasına taşınması.

3.3 Cerrahi Yöntem

Çalışmadaki tüm hastalarda endodontik, protetik ya da periodontal sebeplerle çekim endikasyonu koyulan diş bölgeleri değerlendirmeye alındı.

I.Cerrahi Uygulama (Diş çekimi ve soketin greftlenmesi)

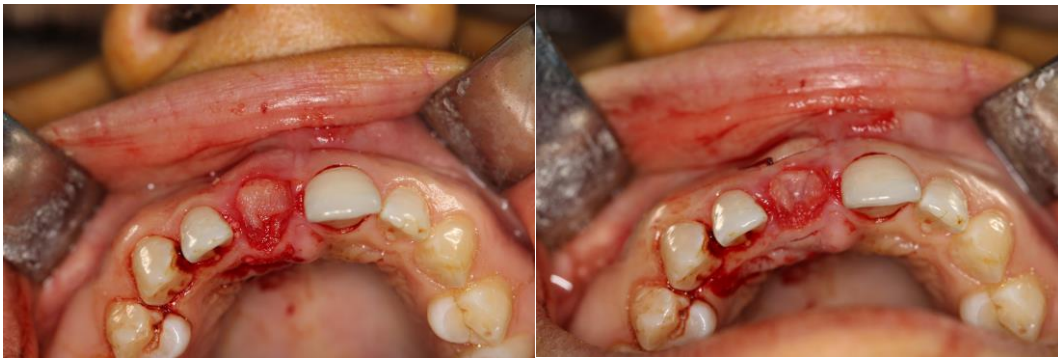
İlk seansta, gerekli sterilizasyon önlemlerinin alınmasını takiben tüm hastalarda lokal anestezi (Jetokain, Lidokain Hcl + epinefrin) sağlandıktan sonra bir elevator (Root elevator, Bein 4125, Kohler, Stockach, Germany) yardımı ile diş eti dekole edilip mevcut alveolar kemik desteğinin korunmasına özen gösterilerek atravmatik şekilde diş çekimi gerçekleştirildi. Çekim soketinde granülasyon dokusu bulunan bölgelerde cerrahi küret ile yumuşak dokular uzaklaştırıldı. (Resim 10,11) Çalışma grubundaki hastalardan operasyon öncesinde alınan kanın santrifüj edilmesiyle elde edilen i-TZF sıvısı partiküllü allogreftin (Bislife Tissue Center, Allograft, Leiden, Netherlands) içerisine sıkılarak greftin hamur kıvamı kazanması sağlandı. Çalışma grubundaki hastalarda çekim sonrasında soket içerisinde i-TZF & allograft karışımı yerleştirildi ve homojen bir şekilde kondanse edildi. (Resim 12) Diğer grupta ise çekim soketine herhangi bir müdahalede bulunulmadı ve pıhtının stabilizasyonu sağlandı. Greft uygulanan grupta soketin tamamen greft ile doldurulmasına dikkat edildi. Kontrol grubunda ise çekim soketlerine herhangi bir materyal yerleştirilmedi. Her iki grupta da flep kaldırılmadı, çalışma grubunda greftlenen alanın üzerinin TZF membran ile örtülenmesi için bir periost elevatörü yardımıyla flep kaldırılmadan dikkatlice esnetildi. Soket koruma uygulanan tüm bölgelerde TZF bukkal ve palatinal flebin altına yerleştirilerek stabilize edildi. Flep kaldırılmadan uygulanan bu yöntemde TZF' nin operasyon sonrasında 7 gün boyunca stabilize edilmesi amacıyla 4.0 atravmatik monofilament polipropilen süturlar (Prolene, Ethicon Inc., Somerville, New Jersey, US) ve çapraz horizontal mattress tekniği (8 sütur) kullanıldı. Operasyon sonrası hastalara sistemik amoksisilin + klavulanik asit (Augmentin, GSK, Gebze, Türkiye) günde 2 kere 1000 mg olmak üzere 5 gün süre ile, parasetamol (Parol, Atabay Kimya San., Kadıköy, İstanbul) günde 2 kez 500 mg olmak üzere 5 gün süre ile ve %0.2' lik klorheksidin glukonat (Kloroben % 0,2, Drog-san İlaçları San. ve Tic. A.S., Ankara, Türkiye) içeren ağız gargarası günde 2 kez olmak üzere 2 hafta süre ile reçete edildi. Cerrahi işlem sonrasında 3. günde kontrolleri yapılan hastaların 10. günde dikişleri alındı. (Resim 13) Hastaların ilk 20 gün geçici protez kullanımına izin verilmedi.



Resim 10: Vertikal kırık nedeniyle çekim endikasyonu bulunan dişin görünümü



Resim 11: Çekim sonrası soketin görünümü



Resim 12: i-TZF & allogreft karışımından elde edilen putty greftin sokete yerleştirilmesinden sonra greftlenen alanın TZF membran ile örtülenip, çapraz matress suture ile yara kenarlarının stabilize edilmesi

II. Cerrahi Uygulama

2 aylık iyileşme dönemi sonunda gerekli radyolojik tetkikleri yapılan hastalara ameliyat randevusu verildi. Yeterli lokal anestezi sağlandıktan sonra krestal insizyon uygulandı, bukkal ve palatinal veya lingual tam kalınlıklı mukoperiosteal flep eleve edildi ve alveoler kret açığa çıkarıldı.(Resim 16) İmplant yerleştirilmesi planlanan bölgeden yerleştirilecek implant çapından 1-2 mm küçük olan trefan frez ile 8 mm uzunluğunda kemik örneği alınarak çıkarıldı.(Resim 17) Elde edilen kemik örnekleri trefan frezin içinden dikkatlice çıkarıldıktan sonra %10 luk formaldehit içeren kaplarda histolojik inceleme için saklandı. Radyolojik ölçümleri yapılan bölgeye uygun ebatlarda implant drilleri ile yuvanın şekillendirilmesi sağlandı. İmplant yerleştirilecek olan soket serum fizyolojik ile irrigé edilip temizlendikten sonra, uygun boyutlardaki dental implant (Dyna, Halsteren, Netherlands) anguldruva ile 50 Ncm tork değerlerinde yerleştirildi ve Osstell cihazı (Osstell, Göteborg, Sweden) ile ölçümleri yapılarak primer stabilizasyon değerleri kaydedildi.(Resim 18) İmplantların kapama vidaları yerleştirildikten sonra mukoza 4.0 atravmatik monofilament polipropilen süturlar (Prolene, Ethicon Inc., Somerville, New Jersey, US) kullanılarak basit sütür tekniği ile primer olarak kapatıldı. Operasyon sonrası tüm hastalara ağız hijyeni konusunda önerilerde bulunuldu ve ilk cerrahi sonrasında uygulanan medikasyon tekrarlandı.

Tüm hastalarda cerrahi işlemleri takiben 20 gün protez kullanımı bırakıldı, estetik beklentisi yüksek hastalarda bu sürecin sonunda hareketli, kısa arklı akrilik protezler ile geçici rehabilitasyon sağlandı. 3 aylık osteointegrasyon dönemi sonunda lokal anestezi sağlandıktan sonra krestal insizyon uygulandı ve yavaşça flep kaldırılıp implant açığa çıkarıldı. İmplantın kapama vidası çıkarılıp diş eti yüksekliğinden 2 mm yüksek olacak şekilde seçilen iyileşme başlığı yerleştirildi.(Resim 14) Mukozanın 10 günlük iyileşme dönemi sonunda klinik muayenesi yapılan hastalar implant üstü protetik rehabilitasyon için İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı' na yönlendirildi. Tüm hastalara ilk yıl 3. ay, 6. ay, 12. ay ve takip eden her yıl bir kez olmak üzere kontrole gelmeleri söylendi.(Resim 15)



Resim 13: Operasyondan 7 gün sonra bölgenin görünümü



Resim 14: İmplant yerleştirildikten 3 ay sonra osteointegrasyon sürecinin sonunda iyileşme başlıklarının yerleştirilmesi



Resim 15: Protetik restorasyonun uyumlandırılması

3.4 Histolojik İncelemeler

3.4.1 Hematoksilen-Eozin Boyaması

Tüm gruplardaki doku örneklerinden HE ve immünohistokimya boyamaları için Rotary mikrotom (Leica RM2125RT, Nussloch; Germany) aracılığı ile alınan 5µm'lik parafin kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C'lik etüve bırakıldıktan sonra, 30'ar dakika iki değişim ksilene tabi tutuldu. Ardından rehidratasyon işlemi için 2' şer dakika %95'den %60'a azalan alkol serilerinden geçirilen kesitler 5 dakika akarsu altında yıkandı. 2 dakika hematoksilen (01562E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire) ile boyamanın ardından, fazla boyanın dokudan uzaklaştırılması için 5 dakika akarsuda yıkanan kesitler asit alkole batırılıp çıkarıldıktan sonra tekrar 5 dakika akarsuda yıkandı ve 30 saniye eozin (01602E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire) boyası ile boyandı. Aynı şekilde 5 dakika akarsu altında yıkama yapıldıktan sonra sırasıyla %80 ve %95'lik alkol serilerinden geçirilip havada kurutulan kesitler şeffaflaştırma amacıyla 30'ar dakika iki değişim ksilende tutulduktan sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı.

İŞLEM	MADDE	SÜRE
DEPARAFİNİZASYON		60°C ETÜVDE 1 GECE
	KSİLEN	30 DAKİKA
	KSİLEN	30 DAKİKA
REHİDRATASYON	% 95 ALKOL	2 DAKİKA
	% 80 ALKOL	2 DAKİKA
	% 70 ALKOL	2 DAKİKA
	% 60 ALKOL	2 DAKİKA
BOYAMA	HEMATOKSİLEN	5 DAKİKA
YIKAMA	AKAR SU	5 DAKİKA
DİFERANSİYASYON	ASİT-ALKOL	1-2 SANİYE
YIKAMA	AKAR SU	5 DAKİKA
BOYAMA	EOZİN	3 DAKİKA
YIKAMA	AKAR SU	5 DAKİKA
	% 80 ALKOL	1 DAKİKA
	% 90 ALKOL	1 DAKİKA
	KSİLEN	1 SAAT
KAPATMA	ENTELLAN	

Tablo 1: Hematoksilen-eozin boyama protokolü

3.4.2 İndirekt İmmunohistokimya Boyaması

Alınan kesitler immunohistokimyasal boyama için bir gece 60 °C'lik etüvde tutulduktan sonra, 30'ar dakika iki değişim ksilen ile şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Ardından % 95'ten % 60'a azalan derecede alkol serileri ile rehidratasyon sağlanarak distile suda 5 dakika bekletildi. Dakopen (Invitrogen 008877, USA) ile sınırlandırılan % 0,5'lik tripsin solüsyonu içinde oda sıcaklığında 15 dakika tutulan kesitlere, doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dakika %3'lük H₂O₂ uygulandı. 3 defa 5' er dakika fosfat tampon solüsyonu (PBS; Posphate buffer solution) ile yıkanan kesitlere bloklama amacıyla 1 saat bloklama solusyonu ile muamele edildi. Bloklama solusyonu dokudan uzaklaştırıldıktan sonra primer antikorlar ALP (sc-166261, Santa Cruz Biotechnology, Germany), OCN (sc-365797, Santa Cruz Biotechnology, Germany), ve PCNA (sc-56, Santa Cruz Biotechnology, Germany) ile bir gece inkübe edildi. Ertesi gün tampon solüsyonu ile 3 defa yıkanan kesitler, anti-mouse biotin-streptavidin hidrojen peroksidaz ikincil antikor (Invitrogen 859043, Histostain plus kit, USA) ile 30' ar dakika boyandı. Yine üç defa 5'er dakika tampon solüsyonu ile yıkanan kesitler, oluşturulan immunohistokimyasal reaksiyonun görünürlüğünü saptamak amacıyla Diaminobenzidin (DAB Invitrogen 00-2020, USA) ile 5 dk boyandı. Mayer' s hematoksilen (72804E, Microm, Walldorf, Germany) ile artalan boyaması sağlandıktan sonra distile su ile 10 dk yıkanan kesitler kapatma medyum (AML060, Scytek, Logan, Utah, USA) ile kapatıldı (Tablo 2).

Dokular rutin avidin-biyotin-peroksidaz yöntemine uygun olarak anti ALP, anti OCN ve anti PCNA primer antikorları kullanılarak indirekt immunohistokimyasal yöntemle boyandı. İmmunorektivite şiddetleri çok kötü (-), kötü (+), orta (++) , iyi (+++) ve çok iyi (++++) olarak skorlandı. Boyanma şiddetleri gruplar arasında karşılaştırmalı olarak Pearson Ki-Kare istatistik testi ile değerlendirildi.

İŞLEM	MADDE	SÜRE
DEPARAFİNİZASYON		60°C ETÜVDE 1 GECE
	KSİLEN	30 DAKİKA
	KSİLEN	30 DAKİKA
REHİDRATASYON	% 95 ALKOL	2 DAKİKA
	% 80 ALKOL	2 DAKİKA
	% 70 ALKOL	2 DAKİKA
	% 60 ALKOL	2 DAKİKA
YIKAMA	DİSTİLE SU	10 DAKİKA
	PBS	10 DAKİKA
HAVUZ OLUŞTURMA	DAKO PEN	
	TRİPSİN	15 DAKİKA 37°C
YIKAMA	PBS	3×5 DAKİKA
PEROKSİDAZ İNHİBİSYONU	%3HİDROJENPEROKSİT	5 DAKİKA
YIKAMA	PBS	3×5 DAKİKA
BLOKLAMA	NON-İMMUN BLOKLAMA SOLÜSYONU	1 SAAT
PRİMER ANTİKORLAR YIKAMA SEKONDER ANTİKOR YIKAMA	ALP, OCN, PCNA	18 SAAT +4°C NEMLİ ORTAM
YIKAMA	PBS	3×5 DAKİKA
	BIOTİN İLE İŞARETLİ	30 DAKİKA
	PBS	3×5 DAKİKA
	STREPTAVİDİN	30 DAKİKA
YIKAMA	PBS	3×5 DAKİKA
YIKAMA	DİSTİLE SU	3×5 DAKİKA
ARTALAN BOYAMA	MAYER'S HEMATOKSİLEN	3 DAKİKA
YIKAMA KAPAMA İNCELEME	DİSTİLE SU	10 DAKİKA
	ENTELLAN	
	İŞIK MİKROSKOBU	

Tablo 2: İndirekt İmmünohistokimya Boyama Protokolü

3.5 İmplant Stabilitesinin Ölçümü

Histolojik inceleme amacıyla trefan frez ile kemik dokusu örnekleri alındıktan sonra, mevcut soket yerleştirilecek olan implanta uygun ebattaki drillerle şekillendirilerek dental implant bölgeye yerleştirildi. Soket koruma işlemi sonrasında yeni oluşan kemiğe yerleştirilen implantın primer stabilitesini ölçmek amacıyla Osstell™ mentor cihazı kullanıldı. Rezonans frekans analiz yöntemiyle, implantların kemik içindeki stabilite ölçümleri yapıldı.

Bu uygulamada transdüktör adı verilen bir ara parça implantın üzerine yerleştirilerek sabitlendi ve Osstell™ mentor cihazı transdüktöre yaklaştırıldı. Cihaz, probundan gelen elektromanyetik dalgaları kemiğe ileterek, kemikten gelen cevapları da dijital ekranına yansıtarak ölçüm yapmaktadır. Dijital ekrandaki sayısal veriler ISQ biriminde kaydedildi. Ölçümün güvenilir olması için her implant için 5 yüzden (mezyal, distal, bukkal, palatinal ve okluzal) ölçüm tekrarlanılarak aritmetik ortalaması not alındı.

Ölçüm gerçekleştirildikten sonra transdüktör parçası implant üzerinden çıkarılarak kapama vidası yerleştirildi ve mukoza primer olarak suture edildi.

3.6 İstatistiksel Analiz Yöntemleri

Verilerin analizi IBM SPSS 25 (IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.) paket programı ile gerçekleştirilmiştir. Nicel değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile araştırılmıştır. Normal dağılıma uyan nicel değişkenlerin özet gösterilimi ortalama \pm standart sapma, uymayanlar ise medyan (Q_1 - Q_3) olarak verilmiştir. İki bağımsız gruba ait değişkenlerin karşılaştırılması sırasında, verilerin dağılımı normal ise Bağımsız Örneklem t Testi, normal değil ise Mann Whitney U Testi kullanılmıştır. İki'den fazla alt kategoriye sahip bağımsız grupların karşılaştırılması sırasında, verilerin dağılımı normal olduğu durumda Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) kullanılmıştır. Grupların varyansları homojen olduğu varsayımı kontrol edilerek çoklu karşılaştırma testlerinden Bonferroni Testi kullanılmıştır. Bu çalışmada nitel değişkenler ise frekans ve yüzde olarak gösterilmiştir. Nitel değişkenler arasındaki ilişki Pearson Kesin (Exact) Ki Kare Analizi ile incelenmiştir. $p < 0.05$ olarak elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Klinik Bulgular

İlk operasyon sonrasında hastalarda önemli bir komplikasyon gözlenmedi. Post-op dönemde oluşan ağrının giderilmesinde reçete edilen analjeziklerin yeterli olduğu görüldü. Hiçbir hastada enfeksiyon ve apse oluşumu gözlenmedi. Çalışma grubundaki hastalarda TZF membranının ilk 2 gün sonunda yüzeysel nekroza benzer görüntü verdiği, 7. günde ise parlak kırmızı-pembe renk aldığı görüldü. Kontrol grubunda ise 3 hastada çekim soketi içerisinde yemek artığı ve debris birikimi nedeniyle 3. ve 7. günde serum fizyolojik ile irrigasyon uygulandı.

10. günde süturlar alınırken çalışma grubundaki tüm hastalarda TZF membranının parlak açık pembe rengi görünümünde olduğu, komşu yara kenarlarıyla integrasyonun başladığı görüldü. Ayrıca yumuşak dokunun hacmini koruduğu, vertikal ve horizontal yönde çökme olmadığı gözlemlendi. Kontrol grubunda ise komşu papillerin çekildiği ve yara kenarlarının soket içerisine doğru yer değiştirdiği gözlemlendi.

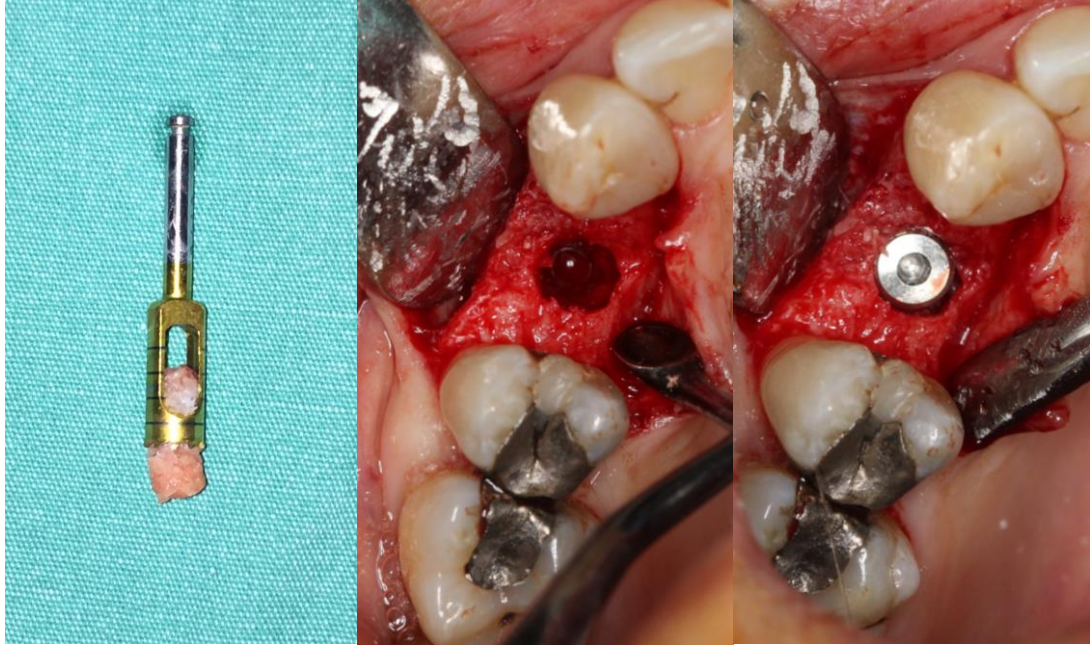
2 aylık iyileşme dönemi sonunda çalışma grubundaki hastalarda yumuşak doku profilinin korunduğu, keratinize dokuda ve komşu papil seviyelerinde kayıp olmadığı görüldü. Kontrol grubunda çekim sonrası kısa sayılabilecek bir süre geçmiş olmasına rağmen bazı hastalarda hem vertikal hem de horizontal yönde yumuşak dokunun çöktüğü, papil seviyelerinde kayıp olduğu gözlemlendi.

Biyopsi alınması ve implant yerleştirilmesi için mukoperiosteal flep kaldırıldığında çalışma grubundaki hastalarda iyi organize olmuş greft materyali komşu rezidüel kemik ile uyumlu şekilde gözlemlendi. 2 hastada greft materyalinin koronal kısmının flebe yapıştığı görülürken implant yerleştirdikten sonra herhangi bir greftlemeye ihtiyaç duyulmadı. Tüm hastalardan trefan frez ile kemik dokusu örneği alınırken herhangi bir dağılma ya da yumuşak bir alan gözlenmedi. Hem trefan frez ile hem de implant yuvası hazırlanmasında driller ile çalışırken kemik dokusunun direncinin D2- D3 tipteki kemiğe uyumlu olduğu belirlendi.

Kontrol grubunda ise mukoperiosteal flep kaldırıldıktan sonra rezidüel kret hacminin daha çok bukko-lingual yönde olmak üzere kayba uğradığı görüldü. Birçok hastada kret tepesinde ve soketin koronal üçlüsünde fibröz doku varlığı ve granülasyon dokusu oluşumu gözlemlendi. Koronal kısımda fibröz yapıdaki doku, kürete edilmeden trefan frez kullanılarak elde edildi. 3 hastada bukkal kemik seviyesinin 3-4 mm azalması nedeniyle implant yerleştirildikten sonra bir miktar greftleme uygulandı. Trefan frez ile örnek elde edilmesi aşamasında 5 hastadan elde edilen örnekler frez içerisinden parçalanarak çıktığı için histolojik olarak incelenemedi ve bu hastalar çalışma dışı bırakıldı. Diğer hastaların kemik dokuları elde edilirken ve implant yuvası şekillendirilirken rezidüel kemiğin direncinin D3-D4 kemiğe uyumlu olduğu, bazı soketlerin duvarlarına yapışık halde yumuşak dokuların bulunduğu görüldü.



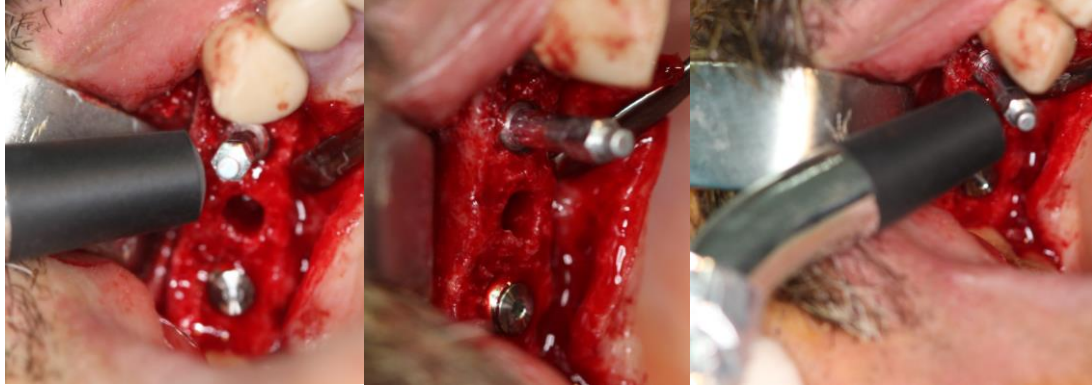
Resim 16a,b,c: i-TZF & allogreft ile soket koruma uygulandıktan 2 ay sonra flep kaldırılması ve trefan frez ile kemik dokusu örneği elde edilmesi.



Resim 17a,b,c: Trefan frez ile kemik örneği alındıktan sonra soketin drillerle hazırlanması ve uygun boyuttaki dental implantın yerleştirilmesi.

4.2 İmplant Stabilite Değeri Ölçümü Bulguları

2 aylık iyileşme dönemi sonunda flep kaldırılıp histolojik inceleme için kemik dokusu örneği alındıktan sonra soket uygun implant drilleri ile şekillendirildi ve uygun boyutlardaki implantlar, anguldruva yardımıyla sokete yerleştirildi. Bu esnada tüm implantlar sokete yerleştirilirken 50 Ncm tork değerleri kullanıldı. Dental implantlar rezidüel kret seviyesinin 1 mm altında kalacak şekilde bir raşet yardımıyla konumlandırıldıktan sonra Osstell cihazının implant firmasına özgü transduseri implant üzerine yerleştirilip sabitlendi. Her bir implant için 5 farklı yönden ölçülen ISQ değerleri not edilerek aritmetik ortalamaları hesaplandı. Bu ortalama değer, ölçümü yapılan implantın ISQ değeri olarak kaydedildi. Çalışma grubundaki implantların ilk yerleştirilme esnasındaki primer stabilite değerleri 58-88 arasında değişim gösterirken ortalama değerin 75.72 olduğu görüldü. Kontrol grubunda ise 44-70 arasında değişiklik gösteren ISQ değerlerinin 61.15 ortalamaya sahip olduğu görüldü.



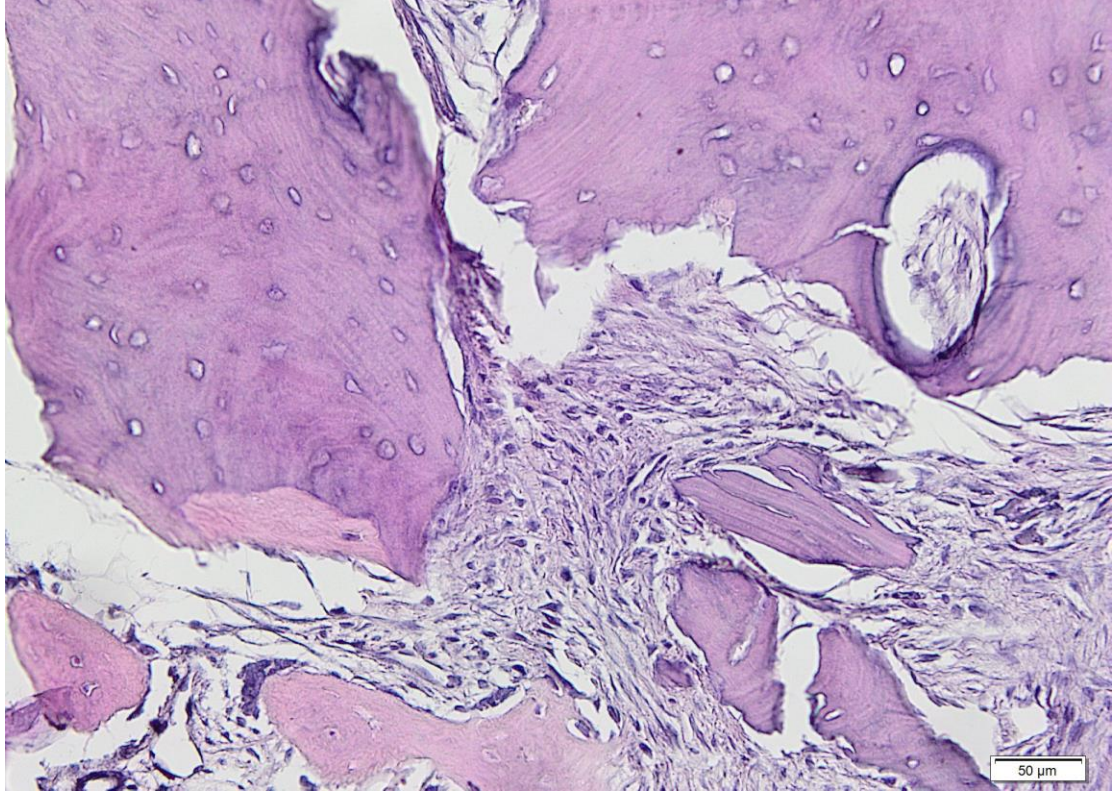
Resim 18a,b,c: İmplant sokete yerleştirildikten sonra transduseri yerleştirilerek Osstell Mentor cihazı ile 5 farklı yönden RFA ölçümü yapılması

4.3 Histolojik Bulgular

Çalışma Grubunun Histopatolojik Bulguları

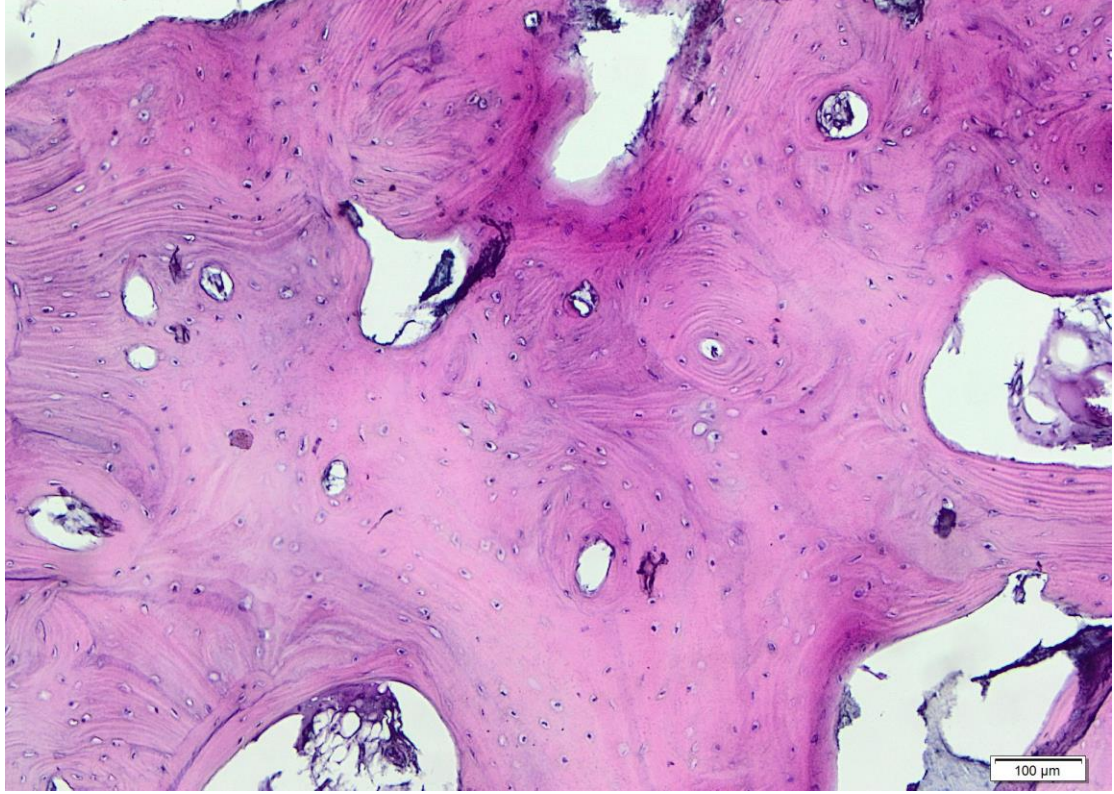
i-TZF & allogreft uygulanmış olan örneklerin histolojik analizinde yeni oluşan kemik, rezidüel greft materyali ve iyi vaskularize olmuş bir bağ dokusu görüldü. Örneklerin hiçbirinde yabancı cisim reaksiyonu ya da nekroz tespit edilmedi.

Allogreftin rezidüel olarak bulunduğu alanlar boş lakuna ve sement çizgileri içermekte, daha bazofilik boyanmaktaydı. (Resim 19)



Resim 19: Boş laküna ve sement çizgileri ile karakterize olan rezidüel allogreftin Hematoksilen-Eozin boyanması sonrası histolojik kesitte görünümü.(x200)

Kesitlerde canlı osteosit içeren yeni oluşan kemiğin allogreft ile yakın temas gösterdiği görüldü. Osteoblastlar, allogreftin etrafında yeni oluşan kemik boyunca mevcuttu. Akut veya kronik inflamatuvar belirtisi gözlenmedi. Kesitlerde patolojik inflamasyon bulgularına rastlanmadı. Yeni oluşan kemiğin olduğu alanlarda sement çizgileri çok az bulunmaktaydı veya hiç yoktu, ayrıca daha eozinofilik bir boyanma göstermekteydi.

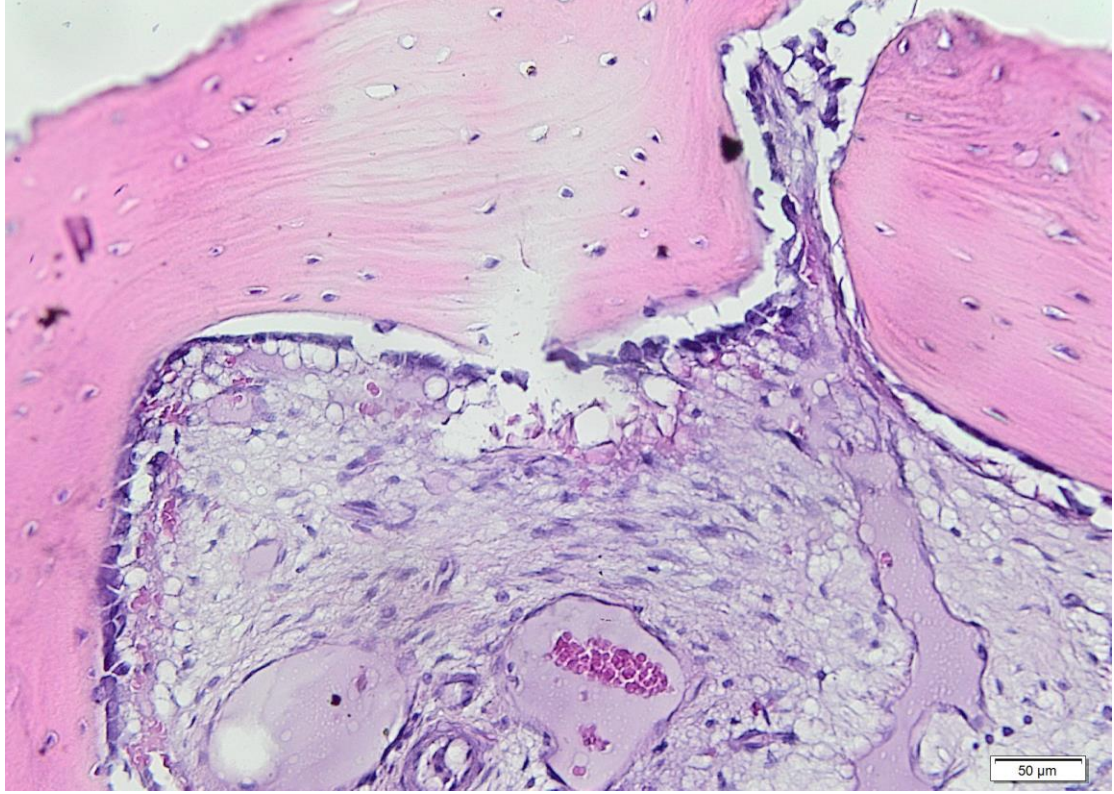


Resim 20: Canlı osteositler ve Havers kanalları izlenen yeni oluşan kemiğin eozinofilik boyanmış olan histolojik kesit görüntüsü. (x100)

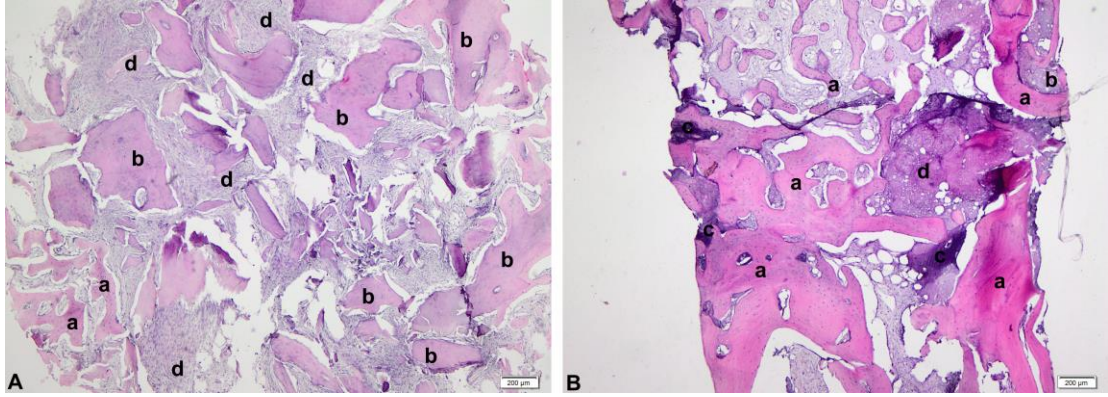
Rezidüel greft partikülleri kemik yapıyla temas halinde ve bu yapıya destek olması nedeniyle yüksek derecede osteokondüktif özellik göstermekteydi. Rezidüel greft partiküllerinde rezorpsiyon az miktardaydı ya da hiç yoktu.

Osteoblastlar yeni oluşan kemiğin etrafında görüldü. Ayrıca Havers kanallarının kılcal damarlar ve hücreler tarafından kolonize olduğu görüldü.(Resim 20)

Yumuşak doku ise kemik iliğine benzer görünümde ve adipositleri içermekteydi. Etrafında osteoid tabakası ve canlı hücreler bulunmaktaydı. Bağ dokusunda kan damarlarının yanı sıra fibroblast gibi doku hücreleri ve mezenşimal hücreler gözlemlendi. (Resim 21)



Resim 21 : Bağ dokusunun Hematoksilen-Eozin ile boyanması sonucu histolojik kesitte görünümü.(x200)



Resim 22: Tüm grupların Hematoksilen-Eozin ile boyanmış görünümü (A: Kontrol, B: i-TZF). (a) vital kemik, (b) non-vital kemik, (c) rezidüel greft, (d) bağ doku. (x40)

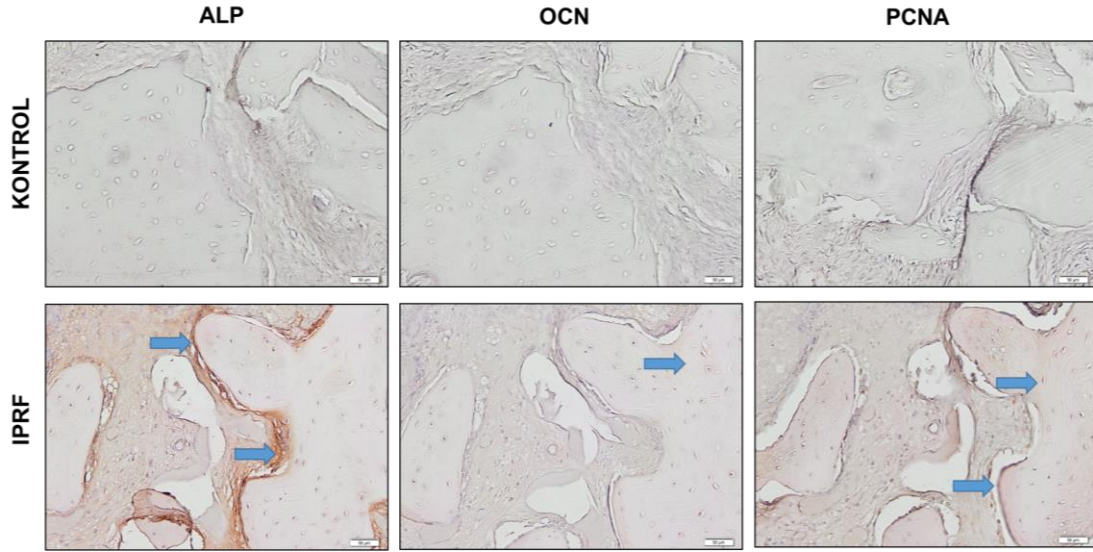
Histomorfometrik olarak, kesitlerde yeni oluşan kemiğin hacimsel olarak %65.4, rezidüel olarak bulunan allogreftin %17.88 ve kemik iliği benzerindeki bağ dokusunun %16.72 oranda bulunduğu belirlendi.

	Grup	N	Ort(%)	SS	Min	Max	Sig
NB	i-TZF	25	65.4*	15.97	20.00	90.00	.000
	Kontrol	19	30.26	21.18	.00	75.00	
	Toplam	44	50.22	25.30	.00	90.00	
RG	i-TZF	25	17.88	11.42	4.00	40.00	
	Kontrol	19	-	-	-	-	-
	Toplam	44	20.26	14.50	.00	40.00	
CT	i-TZF	25	16.72	10.27	2.00	40.00	
	Kontrol	19	67.52*	46.03	3.00	100.00	.001
	Toplam	44	28.55	24.19	2.00	100.00	

Tablo 3: Kemik dokusu örneklerinin histomorfometrik analiz sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi ($p < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilecektir) (**NB:** yeni oluşan kemik, **RG:** rezidüel greft, **CT:** bağ dokusu, **N:** örnek sayısı, **SS:** standart sapma, **Sig:** istatistiksel olarak anlamlılık)

Çalışma Grubunun İmmünohistokimyasal Bulguları

İmmünohistokimyasal incelemede örnekler ALP, PCNA ve OCN' nin primer antikorlarına gösterdikleri immünoreaktivite açısından değerlendirildi. Analiz gerçekleştirilirken pozitif boyanan hücreler ve alanların oranı değerlendirilerek skorlama yapıldı. Çalışma grubundaki örnekler ALP ile immünoreaktivite açısından incelendiğinde %40 oranında çok iyi, %56 oranında iyi ve %4 oranda orta derecede boyandığı görüldü. OCN primer antikoruyla %20 oranında iyi, %80 oranda orta derecede boyandığı gözlemlendi. PCNA primer antikoruyla ise dokunun %4' ünün çok iyi, %68' inin iyi ve %28' inin orta derecede boyandığı belirlendi.



Resim 23: Kontrol ve i-TZF gruplarının indirekt immünohistokimyasal yöntem kullanılarak ALP, OCN ve PCNA primer antikoları ile boyanmış görünümü (**Ok:** pozitif immünoreaktivite). X200

	Boyama şiddeti	ALP		OCN		PCNA	
		i-TZF	Kontrol	i-TZF	Kontrol	i-TZF	Kontrol
N	-	0	1	0	4	0	3
%		%0	%5.3	%0	%21.1	%0	%15.8
N	+	0	7	0	12	0	12
%		%0	%36.8	%0	%63.2	%0	%63.2
N	++	1	8	20	3	7	4
%		%4	%36.8	%80	%15.8	%28	%21.4
N	+++	14	3	5	0	17	0
%		%56	%15.8	%20	%0	%68	%0
N	++++	10	0	0	0	1	0
%		%40	%0	%0	%0	%4	%0

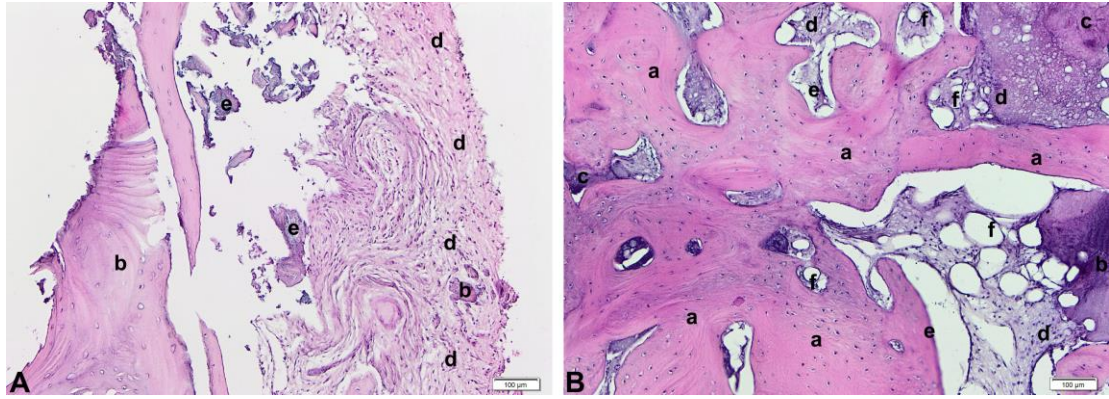
Tablo 4: Kemik örneklerinin ALP, OCN ve PCNA primer antikolarına gösterdikleri immünoreaktivitenin analizi (N: örnek sayısı, %: verinin o gruptaki toplam sayıya oranı, **ALP:** alkalin fosfataz, **OCN:** osteokalsin, **PCNA:** proliferen hücre nükleer antijeni) (-:boyanma yok, +:kötü boyanma, ++: orta derecede boyanma, +++: iyi derecede boyanma, ++++: çok iyi derecede boyanma)

Kontrol Grubunun Histolojik Bulguları

Kontrol grubuna ait örneklerin histolojik analizinde yeni oluşan kemik yanında çoğunlukla bağ dokusu görüldü. Çalışma grubuna benzer olarak yabancı cisim reaksiyonu ya da nekroz tespit edilmedi.

Bu gruba ait kesitlerde bağ doku yoğun kollojen lif içeren sıkı bağ dokusu görünümündeydi. Ayrıca fibroblast gibi bağ dokusu hücreleri ve aralarda kan damarları içermekteydi. Bazı hastalara ait kesitlerde kan pıhtısı (fibrin) gözlendi.

Histomorfometrik olarak, kesitlerde yeni oluşan kemiğin ortalama %30.26, bağ dokusunun %69.74 hacminde bulunduğu görüldü.



Resim 24: Tüm grupların Hematoksilen-Eozin ile boyanmış görünümü (A: Kontrol grubu, B: i-TZF grubu). (a) vital kemik, (b) non-vital kemik, (c) rezidüel greft, (d) bağ doku, (e) osteoblast, (f) kan damarı. x100

Kontrol Grubunun İmmunohistokimyasal Bulguları

Kontrol grubundaki örneklerin immunohistokimyasal incelenmesinde ALP ekspresyonu açısından %15.8 iyi, %42.1 orta, %36.8 kötü, %5.3 çok kötü derecede boyanma tespit edildi. OCN ekspresyonunda ise hücrelerin %15.8'sinin orta, %63.2'sinin kötü ve %21.1'inin çok kötü derecede boyandığı görüldü. PCNA ekspresyonunda kontrol grubundaki örneklerin %21.1 oranında orta, %63.2 oranında kötü ve %15.8 oranında çok kötü derecede boyandığı gözlendi.

IHC	ALP		OCN		PCNA	
	i-TZF	Kontrol	i-TZF	Kontrol	i-TZF	Kontrol
1	+++	+	++	-	+++	+
2	++++	+	+++	+	+++	+
3	+++	++	+++	+	++++	++
4	+++	+++	++	+	+++	+
5	+++	+++	++	++	++++	+
6	++	++	+++	+	+++	+
7	+++	+	++	+	+++	+
8	+++	+	++	++	++	++
9	++++	+	+++	+	++	+
10	++++	+++	++	+	++	+
11	++++	++	++	+	+++	+
12	+++	++	++	+	+++	+
13	++++	++	+++	+	+++	++
14	+++	+	++	-	++	-
15	+++	++	++	-	+++	+
16	+++	++	++	+	+++	++
17	++++	+++	++	+	+++	+
18	++++	+	+++	++	+++	+
19	+++	-	++	-	+++	-
20	+++		++		++	
21	++++		++		++	
22	+++		+++		+++	
23	++++		++		+++	
24	++++		++		++	
25	++		++		++	

Tablo 5: Kemik örneklerinin ALP, OCN ve PCNA primer antikorlarına gösterdikleri immünoaktivitenin analizi (N: örnek sayısı, %: verinin o gruptaki toplam sayıya oranı, ALP: alkalen fosfataz, OCN: osteokalsin, PCNA: prolifere hücre nükleer antijeni) (-:boyanma yok, +:kötü boyanma, ++: orta derecede boyanma, +++: iyi derecede boyanma, ++++: çok iyi derecede boyanma)

4.4 İstatistiksel Bulgular

Histomorfometrik Bulguların İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

8 hafta sonunda yeni oluşan kemik miktarı çalışma grubunda %65.4, kontrol grubunda ise %30.26 olarak bulunmuştur. Çekim socketinin i-TZF & allogreft kombinasyonu ile ogmente edildiği grupta yeni kemik oluşumu kontrol grubuna göre oldukça belirgin bir artış göstermiştir ve gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak yüksek derecede anlamlı bulunmuştur. (**p=0.0001**)

Çalışma grubunda 2 ay sonunda oluşan bağ dokusu miktarının %16.72 hacminde olduğu, kontrol grubunda ise %67.52 hacminde olduğu görülmüştür. Soket koruma uygulanmayan grupta daha fazla bağ dokusu oluşumu görülmüş, gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (**p=0.001**)

	Grup	N	Ort(%)	SS	Min	Max	Sig
NB	i-TZF	25	65.4*	15.97	20.00	90.00	.000
	Kontrol	19	30.26	21.18	.00	75.00	
	Toplam	44	50.22	25.30	.00	90.00	
RG	i-TZF	25	17.88	11.42	4.00	40.00	
	Kontrol	19	-	-	-	-	-
	Toplam	44	20.26	14.50	.00	40.00	
CT	i-TZF	25	16.72	10.27	2.00	40.00	
	Kontrol	19	67.52*	46.03	3.00	100.00	.001
	Toplam	44	28.55	24.19	2.00	100.00	

Tablo 6: Kemik dokusu örneklerinin histomorfometrik analiz sonuçlarının Mann-Whitney U testi ile istatistiksel olarak değerlendirilmesi (p<0.05 olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilecektir) (**NB:** yeni oluşan kemik, **RG:** rezidüel greft, **CT:** bağ dokusu, **N:** örnek sayısı, **SS:** standart sapma, **Sig:** istatistiksel olarak anlamlılık)

İmmünohistokimyasal Bulguların İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

ALP ekspresyonu incelendiğinde çalışma grubunda çok iyi ve iyi derecede boyanan alanların toplamda yüzdesel olarak %96 değerine sahip olduğu, kontrol grubunda ise %15.8 değeri gösterdiği saptanmıştır. Soket koruma uygulanan grupta ALP ekspresyonun daha fazla olduğu görülmüş ve gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak yüksek derecede anlamlı bulunmuştur. (**p=0.0001**)

OCN ekspresyonunda çalışma grubundan elde edilen örneklerde toplamda %20 değerinde çok iyi ve iyi derecede boyanma gözlenmiş, kontrol grubunda ise çok iyi ve iyi derecede boyanma gözlenmemiştir. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak yüksek derecede anlamlı bulunmuştur. (**p=0.0001**)

PCNA ekspresyonu incelendiğinde çalışma grubundaki örneklerde toplamda %72 miktarda çok iyi ve iyi boyanma görülürken, kontrol grubundaki örneklerde ise çok iyi ve iyi derecede boyanma gözlenmemiştir. Gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak yüksek derecede anlamlı bulunmuştur. (**p=0.0001**)

	Boyanma	ALP	OCN	PCNA	Sig
--	----------------	------------	------------	-------------	------------

	şiddeti	i-TZF	Kontrol	i-TZF	Kontrol	i-TZF	Kontrol	(p<0.05)
N	-	0	1	0	4	0	3	.000
%		%0	%5.3	%0	%21.1	%0	%15.8	
N	+	0	7	0	12	0	12	.000
%		%0	%36.8	%0	%63.2	%0	%63.2	
N	++	1	8	20	3	7	4	.000
%		%4	%36.8	%80	%15.8	%28	%21.4	
N	+++	14	3	5	0	17	0	.000
%		%56	%15.8	%20	%0	%68	%0	
N	++++	10	0	0	0	1	0	.000
%		%40	%0	%0	%0	%4	%0	

Tablo 7: Kemik örneklerinin ALP, OCN ve PCNA primer antikorlarına gösterdikleri immünoreaktivitenin Pearson Ki-Kare Testi ile istatistiksel analizi (N: örnek sayısı, %: verinin o gruptaki toplam sayıya oranı, **ALP:** alkaleen fosfataz, **OCN:** osteokalsin, **PCNA:** proliferen hücre nükleer antijeni) (-: boyanma yok, +: kötü boyanma, ++: orta derecede boyanma, +++: iyi derecede boyanma, ++++: çok iyi derecede boyanma)

Literatür Çalışmaları ile Çalışmamızın Histomorfometrik Bulgularının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Uyguladığımız yöntemle benzer şekilde allogreft ile soket koruma uygulanmış olan ve histomorfometrik sonuçlarının ham verilerini temin ettiğimiz 2 literatür çalışmasıyla kendi çalışmamızın iyileşme dönemi sonundaki yeni oluşan kemik miktarlarını istatistiksel olarak karşılaştırdık.

Froum ve ark (2002) 10 soket koruma uyguladıkları çalışmalarında 6-8 aylık iyileşme dönemi sonunda histomorfometrik analizde ortalama **%34.7** yeni kemik oluşumu gözlemlemişlerdir. (112) Daha kısa iyileşme süresinde (2 ay) daha fazla yeni kemik oluşumu (ortalama **%65.4**) gözlemlediğimiz çalışma grubumuzun histomorfometrik verileri bu çalışmanın verileri ile karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (**p=0.001**) (Tablo 8)

Wood ve ark (2012) 16 sokette demineralize dondurulmuş kurutulmuş allogreft (DFDBA), 16 sokette ise dondurulmuş kurutulmuş allogreft (FDBA) ile soket koruma uygulamışlardır. Bu çalışmanın her iki grubunun 19 haftalık iyileşme dönemi sonundaki histomorfometrik verileri ayrı ayrı çalışma grubumuzun verileri ile karşılaştırılmıştır. DFDBA uygulanan grupta ortalama %38.42 hacimde yeni kemik oluşumu gözlenmiştir. FDBA uygulanan grupta ise histomorfometrik olarak ortalama %24.63 hacimde yeni kemik oluşumu gözlenmiştir (113). Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz ortalama yeni kemik oluşumu değerlerinin ve Wood ve ark yaptığı bu çalışmanın her iki grubunun histomorfometrik değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür. (**p=0.0001**) (Tablo 8)

		Ort. Fark	SS	Sig.	%95 güven aralığı
					Alt sınır
i-TZF (%65.4)	Froum 2002 (%34.7)	28.13	5.36	.000	13.51
	Wood 2012 A (%38.42)	26.97	4.58	.000	14.47
	Wood 2012 B (%24.63)	40.76	4.58	.000	28.26

Tablo 8: Allogreft kullanılarak soket koruma uygulanmış olan çalışmaların histomorfometrik olarak yeni kemik oluşumu ham verileri ile kendi çalışmamızın verilerinin Bonferroni analiz yöntemi ile istatistiksel olarak karşılaştırılması. (**Ort. Fark:** ortalama fark, **SS:** standart sapma, **Sig:** istatistiksel olarak anlamlılık)

Rezonans Frekans Analizi Bulgularının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

i-TZF & allogreft ile soket koruma yapılan 25 hastada ve çekim sonrası herhangi bir uygulama yapılmayan 25 hastadan trefan frez ile sağlam kemik dokusu elde edilebilen 19' unda implant yerleştirilmesi sonrasında stabilite ölçümü yapılarak toplamda 44 ISQ verisi elde edildi. Her bir ISQ değeri, ilgili implantın üzerine yerleştirilen transduserin 5 farklı yönünden yapılan ölçümlerin aritmetik ortalamasından oluşmaktaydı. Çalışma grubundaki ISQ değerleri 55-88 arasında değişim gösterirken, ortalama değer 75.72 olarak bulundu. Kontrol grubundaki ISQ değerleri ise 44-70 arasında değişim gösterdi ve ortalama değer 61.15 olarak hesaplandı. Soket koruma uygulanan grupta primer stabilizasyon değerlerinin kontrol grubundan daha yüksek olduğu ve gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. ($p=0.0001$)

ISQ	N	Ort	SS	Min	Max	Sig
i-TZF	25	75.72*	7.97	58.00	88.00	.000
Kontrol	19	61.15*	8.67	40.00	70.00	.000
Toplam	44	69.43	10.96	40.00	88.00	

Tablo 9: İyileşme dönemi sonunda hazırlanan sokete yerleştirilen implantların primer stabilitesinin ölçümü amacıyla uygulanan rezonans frekans analizinin Mann-Whitney U testi ile istatistiksel olarak değerlendirilmesi. ($p<0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilecektir) (**ISQ:** implant stabilite katsayısı, **N:** örnek sayısı, **Ort:** ortalama değer, **SS:** standart sapma, **Min:** minimum değer, **Max:** maksimum değer, **Sig:** istatistiksel olarak anlamlılık)

5. TARTIŞMA

Oral ve maksillofasiyal cerrahide ogmentasyon uygulamaları geniş yer alan ve dinamik bir alandır. Özellikle dental implant uygulamalarının popülaritesinin artmasıyla birlikte kemik dokusunun hacminin ve kalitesini arttırmaya yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Derin çürük, travma, başarısız kanal tedavisi, diş eti hastalığı ve travma gibi fizyolojik ya da patolojik nedenlerden dolayı dişlerin kaybelmesi sonrasında hareketli ya da sabit protetik restorasyon uygulanan hastalarda bölgedeki kemik dokusu atrofiye uğramaktadır. Alvoler kemik kaybı sonrasında dişsiz bölgede estetik, fonasyon ve çiğnemenin temin edilebilmesi için dental implant uygulaması ile birlikte yeni kemik oluşumunun da sağlanması gerekmektedir. Araştırmacıların üzerinde en çok yoğunlaştığı konulardan olan kemik ogmentasyonunda kemik iyileşmesini hızlandırmak ve oluşan kemiğin kalitesini arttırmak amacıyla çeşitli greftleme teknikleri ve farklı prosedürler uygulanmıştır. Daha hızlı remodele olan ve daha yoğun maturasyon gösteren kemik iyileşmesi modeli üzerinde yapılan çalışmalarda kemik metabolizması göz önünde bulundurularak bir çok modifikasyon uygulanmıştır.(81,88,169) Kemik iyileşmesi esnasında trombosit, makrofaj ve fibroblast kaynaklı birçok büyüme faktörü salındığı bilinmektedir. Bu büyüme faktörleri osseoz iyileşme sürecini düzenleyerek apozisyon ve rezorpsiyon arasındaki dengeyi sağlamaktadır.(82) Çalışmamızda greft materyaline hücrel ve büyüme faktörü açısından zengin içerğe sahip i-TZF ilavesi ile kemik iyileşmesinin hızlandırılması ve oluşan kemik kalitesinin arttırılmasını amaçlanmıştır. Greftin iyileşmesi ve kemik rejenerasyonunun değerlendirilebilmesi amacıyla sinus yükseltme, horizontal ve/veya vertikal kemik ogmentasyonu gibi prosedürler kullanılabilirken histolojik inceleme için örnek elde edilmesi kolay ve klinik pratiklerinde rutin olarak uygulanan işlemlerden olan çekim soketi modelinin kullanılması uygulamanın standardizasyonunu sağlayarak objektif değerlendirmeye olanak tanımaktadır. Çekim soketi modelinde greftleme uygulanmış olan çalışmalar incelendiğinde kullanılan biyomateryale ve cerrahi tekniğe bağlı olarak çeşitli iyileşme süreleri belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda greft hacminin erken dönemde radyografik incelemeyle değerlendirilmesinde anlamlı değişiklikler bulunmadığı görülmüştür.(144,168) Bu nedenle greft iyileşmesinin erken dönemde (2ay) histolojik

karakterini değerlendirdiğimiz çalışmamızda radyografik olarak anlamlı veriler elde edilemeyeceğini n görerek greftin hacimsel rezorpsiyonunu değerlendirmemeye karar verilmiştir.

Diş ekimi sonrasında alveolar krette oluşan rezorpsiyon nedeniyle protetik olarak ideal konumda ve açıda bir dental implant yerleştirilmesi güçleşmektedir. Optimum konumda yerleştirilmeyen implant, biyomekanik ve estetik olarak yetersiz implant üstü protetik restorasyon yapımına neden olmaktadır.

Diş çekiminden sonra görülen alveoler kret rezorpsiyonu her ne kadar istenilmese de fizyolojik bir olaydır. (114) Günümüze kadar yapılmış olan çok sayıda hayvan ve insan çalışmasına göre diş çekiminden hemen sonra yara bölgesinde histolojik ve fizyolojik olaylar ardı ardına başlar ve iyileşme sürecinde çekim soketinde hacim kaybı görülür. (25,115,116)

Carlsson ve Persson' un yaptıkları çalışmaya göre diş çekimi sonrasında rezorpsiyonun en hızlı seyrettiği dönem ilk bir yıl, boyutsal değişimin en fazla olduğu dönem ise ilk 6 aydır. Bukkal taraftaki ince kemik lameli kolayca ker ve bu da yatay yönde çok sratlı boyut kaybına yol açar. Mandibuladaki rezorpsiyon çoğunlukla sagittal düzlemde olurken, maksillada bukkal ve horizontal yönde gerçekleşir. Bu atrofi yaşam boyunca sürer ve komşu dişleri de etkileyebilir.(117)

Yapılan bazı çalışmalarda diş çekimi sonrasında 6 ayda horizontal kemik kaybının 3-5 mm ye ulaştığı rapor edilmiştir. (28,118,119)

Schropp ve ark. diş çekimi sonrasında 12 ayda kret genişliğinin %50 oranda azaldığını gözlemlemişlerdir. (26)

Lekovic ve ark yaptığı klinik çalışmada diş çekimi sonrası 6. ayda hem vertikal hem de horizontal yönde alveolar kret kaybı görüldüğünü belirtmişler ve ortalama 4.4 mm horizontal yönde ve 1.2mm vertikal yönde rezorpsiyon meydana geldiğini rapor etmişlerdir. (120,121)

Yapılan çalışmalarda maksiller anterior bölgede gerçekleştirilen diş çekimleri sonrasında kret genişliğinde yksekliliğine göre daha fazla rezorpsiyon görüldüğü bildirilmiştir. (120,121) Bu sonuçlarda palatinal/lingual taraftaki alveoler kemiğe kıyasla fasiyal yüzdeki kret kalınlığının daha az olması ve çekim sonrasında geride

kalan bu ince alveoler kemiğin beslenemeyerek rezorbe olmasının etkili olduğu düşünülebilir.

Yapılan bir başka çalışmada da Araujo ve ark köpek mandibulasında diş çekimi sonrasında kret rezorpsiyonunu incelemişlerdir. 3 aylık iyileşme dönemi sonunda, diğer çalışmalarla benzer şekilde alveolar kret boyutlarında horizontal yönde daha fazla bir kayıp meydana geldiği ve bukkal taraftaki kret rezorpsiyonunun lingual taraftakinden daha fazla olduğu rapor edilmiştir. (122)

Literatürde yapılmış olan çalışmaların sonuçları göz önünde bulundurulduğunda diş çekimini takiben hem alt çene hem de üst çenede alveoler kret rezorpsiyonunun bukkal duvarlarda daha fazla meydana geldiği görüşü kabul edilmiştir. İmplant uygulanması esnasında hem bukkal kret rezorpsiyonu hem de anatomik olarak bukkal konkavite bulunması implantın ideal pozisyonundan daha lingualde konumlandırılmasına neden olur. Bu nedenle estetik ve fonksiyonel olarak çeşitli komplikasyonlar ortaya çıkabilir.(123) Bu komplikasyonlara neden olan bukkal kret kaybının önlenmesinde ilk olarak yapılması gereken dişin travmatik şekilde çekimidir. Çekim esnasında dikkatsiz davranılması bukkalde zaten ince olan kemiğin kırılmasına, parsiyel ya da total olarak kaybına neden olabilir. Bunun önlenmesi için çalışmamızda diş çekimi gerçekleştirilirken standart elevatörlerden kaçınarak periotomlar ile diş ve yumuşak dokular dekole edildi, çok köklü dişler köklerine ayrılarak ve dikkatli bir şekilde çekildi.

Dişler ve implantlar anatomik ve fizyolojik açıdan bir çok farklılığa sahiptir. Dişler çene kemiğine periodontal ligament denilen yapılar ile sıkıca tutunurken, alveoler kemiğinin beslenmesi yine bu yapılar ve periost kaynaklı damarlar sayesinde gerçekleşir. Diş çekimini takiben periodontal ligament de kaybedildiği için kemik dokusunun beslenmesi sadece yumuşak doku kaynaklı periost tarafından sağlanır. İmplant yerleştirildikten sonra etrafındaki alveoler kemiğin beslenmesi yalnızca periost kaynaklı vasküler yapılar tarafından sağlanır. Ayrıca dişlere fonksiyon sırasında gelen mekanik kuvvetler periodontal ligament sayesinde absorbe edilip, dişlerin 56-108 µm hareketine izin verir.(124) İmplantların etrafında ise periodontal ligament bulunmadığı için periimplanter kemiğin beslenmesi yalnızca periosttan sağlanırken, üzerine etkiyen fonksiyonel kuvvetler direkt kemiğe iletilir. Diş çekildikten sonra alveoler sürecin boyutsal olarak küçülmesine engel olunması için

implant ile rehabilite edilmesi gereklidir. Diş kaybı sonrasında ne kadar çabuk implant uygulanırsa zaman içinde meydana gelen alveoler kemik kaybı o denli az olacaktır. (125)

Diş çekimini takiben alveoler kemik kaybını minimize etmek için:

- Diş çekim soketine immediat olarak implant yerleştirilmesi
- İmmediat implant uygulanması ile yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunun birlikte uygulanması
- Diş çekimi sonrası sokette yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu uygulanıp, iyileşme sonrasında implant yerleştirilmesi gibi çeşitli tedavi seçenekleri bulunmaktadır.

Diş çekimi sonrasında immediat olarak implant yerleştirilmesi, alveoler kemik erimesini önleyebilmek için uygulanan tedavi seçeneklerindedir. Bu yöntem ile amaçlanan kemik genişliği ve yüksekliğinin korunmasıdır. (126-129)

İmmediat implant uygulanan bir çok çalışmada yüksek başarı oranları rapor edilmiştir.(129) Grunder ve ark yaptıkları prospektif klinik çalışmada, 264 immediat implant uygulamasının sonuçlarında 3 yıl sonunda maksillada %92.4, mandibulada ise %94.7 başarı oranı rapor etmişlerdir.(130)

Barzilay ve ark. immediat ve geleneksel implantasyon yöntemlerini karşılaştırmış ve kemik-implant teması açısından anlamlı bir fark bulunmadığını belirtmişlerdir.(131)

Diş çekimini takiben aynı seansta implant yerleştirilmesi iyileşme döneminin kısalmaması, maliyetin azalması gibi avantajları bulundurmasına karşın çeşitli dezavantajlar barındırmaktadır. Çekim sonrasında soket içinde kalan yumuşak doku artıkları ya da enfekte dişten geriye kalan granülasyon dokularının yeterince uzaklaştırılmaması, implant ve rezidüel kret arasında yer alması, osteointegrasyon paternini sekteye uğratarak implantın kemik ile fibröz iyileşmesine neden olabilmektedir.(132) Ayrıca çekim sonrasında mevcut olan soket duvarlarının miktarı her zaman implant yerleştirmek için yeterli olmayarak sert ve/veya yumuşak doku greftleri ya da çeşitli biyomateryallerin kullanımı gerekebilmektedir.(133)

Yapılan bazı çalışmaların sonuçlarına göre ise, taze çekim soketine implant yerleştirildikten sonra bile, ince kalan bukkal alveoler sürecin rezorpsiyonu devam etmekte, bukkal duvar seviyesinin apikal ve lingual yönde yer değiştirdiği görülmektedir.(122)

Diş çekimi sonrasında immedat olarak implant yerleştirilmesi ve yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu uygulanan çalışmalarda başarılı sonuçlar rapor edilmiştir. Fakat eş zamanlı olarak immedat implantasyon ve YKR uygulanmasında post-op erken dönemde yara açılması meydana gelme riski ve bunun sonucunda yeni kemik oluşumunun azalması gibi komplikasyonlar görülebilmektedir.(134)

Diğer yöntemlerle kıyaslandığında soket koruma uygulanıp iyileşme süreci sonunda implant yerleştirilmesi, sonuçları öngörülebilir, başarı oranı yüksek ve cerrahi uygulaması daha basit bir yöntemdir. Biz de çalışmamızda diş çekimi gerçekleştirdiğimiz soketleri deenfekte edip sonrasında greftleme uyguladık ve 2 aylık iyileşme dönemi sonunda implantları yerleştirdik.

Soket koruma amacıyla yapılan çalışmalarda otojen, allogreft, xenogreft ve sentetik greftler gibi çeşitli sert doku materyalleri kullanılmıştır. Greftleme sonrası kemik iyileşmesi ve yeni kemik oluşumu osteogenezis, osteoindüksiyon ve/veya osteokondüksiyon aracılığıyla meydana gelmektedir.(135,136) Otojen kemik greftleri osteogenetik, osteoindüktif ve osteokondüktif özellikleri birlikte bulundurması sayesinde kemik rejenerasyonu prosedürlerinde “altın standart” olarak kabul edilmektedir.(137-139) Ancak otojen greftlerin istenilen miktarda elde edilememesi, hacminin önemli kısmında iyileşme döneminde rezorpsiyon görülebilmesi, verici saha morbiditesi ve hassas cerrahi teknik gerektirmesi gibi dezavantajları nedeniyle araştırmacılar alternatif greft materyali arayışına girmişlerdir.(140) Bu noktada

osteoindüktif ve osteokondüktif potansiyelleri bulunan, istenildiği miktarda ve formda temin edilebilen allojenik greftlerin oral cerrahide kullanımı öne çıkmıştır. Literatürde allogreft kullanılarak yapılan çekim soketi koruması çalışmalarında 4-8 aylık dönemlerde iyileşme gerçekleştiği görülmüştür. (112,113) Otojen greft uygulanan çalışmalarda uygulanan yöntemle ilgili olarak 2-3 ay iyileşme dönemi sonunda fonksiyonel yüklem yapılması gerektiği, daha uzun bekleme sürelerinde ise önemli bir kısmında rezorpsiyon görüleceği belirtilmiştir. (141)

Oral cerrahide uygulanan bir diğer greft materyali xenogreft ise kısmi osteoindüktif, daha çok osteokondüktif özelliğe sahiptir. Yapılan çalışmalarda xenogreftin hacmini koruması ve osteoprogenitör hücreler için çatı görevi görmesi gibi avantajlara sahip olduğu belirtilmiştir. (9) Bazı çalışmalarda ise ogmentasyon alanına yerleştirildikten sonra rezorbe olup yeni kemik oluşumuna katılması için daha uzun süre gerektirmesi ve yetersiz osteoindüktif yapısı nedeniyle otojen ya da allojenik greftler ile karıştırılarak uygulanması önerilmiştir.(142) Sentetik kemik greftleri ise son yıllarda sıkça kullanılan osteokondüktif karakterde sert doku materyalleridir. Yapılan çalışmalarda 12 ay gibi uzun bir süre rezorbe olmadan greftleme alanında kalması nedeniyle otojen ya da allojenik greftlerle kullanımı önerilmiştir. (112-143)

Yaptığımız çalışmada osteoindüktif ve osteokondüktif potansiyele sahip olması, çekim soketi iyileşmesine uygun sürelerde iyileşme göstermesi ve iyileşme dönemi sonunda rezidüel olarak daha düşük oranda bölgede kalması nedeniyle allogreft uygulanması tercih edilmiştir. Referans aldığımız bir çok makalede allojenik kemik greftlerinin çekim soketi korunmasında başarı ile uygulandığı ve 4-12 ay aralığında iyileşme dönemi gerektirdiği görülmüştür. Bizim çalışmamızda osteoindüktivitenin arttırılması ,iyileşme sürecinin kısılması ve yeni oluşan kemik kalitesinin arttırılması konusunda allogreftte i-TZF ilavesinin etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Jambhekar ve ark (2015) yayınladığı sistematik derlemede flepsiz yöntemle ve farklı greft materyalleri kullanılarak diş çekim soketi koruması uygulanan 32 çalışma ele alınmıştır.(144) Bu çalışmalardan allogreft ile soket koruma yapılan 6 çalışmanın 12 hafta ve üzerindeki iyileşmenin histolojik incelemesinde ortalama yeni oluşan kemik yüzdesi %29.93, rezidüel greft oranı %21.75 ve granülasyon dokusu miktarı %51.03 olarak bulunmuştur.(113,145-148) Sistematik derlemeye göre kortikal mineralize dondurulmuş allogreft (FDBA) kortikal demineralize dondurulmuş kurutulmuş allogreft materyaline (DFDBA) kıyasla daha sık kullanılmıştır. DFDBA

uygulanan çalışmalarda yeni oluşan kemik yüzdesi ortalama %38.42, rezidüel greft miktarı %8.8 iken, FDBA uygulanan çalışmalarda yeni oluşan kemik yüzdesi ortalama %23.54, rezidüel greft yüzdesi %26.94 olarak belirtilmiştir.(113,145-148) İyileşme dönemi sonunda kretin hacimsel kaybı değerlendirildiğinde FDBA & DFDBA' nın kombine olarak uygulandığı çalışmalarda 1 mm, yalnızca FDBA uygulananlarda 1.65 mm, yalnızca DFDBA uygulananlarda ise 2.18 mm kret boyutlarında azalma görülmüştür. (144)

Aynı sistematik derlemede xenogreft kullanılan 21 randomize kontrollü çalışma ele alındığında, 12 hafta ve üzerindeki iyileşme sürelerinde yapılan histolojik incelemede yeni kemik oluşum yüzdesi %35.72, rezidüel greft miktarı %19.30, granülasyon dokusu ise %44.42 olarak rapor edilmiştir. Sentetik greft kullanılan 14 randomize kontrollü çalışma incelendiğinde ise 12 hafta ve üzerindeki iyileşme potansiyelinin histolojik değerlendirmesinde yeni kemik oluşumu %45.53, rezidüel greft miktarı %13.67 ve granülasyon dokusu oranı %38.39 olarak belirtilmiştir. (144,146,149-153)

Kakar ve ark yaptıkları klinik çalışmada 15 hastada diş çekimi yapıp soket koruma amacıyla sentetik greft (B-TCP/ HA) uygulamışlardır ve herhangi bir membran kullanmaksızın primer kapama sağlamadan operasyonları tamamlamışlardır. Yaklaşık 5.2 aylık iyileşme dönemi sonrasında yapılan radyolojik incelemelerin sonucuna göre kret genişliğinin 0.79 mm azaldığı rapor edilmiştir. Histolojik incelemeye göre %21.34 yeni kemik oluşumu, %26.2 rezidüel greft ve %53 granülasyon dokusu oluşumu gözlemlendiği belirtilmiştir. İyileşme dönemi sonrasında bizim çalışmamızda olduğu gibi trefan frez ile histolojik kemik örneği aldıktan sonra implant yerleştirilirken primer stabilitenin ölçümü amacıyla RFA ölçümü yapmışlardır. İlk yerleştirildiğinde ortalama ISQ değeri 70.3 N/cm olarak ölçülmüş olup final restorasyonu yapıncaya kadar giderek azaldığı rapor edilmiştir. Ayrıca yazarlar çalışmada uyguladıkları flepsiz ve membransız yöntemin hastaların post-op konforunu arttırdığını, iyileşme süresinin kısaldığını, alveoler kemik konturunun ve mimarisinin korunmasına yardımcı olduğunu eklemiştir.(154) Kakar ve arkadaşlarının çalışması, dizaynı ve değerlendirme kriterleri açısından örnek aldığımız çalışmalardandır. Bizim de çalışmamızda ISQ ölçümleri ile yeni oluşan kemikteki implantın primer stabilitesinin incelenmesi ve histolojik değerlendirme ile bu yeni oluşan kemiğin kalitesinin ve içeriğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca flepsiz yöntem kullanılarak ve de sadece TZF membran ile greftleme alanı örtülerek

çalışmamızı gerçekleştirilmiştir. Kakar ve arkadaşlarının bahsettiği gibi yumuşak doku ve alveoler kemiğin mikromimarisini korunarak, estetik görünümün temini ve de operasyon süresini kısaltılarak post-op hasta konforunun artırılması hedeflenmiştir.

Cardaropoli ve ark yaptığı randomize kontrollü klinik çalışmada 48 premolar ya da molar diş çekimi sonrası xenogreft ile soket koruma yapıp kollajen membran ile bölgeyi örtüleyerek yaklaşıtrıcı sütur atmışlardır. Kontrol grubunda ise ilave herhangi bir cerrahi işlem yapmadan diş çekimleri gerçekleştirilip, pıhtı stabilizasyonu için fibrin süngerler yerleştirilmiştir. 4 aylık iyileşme dönemi sonunda alınan kemik dokusu örneklerinin histolojik olarak değerlendirilmesine göre çalışma grubunda yeni kemik oluşumu %26.34, rezidüel greft %18.46 ve bağ dokusu %55.19 olarak görülmüş, kontrol grubunda ise yeni kemik oluşumu %43.82, bağ dokusu ise %56.17 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarında histolojik verilerde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.(155) Bu çalışmanın dizaynı, yaptığımız tez çalışmasına fikir vermiştir ve çalışmamızda greftleme yaptığımız grup çalışma grubunu, herhangi bir soket koruma yapılmadan yalnızca pıhtı stabilizasyonu gerçekleştirilen grup kontrol grubunu oluşturmuştur. Cardaropoli ve ark çalışmasına benzer şekilde bizim çalışmamızda da her iki grupta flepsiz yöntem uygulanıp, çapraz matress sütur ile yara kenarlarının yaklaştırılması amaçlanmış, primer kapanma amaçlanmamıştır. Ayrıca bizim çalışmamızda da histolojik ve histomorfometrik analiz ile yeni kemik oluşumu, rezidüel greft miktarı ve bağ dokusu yüzdesel olarak değerlendirilip, belirli alanda osteosit sayımı gerçekleştirilmiştir.

Guarnieri ve ark., 10 çekim soketine bariyer membran kullanmadan kalsiyum sülfat içerikli greft materyali yerleştirmişler ve 3 ay sonra ilgili bölgeyi tekrar açmışlardır. Çalışma sonucunda kalsiyum sülfatın tamamen rezorbe olduğu ve %100'lük kemik dolumu görüldüğü bildirilmiştir (156)

Carmagnola ve ark. deproteinize sığır kemiği partikülleri ile doldurulmuş çekim soketlerinin iyileşmesini araştırmışlardır. Çalışmada 31 soketin 11'inde sadece kollajen membran, 7'sinde membran ve deproteinize sığır kemiğini birlikte kullanmışlar, 10 soketi de spontan iyileşmeye bırakmışlardır. Membran ve greftin birlikte kullanıldığı soketlerin tekrar açıldıkları zaman implant yerleştirilmesi için uygun oldukları görülmüştür. Membran ile örtülen soketlerde bölge 4 ay sonra tekrar açıldığında bol miktarda lamellar kemik ve kemik iliği ve az miktarda süngerimsi kemik görülmüştür (157)

Sadeghi ve ark yaptığı kontrollü randomize klinik çalışmada 20 hastada insan kaynaklı kemik grefti ve sığır kaynaklı kemik greftinin soket koruma işleminde histolojik, histomorfometrik ve klinik etkilerini kıyaslamışlardır. Tüm hastalarda greftleme işlemi sonrası bölge kollajen membran ile örtülenip flep kaydırılarak primer kapama sağlanmıştır. 4-6 aylık iyileşme sonunda histolojik ve histomorfometrik analize göre allogreft kullanılan grupta yeni kemik oluşumu %34.49, rezidüel greft materyali %6.06 olarak saptanırken, xenogreft uygulanan grupta yeni kemik oluşumunun %18.76, rezidüel greft miktarının %12.77 olduğu rapor edilmiştir. Bu sonuçlara göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar bu farklılığa xenogreftin rezorpsiyon oranının allogreftten daha fazla olmasının neden olabileceği şeklinde yorumlamışlardır. (158) Benzer çalışmalarda Lee ve ark xenogreft ile greftlenen soketlerde 6-8 ay sonunda yeni kemik oluşumunu %23.6 olarak değerlendirirken(159), Gholami ve ark yeni kemik oluşumunu %27.35 olarak saptamışlardır. (160)

Artzi ve ark yine xenogreft kullanarak soket koruma uyguladıkları çalışmada 9 ay sonunda yeni kemik oluşumunu %46 olarak bulmuşlardır.(161)

Aynı greft materyali kullanılmasına rağmen farklı sonuçların bulunması, farklı bekleme süreleri belirlenmesine bağlı olabileceğini düşündürmektedir.

Chan ve ark yaptığı sistematik derlemede ise çekim soketindeki fizyolojik iyileşme sonunda yeni kemik oluşumunun ortalama %38.5 olduğu ve allogreft uygulanmasının kemik formasyonunu etkilemediği, xenogreft uygulamasının ise fizyolojik iyileşme ile çelişkili sonuçlar verdiğini belirtmişlerdir. (162)

Vance ve ark bir taşıyıcı (karboksimetilselüloz ve kalsiyum sülfat) ile allogreft kullandıkları soket ogmentasyonunda yalnızca xenogreft kullanılan gruba göre 4 ay sonunda anlamlı şekilde yüksek kemik oluşum parametreleri elde etmişlerdir. Allogreft grubunda %61 olarak bulunan vital kemik yüzdesinin xenogreft grubunda %26 olduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacılar allogreft grubundaki yüksek vital kemik yüzdesinde pöröz yapıdaki taşıyıcı materyalin erken, yüksek vasküler ve hücrel aktiviteye olanak tanınmasının etkili olduğunu ifade etmişlerdir. (163)

Bu çalışmanın sonuçlarıyla benzer şekilde i-TZF ve allogreft ile soket koruma uyguladığımız grupta 2 aylık iyileşme süreci sonunda yeni kemik oluşumunu %65.4 olarak saptadık. Literatürle karşılaştırıldığında daha kısa sürede daha fazla yeni kemik oluşumu gözlemlememizde büyüme faktörleri ve trombosit zengin i-TZF likidi kullanılarak erken dönemde daha fazla vaskülarizasyon meydana gelmesi, partikülize

greftin putty kıvam kazanmasıyla stabilizasyonunun sağlanması ve osteoprogenitör hücrelerin indükte edilerek daha fazla osteoid çökmesinin sağlanmasının etkili olduğunu düşünmekteyiz.

Putty greft kullanılarak soket ogmentasyonu yapılan bir çalışmada El-Chaar ve ark 12 hastada diş çekim uygulamışlar ve intakt soketlere (n=6) putty mineralize bone matriks, bukkal duvarda kayıp görülen soketlere (n=6) ise putty mineralize bone matriks ve partikülize grefti kombine yerleştirmişlerdir. 6 aylık iyileşme dönemi sonunda alınan kemik örnekleri histolojik olarak incelendiğinde yalnızca putty greft kullanılan grupta yeni kemik oluşumu %40.28, putty greft ve partikülize greftin kombine uygulandığı grupta ise %44.6 olarak saptanmıştır. Araştırmacılar putty formdaki demineralize bone matriksin çekim soketlerinin doldurulmasında kret korumada implant için yeterli kemik oluşumunu sağlayan bir materyal olduğunu belirtmişlerdir.(164) Biz de çalışmamızda partikülize allogreftin i-TZF ile karıştırılması ile elde edilen putty formdaki grefti çekim soketlerinde uyguladık. El-Chaar ve ark yaptıkları çalışmanın sonucunda putty formdaki greftin yerleştirilen bölgeye adaptasyonunun kolay olduğunu ve stabil olarak konumunu koruması nedeniyle daha az greft rezorpsiyonu gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Bu çalışmayla benzer şekilde yaptığımız çalışmada putty formda greftin homojen şekilde ölü alan bırakmadan kondanse edilebildiği gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmalarda operasyon süresi uzadıkça post-op semptomların arttığı vurgulanmıştır.(90,121) Çalışmamızda, putty greft ile ogmentasyon uygulanmasının hasta başında geçirilen süreyi kısalttığı, bunun sonucunda operasyon süresinin azaldığı ve bu nedenle post-op ağrı, ödem gibi semptomlarının azaldığı, hasta konforunun artmasını sağladığı düşünülmektedir.

Fernandes ve ark maksiller anterior bölgede diş çekimi sonrasında soket koruma amacıyla aselüler dermal matriks ve allogreftin kombine uygulandığı hasta grubuyla yalnızca aselüler dermal matriks uygulanan grubun 6-8 ay sonundaki iyileşme değerlerini karşılaştırmışlardır. Aselüler dermal matriks ve allogreftin birlikte uygulandığı grupta yeni kemik oluşumunun %37.4, yalnızca aselüler dermal matriks uygulanan grupta ise yeni kemik oluşumunun %35.5 olarak gözlemlendiğini ve gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, aselüler dermal matriks ve allogreft kullanımının anterior bölgede kemik kaybının önlenmesinde etkili bir yöntem olduğunu ifade etmişlerdir.(165)

Mardas ve ark çalışmalarında soket koruması işleminde sentetik ve sığır kaynaklı kemik greftinin etkisini incelemişlerdir. Her iki grupta greftlenen saha

rezorbe olabilen membran ile örtülenirken, 8 aylık iyileşme süreci sonunda histolojik incelemede bulunmuşlardır. Her iki grupta benzer sonuçlar saptanırken, kemik dokusu örneğinin apikal kısmında yeni kemik formasyonunun görüldüğü, koronal kısmında ise rezidüel greft partiküllerinin fibroblast, kollajen fibrilleri ve kan damarlarından oluşan yoğun bağ dokusu ile çevrili olduğu rapor edilmiştir. Araştırmacılar 8 aylık iyileşme sonucunda her iki greft materyalinin de kemik genişliği ve yüksekliğinin korunmasında etkili olduğunu ifade etmişlerdir.(166)

Walker ve ark yaptıkları randomize kontrollü çalışmada 40 hastada allogreft ve rezorbe olmayan membran ile soket koruma yönteminin klinik ve histolojik etkilerini incelemişlerdir. Yazarlar soket koruma uygulamasının fizyolojik çekim soketi iyileşmesine göre kret genişliğinin korunmasında anlamlı bir fark yaratmadığını fakat bukkal duvar yüksekliğinin kaybedilmesine engel olduğunu vurgulamışlardır.(167)

Yapılan bir çalışmada çekim soketinde xenogreft ve allogreft kullanımı sonrası bukkal duvar yüksekliğinde 0.57 mm ve 0.58 mm olmak üzere birbirine yakın miktarda değişiklik görüldüğü belirtilmiştir. Sentetik greft ile soket koruma yapıldığında 0.77 mm bukkal kemiğin yüksekliğinin azaldığı, hiç bir greftleme prosedürü uygulanmadığı durumda ise 1.74 mm miktarında kemik kaybı görüldüğü rapor edilmiştir. Yine aynı çalışmada çekim soketine sırasıyla allogreft, xenogreft, sentetik greft uygulandığı ve boş bırakıldığı durumlarda 1.63 mm, 1.3 mm, 2.13 mm ve 2.79 mm kadar bukkolingual genişliğin kaybedildiği belirtilmiştir. (144)

Yapılan çalışmalarda çekim soketlerinin ogmentasyonu ile ilgili başarılı klinik sonuçlar elde edilirken, diğer yandan uygulanan greft materyallerinin soketin fizyolojik iyileşme sürecini olumsuz olarak etkileyip etkilemediği hala açıklığa kavuşmamıştır. (168)

Çekim soketinin iyileşmesindeki fizyolojik ve histolojik bilgiler ışığında, kemik iliği boşluklarındaki osteoprekürsor hücrelerin i-TZF içerisindeki büyüme faktörleri ve sitokinler ile greftlenen alana daha hızlı gelebileceğini öngörerek soket korumasında allojenik greft materyaliyle i-TZF likidini karıştırarak kullandık. Klinik uygulamamızda 2 aylık iyileşme dönemi sonunda implant yerleştirilmesi esnasında yeterli dirençte kemik dokusu oluştuğu gözlemlendi ve trefan frez ile sert doku örneği elde edildi. İmplant yerleştirilirken, yeni oluşan kemiğin sağladığı yapısal desteğin değerlendirilmesi amacıyla RFA ölçümleri yapıldı. Histolojik inceleme sonucunda literatürde benzer diyazna sahip çalışmalarla karşılaştırıldığında uyguladığımız yöntemin kısa iyileşme süresinde yeni kemik oluşumunda başarılı sonuçlar verdiği ve

RFA ölçümlerinde yüksek değerler gösterdiği görüldü ve yöntemin literatüre katkıda bulunması amacıyla çalışma haline getirilmesine karar verildi

Oral ve maksillofasiyal cerrahide kemik oluşumunu hızlandırmak ve yeni oluşan kemiğin mikroskobik ve makroskobik özelliklerini geliştirmek amacıyla bir çok modifiye prosedür uygulanmıştır. Remodelasyonun hızlandırılması ve maturasyonun derecesinin artırılması amacıyla yapılan çalışmalarda kemik iyileşmesi ve kemik oluşumu metabolizması göz önünde bulundurulmuştur.(169) Kemik iyileşmesi esnasında trombosit, makrofaj ve fibroblastlardan polipeptid yapısında birçok büyüme faktörünün salındığı bilinmektedir. Bu proteinler osseoz iyileşme sürecini düzenleyerek, migrasyon, poliferasyon ve differansiyasyon ile rezorpsiyon arasındaki dengeyi sağlamaktadır. Günümüze kadar yapılmış olan çalışmalarda kemik iyileşmesinde birçok indükleyici faktör olduğu belirtilmiştir. Özellikle son yıllarda rekombinant teknolojinin gelişmesi, elde edilen büyüme faktörlerinin kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerini daha net şekilde açıklamaya yardımcı olmuştur. Bu çalışmalarda en fazla Transforming Growth Factor (TGF) ailesinden olan Bone Morphogenetic Protein (BMP) üzerinde durulmuştur. Ayrıca TGF-B, PDGF, VEGF, IGF ve FGF diğer büyüme faktörlerinin kemik iyileşmesinde etkili olduğunu belirten çalışmalar da yapılmıştır. (170-172)

Choukroun' un ilk olarak Fransa'da tanımladığı trombositten zengin fibrin (TZF) TZP' ye kıyasla oldukça basit ve özgün bir metot ile üretilir.(173) İkinci nesil trombosit konsantratu olan TZF, venöz kanın belirli değerlerde santrifüj edilmesiyle elde edilir. Cam ya da cam kaplı plastik tüpler kullanılarak elde edilebilen TZF, santrifüj işlemi sonunda üç katmana ayrılır. En altta bulunan kırmızı kısımda kırmızı kan hücreleri bulunurken orta katmanda trombositten zengin fibrin dokusu bulunur. En üst katmanda ise hücresel açıdan zengin fibrin sıvısı yer alır. TZF' nin kırmızı kan hücrelerine komşu olan alt kısmı hücresel olarak en zengin kısmı oluşturduğu için TZF nin tüpten ayrılmasında bu kısmın da dahil edilmesine dikkat edilmelidir. TZF karmaşık bir üç boyutlu mimariye sahip güçlü bir matriks oluşturur ve elde edilen kandaki trombositlerin ve lökositlerin çoğunu içeriğinde bulundurur.(86)

Trombositten zengin fibrin (TZF), uygulandığı alanda rejenerasyon potansiyelini arttıran yeni nesil bir trombosit konsantratıdır. Hastanın kendisinden elde edildiği için otolog karakterdedir ve içeriğindeki fibrin sayesinde immun cevabın oluşmasında önemli rol alır. Ayrıca kök hücrelerin stimule edilip yara iyileşmesinin hızlanmasını ve anjiyogenezin artmasını sağlar. Diğer trombosit preparatlarına göre

kolay elde edilmesi, yüksek miktarda büyüme faktörü ve sitokinleri içermesi, içeriğinde herhangi bir eklenti bulunmaması nedeniyle yabancı doku reaksiyonu göstermemesi ve maliyetinin az olması gibi önemli avantajlara sahiptir. (174)

Literatürde çeşitli santrifüj değerleri kullanılarak yapılmış birçok TZF çalışması bulunmaktadır. Choukroun' un ilk olarak tarif ettiği metotta elde edilen venöz kanın 3000 rpm devirde 10 dk süresince santrifüj edilmesi gerektiği belirtilmiştir. (173) Daha sonra Rodella ve ark yaptığı çalışmada 2700 rpm devirde ve 12 dk süreyle santrifüj ettikleri venöz kandan çok daha sıkı ve yoğun kıvamda TZF oluştuğunu bildirmişlerdir. (175)

Dohan ve ark, kullanılan farklı tüplerin (cam ya da cam kaplı plastik) ve kompresyon prosedürlerinin TZF membranın fibrin mimarisinde etkili olup olmadığını incelemiştir. Çalışmanın sonucunda santrifüj kuvvetine bağlı olarak elde edilen kanın içerisinde bulunan trombositlerin %97' sinin, lökositlerin %50' den fazlasının TZF içerisinde yer aldığı ve spesifik üç boyutlu yerleşim gösterdiği rapor edilmiştir. Trombositlerin ve fibrinin, kırmızı kan hücreleri tabakasından bir kaç mm uzakta geniş koagülasyon kümeleri oluşturduğu ve fibrin ağın oldukça dens ve matur olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar kullanılan farklı tüplerin ve kompresyon tekniklerinin TZF mimarisinde anlamlı bir fark oluşturmadığı yorumunda bulunmuşlardır.(179)

O'Connel ve ark yaptığı çalışmada TZF hazırlanırken kullanılan tüplerde bulunan silikanın gingival fibroblast hücreleri, keratinositler, preadipositler ve osteoblastlar üzerinde herhangi bir olumsuz etki yaratmadığını rapor etmişlerdir.(176)

TZF' nin fibrin ağı içerisindeki lökositlerin etkin olması ve sitokinlerin fibrin ağ ile birleşmesinin immün cevaptaki rolü önemlidir. Transplante edildikten sonra TZF içeriğinden sitokinlerin sürekli salınımı greft materyali içerisindeki enflamatuar ve enfeksiyöz olayların kontrolünde etkilidir. Fibrin ağın greftlenen bölgeye integrasyonu, hücrelerin migrasyonunu differansiyasyonunu kolaylaştırır. Özellikle neoanjiyogenez, vaskülarizasyon ve greftin beslenmesini sağlayan endotelial hücreler ve kök hücreler için bu durum önem taşır. Trombosit sitokinleri fibrin ağ rezorbe oldukça salınır ve iyileşmede rol oynarlar. Bu sürekli salınım prosesi iyileşmeye yardımcı olmak ve bağ doku formasyonunu sağlamak için kullanılır. Sitokin içeriği ile TZF pıhtısı bir tür immün organizasyon nodu olarak görev alır ve kemotaksik özellikleri ve neoanjiyogenezisi artırma potansiyelleri sayesinde enfeksiyona karşı savunmayı gerçekleştirirler. Bu özelliği sayesinde TZF kemik greftlerinde enflamasyonu ve sepsis riskini kontrol edebilirler. (177,178) Çalışmamızda greft

materyalini i-TZF ile ıslatarak soketlere yerleştirdik ve üzerini TZF membran ile örtüleyerek ağız ortamı ile ilişki halinde bıraktık. Simonpieri ve ark yaptığı çalışmadan fikir alarak hem greft materyalinin iyileşmesinin hızlanması hem de ağız ortamından kaynaklanabilecek enfeksiyonun önlenebileceğini düşünerek TZF'nin hem likid hem de membran formundan yararlandık. Çalışmamızda hiçbir hastada enfeksiyona bağlı greft kaybı gözlemlenmemizde Simonpieri ve ark(177) belirttiği şekilde TZF'nin içeriğindeki sitokinlerin ve lökositlerin immün cevabı tetiklemesinin etkili olduğu düşünülebilir.

Dohan ve ark ,(88) ve Choukroun ve ark (82) TZF kullanımının operasyon sonrasında ağrı ve ödem oluşumunu azalttığını, enfeksiyöz olayları sınırlandırdığını belirtmişlerdir. Yaptığımız çalışmada hiç bir hastada enfeksiyon bulgusu ve buna bağlı greft kaybı gözlemlenmedi. Özgül ve ark (77) yaptıkları çok merkezli çalışmada bilateral gömülü yirmi yaş diş çekimi sonrasında sokete TZF uygulanmasının post-op ağrı ve şişliğe olan etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar TZF uygulanan grupta 1. ve 3. günde horizontal yöndeki ödem miktarının kontrol grubundan istatistiksel olarak daha az olduğunu, ağrıda ise gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadığını rapor etmişlerdir. Çalışmamızda post-op dönemde aşırı ödem ve ağrı şikayeti olan hastamız olmadı fakat çalışmamızda post-op semptomları değerlendirmedik.

Dohan ve ark insan kemik mezenşimal kök hücrelerinden aldıkları örnekleri 3'e ayırarak incelemişlerdir. İlk örneğe bir tabaka TZF membran, ikinci örneğe 2 tabaka TZF membran yerleştirip son örneğe TZF membran yerleştirmemişlerdir. Örneklerin 3,7,14,21 ve 28.günlerde hücre sayımı, sitotoksisite, ALP aktivitesi incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda doza bağımlı olarak TZF'nin fizyolojik kemik iyileşmesinde proliferasyon ve differansiyasyonu olumlu yönde etkilediği rapor edilmiştir.(85) alışmamızın sonuçlarının değerlendirilmesinde histolojik ve histomorfometrik analizlerin yanı sıra oluşun kemiğin kalitesinin incelenmesi için immunohistokimyasal analiz gerçekleştirerek kemik örneklerindeki ALP, OCN ve PCNA primer antikörlerine karşı gerçekleşen hücrel immunoreaktiviteyi gözlemledik.

TZF membranının esnek ve fiziksel olarak dayanıklı yapısı ile suture edilebilmesi, klinik uygulamalarda primer olarak kapatılamayacak olan vakalarda yara kenarlarının iyileşmesini hızlandırabileceğini ve klinik pratiklerinde avantaj yaratabileceğini göstermektedir. Ayrıca TZF membranının küçük parçalara bölünebilmesi, oda sıcaklığında stabil olması, manipölasyon için yeterli zaman

sağlaması, hazır prepare edilebilmesi, fizyolojik fibrin matriksine benzerliği, biyolojik ve biyomimetik özellikleri ile hücre migrasyonu ve proliferasyonuna izin vermesi, kritik olan ilk 7 günde yara iyileşmesini hızlandırması, herhangi bir biyokimyasal madde ve antikoagulan ilavesi gerektirmemesi, farklı greft materyalleriyle kullanıldığında greftin integrasyonunu ve neovaskularizasyonunu arttırması gibi önemli avantajları bulunmaktadır. (82) Diğer yandan, otolog kaynaklı olduğu için sınırlı miktarda ürün elde edilebilmesi, verici kişiye spesifik olması ve bu nedenle allojenik greft materyalleri gibi doku bankalarının kullanımına olanak vermemesi gibi dezavantajları olduğu belirtilmiştir. (179)

Simonpieri ve ark yaptığı bir çalışmada TZF membranı bir kaç milimetrelik parçalara ayırıp greft materyali ile karıştırarak operasyon bölgesine uygulamışlardır. Çalışmanın sonunda TZF membran kullanımı ile post operatif integrasyonda ve biyomateryalin remodelasyonunda artış saptamışlardır.(178)

Del Corso ve ark yine greft materyali ile TZF membranı küçük parçalar halinde karıştırarak uygulamışlardır. Araştırmacılar TZF membran parçalarının greft partikülleri arasında biyolojik bir yapıştırıcı görevi görerek neovaskularizasyon, osteblastik çoğalma ve differansiyasyonu uyarak kemik rejenerasyonunu arttırdığını rapor etmişlerdir.(180) Yaptığımız çalışmada greft materyalinin i-TZF sıvısı ile ıslatılarak putty kıvam kazanması, bir başka deyişle greft materyalinin içerisindeyken TZF' nin fibrin ağı oluşturması sağlanmış ve üzeri TZF membran ile örtülenmiştir. Çalışmamızın sonuçlarıyla literatürde mevcut olan aynı dizayna sahip ve aynı greft materyalleri kullanılarak yapılmış olan çekim soketi koruma gerçekleştirilen çalışmaların histolojik verileri karşılaştırıldığında; çalışmamızda daha kısa iyileşme süresinde histolojik olarak daha fazla hacimde yeni kemik oluşumu gözlemlenmiştir. Bu durumda Del Corso ve ark(180) da belirttiği şekilde, greft partiküllerinin biyolojik bir yapıştırıcı (i-TZF) ile birbirine yapıştırılması ve stabilizasyonunun sağlanması, partiküller arasında daha hızlı neoanjiyogenez ve hücresel migrasyon sonucu daha hızlı entegrasyon görülmesinin etkili olduğu düşünülebilir.

Simonpieri ve ark yaptığı bir çalışmada, fibrin matriksin mekanik olarak TZF' nin greft materyalinin koruduğunu ve stabilize ettiğini, dolayısıyla TZF' nin kemik partikülleri arasında biyolojik yapıştırıcı olarak görev aldığını belirtmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar oluşan kohezyon kuvvetiyle greftin, iyileşmenin erken dönemlerinde gerekli olan biyokimyasal güce sahip olduğunu rapor etmişlerdir.(181) Bu çalışmayla aynı fikirde olduğumuz çalışmamızda greft materyalinin iyileşmesinin hızlanmasında

i-TZF ile birbirine yapıştırılan greft partiküllerinin artmış stabilizasyonu ve etrafındaki büyüme faktörü, sitokinler ve hücreden zengin biyolojik ortamın etkili olduğunu düşünüyoruz.

Yapılan bir başka çalışmada çeşitli sebeplerle antikoagulan kullanan 50 hastada kan sulandırıcı ilaca ara verilmeden dış çekimleri gerçekleştirilmiş ve çekim soketlerine TZF membran uygulanmıştır. Çalışmada 38 hastada tam hemostaz sağlanırken 10 hastada hafif derecede kanama, 2 hastada ise lokal kanama durdurucu ajanlar ile kontrol altına alınabilen kanama görülmüştür. Çalışmanın sonunda TZF membran kullanımı ile antikoagulan tedavisi gören hastalarda dış çekimi sonrasında hemostazın sağlanabileceği belirtilmiştir.(182) Bizim çalışmamızda da minor dozda antikoagulan (Coraspin, 100mg) kullanan iki hastada ve antidepresan (Cipralex, 10mg) kullanan bir hastada dış çekimleri sonrasında yoğun hemoraji gerçekleşti. Hastaların venöz kanından elde edilen i-TZF likidi ve greft materyali soketlere yerleştirdik ve hemostazın sağlandığını gördük. Bu 3 hastada Sammartino ve ark yaptığı çalışmayla benzer şekilde TZF'nin hemostaz üzerine etkilerini gözlemledik. Ayrıca, TZF'nin içerdiği trombosit ve fibrin ağ yapısı sayesinde bulundurduğu hemostatik etkinin greft stabilizasyonu açısından da önemli olduğu, kemik içi defektlerden gelen kanın daha hızlı pıhtılaşmasını sağlayarak, greft partiküllerinin ogmentasyon alanından uzaklaşmasını engelleyebileceği ve operasyon alanında stabil kalmasına yardımcı olabileceği sonucuna varılabilir.

TZF membran formunda kullanıldığında büyüme faktörlerinden zengin içeriği sayesinde yumuşak dokunun iyileşmesini ve yara kenarlarının kapanmasını hızlandırırken, greft materyalini stabilize eder ve yara bölgesini dış etkilerden korur. (177) Literatürde TZF' nin membran formu ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Toffler ve ark TZF membran, TZF matriks ve demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik grefti (DDKG) kombinasyonunu kemik defektleri, alveoler kret ogmentasyonu ve sinus yükseltme işlemlerinde uygulamışlardır. Çalışmanın klinik sonuçlarına göre TZF' nin kemik iyileşmesini ve greft materyalinin maturasyonunu arttırdığı bildirilmiştir.(183)

Simonpieri ve ark yaptıkları çalışmada iki aşamalı cerrahi yöntem uygulamışlar ve %0.05' lik metronidazole solüsyonu ile DDKG, TZF matriks ve TZF membran uygulayarak alveoler kemik ogmentasyonu gerçekleştirmişlerdir. TZF membranı ogmentasyon sahasını örtüleyerek dış etkilerden korumak için kullanıp yumuşak dokunun iyileşmesini hızlandırmayı amaçlamışlardır. Post operatif ağrı, ödem ve

minor enfeksiyöz olayların TZF membran kullanılan grupta daha az olduğunu gözlemlemişlerdir. (178)

Dohan ve ark yaptıkları farklı çalışmalarda TZF membranın yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunda kullanımının greft materyalinin korunmasını sağladığını ve yara iyileşmesini hızlandırdığını rapor etmişlerdir. Ayrıca fibroblastlar için iskelet oluşturarak kemik rejenerasyonunda önemli rol üstlendiğini belirtmişlerdir. (81, 184)

Literatürde mevcut olan bazı çalışmalarda sinus yükseltme prosedürü esnasında gerçekleşen perforasyonu onarmak amacıyla araştırmacılar TZF membran kullanmışlar ve başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Araştırmacılar sinus membranının kendini 15 günde tamir ettiğini ve TZF membranın ortalama 3 hafta rezorbe olmadan bölgede kaldığını belirtmişler, bu nedenle sinus membran perforasyonunda güvenle kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir. (185, 186). Yapılan bir başka çalışmada Tunalı ve ark ise TZF membranın rezorpsiyon sürecinin 10.günde başlayıp 30.güne kadar devam ettiğini bildirmişlerdir. (187)

Yapılan bir çalışmada TZF membran ile kollajen membranın (BioGide, Osteohealth Co., Shirley, NY) doku mimarisinde iskelet oluşturma potansiyelleri karşılaştırılmıştır. Çalışma sonuçlarında TZF membranın insan periosteal hücrelerinin proliferasyonu için oluşturduğu iskeletin, kollajen membrandan üstün olduğu vurgulanmıştır. Aynı çalışmada her iki membranın da kemik rejenerasyonunda uygun iskelet yapı sağlayan materyaller olduğu fakat TZF membranın canlı hücreler içermesi ve greft partiküllerini birbirine yapıştırabilmesi nedeniyle kollajen membrandan daha üstün olduğu rapor edilmiştir. (188)

Literatür incelendiğinde TZF membran uygulamasının, manipülasyonu kolay bir yöntem olması, yara yerinde etkili ve daha hızlı iyileşme göstermesi, bariyer membranların yerleştirilmesi ve stabilizasyonunun zorluğu, ekspozite olma riskleri nedeniyle TZF membranın ideal bir bariyer görevi görebileceği düşünülebilir. Ayrıca TZF doğal bir kan pıhtısı olduğu için farklı greft materyalleri ile kombinasyonu greftin integrasyonunu artırarak greft materyalinin partikülleri arasındaki kohezyonu güçlendirir. (179) Yaptığımız çalışmada TZF' nin bu özelliklerinden yararlanarak greft materyalinin kohezyonunu arttırmak için ve operasyon sahasını örtülemek için yalnızca i-TZF ve TZF membran kullanarak herhangi bir kollajen membran kullanımına gerek duymadık.

Srisurang ve ark domuzlar üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada çekim soketi korumasını 4 grup üzerinde çeşitli materyallerle uygulamışlardır. İlk grupta soketleri

TZF ile doldurup suture etmişler, ikinci grupta ise soketi yalnızca serbest palatinal greft ile örtülmüşlerdir. Üçüncü grupta soketi TZF ile doldurup üzerini serbest palatinal greft ile kapatan çalışmacılar, son grupta ise herhangi bir uygulama yapmayıp spontan iyileşmeyi gözlemlemişlerdir. 12 haftalık iyileşme dönemi sonunda soketlerden örnek alarak incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda; TZF' nin erken dönemde soket korumada etkili bir materyal olduğunu, serbest palatinal greft in tek başına ya da TZF ile birlikte uygulanmasının herhangi bir etkililiğinin olmadığını vurgulamışlardır. (189)

Marx ve ark TZP'in kemik formasyonu üzerindeki etkilerini inceledikleri bir çalışmada TZP destekli kemik greftlerinin iyileşme dönemi sonundaki mineral yoğunluklarının TZP desteksiz greft grubundan 1.6-2.2 kat daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir. Bu artış TZP ile stimule edilen kemik greftinin daha hızlı remodele ve mature olduğunu göstermektedir. Ayrıca histomorfometrik analiz sonuçlarına göre TZP'siz otojen greftin %55 hacimde kemik trabekülü ürettiği, TZP' li greftin ise %74 oranında trabekül oluşumunu sağladığı belirtilmiştir. (190)

Yapılan bir diğer çalışmada Simon ve ark köpeklerde çekim soketlerine sırasıyla TZF matriks, TZF membran ve DDKG, TZF membran ve kollajen membran, DDKG ve kollajen membran uygulamışlardır. TZF ile tedavi edilen alanlarda diğer alanlara göre daha hızlı iyileşme gerçekleştiği ve 3.haftada soketlerin tamamen kemik ile dolduğu belirtilmiştir. Yalnızca TZF ve kollajen membran ile kombine olarak TZF uygulanmasının herhangi bir fark oluşturmadığı rapor edilmiştir.(181) Bu sonuca uygun olarak biz de çalışmamızda operasyon sahasının örtülenmesinde TZF membrana ek olarak kollajen membran yerleştirmeye ihtiyaç duymadık.

TZF' nin en sık kullanım amaçlarından biri de çekim soketlerinin korunumu prosedürüdür. Diş çekimi sonrasında sokete bir greft materyali ile birlikte ya da tek başına yerleştirilebilen TZF, tek başına sokete yerleştirildiğinde neoanjiyogenez için stabil bir kan pıhtısı görevi görür ve dokunun iyileşmesini hızlandırır.(82) TZF' nin greft materyali olarak uygulandığı bazı çalışmalarda Diss ve ark internal sinus yükseltme prosedürü sonunda TZF 'yi greft materyali olarak yerleştirmişler ve implantın apikalindeki kemik yüksekliğini incelemişlerdir. Araştırmacılar sinüs elevasyonu sonrasında 3 aylık iyileşme dönemi sonunda ortalama 3.2 mm kemik kazanımı sağlandığını rapor etmişlerdir. Ayrıca iyileşmenin 2. ve 3. ayında implantların, abutmentin sıkıştırılması esnasında 25 Ncm' lik tork kuvvetine dirençli olduğunu belirtmişlerdir.(191)

Zhao ve ark soket koruma amacıyla TZF kullanımının kemik densitesini arttırdığını, implant yerleştirirken soketin tamamen kemik ile dolu olduğunu rapor etmişlerdir. (192)

Choukroun ve ark çekim soketlerinin korunması amacıyla venöz kandan elde ettikleri TZF' yi, TZF kutu (PRF Box, Process Ltd., Nice, France) içerisindeki silindirik şeklindeki bölmelere yerleştirerek soket formu kazanmalarını sağlamışlardır. Bu şekilde TZF' nin sokete daha kolay uygulandığını belirtmişlerdir.(82) Biz de çalışmamızda TZF membranların kompresyonunda ve i-TZF ile putty formda greft karışımı elde edilmesinde Choukroun'un tasarladığı PRF Box'ı kullandık. Bu sayede TZF membranların kompresyonu sonucu ortaya çıkan vitronektin ve fibronektinden zengin içerikteki sıvıyı PRF Box' ın alt haznesinde toplayarak greft materyaliyle karıştırdık. Sonrasında bu sıvıyı bir gaz tampona emdirip greft materyalini i-TZF ile ıslatarak putty kıvam kazanmasını sağladık.

Alhijazi ve ark diş çekiminden sonra elde ettikleri TZF membranları komprese etmeden soketlere yerleştirmişler ve 4 haftanın sonunda kontrol grubuna kıyasla daha hızlı kemik iyileşmesi gerçekleştiğini gözlemlemişlerdir. (193)

Gürbüzer ve ark bilateral gömülü yirmi yaş diş çekimi sonrasında soketlerden birine TZF membran uygulayıp diğerini boş bırakmışlardır. 4 hafta sonunda TZF uygulanan grupta daha az ağrı oluşumu olduğunu fakat sintigrafik değerlendirme sonucunda kemik iyileşmesinde belirgin bir fark meydana gelmediğini rapor etmişlerdir. (194)

Kökdere ve ark yaptığı tez çalışmasında kritik boyut defektlerine dolgu materyali olarak yerleştirilen TZF' nin otojen greft ile karşılaştırması yapılmıştır. 1.ay sonunda yalnızca TZF yerleştirilen defektlerde osteoblast sayısı ve kemik oluşum alanlarının daha fazla olduğu görülmüştür. 2.ay sonuçlarında ise gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Çalışmacılar defektin rejenerasyonunda TZF uygulanmasının kemik iyileşmesini hızlandırdığını fakat uzun dönemde anlamlı bir fark yaratmadığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar TZF kullanımının erken dönemdeki kemik iyileşmesine etkisini, trombositlerin büyüme faktörü salınımının, anjiyogenezin pik yaptığı ve kemik yapımının başladığı ilk 7 gün artarak 14.günde pik yapması ve 28 gün boyunca devam etmesi ile açıklamışlardır.(195)

TZF' nin kemik grefti ile karıştırılarak uygulandığı bir başka çalışmada Choukroun ve ark sinus tabanı yükseltmesinde dondurulmuş kurutulmuş kemik grefti

ve TZF parçalarını karıştırarak uygulamışlardır. 8 ay sonunda TZF ve kemik grefti kombinasyonunun kemik rejenerasyonunu arttırdığını rapor etmişlerdir.(185)

Trombosit konsantratlarının oral implantoloji ve oral cerrahideki tarihçesine göz atıldığında 2000 yılında Choukroun ve ark 2. nesil trombosit konsantratı olarak TZF' yi bulduğu görülmektedir.(173) Belecki ve ark ve Cieslik-Bielecka ve ark 2006' da trombosit zengin jeli (PRG) tanımlamışlardır. PRP' ye kıyasla trombosit, lökosit ve rölatif aktif molekülünden daha zengin olan biyolojik bir fibrin matris olduğunu belirtmişlerdir.(196-198) Aynı sene içerisinde Sacco ve ark konsantr büyüme faktörü (CGF) adını verdikleri yeni konseptte venöz kanın 2400-2700 rpm devirde 2dk süre santrifüjü değerlerini kullanmışlardır. Bu fibrin bloğun daha büyük, hücresel açıdan daha zengin ve daha dens yapıda olduğunu belirtmişlerdir. (199) Everts ve ark 2008 yılında lökositlerin iki formuna (aktif ve inaktif) dikkat çekmişlerdir. Araştırmacılar inaktif formu için trombosit-lökosit zengin plazma (P-LRP), aktif jel formu için ise trombosit-lökosit zengin jel (PLG) tanımını yapmışlardır.(200,201) 2009 senesinde ise trombosit konsantratları ile ilgili ilk sınıflandırma yapılmıştır. Dohan ve ark yaptıkları sınıflandırmada hücresel içerik ve fibrin mimarisini parametre olarak kullanmışlar ve 4 başlığa ayırmışlardır. Saf trombosit zengin plazma (P-PRP) ya da lökosit fakir trombosit zengin plazma (LP-PRP), lökosit ve trombosit zengin plazma (L-PRP), saf TZF (P-PRF) ya da lökosit fakir trombosit zengin fibrin, ve lökosit ve trombosit zengin fibrin (L-PRF) olarak sınıflandırmışlardır.(202) Sohn ve ark ise 2010 yılında "sticky bone" konsepti adını verdikleri yöntemde otojen fibrin yapıştırıcısı ile kemik greftini karıştırarak uygulamışlardır.(203) Mishra ve ark 2012 senesinde spor hekimliğinde uygulanabilen PRP formlarının sınıflandırmasına yönelik bir çalışma yapmışlardır. TZP' yi içeriğine göre sınıflayıp, inaktif formlara solüsyon, aktif formlara ise jel ön adını vermişlerdir. Araştırmacılar L-PRP solüsyon, L-PRP jel, P-PRP solüsyon ve P-PRP jel olmak üzere 4 alt başlıkta sınıflandırmalarını tamamlamışlardır. (204) DeLong ve ark yine aynı sene içerisinde PAW (trombosit kalitesi, aktivasyon modu, beyaz hücre içeriği) adını verdikleri bir başka sınıflandırma yapmışlar fakat bu sınıflandırma da yine sadece PRP ailesini içermekte ve Mishra ve ark sınıflandırmasına benzer içeriktedir. (205) 2014 yılında ise Choukroun ve ark santrifüj değerlerini modifiye ederek A-TZF' i bulmuşlardır. Araştırmacılar bu metot ile daha erken vaskülarizasyon sağlandığını, daha hızlı yumuşak doku integrasyonu ve daha fazla sitokin ve BMP salınımı gerçekleştiğini savunmuşlardır.(206) Aynı sene Tunalı ve ark titanium

tüplerde TZF üreterek elde ettikleri fibrine T-TZF adını vermişlerdir.(187) 2015 yılında Mourao ve ark detaylı bir teknik not paylaşarak i-TZF hazırlığından bahsetmişlerdir.(207)

Santrifüj işlemi, sıvı bir karışım içerisindeki biyolojik bileşenin ayrılması için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Bu teknik prensip olarak yerçekiminden daha yüksek güçte olan santrifüj kuvveti ve bunun yarattığı merkezkaç kuvvetinin kullanımına dayanmaktadır. Santrifüj esnasında santrifüj kuvveti, yer çekimi kuvveti ve moleküllerin sürtünme kuvveti olmak üzere farklı kuvvetler etki göstermektedir. Bu esnada densitelerine ve kütlelerine bağlı olarak parçacıkların göçü görülür. Lökosit ve trombositlerin ayrıştırılmasında rölatif santrifüj kuvveti (RCF) denilen bu etkime kuvvetinden yararlanılmaktadır. (208,209)

Literatürde TZF elde edilmesinde, hücresel içeriğin zenginleştirilmesi amacıyla birçok santrifüj değeri modifikasyonu uygulanmıştır. Bu modifikasyonlarda hedef alınan genellikle rölatif santrifüj kuvvetinin optimum miktarda canlı hücreyi elde edebilecek değerinin elde edilebilmesi olmuştur. (208,209)

Choukroun' un ilk olarak TZF olarak adlandırdığı, daha sonra sırasıyla A-TZF ve A-TZF+ adını verdiği düşük santrifüj hızı konsepti bu modifikasyon modasının öncüsü olmuştur. Bu konseptin histolojik dayanağını oluşturan çalışmalardan birinde El Bagdadi ve Choukroun TZF, A-TZF ve A-TZF+ formlarındaki büyüme faktör salınımı ve trombosit paternini incelemişlerdir. TZF elde etmek için 2400 rpm de 12 dk santrifüj uygulamışlar ve 708g değerinde RCF etki etmiştir. A-TZF elde ederken 1300rpm devirde 14 dk santrifüj ve 208 RCF değeri kullanmışlardır. A-TZF+ elde edilmesi için 1300rpm devirde 8 dk santrifüj edilerek 208g RCF değerinin etkimesi sağlanmıştır. Araştırmada TZF membranların ayrılmasında A-TZF+ 'ın tüpten ayrılmasının diğer formlardan daha kolay olduğu görülmüştür. VEGF salınımında ilk 7 günde tüm gruplarda bir artış gözlenirken, 10 gün sonunda A-TZF+ 'ın anlamlı derecede yüksek değerler gösterdiği rapor edilmiştir. TGF-B1 salınımında ise A-TZF ve A-TZF+ grubunda TZF membrana kıyasla 10 günün sonunda anlamlı şekilde yüksek değerler görüldüğü belirtilmiştir. Yine EGF salınımında 10 gün sonunda A-TZF ve A-TZF+ grubunda anlamlı ölçüde yüksek değerler gözlemlenmiştir. İmmunohistokimyasal incelemede ise düşük RCF değeriyle elde edilen A-TZF ve A-TZF+ ta fibrin içinde trombositlerin dağınık ve homojen yerleşim gösterdiği, yüksek RCF ile elde edilen TZF' de ise trombositlerin fibrinin üst ve orta kısmında az miktarda bulunduğu, alt kısımda kümelenmediği belirtilmiştir. Araştırmacılar düşük RCF

konsepti ile daha fazla vital hücre elde edilebileceğini ve daha fazla büyüme faktörü salınımı gerçekleşeceğini, dolayısıyla iyileşmenin hızlanacağını öne sürmüşlerdir.(97) Çalışmamızda 1500 rpm devirde 8 dk süreyle 208 g RCF değeri kullanılarak düşük hızda santrifüj konseptiyle cerrahi prosedür gerçekleştirilmiştir. Yaptığımız çalışmada daha kısa sürede daha fazla kemik oluşumu gözlemlememizde bu çalışmada olduğu gibi düşük RCF ile daha fazla miktarda büyüme faktörü ve vital hücre elde ederek ogmentasyon gerçekleştirmiş olmamızın etkili olduğunu düşünmekteyiz.

TZF'nin enjekte edilebilir formu olan i-TZF henüz çok yeni bir yöntemdir. Düşük santrifüj hızı konseptinin devamı niteliğinde olan i-TZF, greftin ıslatılarak putty kıvam almasına olanak sağlayan bir prosedürdür. TZF membran kullanılarak yapılan birçok literatür çalışması bulunmasına karşın TZF'nin likid formu üzerine yapılan çalışma sayısı bir hayli yetersizdir. Az sayıda yapılmış olan çalışmalardan birinde Mourao ve ark i-TZF'nin elde edilmesinde kullandıkları prosedürü anlattıkları bir teknik not yayınlamışlardır. Araştırmacılar i-TZF oluşturmak için 9ml'lik boş tüpleri kullanarak 3300 rpm devir ve 2 dk santrifüj süresini kullanmışlardır.(207)

Chenchev ve ark yayınladıkları vaka raporunda travma sonucu kısmi alveoler fraktür ile birlikte kaybedilen 11 no'lu bölgenin ogmentasyonunda i-TZF kemik grefti kombinasyonu ve A-TZF membran kullanmışlardır. i-TZF elde etmek amacıyla Choukroun' un tarif ettiği 700 rpm 3 dk santrifüj değerlerini, A-TZF için ise 1300rpm 8 dk değerlerini uygulamışlardır. 4 aylık iyileşme süresinin ardından başarılı şekilde implant yerleştirmişlerdir..(210)

Wang ve ark i-TZF'nin osteoblast aktivitesi ve kemik dokusu formasyonundaki etkilerini TZP ile karşılaştırmışlardır. Çalışmanın sonuçlarına göre TZP'nin osteoblast migrasyonunda kontrol grubuna göre 2 kat yüksek değerler gösterdiği, i-TZF'nin ise 3 kat fazla değerlere sahip olduğu belirtilmiştir. Hücre ataşmanında farklılık gözlenmemesine rağmen 3. ve 5. gün sonunda i-TZF'nin hücre proliferasyonunda yüksek değerler gösterdiği rapor edilmiştir. Ayrıca i-TZF'nin 7. günde ALP değerlerinde, 14.gün sonunda ise alizarin kırmızı boyamada yüksek değerler gösterdiği belirtilmiştir. ALP, Runx2 ve OCN 'deki mRNA seviyelerinde i-TZF grubunda anlamlı şekilde artış gözlenmekle birlikte immünoflorosan boyamada yine ALP değerlerinde artış meydana geldiği saptanmıştır. Araştırmacılar, osteoblastik potansiyel ve kemik formasyonu kapasitesi açısından i-TZF'nin kontrol grubu ve TZP'ye kıyasla daha başarılı olduğunu belirtmişlerdir.(211) Bu çalışmada osteoblastik aktivitenin değerlendirilmesi amacıyla ALP, OCN ve alizarin kırmızı boyama

uygulanmış, reel zaman PCR ile gen kodlamasında Runx2, ALP, col1A ve osteokalsin incelenmiştir. Biz de çalışmamızda osteoblastik aktivitenin gözlemlenmesinde ve yeni kemik oluşumunun değerlendirilmesinde kemik örneklerinde ALP, OCN ve PCNA antikoları ile boyama yapıp, histolojik, histomorfometrik ve immunohistokimyasal incelemede bulunduk.

Wang ve ark yaptıkları bir diğer çalışmada i-TZF ya da TZP uygulanmasının gingival fibroblastların titanyum implant yüzeylerine yaklaşımlarına olan etkisini incelemişlerdir. Araştırmada i-TZF elde edilirken Choukroun'un tarif ettiği 700 rpm 3dk santrifüj değerleri kullanılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, i-TZF'nin hücre migrasyonu, PDGF, TGF-B, col1A ve fibronektin değerlerinde anlamlı şekilde artış sağladığı belirtilmiştir. Araştırmacılar herhangi bir antikoagulan ilavesi olmadan elde edilen i-TZF'nin kemik formasyonunda ve doku iyileşmesinde TZP'ye kıyasla daha yüksek potansiyele sahip olduğunu, farklı biyomateryaller ile kombine olarak uygulandığı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulduğunu bildirmişlerdir.(212) Yaptığımız çalışmada kemik iyileşmesini hızlandırmak amacıyla allogrefti i-TZF ile ıslatarak putty kıvam kazanmasını sağladık. i-TZF'nin trombosit, lökosit, büyüme faktörü ve sitokinden zengin içeriği sayesinde 2 aylık iyileşme dönemi sonunda boş bırakılan gruba ve literatürde benzer dizaynla allogreft kullanılmış olan çalışmalara göre anlamlı şekilde yüksek miktarda yeni kemik oluşum değerleri ve ALP, OCN, PCNA immünoreaktivite değerleri elde edilmiştir.

Yapılan benzer bir çalışmada Miron ve ark i-TZF'nin hücrel migrasyon, proliferasyon ve büyüme faktörü salınımı üzerine etkilerini araştırmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre TZP erken dönemde büyüme faktörü salınımında anlamlı şekilde yüksek değerler gösterirken, i-TZF'nin uzun dönemde daha fazla büyüme faktörü (PDGF, EGF ve IGF-1) salınımı gerçekleştirdiği belirtilmiştir. Fibroblast migrasyonunda her iki form da yüksek değerler gösterirken, hücrel migrasyonda i-TZF, proliferasyonda ise TZP 'nin daha yüksek değerler gösterdiği rapor edilmiştir. Ayrıca i-TZF uygulanan grupta TGF-B ve PDGF 'ün mRNA seviyelerinde anlamlı şekilde yüksek değerler bildirilmiştir. Araştırmacılar çeşitli büyüme faktörlerinin salınımında ve collagen1 gibi genlerin ekspresyonunda yüksek değerler gösteren i-TZF' nin bioaktif potansiyele sahip olduğu ve doku rejenerasyonunu hızlandırdığını belirtmişlerdir.(213)

Kubesch ve ark düşük hızda santrifüj konseptinin hücrel akümülyasyon ve vaskülarizasyona etkilerini in-vivo olarak incelemişlerdir. Araştırmacılar iki farklı

rölatif santrifüj kuvveti değerini karşılaştırmışlardır (719g ve 222g). Çalışmanın sonuçlarına göre yüksek RCF ile elde edilen TZF'nin daha dens ve fiziksel özellikleri daha güçlü yapıda olduğu, orta RCF ile elde edilen TZF'nin ise daha pöröz yapıda ve hücrel penetrasyona izin verir özelliğe olduğu belirtilmiştir. Daha düşük RCF ile elde edilen fibrinde daha yüksek vaskularizasyon gözlenmiş, 10 gün sonunda hücrel içeriğinin ve rejenerasyon kapasitesinin daha fazla olduğu rapor edilmiştir.(214) Yaptığımız çalışmada orta RCF değeri ile TZF membran elde edilmiştir ve bu fibrin yapının klinik olarak çok güçlü bir fiziksel yapıda olmadığını fakat uygulanan bölgeye adaptasyonunun ve vaskularizasyonunun daha iyi olduğu gözlemlenmiştir.

Çalışmamızda klinik olarak uygulanabilir, literatüre katkı sağlayacağını düşündüğümüz, iyileşmeyi hızlandıran bir yöntem olduğunu öngördüğümüz için i-TZF & allogreft kombinasyonunu dental implant planlanan çekim soketlerine uygulayıp TZF membran ile sahanın örtülenmesini gerçekleştirerek soket koruma yöntemini uyguladık. Çalışmanın bilimsel dayanağında yararlandığımız çalışmalardan olan Wang ve ark (211), El Bagdadi ve ark (97), Choukroun ve ark (99), Miron ve ark (213) ve Kubesch ve ark (214) yaptığı çalışmaların iyileşmeyi hızlandıran i-TZF modelini çalışmamızda kullandık. Çalışmamızda bu güncel yayınlarda vurgulandığı şekilde orta RCF değeri ile 1500 rpm devir ve 8 dk'lık süre ile elde edilen i-TZF kullanılmıştır. Az sayıda çalışmanın sonuçlarına göre düşük hızda santrifüj konsepti ile hücrel açıdan zengin TZF elde edebilmek mümkün olup, bu sayede iyileşme paterninin hızlanacağı yönünde ortak bir görüş bulunmaktadır. Bu noktadan hareketle soket içerisine yerleştirilen putty greftin daha hızlı iyileşme göstereceği öngörülmektedir. Yaptığımız klinik uygulamalarda, diş çekimi yapılarak implant uygulaması planladığımız ve çekim soketine i-TZF allogreft karışımı uygulayıp TZF membran ile kapattığımız vakalarda 2 ay gibi erken dönemlerde, kemiğin klinik olarak yeterli miktarda ve dirençte olduğunu gözlemledik. pilot çalışmada 2 ay sonunda bölgeden kemik örneği aldık ve kemiğin klinik olarak yeterli miktarda ve dirençte olduğunu gözlemledik. Yerleştirdiğimiz implantların primer stabilite ölçümünde de yüksek değerler elde edildi.(Ort. ISQ=75.7) Bu çalışma ile klinik olarak gözlemlediğimiz bu durumu elde edilen kemik dokusu örneklerinin histolojik, histomorfometrik ve immunohistokimyasal incelenmesi ile bilimsel olarak değerlendirerek literatüre sunmayı amaçladık. İlk başta yalnızca allogreft uygulanacak bir grup daha oluşturmayı planladığımız çalışmamızda, herhangi bir i-TZF ilavesi olmadan yalnızca allogreft yerleştirilen soketlerden 2 ay sonunda bütünlüğünü

koruyarak ve dağılmadan kemik dokusu örneği alınmadığını, kemik iyileşmesinin henüz tamamlanmadığını gözlemledik. Yalnızca greft uygulanan grup ile karşılaştırma yapabilmemiz için literatürde hali hazırda belirtilmiş olan 4-12 aylık iyileşme sürelerini beklemenin gerekmesi ve bu şekilde yalnızca greft uygulanan birçok çalışmanın literatürde zaten mevcut olması nedeniyle çalışma dizaynını değiştirmeye karar verdik. Çalışma grubunda spesifik yöntemimizi kullanarak soket koruma uygularken, kontrol grubunda herhangi bir işlem yapılmadan kan pıhtısının stabilizasyonunu sağladık. Bu iki grup arasında 2 aylık iyileşme süresi sonunda histopatolojik ve RFA değerlerinin karşılaştırmasını yaparak uygulanan yöntemin fizyolojik iyileşmeye göre avantajlarını inceledik. Çalışma grubunda RFA değerleri ortalama 75.7 olarak bulunurken kontrol grubunda ort. 61.1 olduğu görüldü ve bu fark istatistiksel olarak yüksek derecede anlamlı bulundu. **(p=0.0001)** Histolojik inceleme sonucunda ise çalışma grubunda yeni kemik oluşumunun %65.4 olduğu görülürken, kontrol grubunda bu oranın %30.26 olduğu görüldü ve gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak yüksek derecede anlamlı bulundu. **(p=0.0001)** 2 ay sonunda elde edilen bu yeni kemik oluşum oranlarından kontrol grubundaki değerler literatür ile uyum gösterirken, çalışma grubundaki değerlerin literatür verilerinin üzerinde olduğu görüldü. Bağ dokusu oluşumunun ise çalışma grubunda %16.7, kontrol grubunda %44.1 olduğu saptandı ve gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. **(p=0.001)** İmmünohistokimyasal incelemenin değerlendirilmesinde skorlama yapılarak 0= çok kötü, 1=kötü, 2=orta, 3=iyi, 4=çok iyi kodlaması ile ALP, OCN ve PCNA primer antikolarıyla boyanmaları karşılaştırıldı. ALP, OCN ve PCNA ile boyama sonuçlarında çalışma grubunda anlamlı şekilde daha yüksek değerler bulundu. **(p=0.0001)**

Çalışmanın histolojik ve histomorfometrik analizi sonucu elde edilen verileri literatürde allogreft kullanılarak çekim soketi koruması uygulanmış olan ve ham verilerine ulaşılabilen 3 çalışmanın verileri ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Froum ve arkadaşlarının 10 hastada allogreft kullanarak soket koruma uyguladıkları çalışmanın 6-8 aylık sonuçlarında ortalama %34.7 yeni kemik oluşumu olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmanın ham verileri ile kendi çalışmamızın verileri karşılaştırıldığında i-TZF uygulayarak soket koruma yaptığımız çalışma grubumuzun istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek yeni kemik oluşum alanları gözlemlendiği görüldü. **(p=0.0001)** Wood ve ark 16 hasta üzerinde yalnızca demineralize dondurulmuş kurutulmuş allogreft kullanarak, diğer grupta ise mineralize

dondurulmuş kurutulmuş allogreft kullanarak soket koruma uygulamışlar ve 19 haftalık iyileşme süreci sonunda histolojik olarak sırasıyla %38.42 ve %24.6 oranında yeni kemik oluşumu meydana geldiğini belirtmişlerdir. Wood ve ark yaptığı çalışmanın her iki grubunun histomorfometrik analiz sonuçları ile kendi çalışmamızın sonuçları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak oldukça anlamlı şekilde yüksek yeni kemik oluşum alanları elde ettiğimizi belirledik.($p=0.0001$)

Çalışmamızın dizaynına benzer şekilde allogreft kullanılarak soket koruma yapılan çalışmalar incelendiğinde 2 aylık iyileşme dönemi sonunda elde ettiğimiz %65.4 miktarında yeni kemik oluşum hacminin literatür verilerinin üzerinde olduğunu gözlemledik.

Froum ve ark 10 çekim soketinde allogreft uygulayıp greftlenen alanı bukkalden flep kaydırarak kapatmışlar ve herhangi bir bariyer membran kullanmamışlardır. 6-8 aylık iyileşme dönemi sonunda elde edilen kemik örneklerinin histolojik incelenmesi sonucunda %34.7 miktarında yeni kemik oluşumu, %13.5 oranında rezidüel greft bulunduğu görülmüştür.(112)

Iasella ve ark 12 sokette allogreft ile ogmentasyon sağlamışlar ve kollajen membran kullanarak greftlenen alanı örtülemişlerdir. Flep kaydırılmadan opere edilen hastalardan 4-6 aylık iyileşme dönemi sonunda elde edilen kemik örneklerinde %28 yeni kemik oluşumu alanları, %37 miktarında rezidüel greft oluşumu gözlenmiştir.(215)

Wood ve ark soket koruma uyguladıkları 32 hastanın 16' sında demineralize edilmiş dondurulmuş kurutulmuş allogreft, diğer hastalarda mineralize dondurulmuş kurutulmuş allogreft uygulayıp tüm cerrahi alanları kollajen membran ile örtülemişler ve primer kapama sağlamamışlardır. İki greft materyalini karşılaştıran araştırmacılar 19 haftalık iyileşme dönemi sonunda histomorfometrik inceleme gerçekleştirmişlerdir. DFDBA grubunda %38.4 yeni kemik oluşumu ve %8.9 rezidüel greft oluşumu gözlenirken, FDBA grubunda %24.6 yeni kemik oluşumu, %25.4 rezidüel greft meydana geldiği rapor edilmiştir. (113)

Froum ve ark (112) ve Wood ve ark (113) çalışmaları ile karşılaştırıldığında daha kısa iyileşme süresinde (2ay) istatistiksel olarak daha fazla hacimde yeni kemik oluşumu elde etmemizde allogrefti i-TZF ile karıştırarak iyileşmeyi hızlandırıcı hücre rezervini sağlamamızın ve putty kıvamındaki greftin stabilizasyonu sayesinde kemik oluşumunu desteklemesinin etkili olduğu düşünülebilir.

Eskow ve ark çekim soketinde greftleme uyguladıkları 33 hastanın 16'sında kortikal içerikli allogreft kullanırken 17 hastada kansellöz içerikli allogreft uygulamışlardır. Flep kaydırılmadan kollajen membran ile greftlenen alanın örtülenmesi sağlanmış ve ort 18.2 hafta iyileşme beklenmiştir. Elde edilen kemik dokusu örneklerinde kortikal içerikli allogreft grubunda %16.1 yeni kemik oluşumu, % 28.3 rezidüel greft oluşumu gözlenirken, kansellöz allogreft uygulanan grupta %12.9 yeni kemik oluşumu, %19.9 rezidüel greft meydana geldiği görülmüştür.(148)

Wallace ve ark soket koruma uyguladıkları 15 sokette kortikokansellöz mineralize allogreft kullanmışlardır. Tüm greftlenen bölgeleri aselüler dermal matriks ile örtüleyip bukkalden flep kaydırarak primer kapama sağlamışlardır. 4 aylık iyileşme dönemi sonunda kemik dokusu örneklerinin histomorfometrik incelemesini gerçekleştirmişler ve %32.5 yeni kemik oluşumu, %16.9 rezidüel greft meydana geldiği belirtilmiştir. (216)

Wallace ve ark yaptığı bir diğer soket koruma çalışmasında 20 hastada mineralize kansellöz allogreft kullanılmış, kollajen membran ile örtülenerek bukkal flebin ilerletilmesi ile primer kapama sağlanmıştır. 16 hafta iyileşme dönemi sonunda yapılan histolojik inceleme ile %11.2 yeni kemik oluşumu, %34 rezidüel greft oluşumu gözlenmiştir.(217)

Beck ve ark toplamda 38 sokette greftleme gerçekleştirmişlerdir. 16 hastada 14 haftalık iyileşme dönemi belirlenirken, 22 hastada 27 hafta süreyle iyileşme dönemi beklenmiştir. Tüm hastalarda kollajen membran ile greftlenen alanlar örtülenmiş ve primer kapama sağlanmamıştır. Erken iyileşme dönemi grubunda %45.8 yeni kemik oluşumu, % 14.6 rezidüel greft oluşumu gözlenirken geç iyileşme dönemi grubunda %45 yeni kemik oluşumu, %13.5 rezidüel greft meydana geldiği rapor edilmiştir.(218)

Fotek ve ark 20 hastada mineralize kansellöz allogreft kullanarak soket koruma uygulamışlardır. Soketlerin 9' unda aselüler dermal matriks ile greftlenen alan örtülenirken 11' inde PTFE membran ile cerrahi alan örtülenmiştir ve hastalarda primer kapama sağlanmamıştır. 16 haftalık iyileşme dönemi sonunda kemik dokusu örnekleri histolojik olarak incelendiğinde ADM grubunda %27.9 yeni kemik, %13.9 rezidüel greft oluşumu gözlenirken, PTFE grubunda %32.6 yeni kemik, %14.7 rezidüel greft oluşumu rapor edilmiştir.(147)

Thompson ve ark soket koruma uyguladıkları çalışmada 3 sokette mineralize allogreft yerleştirmişler ve reozorbe olmayan bariyer membran kullanmışlardır. Flep kaydırarak primer kapama sağlamamışlar ve 5 aylık iyileşme süresini beklemişlerdir.

Kemik dokusu örneklerinin histolojik olarak %6 yeni kemik oluşum alanları ve %17 rezidüel greft alanları gösterdiği belirtilmiştir.(219)

Wang ve ark mineralize kansellöz allogreft ile 7 soket koruma uygulamışlardır. Kollajen membran kullanarak cerrahi alanı örtülemişler ve primer kapama sağlamamışlardır. 5-6 aylık iyileşme dönemi sonunda histolojik olarak %65.8 yeni kemik oluşumu ve %3.8 rezidüel greft oluşumu belirtilmiştir. Literatürdeki çalışmalara bakıldığında çalışmamızın iyileşme değerlerine en yakın verilerin Wang ve ark yaptığı çalışmada olduğunu görülmektedir. Fakat bu çalışmada 5-6 ay gibi uzun bir iyileşme dönemi beklenmiş olup, çalışmamızın sonuçları i-TZF ilavesiyle kemikleşme sürecinin hızlandırılabilceği ve dental implant planlanan hastalarda dişsiz kalma süresini kısaltma anlamında etkin olabileceğini düşündürmektedir. (220)

Araştırmacı Adı, Yılı	Soket Sayısı	İyileşme Süresi	Flep Tasarımı	Membran Kullanımı	NB/ RG/ CT %
Froum S, 2002	10	6-8 ay	Flep kaydırılmış	Yok	34.7/13.5/51.6
Iasella JM, 2003	12	4-6 ay	Flep kaydırılmamış	Var (kollajen)	28/37/35
Wood RA, 2012	16 DFDBA	19 hafta	Flep kaydırılmamış	Var (kollajen)	38.4/8.9/52.7
Wood RA, 2012	16 FDBA	19 hafta	Flep kaydırılmamış	Var (kollajen)	24.6/25.4/50
Eskow JE, 2013	16 kortikal	18.2 hafta	Flep kaydırılmamış	Var (kollajen)	16.1/28.3/52.9
Eskow JE, 2013	17 kansellöz	18.2 hafta	Flep kaydırılmamış	Var (kollajen)	12.9/19.9/62.8
Wallace SC, 2013	15 mineralize kortikokansellöz	4 ay	Flep kaydırılmış	Var (ADM)	32.5/16.9/50.6

Wallace SC, 2015	20 mineralize kansellöz	16 hafta	Flep kaydırılmış	Var (kollajen)	11.2/34/54.8
Beck TM, 2010	16 DBM kansellöz	14 hafta	Flep kaydırılmamış	Var (kollajen)	45.8/14.6/39.6
Beck TM, 2010	22 DBM kansellöz	27 hafta	Flep kaydırılmamış	Var (kollajen)	45/13.5/41.3
Fotek PD, 2009	9 mineralize kansellöz	16 hafta	Flep kaydırılmamış	Var (ADM)	27.9/13.9/58.1
Fotek PD, 2009	11 mineralize kansellöz	16 hafta	Flep kaydırılmamış	Var (PTFE)	32.6/14.7/52.6
Wang HL, 2008	7 mineralize kansellöz	5-6 ay	Flep kaydırılmamış	Var (kollajen)	68.5/3.8/27.7
Thompson DM, 2006	3 mineralize	5 ay	Flep kaydırılmamış	Var (Rezorbe olmayan)	6/17/77

Tablo 10: Allogreft kullanılarak soket koruma uygulanmış olan çalışmalar (DFDBA: demineralize dondurulmuş kurutulmuş allogreft, FDBA: mineralize dondurulmuş kurutulmuş allogreft, ADM: aselüler dermal matriks, PTFE: politetrafloroetilen, **NB:** yeni oluşan kemik, **RG:** rezidüel greft, **CT:** bağ dokusu)

Çalışmamızın histolojik ve histomorfometrik incelemesi sonucunda 2 aylık iyileşme ile elde edilen %65.4 yeni kemik oluşum alanları ve %23.41 rezidüel greft alanları literatürdeki verilerle kıyaslandığında uyguladığımız yöntemin başarılı sonuçlar verdiğini gözlemledik. Literatürde yapılmış olan çalışmalara göre daha kısa sürede daha yüksek yeni kemik formasyonu alanları gözlemlememizde allogreftte i-TZF ilave edilmesinin ve flepsiz yaklaşımla cerrahi yöntemi tamamlamamızın etkili olduğunu ve erken iyileşme sürecinde i-TZF içeriğindeki trombosit ve büyüme faktörlerinin etkili olarak yara iyileşmesini hızlandırdığı kanısını taşımaktayız.

O'Connel ve ark yaptığı çalışmada TZF hazırlanırken kullanılan tüplerde bulunan silikanın gingival fibroblast hücreleri, keratinositler, preadipositler ve osteoblastlar üzerinde herhangi bir olumsuz etki yaratmadığını rapor etmişlerdir.(176)

Dohan ve ark TZF'nin boş cam tüpte veya plastik tüpte hazırlanabileceğini, silika içeren cam tüplerinin klinikte rutin olarak kullanıldığını, insan sağlığına herhangi bir zararı bulunmadığını ve TZF'nin potansiyel etkisini değiştirmedığını belirtmişlerdir.(221)

Çalışmamızda i-TZF oluştururken kan elde etmek ve santrifüj etmek amacıyla beyaz kapaklı, pıhtı aktifleştirici (clot activator) içermeyen, 10 ml'lik plastik boş tüpleri kullandık. TZF membran elde etmek için ise kırmızı kapaklı, 10 ml'lik tüplerden yararlandık.

Marx ve ark TZP'in kemik formasyonu üzerindeki etkilerini inceledikleri bir çalışmada TZP destekli kemik greftlerinin iyileşme dönemi sonundaki mineral yoğunluklarının TZP desteksiz greft grubundan 1.6-2.2 kat daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir. Bu artış TZP ile stimüle edilen kemik greftinin daha hızlı remodele ve mature olduğunu göstermektedir. Ayrıca histomorfometrik analiz sonuçlarına göre TZP'siz otojen greftin %55 hacimde kemik trabekülü ürettiği, TZP'li greftin ise %74 oranında trabekül oluşumunu sağladığı belirtilmiştir. (190)

Diş çekim socketinin korunmasında, greftin enfekte olarak kaybının önlenmesi için greftlenen bölgenin ağız ortamıyla ilişkisinin kesilmesi gereklidir. Greftlenen sahanın bir bariyer ile örtülenmesi ya da flebin esnetilerek kapatılması ogmentasyon başarısının artırılması için kilit faktörlerdendir. Operasyon sahası ile ağız ortamı ilişkisinin kesilmesinde bu yöntemlerin etkinliğinin değerlendirildiği birçok çalışma yapılmıştır.

Çekim socketinin örtülenmesi amacıyla bariyer membran kullanımı ile yumuşak dokunun greftlenen alana göçünün önlenmesiyle osteojenik aktiviteyi sekteye uğratmasına engel olunabilmektedir. Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu prensibine göre epitel ve bağ dokusu hücrelerinin osteojenik hücrelerden önce ogmentasyon sahasına ulaşmalarına engel olunması gerekmektedir. Bariyer membran kullanılarak bu hücrelerin erken dönemde operasyon sahasına ulaşmaları önlenerek osteojenik aktivite ve sert doku matürasyonu sağlanabilmektedir. (222,223)

Bariyer olarak rezorbe olabilen ya da olmayan membranlar kullanılabilir. Literatürde hem flebin esnetilerek primer kapatıldığı hem de flep kaldırılmadan yalnızca yaklaşıtııcı süturların uygulandığı çalışmalar bulunmaktadır.(147,148,215,219)

Greftlenen alanın ağız ortamıyla ilişkisinin kesilmesi olası enfeksiyon ve parsiyel ya da total greft kaybını önlemede önemli bir noktadır. Çekim socketinin korunmasında, yetersiz yumuşak doku bulunması nedeniyle çeşitli yöntemler kullanılarak flebin primer kapatılması sağlanabilmektedir.

Froum ve ark çekim soketi koruması uyguladıkları 30 hastada greftlenen sahanın üzerini herhangi bir membran ile örtülemedişler ve vestibülden estenilen flep ile yara bölgesinde primer kapanma sağlamışlardır.(112)

Wallace ve ark 14 hastada sokete yerleştirilen greftin örtülenmesinde aselüler dermal matriks ve kollajen membran kullanmışlardır. Araştırmacılar flebin primer kapatılması amacıyla tam kalınlıklı flep elevasyonu ve periosteal diseksiyon uygulamışlar, 4 aylık iyileşme sürecinde 3 vakada fenestrasyon ya da dehisens meydana geldiğini rapor etmişlerdir.(216)

Ayhan ve ark çekim soketlerine yerleştirilen mine matriks protein ile Bio-Oss Collagen' in yeni kemik oluşumuna etkilerini inceledikleri tez çalışmasında tüm greftleme alanlarını palatinalden punch ile alınan serbest diş eti grefti ile örtülemişlerdir. Opere edilen 10 hastadan 3' ünde punch greftlerde kısmi ya da total nekroz gözlemlendiği rapor edilmiştir.(9)

Cerrahi sahanın yumuşak doku esnetilerek primer kapatılmamasının enfeksiyon riski taşımaya rağmen bu yöntemle çekim soketi koruma işlemi uygulanan birçok çalışma yapılmıştır. (113,148,147,215)

Iasella ve ark 12 çekim soketi koruması uyguladıkları çalışmada greftin örtülenmesi için kollajen membran kullanmışlar ve flebi primer olarak kapatmamışlardır.(215)

Wood ve ark allogreftler üzerindeki demineralizasyon işleminin etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarında toplam 38 hastada kollajen membran ile greftleme alanını örtüleyerek flebi yakınlaştırmak amacıyla çapraz mattress sütür uygulamışlardır.(113)

Fotek ve ark çekim soketi koruması uyguladıkları toplam 20 hastada bariyer membran olarak aselüler dermal matriks ve PTFE kullanmışlardır. Cerrahi sahanın primer kapatılmadığı çalışmada flep kenarları çapraz mattress sütür uygulamışlardır.(147)

Thompson ve ark rezorbe olmayan membran kullandıkları sigara kullanan 2 hastanın toplam 13 soketinde uyguladıkları soket koruma çalışmasında flebi

yaklaştırıcı matres süturlar atmışlar ve primer kapama sağlamamışlardır.(219)

Lekovic ve ark., bir çalışmada çekim sonrası kret devamlılığını sürdürmek için rezorbe olmayan genişletilmiş politetrafloroetilen (e-PTFE) membranları kullanmışlardır. Soketler kürete edildikten sonra membran ve soketler primer olarak kapatılmıştır. 6 ay sonra bölgeler tekrar açılmıştır. Kontrol grubunda büyük genişlik ve boy kaybı olurken, e-PTFE membranların kullanıldığı çalışma grubunda daha fazla kemik dolumu grlmştir. Buna rağmen membranların %30'u ekspoze olmuştur bu da kontrol grubuyla benzer sonuçların elde edilmesine neden olmuştur. Greftlerin ekspoze olma riski yüksek olduğu için yazarlar ePTFE membranların kullanılmaması gerektiğini bildirmişlerdir (118)

Aynı alışmacılar daha sonra rezorbe olan membranları kullanarak bir çalışma yapmışlardır. Poliglikolik/laktit membranlar kullanmışlar ve bölgeleri 6 ay sonra tekrar açmışlardır. Membran kullanılan grupta alveoler kemik kaybı belirgin şekilde daha azken, sokette daha fazla kemik dolumu olduğu ve genişlik kaybının yükseklik kaybindan daha fazla olduğu grlmştir. Membranların ekspoze olmamasının önemli bir sonuç olduğu ve bu nedenle rezorbe olan membranların rezorbe olmayan membranlara göre tercih edilebilir olduğu belirtilmiştir (28)

Diş ekimi gerçekleştirilen bölgelerde soket koruma uygulandıktan sonra greftin üzerinin herhangi bir bariyer membran ile rtlenmemesi durumunda tükrük ile kontamine olan greftin total veya parsiyel olarak kaybedilmesi riskleri bulunmaktadır. Bu nedenle bariyer kullanılmayan vakalarda mutlaka yumuşak dokunun primer kapatılması gerekmektedir. Uygulanan yöntemlerden olan bukkal tam kalınlıklı mukoperiosteal flep elevasyonu ve periosteal diseksiyon ile flebin esnetilmesi operasyon sonrasında ağrı, ödem ve hematoma oluşumunun artmasına neden olmaktadır. Ayrıca bu yöntem ile primer yara kapanması sağlandığında mevcut keratinize diş eti miktarının azalması, papil kaybı ve bunların sonucunda implant üzerine uygulanacak olan protetik restorasyonun estetik başarisının azalması görülebilmektedir. Tam kalınlıklı flep kaldırılan olgularda flepsiz yaklaşıma kıyasla sert dokuda fizyolojik olarak 0.2-0.3 mm daha fazla bir rezorpsiyon görülmektedir. Bir diğer yandan flebin esnetilerek palatine taşınması sonucunda, flebin bukkal alveoler krete uyguladığı baskı nedeni ile daha fazla kret rezorpsiyonu ile karşılaşılabilmektedir.(224)

Literatürde yapılmış olan çalışmaları göz önünde bulundurduğumuzda, tez çalışmamızda yumuşak doku profilinin kaybedilmemesi ve yeterli miktarda kreatinize diş eti temin edilebilmesi için flepsiz yaklaşımla diş çekimi ve greftleme prosedürünü uyguladık. Greft materyalinin ağız ortamıyla ilişkisinin kesilmesi amacıyla greftlenen sahayı TZF membranlar ile örtüleyip, 7-10 gün süresince bölgede stabilize edilebilmesi için diş eti kenarlarına çapraz mattress sütürasyon uyguladık. Choukroun ve ark yaptığı çalışmada düşük santrifüj değeri ile hazırlanan TZF membranın içeriğindeki yüksek lökosit ve trombosit konsantrasyonunun enfektif ajanlara karşı immün yanıt oluşturduğunu belirtmişlerdir.(206) Çalışmamızda, TZF membranların, ağız ortamıyla temas halinde bırakılmasına rağmen hiçbir hastada enfeksiyon ve greft kaybı yaşanmamasında bu immün cevabın etkili olduğunu düşünmekteyiz. Kobayashi ve ark yaptıkları çalışmada TZP, TZF ve A-TZF' den salınan büyüme faktörlerini incelemişler ve 10 günün sonunda en fazla büyüme faktörü salınımının düşük hızda santrifüj konsepti ile elde edilen A-TZF' den gerçekleştiğini rapor etmişlerdir.(94) Araştırmacıların salınımını tespit ettiği proteinlerden olan Epidermal Büyüme Faktörü (EGF) dişetinin iyileşmesini hızlandırmasıyla ve keratinize dişeti oluşumunu desteklemesiyle bilinmektedir. Padma ve ark yaptıkları çalışmada Miller sınıf I ve sınıf II dişeti çekilmesi olan hastalarda koronale kaydırılan flep ile birlikte TZF' yi uygulamışlar ve keratinize dokunun kalınlaşmasında etkili olduğunu belirtmişlerdir.(233) Bizim çalışmamızın klinik sonuçlarında da iyileşme dönemi sonunda yeterli kalınlıkta keratinize diş eti elde edilmesinde flepsiz yaklaşım uygulanmasının ve Epitelyal Büyüme Faktörü (EGF) açısından zengin olan TZF membran kullanımının etkili olduğu düşünülebilir.

Osseointegrasyon; vital kemikle, fonksiyonel olarak yüklenen implant arasındaki direkt yapısal ve fonksiyonel bağlantı olarak tanımlanmıştır. (225). Osseointegrasyonun gerçekleşmesi için gerekli koşullardan biri de primer stabilitenin sağlanabilmesidir. Eğer implant ilk olarak bölgeye yerleştirildiğinde yeterince stabil olmazsa, iyileşme süresince mikro hareketlilik ve bunun sonucunda implant etrafında fibröz doku oluşumu görülerek osseointegrasyonun gerçekleşmeyeceği düşünülmektedir. (110) Primer stabilite implantolojide güncel literatüre göre başarılı bir şekilde osseointegrasyonun gerçekleşmesi için gerekli koşullardandır. Sekonder stabilite ise implant etrafındaki kemik dokusunda remodelasyon sonucunda oluşan, biyolojik bir bağlantıdır. Fonksiyon esnasında meydana gelen kuvvetlerin

karşılanması için gereklidir.(110)

Rezonans frekans analizi implant stabilitesinin ölçümünde kullanılan güncel bir yöntemdir. Yapılan araştırmalar yöntemin güvenilir ve kolay şekilde kullanılabilirdiğini, tekrarlanan ölçümlere izin verdiğini bildirmektedir. (108,110) Osstell™ Mentor son yıllarda birçok araştırmacı tarafından implant stabilitesini ölçmek amacıyla kullanılan diagnostik bir gereçtir. Bu cihaz ile primer ve sekonder stabilite ölçülebilmektedir. (226)

Yaptığımız çalışmada hassas ölçüm yapabilmesi ve ölçümleri sayısal veriler ile ortaya koyması nedeniyle Osstell™ Mentor cihazını kullanılarak greftleme sonrası 2 aylık iyileşme ile oluşan yeni kemik dokusunun, yerleştirilen implanta sağladığı primer stabilite değeri incelendi.

Cihaz, üretici firmanın önerilerine uygun şekilde kullanıldı ve verilerin güvenilirliğini arttırmak amacıyla her bir implant için 5 farklı yönden (mezyal, distal, bukkal, lingual, okluzal) ölçümler tekrarlanıp ortalaması kaydedildi.

Lachmann ve ark yaptıkları çalışmada transdüktörün sıkıştırma değeri arttıkça rezonans frekans analiz (RFA) değerlerinin de arttığını belirtmişlerdir. (227) Bu nedenle çalışmamızda, ölçümler arasında standardizasyonun sağlanabilmesi amacıyla cihazın transdüktörü aynı cerrah tarafından benzer kuvvetle sıkıştırılarak implant içine yerleştirildi.

İmplant yerleştirilen bölgedeki kemiğin kalitesi primer stabilitede etkili olduğu gibi, yerleştirilen implantın makroskopik ve mikroskopik yapısı, boyutları, geometrik şekli ve yiv yapısı da ISQ ölçümlerini etkileyebilecek parametrelerdir. Primer stabilitede yalnızca kemik kalitesinin değerlendirilebilmesi için tüm vakalarda aynı firmanın implantları uygulandı. Tüm hastalarda silindir formda ve SLA yüzeyli (kumlanmış ve asitlenmiş yüzey) Dyna Helix (Halsteren, Netherlands) implantlar uygulandı.

Reva ve ark 20 hastaya implant uyguladıktan sonra 10 hafta boyunca her hafta RFA ile stabilite değişimlerini incelemişlerdir ve stabilitedeki en dramatik azalmanın operasyondan 3 hafta sonra meydana geldiğini rapor etmişlerdir. (228)

Balshi ve ark yaptıkları çalışmada ise implant uygulamasından sonra 30 gün içinde stabilitede anlamlı düşüş görüldüğünü belirtmişlerdir. (229)

Kemik formasyon fazlarından ilki olan enflamasyon fazında periimplant nekrotik kemiğin erimesi sonucu implantın stabilitesinde düşüş görülmektedir ve ağsı kemik oluşumuna kadar devam etmektedir. (228) Ağsı kemik oluşumu implantın yerleştirilmesinden sonra 4-6 hafta içinde belirginleşir.(230,231)

Çalışmamızda toplamda uygulanan 44 implantın yerleştirilmesi esnasında RFA ölçümleri yapılarak primer stabilizasyon verileri elde edildi. Tüm hastaların genel değerlendirmesinde elde edilen değerlerin çalışma grubunda 58-88 arasında, kontrol grubunda ise 40-70 arasında değiştiği görüldü. İki grup arasındaki veriler arasında istatistiksel olarak oldukça anlamlı ($p=0,0001$) bir fark olduğu görüldü. Bu bulgumuz literatürdeki benzer çalışmalar ile uyumlu bulundu. Bu sonuçlar; çalışma grubunda yeni oluşan kemik yüzdesinin literatürle ve kontrol grubuyla kıyaslandığında histolojik olarak yüksek olan verilerinin klinik olarak desteklendiği ve implant yerleştirilirken implant stabilitesinin artışına ettiği şeklinde yorumlanabilir.

Çalışmamızda kemik rejenerasyonunun hızlandıracağını ve yeni oluşan kemik dokusunun kalitesinin arttıracığını düşündüğümüz putty greft ile uygulamalar gerçekleştirildi. Greft iyileşmesinin değerlendirilmesi amacıyla çekim soketi modelinin kullanılması planlandı. Literatürde allogreft ile çekim soketinin greftlendiği çalışmalarda belirtilen 4-12 ay arasında değişen iyileşme sürelerinin kısaltılması amacıyla hücrel ve büyüme faktörleri açısından zengin i-TZF kullanıldı. Çalışmamızın 2 aylık iyileşme sonucundaki histolojik, histomorfometrik ve immünohistokimyasal incelemelerinde literatürde mevcut olan iyileşme sürelerinden daha kısa zamanda yeni kemik oluşumu elde edildiği ve bu yeni oluşan kemiğin histolojik olarak literatürdeki çalışmalardan daha başarılı sonuçlar verdiği görüldü. Klinik uygulamamız esnasında putty forma getirilen greftin, manipülasyonu kolaylaştırdığı, greftin stabilizasyonuna katkı sağladığı ve ölü alan bırakılmadan homojen olarak kondanse edilmesine imkan sağladığı görüldü. Çalışmamızın klinik, histolojik, histomorfometrik ve immünohistokimyasal bulgularına bakıldığında i-TZF ile putty form kazandırılan greftin kullanılmasının kemik oluşumu için beklenen süreyi kısalttığı, yapılması planlanan implanta yapısal ve hücrel olarak optimum kemik ve yumuşak doku desteği sağlanabildiği, yöntemin sonuçlarının hipotezimizle örtüştüğü

ve güvenle uygulanabilecek bir metot olduğu görüldü.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışmamızda hücrenel ve büyüme faktörleri açısından zengin içerikli i-TZF' nin ilave edilmesiyle partikülize greftin putty form kazanması sağlanmıştır. Klinik uygulamalarımız esnasında putty formdaki greftin cerrahi sahaya taşınmasının ve manipülasyonunun kolaylaştığı, greftleme prosedüründe ölü alan bırakılmadan homojen şekilde bölgeye adapte edilebildiği görüldü. Greftleme operasyonunun daha basit olması, kısa sürmesi ve yöntemin flep kaldırılmadan gerçekleştirilmesi nedeniyle operasyon sonrası ağrı ve şişliğin azalmasını sağladığı düşünülebilir.

2. Çalışmamızda 2 ay sonunda elde edilen kemik dokusu örneklerinin histolojik ve histomorfometrik incelemelerinde çalışma grubunda anlamlı şekilde yüksek değerler elde edildi.

3. Çalışma grubunda immünohistokimyasal inceleme sonunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde daha yüksek immünoreaktivite değerleri görüldü.

4. Çalışma grubunda rezonans frekans analizi incelemelerine bakıldığında kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde yüksek stabilite değerleri elde edildi.

5. Çalışma grubunun histolojik verileri ile literatürdeki allogreft kullanılarak benzer şekilde soket koruma uygulanan ve ham verilerine ulaşılan

çalışmaların histolojik verileri karşılaştırıldığında uyguladığımız yöntemin daha kısa sürede yeni kemik oluşumunda anlamlı şekilde yüksek değerler gösterdiği görüldü. Bu sonuçların elde edilmesinde hücrenel ve büyüme faktörleri açısından zengin içeriğe sahip i-TZF' nin partikülize greftin osteoindüktif potansiyelini arttırmasının etkili olduğu düşünülebilir.

6. Histolojik ve klinik sonuçlar ele alındığında uyguladığımız yöntemin hastaların kemik oluşumu için beklediği iyileşme süresinin kısaltılarak daha az bir süreyi dişsiz geçirebilmeleri konusunda fayda sağlayabileceği görüldü.

7. Klinik, histopatolojik olarak ve RFA bulguları ile yeni kemik oluşumunu hızlandırdığımız ve oluşan kemiğin kalitesini arttırdığımız gözlemlediğimiz yöntemin, allogreftte osteoindüktif etkisini arttırıcı bir ilavede bulunulmadan erken dönemde kemik oluşumu göstermemesi nedeniyle yalnızca allogreft uygulanan bir grup ile karşılaştıramamak çalışmamız için sınırlandırıcı olmuştur.

8. Uyguladığımız yöntemin farklı greftleme ve ogmentasyon prosedürlerinde ve farklı partikül boyutunda, farklı içerikteki greft materyalleriyle kullanıldığı, greftleme yapılan çenenin ve diş bölgelerinin standardize edildiği, daha fazla örneklem büyüklüğü ve daha uzun takip sürelerinin belirlendiği çalışmaların yapılmasının yöntemin etkinliğinin değerlendirilmesinde faydalı olacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Hagel-Bradway S, Dziak R. Regulation of bone cell metabolism. J Oral Pathol Med 1989; 18 (6) : 344-351.
2. Veis A. Mineral-matrix interactions in bone and dentin. J Bone Miner Res 1993; 8: 493-497.
3. Schwartz Z, Goultschin J, Dean DD, Boyan BD. Mechanisms of alveolar bone destruction in periodontitis. Periodontol 2000 1997; 14: 158-172.
4. Mundy GR. Bone remodeling and Its Disorders: Martin Dunits,1999, 1-11.
5. Akay M. T., Genel Histoloji, Beşinci Baskı, Palme Yayıncılık,Ankara, 2001.
6. Sodek J, Kee MC. Molecular and cellular biology of alveolar bone. Periodontology 2000 2000; 24: 99- 126.
7. Kalfas IH. Principles of Bone Healing. Neurosurg Focus 2001; 10: 1-4.
8. Glimcher MJ. Endocrinology, In :Handbook of Physiology, Vol: 7. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1976: 25-116.
9. Ayhan E. Mine matriks proteininin (Emdogain), punch greft tekniği ile kapatılan çekim soketinde yeni kemik oluşumuna olan etkisinin Bio-Oss collagen ile karşılaştırılması, Doktora Tezi ,Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2007.
10. Swaminathan, R. Biochemical markers of bone turnover. Clin Chim Acta 2001; 313 (1-2): 95-105.

11. Saffar JL, Lasfargues JJ, Cherruau M. Alveolar bone and the alveolar process: the socket that is never stable. *Periodontology* 2000 1997; 13: 76-90.
12. Hollinge JO, Seyfer AE. Bioactive factors and biosynthetic materials in bone grafting. *Clin Plast Surg* 1994; 21 (3): 415-418.
13. Çavdar FH. Alloplastik ve Allojenik Kemik Greftleri ile Doldurulan Çekim Soketlerinin İyileşmesinin ve Yeni Oluşan Dokunun Uzun Dönemde Bilgisayar Tomografisi Hounsfield Unit Değerleri ile İncelenmesi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2008.
14. Carranza FA, N.M. *Clinical Periodontology* (8th ed.). W.B.Saunders Company, Philadelphia, 1996.
15. Çırak E., Düşük Enerji Seviyeli Lazerlerin Diş Çekimi Sonrasında Kemik İyileşmesi Üzerine Olan Etkisinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Ana Bilim dalı Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2013.
16. Fiorellini JP, Nevins ML. Localized Ridge Augmentation/ Preservation. A Systematic Review. *Ann Periodontol* 2003; 8: 321- 327.
17. Özkan A. Ratlarda Sigara Dumanının Diş Çekim Yararındaki Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisinin İmmünohistokimyasal ve Biyokimyasal Olarak Değerlendirilmesi, Doktora Tezi, Genelkurmay Başkanlığı Gülhane Askeri Tıp Akademisi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Diş Hekimliği Bilimleri Merkezi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim dalı Başkanlığı, Ankara, 2011.
18. Darby I, Chen S, De Poi R. Ridge preservation: what is it and when should it be considered. *Australian Dental Journal* 2008; 53: 11–21.
19. Darby I, Chen S, Buser D. Ridge preservation techniques for implant therapy. *J Oral Maxillofac. Implants* 2009; 24(Suppl): 260–271.
20. François B, Luc H, Emmanuelle L. Bone loss and teeth. *Joint Bone Spine*; 72: 215–221.
21. Sennerby L, Carlsson GE, Bergman B, Warfvinge J. Mandibular bone resorption in patients treated with tissue-integrated prostheses and in complete-denture wearers. *Acta Odontol Scand* 1998; 46: 135–140.
22. Bartee BK. Extraction site reconstruction for alveolar ridge preservation Part 1: Rationale and materials selection. *J Oral Implantology* 2001; 27: 187-193.
23. John V, Gossweiler M. Implant treatment planning and rehabilitation of the anterior maxilla: Part 1. *Ind Dent Assoc* 2001; 80: 20-24
24. Devlin H, Ferguson MW. Alveolar ridge resorption and mandibular atrophy. A review of the role of local and systemic factors. *Br Dent J* 1991; 170 (3): 101-104.

25. Pietrokovski J, Massler M. Alveolar ridge resorption following tooth extraction. *J Prosthet Dent* 1967; 17 (1): 21-27.
26. Schropp L, Wenzel A, Kostopoulos L, Karring T. Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2003; 23 (4): 313-323.
27. Yilmaz S, Efeoglu E, Kilic AR. Alveolar ridge reconstruction and/or preservation using root form bioglass cones. *J Clin Periodontol* 1998; 25: (10): 832-839.
28. Lekovic V, Camargo PM, Klokkevold PR, Weinlaender M, Kenney EB, Dimitrijevic B. et al. Preservation of alveolar bone in extraction sockets using bioabsorbable membranes. *J Periodontol* 1998; 69 (9): 1044- 1049.
29. Landsberg CJ. Socket seal surgery combined with immediate implant placement: A novel approach for single-tooth replacement. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1997; 17: 141- 149.
30. Langer B, Langer L. The Overlapped Flap Surgical Modification for implant Fixture Installation. *Int J Periodontics Rest Dent* 1990; 10: 209- 216.
31. Seibert J, Nyman S. Localized Ridge Augmentation in Dog: a Pilot Study. Using Membranes and Hydroxylapatite. *J Periodontol* 1990; 61: 157- 165.
32. Schenk RK, Buser D, Hardwick WR, Dahlin C. Healing of Bone Regeneration in Membrane – Protected Defect. A Histologic Study in the Canine Mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1994; 9: 13- 29.
33. Buser D, Dula K, Belser U, Hirt HP, Berthold H. Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. 1. Surgical procedure in the maxilla. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1993; 13 (1): 29-45.
34. Dahlin C, Gottlow J, Linde A, Nyman S. Healing of maxillary and mandibular bone defects using a membrane technique. An experimental study in monkeys. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 1990; 24 (1): 13-19.
35. Buser D, Dula K, Belser UC, Hirt HP, Berthold H. Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. II. Surgical procedure in the mandible. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1995; 15 (1): 10-29.
36. Bunyaratavej P, Wang HL. Collagen membranes: a review. *J Periodontol* 2001; 72 (2): 215-229.
37. Buser D, Dula K, Hirt HP, Schenk RK. Lateral ridge augmentation using autografts and barrier membranes: a clinical study with 40 partially edentulous patients. *J Oral Maxillofac Surg* 1996; 54 (4): 420-432; discussion 432-423.
38. Hardwick R, Hayes BK, Flynn C. Devices for dentoalveolar regeneration: an up-to-date literature review. *J Periodontol* 1995; 66 (6): 495-505.

39. Bartee BK. The use of high-density polytetrafluoroethylene membrane to treat osseous defects: clinical reports. *Implant Dent* 1995; 4 (1), 21-26.
40. Bartee BK, Carr JA. Evaluation of a high-density polytetrafluoroethylene (n-PTFE) membrane as a barrier material to facilitate guided bone regeneration in the rat mandible. *J Oral Implantol* 1995; 21 (2): 88-95.
41. Von Arx T, Hardt N, Wallkamm B. The TIME technique: a new method for localized alveolar ridge augmentation prior to placement of dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1996; 11 (3): 387-394.
42. Boyne P.J. Animal studies of application of rhBMP-2 in maxillofacial reconstruction. *Bone* 1996; 19 (1 Suppl); 83-92.
43. Hutmacher D, Hurzeler MB, Schliephake H. A review of material properties of biodegradable and bioresorbable polymers and devices for GTR and GBR applications. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1996; 11 (5): 667-678.
44. Zhao S, Pinholt EM, Madsen JE, Donath K. Histological evaluation of different biodegradable and non-biodegradable membranes implanted subcutaneously in rats. *J Craniomaxillofac Surg* 2000; 28 (2): 116-122.
45. Marinello CP, Berglundh T, Ericsson I, Klinge B, Glantz PO, Lindhe J. Resolution of ligature-induced peri-implantitis lesions in the dog. *J Clin Periodontol* 1995; 22 (6): 475-479.
46. Colangelo P, Piattelli A, Barrucci S, Trisi P, Formisano G, Caiazza S. Bone regeneration guided by resorbable collagen membranes in rabbits: a pilot study. *Implant Dent* 1993; 2 (2): 101- 105.
47. Hurzeler MB, Quinones CR, Schupbach P. Guided bone regeneration around dental implants in the atrophic alveolar ridge using a bioresorbable barrier. An experimental study in the monkey. *Clin Oral Implants Res* 1997; 8 (4): 323-331.
48. Buser D, Dula K, Hess D, Hirt HP, Belser UC. Localized ridge augmentation with autografts and barrier membranes. *Periodontol* 2000 1999; 19: 151-163.
49. Tuskan C, Yaltırık M, Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Biyomateryaller, İstanbul Üniv. Yayınları, İstanbul, 2002: 66.
50. Moore WR, Grave SE, Bain GI. Synthetic bone graft substitutes. *Australian and New Zealand Journal of Surgery* 2001; 71: 354-361.
51. Cypher TJ, Grossman JP. Biological principles of bone graft healing. *J Foot Ankle Surg* 1996; 35: 413-417.
52. Chesmel KD, Branger J, Wertheim H, Scarborough N. Healing response to various forms of human demineralized bone matrix in athymic rat cranial defects. *J. Oral Maxillofac Surg.* 1998; 56 (7): 857-863.
53. Abubaker AO, Benson KJ. *Oral and Maxillofacial Surgery Secrets* 2.ed. Mosby Elsevier, St Louis Missouri , 2007: 389-390.

54. Karadayı K. Maksillofasiyal Bölgedeki Kemik İçi Defektlerin Tedavisinde Plateletten Zengin Plazmanın Hidroksiapatit/ Trikalsiyumfosfat Kemik Greft Materyali ile Birlikte Kullanılmasının Etkinliğinin Klinik ve Radyolojik Olarak Değerlendirilmesi, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş ve Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, Ankara, 2010.
55. Zhang M, Powers RM, Wolfenbarger L. Effects of the Demineralized Process on the Osteoinductivity Of Demineralized Bone Matrix. *J.Periodontology* 1997; 68 (11):1085- 1092.
56. Garg AK. *Biology, Harvesting, Grafting for Dental Implants*. 1.ed. Quintessence Publishing, China, 2004: 21-56.
57. Ersu B. İmplant diş hekimliğinde kullanılan ağız içi otojen kemik greftleri. *Cf Diş Hek Fak Derg* 2007; 10 (2): 135-140.
58. Chen ST, Darby IB, Adams GG, Reynolds EC. A prospective clinical study of bone augmentation techniques at immediate implants. *Clin Oral Impl Res* 2005; 16: 176–184.
59. Pradel W, Eckelt U, Lauer G. Bone regeneration after enucleation of mandibular cysts: Comparing autogenous grafts from tissue- engineered bone and iliac bone. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101: 285-290.
60. Pripatnanont P, Nuntanaranont T, Vongvatcharanon S. Proportion of deproteinized bovine bone and autogenous bone affects bone formation in the treatment of calvarial defects in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2009; 38: 356–362.
61. Misch CE, Dietsch F. Bone-grafting materials in implant dentistry. *Implant Dent* 1993; 2: 158-167.
62. Acil Y, Springer IN, Broek V, Terheyden H, Jepsen S. Effects of bone morphogenetic protein-7 stimulation on osteoblasts cultured on different biomaterials. *J Cell Biochem* 2002; 86: 90-98.
63. Lynch SE, Genco RJ, Marx RE. *Applications In Maxillofacial Surgery And Periodontics, Grafting Materials in Repair and Restoration*. Quintessence Publishing Co, Illinois, 1999: 83-103.
64. Aslan E. Alveolar Kemik Ogmentasyonunda Kullanılan otojen Blok Greft ve Demineralize Blok Allogreft Materyalinin Histomorfometrik ve Klinik Olarak İncelenmesi, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2014.
65. Sassard WR, Eidman DK, Gay PMJ. Augmenting local bone with Grafton demineralised bone matrix for posteriorlateral lumbar spine fusion: avoiding second site autologous bone harvest. *Orthopedics* 2000; 23: 1059-1065.

66. Aghaloo TL, Moy PK, Freymiler EG. Investigation Of Platelet-Rich Plasma in Rabbit Cranial Defects: A Pilot Study. *J. Oral Maxillofac. Surg.*2002; 60 (10):1176–1181
67. Timoğin N, Kaynar A, ŷ zt˘ rk S, Sungur A, Demiryont M. Biocoral Uygulanan Kemik Defektlerinde İyileŷmenin Radyon˘ klit ve Histopatolojik Y˘ ntemlerle İncelenmesi . *I.fi . Dis, Hekimligi Fak˘ ltesi Dergisi Eylül 1993; 27 (3): 173 – 178.*
68. Kaya A. Kemik Defektlerinin İyileŷmesinde Rifamisin İle Allojenik , Alloplastik ve Heterojen Kemik Greftlerinin Etkilerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi, Doktora Tezi, Dicle Őniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 2013.
69. Wittkamp AR. Fibrin Glue As Cement For Ha-Granules. *J Cranio- Maxillofac Surg* 1989; 17: 179-181.
70. Zhu SJ, et al. A comparative histologic analysis of tissue-engineered bone using platelet-rich plasma and platelet-enriched fibrin glue. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 102: 175-179.
71. Lind M. Groth Factors: Possible New Clinical Tools. *Acta Orthop Scand* 1996; 67 (4): 407-417.
72. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: An autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 1997; 55: 1294.
73. Marx RE, Arun K. Dental and Craniofacial Applications of Platelet-Rich Plasma. Quintessence Publishing CO, Inc., 2005.
74. Smith SE, Rouikis TS. Bone and Wound Healing Augmentations with Platelet-Rich Plasma. *Clin Podiatr Med Surg* 2009; (26): 559-588.
75. Tsay RC, et al. Differential Growth Factor Retantion by Platelet-Rich Plasma Composites. *J Oral Maxillofac Surg* 2005; 63: 521-528.
76. Tozum TF, Demiralp B. Platelet rich plasma: A promising innovation in dentistry. *J Can Dent Assoc* 2003; 69: 664.
77. Ozgul O, Senses F, Er N, Tekin U, Tuz HH, Alkan A, Koçyiğit İD, Atıl F. Efficacy of platelet rich fibrin in the reduction of the pain and swelling after impacted third molar surgery: Randomized multicenter split-mouth clinical trial. *Head Face Med.* 2015;26;11:37.
78. Yazawa M, Ogata H. Influence Of Antiplatelet Substances On Platelet-Rich Plasma. *J Oral Maxillofac Surg* 2004; 62: 714-718.
79. Gerard D, Carlson ER, Gotcher JE, Jacobs M. Effects of Platelet-Rich Plasma on the Healing of Autologous Bone Grafted Mandibular Defects in Dogs. *J Oral Maxillofac Surg* 2006; 64: 443-451.

80. Lacoste E, Martineau I, Gagnon G. Platelet concentrates: effects of calcium and thrombin on endothelial cell proliferation and growth factor release. *J Periodontol* 2003; 74: 1498-1507.
81. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan, SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101: 37-44.
82. Choukroun, J, Diss, A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan AJ, Mouthy J, Dohan DM. 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* 2006; 101: 56- 60.
83. Miron RJ, Choukroun J. *Platelet Rich Fibrin in Regenerative Dentistry: Biological Background and Clinical Indications*, Wiley Blackwell, 2017
84. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 2004; 62 (4): 489–496.
85. DohanEhrenfest DM, DelCorso M, Diss A, Mouhyi J, Charrier JB. Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun’s platelet-rich fibrin clot and membrane. *J Periodontol* 2010; 81(4): 546–555.
86. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics* 2006; 101 (3): 45–50.
87. Adamson R. Role of macrophages in normal wound healing: an overview. *Journal of wound care* 2009; 18 (8): 349–351.
88. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics* 2006; 101 (3): 51–55.
89. Tsirogianni AK, Moutsopoulos NM, Moutsopoulos HM. Wound healing: immunological aspects. *Injury* 2006; 37 Suppl 1: 5–12.
90. Adamson R. Role of macrophages in normal wound healing: an overview. *Journal of wound care* 2009; 18 (8): 349–351.
91. Davis VL, Abukabda AB, Radio NM, Witt-Enderby PA, Clafshenkel WP, Cairone JV, et al. Platelet-rich preparations to improve healing. Part II: platelet activation and enrichment, leukocyte inclusion, and other selection criteria. *The Journal of oral implantology* 2014; 40 (4): 511–521.
92. Nociti Junior FH, Stefani CM, Machado MA, Sallum EA, Toledo S. & Sallum, AW. Histometric evaluation of bone regeneration around immediate implants

- partially in contact with bone: a pilot study in dogs. *Implant Dentistry* 2000; 9: 321–328.
93. Anitua E, Sánchez M, Orive G, Andúja I. The potential impact of the preparation richin growth factors (PRGF) in different medical fields, *Biomaterials* 2007; 28: 4551–4560.
 94. Kobayashi E, Flückiger L, Fujioka-Kobayashi M, Sawada K, Sculean A, Schaller B, Miron RJ. Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF, *Clin. Oral Investig*; 2016: 1–8.
 95. Ghanaati S, Booms P, Orłowska A, Kubesch A, Lorenz J, Rutkowski J, Landes C, Sader R, Kirkpatrick C, Choukroun J. Advanced Platelet-Rich Fibrin: A New Concept for Cell-Based Tissue Engineering by Means of Inflammatory Cells, *J. Oral Implantol* 2014; 40: 679–689.
 96. Kubesch A, Barbeck M, Orłowska A, Booms P, Al-Maawi S, Sader RA, Kirkpatrick CJ, Choukroun J, Ghanaati S. Pre-clinical in vivo evaluation of Platelet-rich fibrin (PRF) scaffolds: G-force reduction in advanced platelet-rich fibrin (A-PRF) scaffolds increases scaffold integration and vascularization: First pre-clinical in vivo evaluation, (n.d.) *JMSM*, submitted.
 97. El Bagdadi K, Yu X, Al-Maawi S, Dias A, Dohle E, Kubesch A, Booms P, Sader R, Kirkpatrick J, Choukroun J, Ghanaati S. Reduction of relative centrifugal forces influences the growth factor release within the solid PRF-based matrices: A proof of concept of LSCC (Low Speed Centrifugation Concept), *ETOJ*. in revision 2016.
 98. Fujioka-Kobayashi M, Miron RJ, Hernandez M, Kandalam U, Zhang Y, Choukroun J. Optimized Platelet Rich Fibrin With the Low Speed Concept: Growth Factor Release, Biocompatibility and Cellular Response. *J. Periodontol* 2016; 1–17.
 99. Choukroun J, Ghanaati G. Reduction of relative centrifugation force within PRF- (Platelet-Rich-Fibrin) concentrates advances patients' own inflammatory cells and platelets: First introduction of the Low Speed Centrifugation Concept, *ETOJ*, in revision 2016.
 100. Yelamali T, Saikrishna D. Role of platelet rich fibrin and platelet rich plasma in wound healing of extracted third molar sockets: a comparative study. *J. Maxillofac. Oral Surg* 2015; 14: 410–416.
 101. Zhang Y, Tangl S, Huber CD, Lin Y, Qiu L, Rausch-Fan X. Effects of Choukroun's platelet-rich fibrin on bone regeneration in combination with deproteinized bovine bone mineral in maxillary sinus augmentation: A histological and histomorphometric study. *J. Cranio- Maxillofacial Surg* 2012; 40: 321–328
 102. Sharma A, Pradeep aR. Treatment of 3-Wall Intrabony Defects in Patients With Chronic Periodontitis With Autologous Platelet-Rich Fibrin: A Randomized Controlled Clinical Trial, *J. Periodontol* 2011; 82: 1705–1712.

103. Eren G, Atilla G. Platelet-rich fibrin in the treatment of localized gingival recessions: a split-mouth randomized clinical trial. *Clin. Oral Investig* 2013; 18: 1941–1948.
104. Mücke T, Krestan C, Mitchell D, Kirschke J, Wutzl A. Bisphosphonate and Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw: A Review, *Semin. Musculoskelet. Radiol* 2016; 20: 305–314.
105. Soydan SS, Uckan U. Management of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with a platelet-rich fibrin membrane: Technical report, *J. Oral Maxillofac. Surg* 2014; 72: 322–326.
106. Nacopoulos C, Dontas I, Lelovas P, Galanos A, Vesalas AM, Raptou P, Mastoris M, Chronopoulos E, Papaioannou N. Enhancement of bone regeneration with the combination of platelet-rich fibrin and synthetic graft., *J. Craniofac. Surg* 2014; 25: 2164–2168.
107. Weber SC, Kauffman JI, Parise C, Weber SJ, Katz SD. Platelet-rich fibrin matrix in the management of arthroscopic repair of the rotator cuff: a prospective, randomized, double-blinded study., *Am. J. Sports Med.* 2013; 41: 263–270.
108. Meredith N, Aleyne D, Cawley P. Quantitative determination of the stability of the implant-tissue interface using resonance frequency analysis. *Clin Oral Impl. Res* 1996; 7: 261-267.
109. Glauser R, Sennerby L, Meredith N, et al. Resonance frequency analysis of implants subjected to immediate or early functional occlusal loading. Successful vs. failing implants. *Clin Oral Implants Res* 2004; 15: 428- 434.
110. Meredith N, Book K, Friberg B: Resonance Frequency measurements of implant stability in vivo, A cross sectional and longitudinal study of resonance frequency measurements on implants in the edentulous and partially dentate maxilla. *Clin Oral Impl Res* 1997; 8: 234- 243.
111. Sennerby L, Meredith N. Resonance frequency analysis: Measuring Implant stability and osseointegration. *Compendium of continuing Education in Dentistry* 1998; 19: 493-498.
112. Froum S, Cho SC, Rosenberg E, Rohrer M, Tarnow D. Histological Comparison of Healing Extraction Sockets Implanted With Bioactive Glass or Demineralized Freeze-Dried Bone Allograft: A Pilot Study, *J Periodontol* 2002; 73 (1): 94-102
113. Wood RA, Mealey BL. Histological Comparison of Healing After Tooth Extraction With Ridge Preservation Using Mineralized Versus Demineralized Freeze-Dried Bone Allograft, *J Periodontol* 2012; 83 (3): 329-336
114. Nevins M, Camelo M, Paoli S, Friedland B, Schenk R. A Study of the Fate of the Buccal Wall of Extraction Sockets of Teeth with Prominent Roots. *Int J Periodontics Restorative dent* 2006; 26: 19- 29.
115. Amler MH, Johnson PL, Salman I. Histological and histochemical investigation of human alveolar socket healing in undisturbed extraction wounds. *J Am Dent Assoc* 1960; 61: 32- 44.

116. Lasella JM, Greenwell H, Miller RL, Hill M, Drisko C, Bohra AA, et al. Ridge Preservation with freeze-dried bone allograft and a collagen membrane compared to extraction alone for implant site development: a clinical and histologic study in humans. *J Periodontol* 2003; 74 (7): 990- 999.
117. Carlsson GE, Persson G. Morphologic changes of the mandible after extraction and wearing of dentures. A longitudinal, clinical, and x-ray cephalometric study covering 5 years, *Odontol Revy* 1967; 18 (1): 27-54.
118. Lekovic V, Kenney EB, Weinlaender M, : A Bone regenerative approach to alveolar ridge maintenance following tooth extraction. Report of 10 cases. *J Periodontol* 1997; 68: 563- 570.
119. Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, et al. Influence of bioactive glass on changes in alveolar process dimensions after exodontias. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000; 90 (5): 581- 586.
120. Araujo MG, Lindhe J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 212- 218.
121. Cardaropoli G, Aravjo M, Lindhe J, Dynamics of Bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 809- 818.
122. Araujo MG, Sukekava F, Wennström JL, Lindhe J. Ridge alterations following implant placement in fresh extraction sockets: An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 645–652
123. Abas I, Meijer GJ. Implant positioned buccally of the alveolar process; a complication, *Ned Tijdschr Tandheelkd* 2016; 123 (2): 79-81.
124. Kim Y, Oh T, Misch CE, Wang H. Occlusal considerations in implant therapy: clinical guidelines with biomechanical rationale. *Clin Oral Implants Res* 2004; 16(1):26-35.
125. Parlar A, Placement of dental implants into fresh extraction sockets, 2nd. International Congress of Osseointegration, 2003, Istanbul.
126. Warer K, Gotfredsen K, Hjorting - Hensen E, Karring T. Guided tissue regeneration ensures osseointegration of dental implants placed into extraction sockets. An experimental study in monkeys. *Clin Oral Implants Res* 1991; 2: 166- 171.
127. Lazzara RJ, Immediate Implant Placement into extraction sites: Surgical and restorative advantages. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1989; 9, 333- 343.
128. Krump JL, Barnett BG. The Immediate Implants: A treatment alternative. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1991; 6: 19- 23.
129. Henry PJ, Tan AES, Leavy J, Johnsson CB, Albrektsson T. Tissue regeneration in bony defects adjacent to immediately loaded titanium implants placed into

- extraction sockets: A study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997; 12: 758-766.
130. Grunder U, Polizzi G, Goene R, Hatana N, Henry P. A 3- year Prospective Multicenter Follow-up Report on the Immediate and Delayed-Immediate Placement of Implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999; 14: 210.
 131. Barzilay I, Graser GN, Iranpour B, Proskin HM. Immediate implantation of pure titanium implants into extraction sockets of *Macaca fascicularis*. Clinical and radiographic assessment. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1996; 11: 299- 310.
 132. Crespi R, Cappare P, Gherlone E. Fresh-socket implants in periaipcal infected sites in humans. *J Periodontol* 2010; 81(3): 378-383.
 133. Crespi R, Cappare P, Gherlone E, Romanos GE. Immediate versus delayed loading of dental implants placed in fresh extraction sockets in the maxillary esthetic zone: a clinical comperative study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008; 23 (4): 753-758.
 134. Bassir SH, El Kholy K, Chen CY, Lee KH, Intini G. Outcome of early dental implant placement versus other dental implant placement protocols: A systematic review and meta-analysis. *J Periodontol* 2018: 5.
 135. Wang HL, Kiyonobu K, Neiva RF. Socket augmentation: rationale and technique. *Implant Dent* 2004; 13: 286-296.
 136. Marx RE. Bone and bone graft healing. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 2007; 19: 455-466.
 137. Scarano A, Piattelli A, Perrotti V, Manzon L, Iezzi G. Maxillary sinus augmentation in humans using cortical porcine bone: a histological and histomorphometrical evaluation after 4 and 6 months. *Clin Implant Dent Relat Res* 2011; 13:13- 18.
 138. Katsuyama H, Jensen SS. *ITI treatment guide: Sinus floor augmentation*. Quintssence, Berlin; 2012.
 139. Hupp JR, Ellis E, Tucker MR. *Contemporary oral and maxillofacial surgery*. 5 ed. St. Louis, Mosby, 2008: 605-607.
 140. Xu H, Shimizu Y, Onodera K, Ooya K. Long-term outcome of augmentation of the maxillary sinus using deproteinised bone particles experimental study in rabbits. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2005; 43: 40-45.
 141. Sakkas A, Wilde F, Heufelder M, Winter K, Schramm A. Autogenous bone grafts in oral implantology-is it srill a “gold standard”? A consecutive review of 279 patients with 456 clinical procedures. *Int J Implant Dent* 2017; 3 (1): 23.
 142. Artzi Z, Tal H, Davan D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets. Part 1: Histomorphometric evaluations at 9 months. *J Periodontol* 2000; 21: 1015- 1023.

143. Norton MR, Wilson J. Dental implants placed in extraction sites implanted with bioactive glass: human histology and clinical outcome. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002; 7: 249- 257.
144. Jambhekar S, Kernen F, Bidra AS. Clinical and histologic outcomes of socket grafting after flapless tooth extraction: A systematic review of randomized controlled clinical trials. *J Prosthet Dent* 2015; 113: 371-382
145. Brownfield LA, Weltman RL. Ridge preservation with or without an osteoinductive allograft: a clinical, radiographic, micro-computed tomography, and histologic study evaluating dimensional changes and new bone formation of the alveolar ridge. *J Periodontol* 2012; 83: 581-589.
146. Toloue SM, Chesnoiu-Matei I, Blanchard SB. A clinical and histomorphometric study of calcium sulfate compared with freeze-dried bone allograft for alveolar ridge preservation. *J Periodontol* 2012; 83: 847-855.
147. Fotek PD, Neiva RF, Wang HL. Comparison of dermal matrix and polytetrafluoroethylene membrane for socket bone augmentation: a clinical and histologic study. *J Periodontol* 2009; 80: 776-785.
148. Eskow AJ, Mealey BL. Evaluation of healing following tooth extraction with ridge preservation using cortical versus cancellous freeze dried bone allograft. *J Periodontol* 2014; 85: 514-524.
149. Crespi R, Cappare P, Gherlone E. Magnesium-enriched hydroxyapatite compared to calcium sulfate in the healing of human extraction sockets: radiographic and histomorphometric evaluation at 3 months. *J Periodontol* 2009; 80: 210-218.
150. Thalmair T, Fickl S, Schneider D, Hinze M, Wachtel H. Dimensional alterations of extraction sites after different alveolar ridge preservation techniques: a volumetric study. *J Clin Periodontol* 2013; 40: 721-727.
151. Neiva R, Pagni G, Duarte F, Park CH, Yi E, Holman LA, Giannobile WV. Analysis of tissue neogenesis in extraction sockets treated with guided bone regeneration: clinical, histologic, a
152. Checchi V, Savarino L, Montevecchi M, Felice P, Checchi L. Clinical-radiographic and histological evaluation of two hydroxyapatites in human extraction sockets: a pilot study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2011; 40: 526-532.
153. Brkovic BM, Prasad HS, Rohrer MD, Konandreas G, Agrogiannis G, Antunovic D, et al. Beta-tricalcium phosphate/type I collagen cones with or without a barrier membrane in human extraction socket healing: clinical, histologic, histomorphometric, and immunohistochemical evaluation. *Clin Oral Investig* 2012; 16: 581-590.
154. Kakar A, Rao BHS, Hegde S, Deshpande N, Lindner A, Nagursky H, Patney A, Mahajan H. Ridge preservation using an in situ hardening biphasic calcium phosphate (B-TCP/HA) bone graft substitute- a clinical, radiological, and histological study. *Int J Implant Dent* 2017;3 (1):25.

155. Cardaropoli D, Tamagnone L, Roffredo A, Gaveglione L, Cardaropoli G. Socket Preservation Using Bovine Bone Mineral and Collagen Membrane: A Randomized Controlled Clinical Trial with Histological Analysis. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2012; 32 (4): 421-430.
156. Guarnieri R, Pecora G, Fini M, et al. Medical grade calcium sulfate hemihydrate in healing of human extraction sockets: clinical and histological observations at 3 months. *J Periodontol* 2004; 75: 902-908.
157. Carmagnola D, Adriaens P, Berglundh T. Healing of human extraction sockets filled with Bio-Oss. *Clinical Oral Implants Research*. 2003; 14 (2): 137-143.
158. Sadeghi R, Babaei M, Miremadi SA, Abbas FM. A randomized controlled evaluation of alveolar ridge preservation following tooth extraction using deproteinized bovine bone mineral and demineralized freeze-dried bone allograft. *Dent Res J* 2016; 13:151-159.
159. Lee DW, Pi SH, Lee SK, Kim EC. Comparative histomorphometric analysis of extraction sockets healing implanted with bovine xenografts, irradiated cancellous allografts, and solvent-dehydrated allografts in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009; 24: 609-615.
160. Gholami GA, Najafi B, Mashhadiabbas F, Goetz W, Najafi S. Clinical, histologic and histomorphometric evaluation of socket preservation using a synthetic nanocrystalline hydroxyapatite in comparison with a bovine xenograft: A randomized clinical trial. *Clin Oral Implants Res* 2012; 23: 1198-1204.
161. Artzi Z, Nemcovsky CE. The application of deproteinized bovine bone mineral for ridge preservation prior to implantation. Clinical and histological observations in a case report. *J Periodontol* 1998; 69: 1062-1067.
162. Chan HL, Lin GH, Fu JH, Wang HL. Alterations in bone quality after socket preservation with grafting materials: A systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2013; 28: 710-720.
163. Vance GS, Greenwell H, Miller RL, Hill M, Johnston H, Scheetz JP. Comparison of an allograft in an experimental putty carrier and a bovine-derived xenograft used in ridge preservation: A clinical and histologic study in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004; 19: 491-497.
164. El-Chaar. Demineralized Bone Matrix in Extraction Sockets: A Clinical and Histologic Case Series 2013; 22 (2): 120-126.
165. Fernandes PG, et al. Socket Preservation Therapy with Acellular Dermal Matrix and Mineralized Bone Allograft After Tooth Extraction in Humans: A Clinical and Histomorphometric Study. *Int J Periodontics Rest Dent* 2016; 36 (2):16-25.
166. Mardas N, Chadha V, Donos N. Alveolar ridge preservation with guided bone regeneration and a synthetic bone substitute or a bovine-derived xenograft: a randomized, controlled clinical trial. *Clin. Oral Impl. Res.* 2010; 21: 688–698.

167. Walker CJ, Prihoda TJ, Mealey BL, Lasho DJ, Noujeim M, Huynh-Ba G. Evaluation of Healing at Molar Extraction Sites With and Without Ridge Preservation: A Randomized Controlled Clinical Trial. *J Periodontol* 2017; 88 (3): 241-249.
168. Becker W, Cameron C, Sennerby L, Urist MR, Becker BE. Histologic findings after implantation and evaluation of different grafting materials and titanium micro screws into extraction sockets: Case reports. *J Periodontol* 1998; 69: 414- 421.
169. Raghoobar GM, Schortinghuis J, Liem RSB, Ruben JL, Wal JE, Vissink A. Does platelet rich plasma promote remodeling of autologous bone grafts used for augmentation of the maxillary sinus floor. *Clin Oral Impl Res* 2005; 16: 349-356.
170. Boden SD: Bioactive factors for the bone tissue engineering. *Clinical Orthopedics and Related Research* 1999; 367: 84-94.
171. Khan SN, Tomin E, Lanr JM. Clinical applications of bone graft substitutes. *Orthop Clin North Am* 2000; 31: 389-396.
172. Mathes SJ. Repair and Grafting of Bone. In *plastic Surgery* 2nd ed. Saunders Philadelphia: Elsevier 2006; 4: 639-718.
173. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. Une opportunité en parodontologie: Le PRF. *Implantodontie*. 2001; 42: 55-62.
174. Dohan DM, Doglioli P, Peppo GM, Del Corso M, Charrier JB. Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) stimulates in vitro proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose-dependent way. *Archives of Oral Biology* 2010; 55 (3): 185-194.
175. Rodella LF, Favero G, Boninsegna R, Buffoli B, Labanca M, Scari G. Growth factors, CD34 positive cells and fibrin network analysis in concentrated growth factors fraction. *Microsc Rec Tech* 2011; 74 (8): 772-777.
176. O'Connell, S.M. Safety issues associated with platelet-rich fibrin method. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 103 (5), 587; author reply 587-593.
177. Simonpieri A, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. The relevance of Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part I: A new grafting protocol. *Implant Dent* 2009a; 18(2): 102-111.
178. Simonpieri A, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. The relevance of Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part II: implant surgery, prosthodontics and survival. *Implant Dent* 2009b; 18(3): 220-229.
179. Dohan DM, Del Corso M, Diss A, Mouhyi J, Charrier JB. Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane. *Annals of Maxillofacial Surgery* 2011; 1: 53-57.

180. Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) membranes in periodontal surgery: understanding the biomaterial or believing into the magic of growth factors? *J Periodontol* 2009a; 80 (11): 1694-1697.
181. Simon BI, Zatzoff AL, Kong JJW, O'Connell SM. Clinical and histological comparison of extraction socket healing following the use of autologous platelet-rich fibrin matrix (prfm) to ridge preservation procedures employing demineralized freeze-dried bone allograft material and membrane. *The Open Dentistry Journal* 2009; 3: 92-99.
182. Sammartino G, Dohan DM, Carile F, Tia M, Bucci P. Prevention of hemorrhagic complications after dental extractions into open heart surgery patients under anticoagulant therapy: The use of leukocyte and platelet-rich fibrin. *Journal of Oral Implantology* 2011; 37(6): 681-690.
183. Toffler M, Toscano N, Holtzclaw D, Del Corso M, Dohan DM. Introducing platelet rich fibrin (prf) to the reconstructive surgery milieu. *The Journal of Implant & Advanced Clinical Dentistry* 2009; 1(6): 21-32.
184. Dohan Ehrenfest DM, Diss A, Odin G, Doglioli P, Hippolyte MP, Charrier JB. In vitro effects of Choukroun's PRF (platelet-rich fibrin) on human gingival fibroblasts, dermal prekeratinocytes, preadipocytes and maxillofacial osteoblasts in primary cultures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009b; 108(3): 341-352.
185. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, 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 Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006b; 101 (3): 299-303.
186. Zumstein MA, Bielecki T, Dohan DM. 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; 19: 190-197.
187. 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* 2013; 51: 438-443 .
188. Gassling V, Hedderich J, Açıl Y, Purcz N, Wiltfang J, Douglas T. Comparison of platelet rich fibrin and collagen as osteoblast-seeded scaffolds for bone tissue engineering applications. *Clin Oral Impl Res* 2011; xx: 1-9.
189. Srisurang S, Kantheera B, Narit L, Prisana P. Socket preservation using platelet-rich fibrin in conjunction with epithelialized palatal free graft in minipigs. *Journal of Oral and Maxillofac Surg Med and Pathol* 2013;108-117.
190. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM. Platelet-rich plasma growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;85:638-646.

191. Diss A, Dohan DM, Mouhyi J, Mahler P. Osteotome sinus floor elevation using Choukroun's platelet-rich fibrin as grafting material: A 1-year prospective pilot study with microthreaded implants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008; 105 (5): 572-579.
192. Zhao JH, Tsai CH, Chang YC. Clinical and histologic evaluations of healing in extraction socket filled with platelet-rich fibrin. *Journal of Dental Sciences* 2011; 6: 116-122.
193. Alhijazi A, Mohammed S. Evaluation of the effect of platelet rich fibrin matrix on bone healing. *J Bagh College Dentistry* 2011; 23(4): 65-70.
194. Gürbüz B, Pıkdöken L, Tunalı M, Urhan MD, Küçükodacı Z, Ercan F. Scintigraphic evaluation of osteoblastic activity in extraction sockets treated with platelet-rich fibrin. *Oral Maxillofac Surg* 2010; (68): 980-989.
195. Kökdere NN. Kemik Defektlerinin İyileşmesinde Trombositten Zengin Fibrin (TZF)'in Etkilerinin Deneysel Olarak Araştırılması; Histomorfometrik Değerlendirme, Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Isparta, 2012
196. Bielecki T, Gazdzik TS, Szczepanski T. Re: "The effects of local platelet rich plasma delivery on diabetic fracture healing". What do we use: Platelet-rich plasma or platelet-rich gel? *Bone* 2006; 39: 1388
197. Cieslik-Bielecka A, Gazdzik TS, Bielecki TM, Cieslik T. Why the platelet-rich gel has antimicrobial activity? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 103: 303-305.
198. Cieslik-Bielecka A, Bielecki T, Gazdzik TS, Arendt J, Król W, Szczepanski T. Autologous platelets and leukocytes can improve healing of infected high-energy soft tissue injury. *Transfus Apher Sci* 2009; 41: 9-12.
199. Sacco L. Lecture, International academy of implant prosthesis and osteoconnection. *Lecture* 2006; 12: 4.
200. Everts PA, van Zundert A, Schönberger JP, Devilee RJ, Knape JT. What do we use: platelet-rich plasma or platelet-leukocyte gel? *J Biomed Mater Res A* 2008; 85: 1135-1136.
201. Everts PA, Hoffmann J, Weibrich G, Mahoney CB, Schönberger JP, van Zundert A, Knape JT. Differences in platelet growth factor release and leucocyte kinetics during autologous platelet gel formation. *Transfus Med* 2006; 16: 363-368.
202. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol* 2009; 27: 158-167.
203. Sohn DS. Lecture titled with sinus and ridge augmentation with CGF and AFG, June 6, 2010, on CGF and AFG. Tokyo.

204. Mishra A, Harmon K, Woodall J, Vieira A. Sports medicine applications of platelet rich plasma. *Curr Pharm Biotechnol* 2012; 13: 1185-1195.
205. DeLong JM, Russell RP, Mazzocca AD. Platelet-rich plasma: the PAW classification system. *Arthroscopy* 2012; 28: 998-1009.
206. Choukroun J. Advanced PRF and i-PRF: Platelet concentrate or blood concentrate? *J Periodontal Med Clin Pract* 2014; 1: 3.
207. Mourão CF, Valiense H, Melo ER, Mourão NB, Maia MD. Obtention of injectable platelets rich-fibrin (i-PRF) and its polymerization with bone graft: technical note. *Rev Col Bras Cir* 2015; 42: 421-423.
208. Soloviev DA, Hazen SL, Szpak D, Bledzka KM, Ballantyne CM, Plow EF, et al. Dual role of the leukocyte integrin M 2 in angiogenesis. *J Immunol.* 2014; 193: 4712–4721.
209. Kawazoe T, Kim HH. Tissue augmentation by white blood cell-containing platelet-rich plasma. *Cell Transplant.* 2012; 21: 601–607.
210. Chenchev IL, Ivanova VV, Neychev DZ, Cholakova RB. Application of platelet-rich fibrin and injectable platelet- rich fibrin in combination of bone substitute material for alveolar ridge augmentation - case report. *Folia Medica* 2017; 59 (3): 362-366.
211. Wang X, Zhang Y, Choukroun J, Ghanaati S, Miron RJ. Effects of an injectable platelet-rich fibrin on osteoblast behavior and bone tissue formation in comparison to platelet-rich plasma. *Platelets* 2018; 29 (1): 48-55.
212. Wang X, Zhang Y, Choukroun J, Ghanaati S, Miron RJ. Behaviour of Gingival Fibroblasts on Titanium Implant Surfaces in Combination with either Injectable-PRF or PRP. *Int J Mol Sci* 2017; 18: 331.
213. Miron RJ et al. Injectable platelet rich fibrin (i-PRF): opportunities in regenerative dentistry?. *Clin Oral Investig* 2017; 21 (8): 2619-2627.
214. Kubesch A, Barbeck M, Al-Maawi S, Orłowska A, Booms PF, Sader RA, Miron RJ, Kirkpatrick CJ, Choukroun J, Ghanaati S. A low-speed centrifugation concept leads to cell accumulation and vascularization of solid platelet-rich fibrin: an experimental study in vivo, *Platelets* 2018; 6: 1-12.
215. Iasella JM et al. Ridge Preservation with Freezed-Dried Bone Allograft and a Collagen Membrane Compared to Extraction Alone for Implant Site Development: A Clinical and Histological Study in Humans. *J Periodontol* 2003; 74 (7): 990-999.
216. Wallace SC, Snyder MB, Prasad H. Postextraction Ridge Preservation and Augmentation with Mineralized Allograft With or Without Recombinant Human Platelet-Derived Growth Factor BB (rhPDGF-BB): A Consecutive Case Series. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2013; 33 (5): 599-609.

217. Wallace S. Histomorphometric and 3D Cone-Beam Computerized Tomographic Evaluation of Socket Preservation in Molar Extraction Sites Using Human Particulate Mineralized Cancellous Allograft Bone With a Porcine Collagen Xenograft: A Case Series. *J Oral Implantol* 2015; 41 (3): 291-297.
218. Beck TM, Mealey BL. Histologic Analysis of Healing After Tooth Extraction With Ridge Preservation Using Mineralized Human Bone Allograft. *J Periodontol* 2010; 81 (12): 1765-1772.
219. Thompson DM, Rohrer MD, Prasad HS. Comparison of Bone Grafting Materials in Human Extraction Sockets: Clinical, Histologic, and Histomorphometric Evaluations. *Implant Dentistry* 2006; 15 (1): 89-96.
220. Wang HL, Tsao YP. Histologic evaluation of socket augmentation with mineralized human allograft. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2008; 28 (3): 231-237.
221. Dohan DM, D.C.M. Cytotoxicity analyses of Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) on a wide range of human cells: The answer to a commercial controversy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 2003; 103 (5), 587-593.
222. McAllister B, Haghighati K. Bone augmentation techniques. *J Periodontol.* 2007; 78: 377-396.
223. Spray J, Black C, Morris H, et al. The influence of bone thickness on facial marginal bone response: stage I placement through stage 2 uncovering. *Ann Periodontol.* 2000; 5: 119-128.
224. Naeini EM, Dierens M, Atashkadeh M, De Bruyn H. Long-term clinical outcome of single implants inserted flaplessly or conventionally. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2018;20:829-837.
225. Branemark PI. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from 10 year period. *Scand J Plast Reconst Surg* 1977; 16: 1- 32.
226. Huang HM, Chiu C, Yeh C, Lee S: Factors Influencing the resonance Frequency of Dental Implants: *J Oral Maxillofac Surg* 2003; 61: 1184- 1188.
227. Lachmann S, Jager B, Axmann D, Gomez G, Groten M, Webber H. Resonance frequency analysis and damping capacity assessment Part I An in vitro study on measurement reliability and a method of comparison in the determination of primary dental implant stability. *Clin Oral Impl. Res.* 2006, 17: 75- 79.
228. Reva MB, Thomas WO, Meredith N, Cochran DL. Resonance Frequency Measurement of Implant Stability In Vivo on implants with a sandblasted and Acid etched Surface. *int. J Oral Maxillofac. Implant* 2003; 18: 641- 651.
229. Balshi TJ, Wolfinger GJ. Immediate loading of Branemark implants in edentulous mandibles: a preliminary report. *Implant Dentistry* 1997; 6: 83-88.

230. Albrektsson T, Berghlund T, Lindhe J. Osseointegration, Historic background and current concepts. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*, 4th edition, Blackwell, 2003, 809- 820.
231. Albrektsson T, Johannson C, Sennerby L. Biological aspects of implant dentistry: Osseointegration. *Periodontology 2000*. 2000; 2: 58-73.
232. Kierszenbaum AL. *Histology and Cell Biology*. Mosby, New York, 2006; 5:131-133.
233. Padma R. et al. A split mouth randomized controlled study to evaluate the adjunctive effect of platelet-rich fibrin to coronally advanced flap in Miller's class-I and II recession defects. *J Indian Soc Periodontol* 2013;17(5):631-636.

ÖZGEÇMİŞ

1991 yılında İzmir' de doğdum. İlk ve orta öğrenimimi İzmir Türk Koleji' nde gördükten sonra 60. Yıl Anadolu Lisesi' nde öğrenimime devam edip 2009 yılında mezun oldum. Aynı sene Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesinde lisans eğitimime başladım ve 2014 yılında mezun oldum. Aynı yıl Eylül ayında İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı' nda doktora programına katılmaya hak kazandım ve 2016-Eylül ayında yeterlilik sınavımı verdim.