

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

**( DOKTORA TEZİ )**

**PIEZOELEKTRİK CİHAZI VE CERRAHİ FREZLE  
OLUŞTURULAN KEMİK DEFEKTLERİNDE AMNİYON  
ZARI UYGULANMASI İLE KEMİK İYİLEŞMESİNİN  
HİSTOPATOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

**ŞEMSETTİN ENDER İLKER**

**DANIŞMAN  
PROF.DR. HÜLYA KOÇAK BERBEROĞLU**

**AĞIZ DIŞ ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI  
AĞIZ DIŞ ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ  
PROGRAMI**

**İSTANBUL-2016**

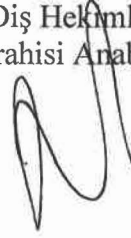
## DOKTORA TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Programında Doktora öğrencisi Şemsettin Ender İlker tarafından Prof. Dr. Hülya KOÇAK BERBEROĞLU'nun danışmanlığında hazırlanan "Piezoelektrik cihazı ve cerrahi frezle oluşturulan kemik defektlerinde amniyon zarı uygulanması ile kemik iyileşmesinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 19/08/2016 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

### Jüri Başkanı -Danışman

Prof. Dr. Hülya KOÇAK BERBEROĞLU

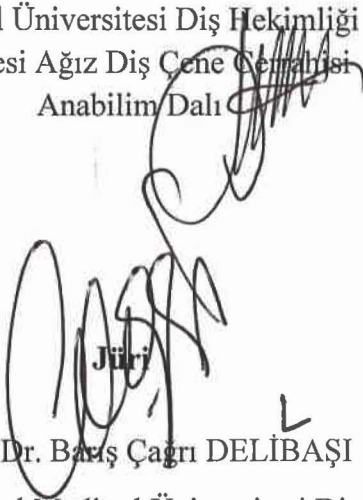
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi  
Ağız Diş Çene Cerrahisi Anabilim Dalı



### Jüri

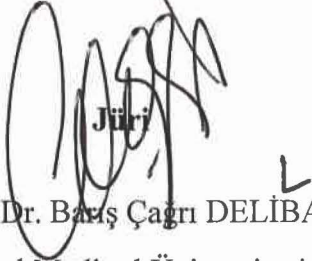
Prof. Dr. Banu GÜRKAN KÖSEOĞLU

İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği  
Fakültesi Ağız Diş Çene Cerrahisi  
Anabilim Dalı



Prof. Dr. Barış Çağrı DELİBAŞI

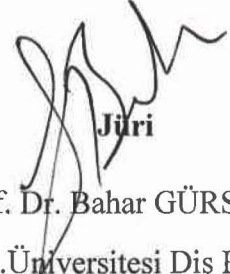
İstanbul Medipol Üniversitesi Diş  
Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene  
Cerrahisi Anabilim Dalı



### Jüri

Prof. Dr. Bahar GÜRSOY

Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği  
Fakültesi Ağız Diş Çene Cerrahisi  
Anabilim Dalı



Doç. Dr. Vakur OLGAÇ

İstanbul Üniversitesi Onkoloji  
Enstitüsü Tümör Patolojisi Bilim Dalı



**BEYAN**

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

Şemsettin Ender İLKER

## İTHAF

Aileme ithaf ediyorum

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca benimle ilgilenen, engin bilgisini benimle paylaşan, her konuda bana desteğini esirgemeyen, bilimsel merakı ve vizyonu beni etkileyen, bunun yanında ahlaki değerleriyle de bana yol gösteren çok sevgili ve saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Hülya Koçak Berberoğlu'na;

Doktora eğitimimde ikinci danışman hocam olarak gördüğüm, bana her konuda destek olan, bilgisi ve becerisiyle eğitimime katkı sağlayan, sevgili ve saygıdeğer hocam Prof. Dr. Banu Gürkan Köseoğlu'na;

Doktora eğitimimde yine desteklerini esirgemeyen saygıdeğer hocam Prof. Dr. Cengizhan Keskin'e;

Doktora eğitimim süresince yardımını ve bilgisini esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız ve saygıdeğer hocam Prof. Dr. Çetin Kasapoğlu'na;

İstanbul Üniversitesi. Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Anabilim Dalı'nda doktora bulgularının histopatolojik değerlendirmelerini titizlikle gerçekleştiren Doç. Dr. Vakur OLGAÇ'a ;

Tez çalışmamda özellikle materyal temini konusunda yardımını esirgemeyen Doç. Dr. Burak Çankaya ve Dr. Yüksel Erpardo'ya;

Hayatım boyunca hep yanımda olan ve beni destekleyen aileme; teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 50385

## İÇİNDEKİLER

<b>TEZ ONAYI</b> .....	<b>ii</b>
<b>BEYAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>İTHAF</b> .....	<b>iv</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>v</b>
<b>TABLolar LİSTESİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ</b> .....	<b>x</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>xii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xiii</b>
<b>1 GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2 GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1 Kemik dokusu</b> .....	<b>3</b>
2.1.1 Kemik dokusunun görevleri ve genel özellikleri.....	3
2.1.2 Kemik dokusunun yapısı .....	3
2.1.3 Kemiğin bileşenleri .....	4
2.1.4 Kemik tipleri .....	5
2.1.5 Kemik zarları.....	7
2.1.6 Kemik hücreleri.....	8
2.1.7 Kemik dokusu embriyogenezi.....	12
2.1.8 Kemik iyileşmesi.....	15
2.1.9 Kemik rejenerasyonu için membran tekniği uygulaması .....	22
2.1.10 Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu Mekanizması .....	23
<b>2.2 Rejeneratif bariyer membranlar:</b> .....	<b>24</b>
2.2.1 Biyolojik uyumluluk .....	26
2.2.2 Kavite Alanını Koruma .....	26
2.2.3 Geçirgenlik .....	26
2.2.4 Şekillendirilebilme: .....	27
2.2.5 Klinik Uygulanabilirlik: .....	27

<b>2.3</b>	<b>Rejeneratif bariyer membrane çeşitleri: .....</b>	<b>28</b>
2.3.1	Rezorbe Olmayan membranlar:.....	28
2.3.2	Rezorbe olabilen membranlar: .....	33
<b>2.4</b>	<b>Amnion Zar :.....</b>	<b>36</b>
2.4.1	Amnion Zar Membranın Histolojik Yapısı ve Yapısal Özellikleri .....	36
2.4.2	Amnion zarının biyokimyasal, immunolojik ve immunosupresif özellikleri.....	38
2.4.3	Amnion zarının etkileri .....	39
2.4.4	Amnion zarının hazırlanması ve saklanması .....	42
<b>2.5</b>	<b>Piezocerrahi.....</b>	<b>43</b>
2.5.1	Piezocerrahinin tarihçesi .....	44
2.5.2	Piezoelektrik etki tanımı.....	44
2.5.3	Piezocerrahi çalışma prensipleri.....	45
2.5.4	Piezocerrahi uçlar:.....	48
2.5.5	Piezocerrahi kullanım alanları:.....	53
2.5.6	Piezocerrahi uygulamanın avantajları: .....	53
2.5.7	Piezocerrahi uygulamanın dezavantajları:.....	55
<b>3</b>	<b>GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>56</b>
<b>3.1</b>	<b>Gereç.....</b>	<b>56</b>
<b>3.2</b>	<b>Yöntem.....</b>	<b>56</b>
3.2.1	Deney hayvanları ve grupları .....	56
3.2.2	Cerrahi uygulamalar .....	58
3.2.3	Işık mikroskopu takibi ve değerlendirme kriterleri .....	64
<b>4</b>	<b>BULGULAR.....</b>	<b>67</b>
<b>4.1</b>	<b>Işık mikroskobu değerlendirmeleri.....</b>	<b>67</b>
4.1.1	1. Grup: Amnion zar membran uygulanmayan gruplar.....	67
4.1.2	2.Grup Amnion zar membran uygulanan gruplar.....	71
<b>4.2</b>	<b>İstatistiksel bulgular .....</b>	<b>75</b>
<b>5</b>	<b>TARTIŞMA.....</b>	<b>88</b>
	<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>104</b>
	<b>ETİK KURUL KARARI.....</b>	<b>119</b>
	<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>120</b>

**TABLULAR LİSTESİ**

Tablo 3-1: Katı yem içeriği.....	57
Tablo 4-1: Piezocerrahi uygulanan grupta, gruplara ve günlere ilişkin istatistiksel değerlendirmeler .....	76
Tablo 4-2: Piezocerrahi uygulanan grupta, gruplara ve günlere ilişkin grafik değerlendirmeler .....	77
Tablo 4-3: Konvensiyonel cerrahi uygulanan grupta, gruplara ve günlere ilişkin istatistiksel değerlendirmeler .....	80
Tablo 4-4: Konvensiyonel cerrahi uygulanan grupta, gruplara ve günlere ilişkin grafik değerlendirmeler .....	81
Tablo 4-5: Amnion zar membran uygulanmayan grupta ; cerrahi yönetime ilişkin istatistiksel değerlendirmeler .....	83
Tablo 4-6: Amnion zar membran uygulanmayan grupta ; cerrahi yönetime ilişkin grafik değerlendirmeler .....	84
Tablo 4-7: Amnion zar membran uygulanan grupta; cerrahi yönetime ilişkin istatistiksel değerlendirmeler .....	85
Tablo 4-8: Amnion zar membran uygulanan grupta; cerrahi yönetime ilişkin grafik değerlendirmeler .....	86



## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Bariyer membranda seçici geçirgenlik.....	25
Şekil 2-2: Piezocerrahi cihazı .....	46
Şekil 2-3: Piezocerrahi uçlar .....	48
Şekil 2-4: SC uç .....	49
Şekil 2-5: SL1 uç .....	49
Şekil 2-6: SL2 uç .....	50
Şekil 2-7: SL3 uç .....	51
Şekil 2-8: SL4 uç .....	51
Şekil 3-1: Deneklerde cerrahi için hazırlanmış alan .....	59
Şekil 3-2: Fleksiyon pozisyonuna getirilen tibiada insizyon sınırlarının belirlenmesi..	60
Şekil 3-3: Cilt altı ve periost kesisi .....	60
Şekil 3-4: Serum irrigasyonu altında piyasemen ve çelik frez yardımıyla deneklerin sağ tibialarında kemik defekti açılması.....	61
Şekil 3-5: Serum irrigasyonu altında piezocerrahi alet yardımıyla deneklerin sol tibialarında kemik defekti açılması.....	62
Şekil 3-6: Tibiada 5mm uzunluğunda 3mm genişliğinde hazırlanan kemik defekti .....	62
Şekil 3-7: Amnion zar.....	63
Şekil 3-8: 2. gruptaki deneklerin tibialarında açılan defektlerin üzerinde amnion zar membran uygulaması.....	63
Şekil 3-9: Defekt bölgesinin kapatılması.....	64
Şekil 4-1: Defekt bölgesinde, fibröz doku içinde yeni kemik trabekülleri ( H&E X 100) .....	68
Şekil 4-2: Defekti köprü biçiminde kapatan kortikal kemik dokusu (H&EX100).....	69
Şekil 4-3: Defekt bölgesini dolduran fibröz doku ve içinde ince yeni kemik trabekülleri (H&E X100) .....	70
Şekil 4-4: Defekti köprü biçiminde kapatan kortikal kemik dokusu (H&E X100) .....	71
Şekil 4-5: Defekt duvarlarından başlayan ince kemik tabekülleri ( H&E X100) .....	72
Şekil 4-6: Defekti dolduran fibröz dokuda miksomatöz dejenerasyon ve altında ince kemik trabekülleri. ....	73
Şekil 4-7 : Defekti kapatan ince kortikal kemik dokusu (H&E X100).....	74
Şekil 4-8: Defekt bölgesinde ince, düzensiz kortikal kemik yapımı (H&E X100) .....	75

**SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ**

BGP: Kemik gla proteini, osteokalsin

EGF: Epidermal büyüme faktörü

KGF: Keratinosit büyüme faktörü

HGF: Hepatosit büyüme faktörü

TGF: Değiştirici büyüme faktörü

FGF: Fibroblast büyüme faktörü

BMP: Kemik yapıcı proteinler

IL-1: İnterleukin-1

TNF: Tümör nekrozis faktörü

VEGF: Venöz endotelial büyüme faktörü

Ca: Kalsiyum

PO<sub>4</sub>: Fosfat

CAMP: Siklik adenzin monofosfat

ATP: Adenzin trifosfat

YKR: Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu

PTFE: Politetrafloroetilen

E-PTFE: Genişletilmiş politetrafloroetilen

D-PTFE : Yüksek yoğunluklu, dens politetrafloroetilen

Ti-6AL-4V: Titanyum 6-alüminyum 4-vanadyum

MCP-1: Monosit kemoaktan protein

IL: İnterlökin

PTH.: Parathormon

HIV: Human immunodeficiency virus, İnsan bağışıklık yetmezlik virüsü

kGy: Kilogray

TIMP 1,2,3,4: Anjiyogenezi baskılayıcı doku metalloproteinaz inhibitörü 1, 2, 3, 4

W: Vat

$\mu$  : Mikron

kHz: Kiloherz

mm: Milimetre

mg: Miligram

kg: Kilogram

HCl: Hidroklorür

H&E: Hematoksilen eosin

MMPs: Matriks metalloproteinaz inhibitörleri

## ÖZET

Ilker S.E., A.B. (2016). Piezoelektrik cihazı ve cerrahi frezle oluşturulan kemik defektlerinde amniyon zarı uygulanması ile kemik iyileşmesinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız Diş Çene Cerrahisi ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Amnion zarı membran; epitelizasyonu hızlandırmak, yara yüzeyinden protein ve sıvı kaybını önlemek, kollajen sentezine katkıda bulunmak, skar formasyonunu, ağrı ve enflamasyonu azaltmak gibi etkilere sahip, antibakteriyel ve non-immünolojik etkiye sahip özellikte, kolay ve çabuk elde edilebilen ve değeri giderek artan biyolojik bir örtüdür.

Piezocerrahi; oral cerrahi ve implantolojide kullanılan, ultrasonik mikro hareketlerin komşu yumuşak dokulara hasar vermediği ve daha hassas ve güvenli kemik kesim yapılabilecek özellikte olan bir tekniktir.

Çalışmamızda; piezocerrahi alet ve konvansiyonel rotary frezlerle oluşturduğumuz defekt bölgesinin iltihap, nekroz, fibröz doku oluşumu, iyileşme skoru, yeni kemik yapımı ve yabancı cisim reaksiyonu parametrelerine göre karşılaştırmayı amaçladık. Ayrıca piezocerrahi ve amnion zarı membranı kombine kullandığımız gruplardaki parametrelerde artan/azalan istatistiksel değişikliği göstermeyi hedefledik.

Çalışmamızda 40 adet Sprague Dawley cinsi sıçanının sağ ve sol tibiaları toplamda 80 tibia olmak üzere deney protokolüne dahil edilmiştir. Araştırmamız 2 ana grup ve 7. ve 21. günlerde sakrifikasyon dönemlerine göre düzenlenmiş 4 alt grup içermektedir. Parametrelerin iki grup arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U testi kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Fisher's Exact Ki-Kare testi kullanıldı. Anlamlılık  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirildi.

Araştırmamızın sonucunda; amnion zarı uygulanmayan piezocerrahi alet kullanılan grup ile konvansiyonel cerrahi yöntemin kullanıldığı grup arasında iltihap, nekroz, fibröz doku oluşumu, iyileşme skoru, yeni kemik yapımı ve yabancı cisim reaksiyonu parametrelerine göre erken ve geç dönemde istatistiksel açıdan bir fark bulamadık. Amnion zarının kemik defektinin içine bağ dokusu hücrelerinin geçişini engelleyecek şekilde bariyer görevini yerine getirdiğini ve fibrözisi engellediğini söyleyebiliriz. Fakat bu bariyer etkisinin çalışmada kemik oluşumunu olumsuz yönde etkilediğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler : Piezocerrahi, Amnion zarı, Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu, Kemik iyileşmesi, Bariyer membran

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 50385

## ABSTRACT

Ilker S.E.(2016) Histopathological assessment of bone healing by use of amniotic membrane in osteotomy defects prepared with piezoelectric device and surgical bur. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız Diş Çene Cerrahisi ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Amnion membrane is a valuable biological barrier which is obtained rapidly and easily. Some of its functions are accelerating epithelialization, preventing protein and fluid loss from the wound surface, antibacterial and non-immunological effect, increasing collagen synthesis, decreasing inflammation and pain.

Piezosurgery is a sensitive surgical technique which uses ultrasonic micro motions for oral maxillofacial surgery, so it allows secure cutting.

Our aim in this research is comparing piezosurgery to conventional rotary instrument, burs using surgery technique with the parameters of inflammation, necrosis and fibrotic tissue formation in defective zone, recovery score, new bone formation and foreign body reaction. We also aimed to show the differences of parameters in between the groups whom we used piezosurgery and guided tissue regeneration combined amnion membrane techniques.

40 right and 40 left, totally 80 tibias of Sprague Dawley rats were attended to our study. There are 2 main groups and 4 subgroups which were arranged by the sacrifice periods on 7th and 21h days.

Mann Whitney U analysis was used for comparison of the parameters in between the main groups. Fisher's Exact Chi-square test was used to evaluate qualitative values.  $p < 0,05$  was evaluated as statistically significant.

We did not find a statistically significant difference in between piezosurgery group and conventional surgery group in terms of early and late periods of inflammation, necrosis, fibrotic tissue formation, recovery score, new bone formation. We can define amnion membrane as a barrier which inhibits the passage of connective tissue cells into the defective bone tissue. But we think that this barrier effected new bone formation negatively.

Key Words: Piezosurgery, Amnion membrane, Guided bone regeneration, Bone healing, Barrier membrane

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No.50585

## 1 GİRİŞ VE AMAÇ

Kaybolan doku bütünlüğünün tekrar kazanılmasında; minimal zararlı cerrahi uygulamanın gerçekleştirilmesi ve kemik rejenerasyonunun hızlandırılması ile birlikte doğal kemiğe benzer yeni kemik oluşumunun sağlanması hedeflenmektedir. Günümüzde yeni teknolojilerin gelişmesiyle, minimal hasar ile konservatif cerrahi uygulamalar gerçekleştirmek ve oluşan kemik defektlerinin başarılı bir şekilde onarılmasını sağlamak için yeni tedavi yöntemleri geliştirilmiştir (Sikavitsas VI, 2001; Jee WSS, 2001).

Atravmatik cerrahi girişimler, doku hasarının ve postoperatif semptomların minimumda tutulmasını sağlayan yeni bir tekniktir. Günümüzde, tıbbi gelişmelerin ışığında travmatik cerrahinin önem kazanmasıyla, ultrasonik hareketlerin, titreşimlerin çevre yumuşak dokulara olağan bir hasar vermediği sonucundan yola çıkılarak, osteotomiler için ultrasonik dalgaların kullanımı oral ve maksillofasial cerrahide önem kazanmıştır (Van der Weijden , 2005).

Piezocerrahi, piezoelektrik ultrasonik mikro hareketler kullanarak güvenli ve etkili kemik kesileri yapılmasını sağlayan yeni bir tekniktir. Mikrometrik ve selektif osteotomiler yapılarak; piezoelektrik cihazı ile osteonekrotik hasarlar vermeden güvenli ve hassas kemik kesileri yapılabilmektedir. Cihaz, çevre yumuşak dokulara hasar vermeden, sadece mineralize dokular üzerinde çalışır (Schaeren S, 2008).

Eksiksiz kemik rejenerasyonunu sağlamak, kemik defektlerin ogmentasyonunun kolaylaştırılması, kemik greftleme sonuçlarını iyileştirmek için kullanılan materyallerden biri de bariyer membranlardır. Bağ dokusunun oluşan boşluğa hareketini engellemek ve defekt bölgesindeki rejeneratif hücrelerin tekrar artışı teşvik etmek için flep ile defekt arasında fiziksel bir bariyer olarak konumlandırılan ve böylece planlanan kemiksel iyileşmeyi sağlayan biomateryallere bariyer membran denir. Amnion zarı bünyesinde epidermal büyüme faktörü (EGF), keratinosit büyüme faktörü (KGF), hepatosit büyüme faktörü (HGF), değiştirici büyüme faktörü (TGF) gibi bir çok büyüme faktörünü, steroid hormonlarını (östrojen,

progesteron), hidrolitik enzimleri, oksidasyon-redüksiyon enzimlerini, sekonder enzimleri ve daha bir çok faktörü bulunduran bir “canlı enzim müzesi” olarak nitelendirilmektedir (Sippel KC, 2001; Sankar V, 2003).

Amnion membran; adhezyon oluşumunu azaltmak, yara yüzeyinden protein ve sıvı kaybını önlemek, antibakteriyel ve non-immünolojik etkiye sahip olmak, epitelizasyonu hızlandırmak, fibroblastik aktiviteyi artırarak kollajen sentezine katkıda bulunmak, anjiyogenezisi, skar formasyonunu, ağrı ve enflamasyonu azaltmak, gibi etkilere sahip, kolay ve çabuk elde edilebilen ve değeri giderek artan bir biyolojik örtüdür (Chuck RS, 2004; Colucho G , 1974; Çetinkale O, 2001).

Amnion membranın etki mekanizmaları; epitelizasyon için uygun yeni bir substrat olarak görev yapması, epitelyal hücre göçünü hızlandırması, bazal epitelyal hücrelerin yapışmasını pekiştirmesi, epitelyal farklılaşmayı teşvik etmesi, epitelyal apoptosisi önlemesi, doku metalloproteaz inhibitörleri salgılayıp doku tahribatını engellemesi, kollajen sentezine katkıda bulunması ve yapısında bulunan bir çok büyüme faktörü ve bazı enzimler sayesinde yara iyileşmesini hızlandırması olarak sıralanabilir ( Kesting MR, 2014; Amemiya T, 2015).

Çalışmamızda piezocerrahi ve döner alet cerrahi frez yöntemleri kullanılarak oluşturulmuş kemik defektlerinde, amnion membranının kemik dokusu üzerine etkisini histopatolojik olarak incelemeyi amaçladık.

## 2 GENEL BİLGİLER

### 2.1 Kemik dokusu

Kemik doku ; vücudun yapısal olarak kendini tamir edebilen, kütle, şekil ve yapısal özelliklerini mekanik gereksinimler doğrultusunda ayarlayabilen bir dokusudur ve bu özellikleri operasyonun başarısında önemli yer tutar.

#### 2.1.1 Kemik dokusunun görevleri ve genel özellikleri

Kemik doku, vücudun iskelet yapısını oluşturarak dokulara destek olan ve yüzeyine tutunan kaslarla hareketliliğini sağlayan, beyin, omurilik ve iç organları koruyan özelleşmiş bir bağ dokusudur. Ayrıca kan hücrelerinin yapımını sağlayan kemik iliği ile vücuttaki birçok süreç için gerekli olan kalsiyum, fosfor, sodyum, magnezyumu depolayan bir dokudur.. Yaşam süresince istemli fiziksel aktivitelere direnç ve destek sağlayan bir sistemin temel ögesidir (Jee WSS, 2001).

#### 2.1.2 Kemik dokusunun yapısı

Kemik; kemik hücrelerinden, içerisinde kollajen adı verilen ve yumuşak bir çatı sağlayan proteinlerin bulunduğu ana maddeden ve bu çatıya güç vererek sağlamlaştıran ana yapısı hidroksiapatit  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  kristalleri olan kemik minerallerinden oluşmaktadır. Kemik bileşimi anatomik bölge, yaş, beslenme alışkanlıkları ve hastalık varlığına bağlı olarak farklılıklar göstermekle birlikte genel olarak, % 67 inorganik matriks ve % 33 organik matriks oluşturur (Sikavitsas VI, 2001; Jee WSS, 2001).



### 2.1.3 Kemiğin bileşenleri

İnorganik matriks ve organik matriks kemiğin bileşenlerini oluşturur.

#### I. İnorganik matriks

#### II. Organik matriks

- a) Kollajen
- b) Esas (Ana) madde

#### 2.1.3.1 İnorganik matriks

Kemiğin en önemli inorganik bileşeni  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  hidroksiapatittir. Apatit kristalleri plak biçiminde, 20 - 80 nm uzunluğunda, 2 - 5 nm kalınlığında küçük kristallerdir. Vücuttaki kalsiyumun %99'u, magnezyumun bir miktarı, sodyumun dörtte biri, potasyumun az bir miktarı kemik içinde bulunur. Kemiğin mineral kısmı bunlara ek olarak, sitrat, hidroksil, florür anyonlarını da kapsar. Yaşlanma ile birlikte kalsiyum ve karbonat oranı artar, fosfat ve magnezyum oranı ise azalır (Cowin, 2001; Cruess RL, 1984). İnorganik madde kemik matriksinin kuru ağırlığının yarısını oluşturur (Skivatsis VI, 2001).

#### 2.1.3.2 Organik matriks

Kemiğin yapısal, biyokimyasal ve mekanik özelliklerini belirleyen kemik organik matriksi, kollajen ve kollajen lifler arasında bulunan esas maddeden oluşur. Kemik organik matriksinin yaklaşık % 90'ını Tip I kollajen, geriye kalanını kollajen dışındaki diğer matriks proteinleri, minör kollajen tipleri, lipitler ve diğer makroproteinler oluşturur (Söderhall C, 2007).

Kollajen; dokularda mekanik stabiliteyi sağlayan bir proteindir. İnsan vücudunda 20 çeşit kollajen molekülü saptanmıştır. Vücutta en fazla bulunan, yüksek bir gerilme direncine sahip Tip I kollajen, deri ve kemiğin başlıca kollajenidir. Bu kollajen osteoblast, odontoblast ve fibroblastlar tarafından sentezlenir. Dayanıklı, lif şeklindeki yapısal proteindir. Tendon ve deride de bulunur ancak kemikteki tip I kollajenin

yoğunluğu ve mekanik gücü daha fazla, çözünürlüğü daha düşüktür (Luiz Carlos J, 2006).

Tip I kollajen dermis, kemik, diş, tendon, ligament, fibröz kıkırdak ve organ kapsüllerinde bulunur. Yerine göre iplikler halinde veya demetler teşkil etmiş olabilir. Her iplik farklı sayıda iplikcikten oluşur, iplikler de birleşerek demetler yaparlar. Tip I kollajen iplik demetleri 1-20 mikron çapında olabilir, uzunlukları ise farklıdır. Demetler birbirleriyle anastomozlaşabilir, enine bantlaşma gösterirler (Jungueria LC, 2003).

Kollagen liflerin arasını dolduran maddeye esas madde denir. Esas madde daha çok osteosit boşlukları ve kanalcıklar çevresinde bulunmaktadır. Kimyasal yapısını protein-karbonhidrat bileşimi olan moleküller oluşturmaktadır. Amorf yapıdaki esas madde, glikozaminoglikanlar ve glikoproteinlerden oluşur. Matrikse ait nonkollajenöz kısımda serumdan geçiş gösteren albümin, karboksiglutamik asit içeren kemik gla proteini (BGP), glikoprotein yapıda olan osteonektin, bir fosfoprotein olan osteopontin, sialoproteinler, trombospondin bulunmaktadır. Bunların bir kısmı kalsiyuma sıkıca bağlanırlar ve kemik matriksinin kalsifikasyonundan sorumludurlar. Kondroitin-4 sülfat, kondroitin-6 sülfat ve keratan sülfat kemik dokuya ait glikozaminoglikanlardır (Hollick MF, 1998; Di Lullo GA,2002; Jee WSS, 2001).

#### **2.1.4 Kemik tipleri**

Kemik; makroskopik olarak kortikal ve trabeküler, mikroskopik olarak primer ve sekonder kemik olarak değerlendirilir.

##### **2.1.4.1 Kortikal kemik**

Tipik bir erişkin uzun kemiği, diafiz adı verilen silindirik yapının uçlara doğru kalınlaşarak metafiz adını alarak epifizle birleşmesiyle sonlanır. Diafiz büyük oranda kortikal kemikten oluşur (Recker RR, 1992). Kortikal kemik, mikroskopik boyutta kanalcıklar içerir ve erişkin bir birey iskeletinin yaklaşık %80'ini oluşturur. Görevi kemiklerin dış yüzeyini örterek destek ve koruyuculuk sağlamaktır (Nandi SK,

2010). Uzun kemiklerin sadece dış yüzeylerini örterken, yassı kemiklerin hem iç hem dış yüzeylerini kaplar. Hallkalar biçiminde, kemiğin uzun eksenine boyunca Havers kanallarının etrafında konumlanmış olan lamel adı verilen mikroskopik matriks tabakaları içerir. Kanallar ve onu çevreleyen bu lamellerin bütününe Havers sistemi ya da osteon adı verilir. Volkmann kanalları ise kemiğin yüzeyine dik olarak uzanan kanallar sistemidir ve iç ve dış yüzey arasında bağlantıdan sorumludurlar (Martin RB ve Burr DB; 1989, 1998).

#### **2.1.4.2 Kansellöz kemik**

Hacimsel olarak vücudun %20'sini oluşturan, spongiöz veya süngersi kemik olarak da adlandırılan kansellöz kemik, yassı kemiklerin kortikal tabakaları arasında ve uzun kemiklerin metafizinde bulunur. Makroskopik olarak gözlenebilen, trabekül adı verilen iğnemsiz plak ve gözeneklerden oluşan kansellöz kemikte osteon bulunmaz. Trabeküllerin arası kan ve kemik iliğiyle doludur. Kan damarları kansellöz kemiğin medüller kemik kavitesindeki kemik iliğine besin taşırlar (Gartner ve Hiatt, 2001; Junqueira ve Carneiro, 2003; Jee WSS, 2001).

#### **2.1.4.3 Primer kemik**

Primer kemik, geçici olarak iyileşme ve embriyolojik gelişim sürecinde ilk ortaya çıkan ve embriyonun iskeletini oluşturan kemik tipidir. Yetişkinlerde, kafadaki yassı kemik eklemleri, dış alveolleri ve tendonların kemiğe tutunduğu yerlerde bulunurlar (Gartner ve Hiatt, 2001; Junqueira ve Carneiro, 2003).

Endokondral ve intramembranöz kemikleşme ile oluşan kansellöz woven kemik, kaba kollojen fibril ağ yapısında düzensiz osteositler içeren zayıf organize ve lameller kemiğe oranla daha kısa ömürlü bir kemiktir. Bu tip kemik gelişmekte olan embriyonun tüm kemik dokusunu oluşturur (Jee WSS, 2001).

#### 2.1.4.4 Sekonder kemik

Lameller kemik dokusu özellikle yetişkinlerde bulunur. Her bir tabakası 3-7 µm kalınlığında birbirine paralel veya vasküler bir yapı etrafında dairesel olarak yerleşmiş lameller şeklindedir (Gartner ve Hiatt, 2001; Junqueira ve Carneiro, 2003). Sınırları, gevşek bağ dokusunu ve kan damarlarını içeren bir kanal etrafını saran, dairesel lamellerin meydana getirdiği bütünlüğe havers sistemi yada osteon denir. Osteositleri içeren lakünalar, lamellerin arasında ve seyrek olarak da içinde bulunur (Gartner ve Hiatt, 2001; Jee WSS, 2001).

#### 2.1.5 Kemik zarları

Kemiğin iç ve dış yüzeyleri, periost ve endosteum şeklinde adlandırılan, tabakalar halinde, kemik yapan hücreler ve bağ dokusu ile örtülüdür (Luiz Carlos J, 2006).

##### 2.1.5.1 Periostium

Kemiğin dış yüzeyini saran bağ dokusu tabakasıdır. Bir tek eklem yüzeylerinde bulunmaz. İç tabaka (stratum cambium) ve dış tabaka (stratum fibrosum) olarak kesin bir sınırı olmayan iki tabakadan meydana gelir. Yoğun bir bağ dokusundan oluşan dış tabaka kollajen ve fibroblastlardan oluşur. Kollajen liflerden oluşan sharpey lifleri demetler halinde matriks içine girerek periostu kemiğe bağlar (Cankaya AB, 2006). Stratum cambium ; osteoblastları oluşturabilme potansiyeline sahip olan yassı hücrelerden oluşur. Bu katmanda mezenkimal ve osteojenik ön hücreler, osteoblastlar, fibroblastlar, kılcac damarlar ve sempatik sinirler bulunur (Lian J,1999).

### 2.1.5.2 Endostium

Endostium, kemik iliği ile kemik yüzey arasındaki sınırı teşkil eder. Tek katlı yassı osteoprogenitör hücreler ile çok az miktarda bağ dokusundan oluşur. Endosteum kemik içindeki bütün boşlukları astarlar ve periosttan daha incedir. Osteojenik özelliği yanısıra hemopoetik potansiyeli de vardır. Endostium büyüme süresince aktiftir (Cowin SC, 2001; Boyne PJ, 1984).

Periost ve endostun temel işlevleri; kemik dokunun beslenebilmesi, büyüebilmesi ve onarımı için gerekli olan yeni osteoblastları sağlamaktır (Lian J,1999).

### 2.1.6 Kemik hücreleri

Kemik hücreleri osteoprogenitör hücreler, osteoblastlar, osteositler, osteokastlar şeklinde sınıflandırılırlar.

#### 2.1.6.1 Osteoprogenitör hücreler

Mezenkim kaynaklı olan osteoprogenitör hücreler; mitoz bölünerek, olgun kemik hücrelerine farklılaşma kapasitesine sahiptirler. Periostun iç yüzeyinde, endosta ve kompakt kemiğin vasküler kanallarında bulunur. Endoplazmik retikulum ve az gelişmiş golgi cisimciği ile tanınan osteoprogenitör hücreler preosteoblastlardır. Bu hücrelerden osteoblastlar gelişir (Bloom W, 1975; Gartner LP, 2001).

Mitokondri ve serbest ribozomları ile tanınan osteoprogenitör hücreler ise osteoklastlara öncülük eder. Özelleşmiş kemik hücreleri kemiğin oluşumundan, rezorbsiyonundan ve kemik yapısının devamlılığını sağlamaktan sorumludur. Osteoprogenitör hücreler tüm yaşam boyunca kondroblast, osteoblast ve osteoklastlara farklılaşma potansiyellerini korurlar (Gartner LP, 2001; Cankaya AB, 2006).

### 2.1.6.2 Osteoblastlar

Osteoblastlar mezenkimal kök hücrelerden farklılaşmışlardır. Kararlı osteoprogenitör hücrelerden ve indüklenebilen osteoprogenitör hücrelerden olmak üzere iki farklı yol ile oluşurlar. Organik matriksin sentezlenmesinde ve mineralizasyonunda önemli rol oynayan osteoblastlar, yeni kemik oluşturma yeteneğine sahip hücrelerdir. Salgıladıkları sitokinler, büyüme faktörleri ve hormonların işlev görmesinden sorumludur. Direkt veya indirekt uyarılmalarıyla remodeling meydana gelir (Cowin SC, 2001).

Kararlı hücreler embriyojenik dönemde hücre yoğunlaşmasından ve kemik yapımından sorumlu iken, remodeling safhasında veya kırık iyileşmesinde çözünebilen morfojenlere neden olan indüklenebilen osteoprogenitör hücreler görülür (Borovecki F, 2007; Gartner LP, 2001; Junqueira LC, 2003).

Osteoblastlar mineralize olmayan kemik matriksi oluşturmak için kollajen sentezler ve salgırlar, ardından da kalsifikasyonun gerçekleşmesi için gerekli olan kalsiyum ve fosfat iyonlarının kemik içine ve dışına salınımını düzenlerler. Cerrahi müdahale veya travma sonrasında kemik yaralandığında lokalize hücreler embriyojenik safhaları taklit ederek kemiğin formunu ve fonksiyonunu korumaya çalışırlar . Büyük bir çekirdek, hücresel uzantılar, hücreler arası bağlantılar, sık endoplazmik retikulum, gelişmiş golgi apareyi ve içleri kollajenle dolu salgı kesecikleri içerirler (Sikavitsas VI, 2001; Jee WSS, 2001) .

Elektron mikroskobunda incelendiğinde osteoblastların çok sayıda serbest ribozom ve poliribozomları ile girintili çıkıntılı endoplazmik retikulumları olduğu görülür. Golgi bölgesi gelişmiştir ve mitokondriler çok sayıdadır. Geniş ovoid çekirdek dış merkezli olarak yerleşmiştir. Hücre yüzeyinde az miktarda kısa, mikrovillusları olan metabolik olarak aktif salgılayıcı hücrelerdir. Osteoblastlar %90 oranında Tip I ve az miktarda Tip V kollajen salgılamalarının yanı sıra kemik mineralizasyonu için önemli olan, kollajen yapıda olmayan proteinler ve sitokinler de salgırlar (Junqueira LC, 2003; Martin RB, 1989).

Sitokinlerin çeşitliliği ve sayısı osteoblast ve osteojenik prekürsör hücrelerin fizyolojik durumlarına göre değişiklik gösterir. Kemik oluşumundan ziyade yıkımının istenildiği durumlarda osteoblastlar; lenfokinler ve prostoglandinler tarafından osteoklastların aktivitesini arttırmak amacıyla uyarılabilirler. Kemik hücreleri ve prekürsörlerinin artışı büyüme faktörleri ile etkileşimleri ile yakından ilişkilidir. Osteoblastların aktif yaşam ömrü azami on haftadır; bu süre içerisinde matriks oluşumunu takip eden süreçte kalsifikasyon aşamasında kalsifiye matriks içine gömülerek osteositlere dönüşürler (Deng HW, 2005).

### 2.1.6.3 Osteositler

Osteositler, osteoblastlar tarafından sentezlenen ve matriks lammeleri arasında bulunan lakünler içinde yer alan olgun kemik hücreleridir. Her lakünada sadece bir osteosit vardır. Dönüşen osteoblast sayısı oluşum hızına bağlı olduğu için oluşum hızı arttıkça bölge içinde kalan osteosit sayısı da artar. Osteoidler kalsifikasyona uğrayarak hidroksiapatit kristallerini oluştururken, bazı osteoblastlar kemik içinde kalarak osteosite dönüşür (Deng HW, 2005 : Garg AK, 2004).

Osteoblast tamamen ekstrasellüler matriks ile çevrildiğinde Osteosit meydana gelir. Osteositler ekstrasellüler matriks bakımından sorumludur. Matriksin salgılanması ve yıkılmasını sağlar. Osteositler matriksin mekanik duyarlılığında rol oynar. Osteosit lakuna olarak adlandırılan ekstrasellüler matriks içindeki boşluklarda bulunur. Osteositlerin kanalikuli/kanalçık denilen küçük tüneller içine uzantıları vardır. Tüm kemik hücrelerinin yaklaşık olarak %95' ini oluşturan osteositler, metabolik açıdan osteoblastlara oranla inaktif hücrelerdir. Osteosite dönüşen osteoblastların sayısı kemik oluşum hızına bağlıdır. Oluşum hızı arttıkça bölge hacmi içinde kalan osteosit sayısı da artar. 1 mm<sup>3</sup> kemik dokusunda ortalama olarak yirmibin ile otuzbin arasında osteosit bulunmaktadır. Oluşumlarının ardından osteositler yavaş yavaş matriks üretme yeteneklerini kaybederler ve boyut olarak küçülürler. Zaman içinde çevrelerindeki matriksi rezorbe ederek osteositik lakünleri oluştururlar.. Osteositler osteoblastlarla kıyaslandığında yassı elips şeklindedir. Küçük çekirdekleri ve az sayıda mitokondrili

seyrek sitoplazmaları vardır ve golgi kompleksleri ve endoplazmik retikulumları dikkati çekecek kadar küçülmüştür. Çekirdek kromatinleri daha yoğundur. Sitoplazmaları bazofiliktir. Bu hücreler kemik matriksinin devamlılığında aktif rol alırlar (Cankaya AB, 2006; Deng HW, 2005).

Kanaliküller içerisine verdiği sitoplazmik uzantılar ve bu uzantılar arasındaki gap bağlantıları sayesinde moleküller hücreden hücreye aktarılır. Molekül alışverişi ve dolayısıyla kemiğin canlılığı osteositik sitoplazmik işlemler bütünlüğü içinde sağlanmış olur. Bu yapı, osteositlerin boşluklar sayesinde birbirleriyle ilişkili olmalarını, osteoblastlara sinyal iletimini ve osteoblastlardan da osteositlere iletimini sağlar. Osteositlerin yaşam ömrü birkaç yıl olup bu süre kemiğin turnover hızına bağlı olarak değişir. Osteositler, remodelingi sağlayacak olan fiziksel etkileri kimyasal sinyallere çevirirler. Etken kuvvetlerin büyüklüklerine ve dağılımlarına en duyarlı olacak şekilde konumlanmışlardır. Kemik rezorpsiyonu sırasında osteoklastlar yardımıyla kemik matriksinden serbestlenirler. Osteositlerin, kemik içinde kalsiyum akışını kontrol ederek kemiğin mineral direncini sağlamak, hasarları tespit etmek, hücrelerarası ilişkiyi sağlayarak bükülme kuvvetlerine göre kemiğin remodelingini düzenlemek gibi görevleri vardır Turnover hızı düşük olan bölgelerde osteositlerin yarılanma ömürleri 20-30 senelere kadar ulaşabilmektedir. Yaşlanma, östrojen kaybı, kuvvete maruz kalma ve kronik glukokortikoid uygulanması osteosit ölümünü artırır. Osteositler son üründür ve yenilenemezler. Popülasyonun devamı osteoblastik prekürsor hücrelerinin differansiasyonu sonucu olur (Cankaya AB, 2006; Deng HW, 2005).

#### **2.1.6.4 Osteoklastlar**

Kemik erimesinden sorumlu çok çekirdekli hücrelerdir. Bu hücreler Howship lakünası adlı kemik yüzeyi üzerindeki sığ bölgelerde bulunurlar. Monosit-makrofaj progenitör hücrelerden elde edilirler. Osteoklastlarda fazla sayıda lizozom görülür. Protonları ve lizozomal hidrolazları ekstraselüler matrikse serbest bırakarak kemik dokusunun erimesinde rol alırlar. Füzyonlar sonucu monositlerden osteoklast olarak bilinen 100µm'luk çapa kadar ulaşabilen ve yaklaşık 10-12 çekirdek ihtiva eden dev hücrelere dönüşürler. Kemik yüzeylerinde, hormonal ve hücrel mekazinmaların



kontrolünde kemik rezorpsiyonunda aktif rol oynarlar. Osteoklastların sitoplazmalarında çok sayıda zarsız ribozom ve lizozom vardır. Sitoplazmik uzantıları oldukça düzensizdir. Sınırları kıvrımlıdır ve kalsitonin reseptörleri ihdiva eder, asit fosfataz üretirler (Recker RR, 1992; Bloom W, 1975; Junqueira LC, 2007).

Osteoklastlar genelde kemik rezorpsiyonunun başladığı bölgelerde Howship lakünleri adı verilen rezorpsiyon kaviteleri içinde bulunurlar ve kemik matriksine etki eden kollajenaz, proteolitik ve hidrofilik enzimleri salgırlar. Trabeküllerin yüzeyinde ya da kompakt kısımların iç yüzlerinde yerleşen bu hücrelerin fonksiyonu; salgıladıkları enzimlerle kemiğin organik, inorganik matriksini ve kalsifiye kartilajı çözmektir. Böylece kalsifiye olmuş temel maddeyi serbest hale getirirler ve bu süreç sonunda Howship lakünaları oluşur. Protonlar dalgalı kenardan taşınarak Howship lakünadaki pH değerini düşük hale getirilir. Oluşan asidik ortamda kemiğin mineral kompozisyonu kalsiyum iyonlarına, çözünür inorganik fosfatlara ve suya yıkılır. Saydam bölgede adhezyon molekülleri bulunur. Bu bölge Howship lakünanın asidik ortamı diğer kemik dokusunun bölgelerine yayılmasını önler. Kemik erimesi tamamlandıktan sonra, osteoklastlar apoptoza (hücre ölümü) uğrarlar. Kemik rezorpsiyonu sırasında ortaya çıkan artıkların da ortadan kaldırılmasında aktif olarak rol oynarlar. Aktif veya pasif durumda bulunabilirler (Bilezikian J, 2008; Currey JD, 2002; Deng HW, 2005).

### **2.1.7 Kemik dokusu embriyogenezi**

Kemik dokusu embriyogenezi ve bunu takiben gelişimi intramembranöz kemikleşme ve endokondral kemikleşme olmak üzere iki yolla gerçekleşir.

#### **2.1.7.1 İnamembranöz kemikleşme**

İnamembranöz kemikleşme kıkırdak bir model olmadan kemik oluşumdur. Mezenkim membranın damarlanmasındaki artışı takiben jel yapıdaki kısa kollajen fibrillerin salgılanması ve bu fibrillerin kemik matriksi içinde gelişigüzel dağılması

şeklinde meydana gelir. Fibroblast hücreleri tarafından salgılanan kollajen fibriller membran şeklinde bağ doku alanları meydana getirir. Aynı zaman diliminde mezenkimal hücrelerde hipertrofiye uğrarlar ve kemik hücrelerinin ana hücresi olan osteojenik ve osteoprogenitör hücrelerine dönüşürler. Bu hücrelerde farklılaşarak osteoblastları oluştururlar. Osteoblastların kollajen fibril sentezine katılması ile kollajen fibriller uzar , kalınlaşır ve trabekülayı oluşturur. Yeni kemik matriksinin oluşmasını kalsifikasyon takip eder, bunun sonucunda bazı osteoblastların etrafları sarılır ve daha sonra bu hücreler osteosit haline gelir. Kemik matrkisinde rastgele konumlanmış kollajen fibriller şeklindeki primer kemik oluşur (Kurkcu M, 2008).

Mezenkim yoğunlaşması içinde kemikleşmenin başladığı primer kemikleşme merkezlerinde osteoblastlar mitozla çoğalırlar ve yeni kemik oluşumu artar. Bu alanlar birleşerek, zamanla süngerimsi yapıyı meydana getirirler. Mezenkimal hücrelerin doğrudan kemik yapıcı hücrelere (osteoblastlar) farklılaşması sonucu oluşan kemikleşmedir. Kemik oluşturacak belirli alanlarda mezenkimdeki mezenkimal hücreler toplu halde gelir. Bu bölge vaskülarize olur. Mezenkimal hücreler osteoprogenitör hücrelerine farklılaşır. Osteoprogenitör hücreleri ekstrasellüler matriksi salgılayan osteoblastlara farklılaşır. Osteoblastlar matriks üretilince ve depolanınca, birbirlerinden giderek ayrılır ama sitoplazmik uzantıları temas etmeye devam eder. Tamamen matriks ile çevrili olduğunda osteoblastlar osteositlere dönüşür. İşinsal olarak büyüyüp birleşerek başlangıçtaki orijinal bağ dokusunun yerini alırlar. Bebeklerdeki fontaneler buna bir örnektir. Bunlar bağ dokusundan oluşan, kafatasının henüz kemikleşmemiş yumuşak bölgelerine karşılık gelmektedirler. Kemik spikülleri arasındaki bağ dokusuna, kan damarları ve kemik iliği hücrelerini oluşturacak olan fazla sayıda farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin girmesi ile kemik iliği hücreleri meydana gelir (Cankaya AB, 2006; Erimoglu C, 1990).

Frontal ve pariyetal kemiklerin tamamı, oksipital ve temporal kemikler, mandibula ve maksillanın bazı kısımları intramembranöz kemikleşme ile meydana gelir. İntramembranöz kemikleşmenin kısa kemiklerin büyümesinde ve uzun kemiklerin kalınlaşmasında da rolü vardır ( Kurkcu M, 2008; Cankaya AB, 2006).

### 2.1.7.2 Endokondral kemikleşme

Embriyogenik dönemde iskelet sistemi oluşturan kıkırdak dokunun sonra rezorbe olarak kemik doku ile yer değiştirmesi şeklindeki kemikleşmeye endokondral kemik gelişimi denir. Uzun kemikler bu yolla kemikleşirler. Önce hiyalin kıkırdak modeli gelişir sonra bu kıkırdak kemikleşir. Kemikleşme bölgesine mezenkimal kök hücreleri toplanır. Fibroblast büyüme faktörlerinin (FGF) ve kemik yapıcı proteinlerin (BMP) etkisi altında mezenkimal kök hücreleri kondriyoblastlara farklılaşıp uzun kemiğin hiyalin kıkırdak modelini oluşturur. Kıkırdağın ortasındaki perikonriyum uzun süre varlığını devam ettirmez. Perikondriyum burada kondriyosit yerine kemik yapıcı hücreler üretmeye başlar ve osteojenik veya periosteum adını alan tabakaya dönüşür. Bu değişikliklerle kıkırdak çevresinde periosteal kemik tasma oluşur. Periosteal kemik tasma alRnda kalan kıkırdak hipertrofik olur. Kıkırdak matriks kalsifiye olur ve erozyona uğrar. Erozyona uğrayan kıkırdak matriksin ara bölgelerinde kemik trabekülleri gelişmeye başlar. Kıkırdak arasında gelişen kemikten dolayı endokondral kemikleşme adını alır. (Sikavitsas VI, 2001; Jee WSS, 2001).

Damarlanmanın az olduğu appendiküler bölge (pelvis kemiği, ekstremitte kemikleri) , vertebralar ve kafatası taban kemikleri gibi bölgelerde mezenkimal hücreler kondrojeniktirler ve tip II kollajen içeren hiyalin kıkırdak yapıya farklılaşırlar. Tip I kollajen (özellikle kemikle ilgilidir), Tip IV kollajen (özellikle endotelyal bazal lamina) ve Tip X kollagende (hipertrofik kondrositler) ortamda bulunur (Jee WSS, 2001).

Oluşan kıkırdak yapının diafiz bölgesinde perikondriumda yer alan mezenşim hücreleri osteoprogenitör hücrelere, bu progenitör hücreler de osteoblastlara farklılaşırlar. Kıkırdak yapı kalsifikasyonun habercisi olarak damarlanır. Osteoblastlarda kemik lamellerini ve bu lameller arasında osteositleri oluştururlar. Bu durum doğum öncesi başlar ve büyüme tamamlanıncaya devam eder (Deok-Won L. , 2010).

Kıkırdak yapı diafizindeki periosteum ile kıkırdak doku arasında oval şekilli bir ara katman oluşur. Bu bant halindeki katmanın şekillenmesiyle ve kalınlaşmasıyla

kıkırdak dokunun damarlanması ve dolayısıyla beslenmesi engellenmiş olur bunun bir sonucu olarak da kondrositlerde yıkım meydana gelir. Diafizde damarlanmanın artması sonucu bölgede kalsiyum ve fosfor iyonu miktarı artar. Bu iyonlar alkalin fosfat aracılığı ile birleşerek kıkırdak matrikse çöker ve mineralizasyon başlar. Diafizde kemikleşme merkezleri oluşur. Kemikleşme merkezleri boyunca primer kemik dokusu oluşturulur. Ortamdaki kıkırdak doku epifiz ve diafiz arasındaki bölgede mitoz bölünmeyle sayılarını arttırmaya devam ederler ve birbirine paralel izojen grupların bulunduğu bölgeleri dıştan sarmalarlar (Choi YY, 2010)

Diafizdeki kemikleşme merkezlerinden primer kemik yapımı ile başlayan endokondral kemikleşme epifize ulaştığında epifizde sekonder kemikleşme merkezleri oluşur. Sekonder kemikleşme merkezleri boyunca yeni kemik yapımı başlar. Eski ve yeni kemik bölgeleri arasında ince bir kemik disk kalır ki buna epifiz plağı adı verilir. Büyüme tamamlanmaya yani kemik gelişimi sonlanmaya kadar bu plaktan kıkırdak üretimi devam eder. Büyümenin tamamlanmasıyla bu kıkırdak plakda kemikleşerek gelişim sonlanır (Sikavitsas VI, 2001; Jee WSS, 2001).

### **2.1.8 Kemik iyileşmesi**

Kemik; diğer kas-iskelet sistemi dokularından, kendini yenileyebilme ve yara izi bırakmadan iyileşebilme özelliklerinden dolayı ayrılır. İyileşme prosesi, biyomekaniksel stabiliteye ve kırığın biyolojik çevre şartlarına bağlıdır. Direk kemikleşme veya primer kemik iyileşmesi rijit internal fiksasyonu gibi mutlak bir stabilite sağlandığında gerçekleşir. Sekonder kemik iyileşmesi göreceli olarak daha az stabilitenin sağlandığı eksternal fiksasyon veya kırığın alçıya alınması gibi durumlarda sağlanır. Sekonder kemik iyileşmesi daha yaygın olan iyileşme türüdür (Wraight P. J, 2006)

#### **2.1.8.1 Direk (Primer) kemik iyileşmesi**

Direk kemik iyileşmesi internal rijit fiksasyonla kemik parçaları arasındaki gerilimin azaltıldığı durumlarda gerçekleşir. Süreç, korteksin 'geçit konisi' adı verilen ve mekaniksel devamlılığı tekrar sağlamayı amaçlayan yeni haversiyen sistem oluşturma çalışmalarını kapsar. Vasküler endotel hücreler ve perivasküler

mezenkimal hücreler osteoblastlara dönüşebilen, osteoprogenitör hücreler oluştururlar. Bu süreç esnasında periostal tepki hiç gerçekleşmez veya az miktarda gerçekleşir (Tsiridis E, 2007).

Bu şekilde iyileşme sırasında kortikal kemik oluşumu yavaştır ve normal kemik turn-over'ı ve geç remodelling sırasında gerçekleşen biyolojik süreçle aynı şekilde işler. Kemik iyileşmesi tamamlanana kadar internal fiksasyon sürdürülmelidir (Wraighte P. J, 2006).

### **2.1.8.2 Sekonder kemik İyileşmesi**

Kırık oluşumunu takiben kemik bütünlüğünün tekrar sağlanabilmesi amacıyla organizmada birçok rejeneratif değişiklikler meydana gelir. Kırık iyileşmesi oldukça komplike bir olaydır ve 3 aşamada gerçekleşir. Bunlar;

- 1) Yangı,
- 2) Yenilenme (onarım, reperasyon)
- 3)Yeniden şekillenme evreleridir.

Bu evreler birbiri ile ilişkilidir ve geçici olarak birbiri ile iç içe girebilir (Kılıçoğlu SS., 2002).

Yangı (enflamasyon) evresinde kırık oluşumu ile birlikte o bölgede yangı da başlar ve yaklaşık olarak 2-3 hafta devam eder. Yangı; kallusun oluşumunda önemli rol oynar ve kırıkta da kemik formu oluşuncaya kadar devam eder. Kemik tekrar oluşumunda, parathormon, kalsitonin, vitamin D metabolitleri ve alkalın fosfataz gibi birçok faktör rol oynar ve bunların kan plazmasındaki seviyeleri artar. Hematom, kırık iyileşmesi için gerekli iki önemli faktörü sağlar. Birinci olarak; oluşan kan pıhtısı, kemik ucu ve komşu yumuşak dokuların arasını doldurarak kırık bölgesinde çok az da olsa mekanik bir stabilite sağlar. Şekillenen fibrin (pıhtı) kırık uçları arasında ince bir ağ meydana getirir. Kırık bölgesine gelen fibroblastlar da kollajen salgılayarak, kırık uçlarını kollajen liflerle birbirine bağlar. Böylelikle, kırık bölgesinde genç granülasyon dokusu şekillenmeye başlar. İkinci olarak, hematom bölgeye matriks oluşumunu başlatan, osteoblastlara ve kondroblastlara dönüşen, osteoblast ve kondrosit prekürsör hücrelerini getirir. Bütün bunlara ek olarak, nekrotik ve hasara uğramış dokuları

uzaklaştırmak için osteoklastlar ve makrofajlar da bölgeye gelir. Makrofajlar bakterileri fagosite ederler ve köprü kallus oluşturma işlevi ile birlikte, fibroplaziyi de teşvik ederler. Bunlar aynı zamanda ortama interleukin-1 (IL-1) ve tümör nekrozis faktör (TNF) salgırlarlar. Bu iki mediatör akut faz proteinlerinin artışına, lökositlerin kırık bölgesine göçüne ve fibroblastlardan kollajen sentezine neden olur. Bu arada, onarım bölgesindeki damar endotelinden, venöz endotelial büyüme faktörü (VEGF) yeni damarlaşmayı (neoangiogenezis) uyarır. Oluşan damarlaşma normal periostal arterlerden farklıdır ve geçici fasiyal bağlantılardan oluşur. Bu damarlar kallusu ve ayrı herhangi bir kortikal fragmenti beslerler. Maksimum kan akımı travmayı takiben 10. günde oluşur. Yeni oluşan damarlar ekstravasküler boşluğa proteinlerin, granüositlerin, mast hücrelerinin ve lenfositlerin geçmesine olanak sağlayacak yapıdadır. Bu kapiller sızıntı, fibroblastların beslenerek ara maddeyi ve kollajeni oluşturmasını sağlar. Diğer taraftan osteoklastlar da yangı bölgesinde ölü kemiğin uzaklaştırılması ve rezorpsiyon işlemlerini başlatırlar. Kırık iyileşmesinin iki ya da üçüncü gününde kırık bölgesinde periost ve endosttan köken alan osteoblast ve kondroblastlarda hızlı bir çoğalma görülür. Ard arda gelişen bu olaylardan sonra yumuşak dokular arasındaki kemikte osteogenezis başlayacaktır (Kılıçoğlu SS., 2002).

Onarım (reperasyon) evresi; kırık iyileşmesinin ikinci aşaması, yenilenme fazıdır. Onarım evresi kırık iyileşmesinde en önemli kısımdır. İlk basamağı hematomun organize olmasıdır. Lokal aracılı mekanizmalarla hassaslaşan öncü hücreler, yeni damar, fibroblast, hücreler arası madde, destek hücreleri ve diğer hücreleri oluşturmak üzere farklılaşmaya ve düzenlenmeye başlar. Kırık hattındaki hücresel aktivitenin başlaması için gerekli uyarım karmaşıktır. Kimyasal, elektriksel ve mekanik faktörler söz konusudur. Tamir için gerekli hücre çoğalmasının oluşumu, muhtemelen travma bölgesindeki elektriksel akımla başlamaktadır (aracı mekanizma). Bu akım kırık alanında en yüksektir ve daha sonraki 2–3 hafta içinde yavaş yavaş azalır (Kılıçoğlu SS., 2002).

Onarım evresi, kırık oluşumundan sonraki saatlerde başlasa da yapısal olarak tipik hale gelmesi 7–12 gün sürer. Onarım mekanizmasında rol oynayan hücreler mezenkimal kökenli çok yönlü gelişim gücüne sahip hücrelerdir. Çoğunlukla kırık

bölgesindeki granülasyon dokusunun içinden, ayrıca periyosteumun osteojenik tabakası ve daha az olarak endosteumdan köken alırlar. Bu hücreler farklanmaya başladığında, ilk değişikliğe uğrayan hücreler, kılcıl damarlarla hematoma içine giren ‘fibroblastlar’dır. Üçüncü günde karşı kırık uçlarında, yoğun mezenkimal hücre mevcudiyeti vardır. Bu hücreler kırık parçaları arasında yumuşak bir granülasyon dokusu oluşturur. Periostal ve endostal osteojenik hücrelerle, fibrin matriksteki fibroblastların çoğalıp farklılaşmasıyla, bu granülasyon dokusu oluşur. Fibroblastlar kollajen sentezlerken, kondroblastlar kollajen ve glikozaminoglikan, osteoblastlar ise osteoidi salgırlar. İyileşen kemiğin gerilmeye karşı dayanıklılığı, içerdiği kollajen kapsamıyla yakın ilişkilidir. Kallusun boyutu kırığın hareket derecesiyle doğru orantılıdır. İleri yaşlarda bu hücrelerin farklılaşma kapasiteleri azalır. Periosteumun hasar görmesi ya da ortamdaki uzaklaştırılması kırık iyileşmesini yavaşlatır (Kılıçoğlu SS.,2002).

Kırık bölgesinde mezenkimal hücre çoğalması ilk 16 saatte saptanmıştır. Bu çoğalma, kırık sonrası 32 saatte en üst düzeye çıkar. Oluşmaya başlayan kan damarları 2-3 günde ışık mikroskopik düzeyde görünür hale gelirler ve 1. haftada belirginleşirler. Kırık iyileşmesinin ilk dönemlerinde periosteal damarlar, geç dönemdeyse besleyici (nutrisyen) damarlar, kılcıl damar tomurcuklanmasına yardımcı olur. Fakat kılcıl damar gelişimi osteojenik hücre çoğalması kadar hızlı olmadığından, beslenmenin daha iyi olduğu kemiğe yakın seviyedeki hücreler, osteoblastlara dönüşür. Kemiğe yakın olmayan, yakalığın orta kısmındaki hücreler dolaşım yönünden fakirdir. Bu bölgedeki kılcıl damarların gelişim hızı, hücre çoğalmasının hızına uyum gösteremediğinden, hücreler kondroblast ve kondrosite farklılaşarak kırık dokuyu oluşturur. Osteoblast haline gelen kanlanmanın yeterli olduğu bölgelerdeki hücrelerse trabekülleri oluşturur. Böylece en dış tabakada kırık dokunun üstünü örten periostun derin tabakasından çoğalan osteojenik hücreler, orta tabakada kırık doku, daha derinde ise kemik trabekülleri bulunur. Zamanla her iki kırık parçası da ucunda oluşan yakalıklı tarzındaki kitle birleşerek, kırığa bütünlük sağlayan dış kallusu oluşturur. Dış kallusun devam eden gelişimi esas olarak kemik hücrelerinin çoğalmasına ve kırık dokudaki (orta tabakada) interstisyel büyümeye bağlıdır. Aynı şekilde ilik boşluğunda da aynı olaylar birbirini takip eder. Endosteum ve iliğin osteojenik hücrelerinden gelişen trabeküllerle, iliğin köprülenmesi oluşur ve iç kallus meydana gelir. İlk 7- 12 günün sonrasında

yumuşak kallus kitlesi, fibröz doku ve kıkırdaktan oluşmuştur ve kıkırdak sahasını çevreler (Kılıçoğlu SS., 2002).

Onarım evresinin ilk zamanlarında, kıkırdak oluşumu (kıkırdak kallus) belirginleşir. De Palmo'ya göre kallusun damarlanmasından sonra kemik gelişimi başlar. Damar yenilenmesi, mevcut kan damarlarında tomurcuklanmayla olur ve kanla beslenme yeterli olursa, osteoblastlar kallus içinde normal kemik gelişimine elverişli matriksi sağlamış olurlar. Hücre düzeyinde yapılan çalışmalara göre; damar endoteli sialik aside bağlı olarak, kıkırdak doku da proteoglikanlardan zengin olduğu için negatif yüklüdür. Yeni damarlanmayla kıkırdak doku arasındaki bu itme kuvveti nedeniyle, damarlanma engellenmektedir. Ca bu negatif yükü pozitifçe çevirerek, yeni damarların kıkırdak dokuya yönelimini sağlamaktadır. Dolayısıyla sert kallus (kemik kallus) dokusu gelişimi için damarlanma, bunun sağlanabilmesi içinse osteoidin mineralizasyonu gereklidir (Kılıçoğlu SS., 2002).

Mineralizasyon (kalsifikasyon) olayında en ortak teori; osteoiddeki matriks vezikülleri varlığına dayandığıdır. Hücresel düzeyde osteoblast ve kondrositlerden kaynaklanan matriks vezikülleriyle başlayıp devam eder. Bu veziküller, yüksek konsantrasyonda kalsiyum ve fosfat iyonları, CAMP, ATP, adenzintrifosfataz, alkalen fosfataz, pirofosfataz, Ca bağlayan protein ve fosfoferin içerirler. Matriks vezikül membranı, Ca iyonlarını veziküle taşıyan çok sayıda Ca pompasına sahiptir. Vezikül içindeki iyon konsantrasyonu arttığında, kristalizasyon oluşur ve büyüyen kalsiyum hidroksiapatit kristal parçaları membranı delip matriks vezikülünü patlatarak içeriğini salar. Pirofosfataz enzimi, kalsifikasyonu önleyen pirofosfatları parçalar. Alkalen fosfataz ise fosfat esterlerinden fosfat iyonunu serbestleştirerek kalsiyumun çökmesini sağlar. Matriks veziküllerinden salınan kalsiyumhidroksiapatit kristalleri kristalizasyon kaynağı olarak hareket eder. Kristalizasyonun çevresindeki iyonların yüksek konsantrasyonu, kalsifikasyon faktörlerinin varlığı ve kalsiyum bağlayan proteinler, matriks kalsifikasyonunu teşvik ederler (Kılıçoğlu SS., 2002).

Osteoidin mineralizasyonu, sert kallusun oluşumu ve yapısal stabilite için gereklidir. Bu olay, osteoblastlar tarafından tropokollojen oluşturulmasıyla başlar. Tropokollojen, hücrenin iç tarafından dış tarafına hareket eden kollajen tellere



polimerize olur. Kollajen teller kendi iç düzenlemelerine sahiptir ve tellerin arasında boşluklar (hole zones) vardır. Değişebilen kalsiyum ve fosfat eriyikleriyle, boşluk içindeki aminoasit zincirlerinin birbirini etkilemesiyle kırık bölgesinde minerallerin görülmeye başlamasının sonucu olarak, kalsiyum hidroksiapatit kristalleri dizili tellerin içinde veya etrafında kümelenir. Kalsifikasyon kemiğin telcikleri üzerine kalsiyum fosfat biriktiği zaman başlar. Bu olayın proteoglikanlar ve Ca bağlayan glikoprotein olan osteonektinle uyarıldığı bilinmektedir. Onarımın bu döneminde kırık uçları arasında kemik miktarı artarak fusiform bir kallus (kemik kallus) kitlesi ile kırık aralığı örtülür (Kılıçoğlu SS., 2002) .

Kıkırdak dokuda, kondrositler hipertrofiye kondrositlere dönüştüğünde alkalin fosfataz salgılanır. Kondrositlerden kıkırdak matris vesikülleri de atılmaya başlar. Kıkırdak matris kalsifiye olur. Kalsifiye doku içinde kalan kondrositler difüzyonla beslendiğinden ölür ve buldukları yerde lakunalar meydana gelir. Kondroklastik faaliyetle geri emilim artar ve lakunalar genişler. Bu süreç devam ederken, lakunar boşluklara kılcal damarlar ve kemik hücreleri girmeye başlar. Zira kalsifikasyon olmaksızın damarlanma ilerleyemez. Parçalanmış kalsifiye kıkırdağın yerini almak için damarlı doku ve osteoblastlar gerekli mekanik uyarılarla kemik yapımına başlarlar. En sonunda oluşan trabeküler(süngersi) kemik içindeki trabeküller arasında kalsifiye kıkırdak artıkları görülebilir. Kıkırdak dokusundan kemik gelişiminde, FGF' ün de rolü olduğu söylenmektedir (Kılıçoğlu SS.,2002).

Nekrotik kırık uçları dolaşımdan yoksundur ve ortadan kaldırılması gerekmektedir. Kırık iyileşmesinde gerekli olan bu fonksiyonun nasıl başladığı kesin bilinmemektedir fakat kırık bölgesinde önemli miktarda tespit edilen PG'lerin yeri osteoklast oluşumuyla mevcut osteoklast aktivitesinde artışa neden olduğu düşünülür. Osteoklastlarla meydana gelen geri emilim (rezorpsiyon) boşluklarını osteoblastlar sararak canlı kemik gelişmesini sağlarlar. Neticede nekrotik bölgenin tümü canlı kemikle yer değiştirir (Kılıçoğlu SS., 2002).

Kırık kemik uçları, iç ve dış kallus gelişimiyle çok sağlam bir yapıya kavuşur. Kallus oluşumu, yetişkinlerde çocuktan ve kompakt kemikte trabeküler kemikten daha yavaş

meydana gelir. Yaralanmadan sonra kallus oluşması ve mineralizasyonu 4–16 hafta arasında zaman gerektirir. Kallus oluşumuyla beraber kaynamanın oluştuğu söylenebilir. Bununla beraber, kaynama henüz son noktasına ulaşmış değildir, onarım evresinin ortasında, kallusun gereksiz ve etkisiz kısımlarının geri emilimi ve trabeküler kemiğin stres çizgileri boyunca uzanması ile yeniden şekillenme evresi (remodeling) başlar (Kılıçoğlu SS., 2002).

Kemik dokusunun değişen yüke direnç göstermesini, gelişen organların dış kuvvetlerden korunmasının devamlılığını ve vücut elektrolit dengesini sağlayan minerallerin sisteme katılımını sağlaması kemiğin yeniden şekillenmesi ile mümkün hale gelir (Nandi SK, 2010; Moy PK, 1993).

Yeniden şekillenme evresi (remodeling); doku yapısında bir değişiklik olmaksızın mineralize kemiğin değişmesi sürecidir ve eski kemik ile yeni kemik yerdeğiştirme sürecini tanımlar. Kemik oluşumu sırasında düşük yük taşıma kapasitesine sahip primer kemiğin veya yaşla birlikte kalitesi azalan lameller kemiğin yüke direnci yüksek lameller kemik ile yerdeğiştirmesi sürecini yeniden şekillenme sağlar. Yeniden şekillenme hayat boyu devam ederek kemiğin iç ve dış gereksinimlere adapte olmasını sağlar. Sağlıklı bireylerde kemik yapım hızı kemik yıkım hızından fazladır. Böylece kemik büyürken şekli de korunur (Nandi SK, 2010; Moy PK, 1993).

Wolff kanunu günümüzde kemiğin yeniden şekillenmesinde de temel bir kural olarak kabul edilmektedir. Mekanik strese maruz kalan kemiğin konveks yüzü pozitif, konkav yüzü ise negatif elektrikle yüklendiğinden, osteoklastik aktivitenin hakim olduğu konveks yüzeyde geri emilim ve osteoblastik aktivitenin hakim olduğu konkav yüzeyde ise yeni kemik yapımı olmaktadır (Nandi SK, 2010; Moy PK, 1993)

Yeniden şekillenme işlemi bütününde birbirinden ayrılmayan kemik rezorpsiyonu ve kemik apozisyonu süreçleri şeklinde ilerler. Kemik büyümesi, daha önce oluşmuş kemik dokusunun bir bölümünün yıkılırken aynı anda başka bir bölümünün yapımı ile gerçekleşir. Bu süreç sonuncunda kemik yüzeyi çevresinde osteoklastlar (rezorpsiyon bölümü), damar ve osteositler ile organik matriks üzerinde osteoblast tabakası (depozisyon bölümü)'dan meydana gelen kemik çok çekirdekli

ünitesi oluşur. Tüm bu reaksiyonlar aktivasyon-rezorpsiyon-formasyon olarak bilinir (Nandi SK, 2010; Moy PK, 1993).

Paratiroid hormon, büyüme hormonu, leptin ve kalsitonin gibi hormonların uyarıcı oluşturmalarıyla aktif olmayan kemik yüzeylerinin yeniden şekillendirilecek yüzeye dönüştürülmesi sürecidir. Kemik matriksinin açığa çıkması ve çok çekirdekli osteoklastların bölgeye hareketi şeklinde devam eder (Nandi SK, 2010; Moy PK, 1993).

Osteoklastlar stimüle olurlar ve osteoblastların açığa çıkardığı alana tutunup rezorpsiyona başlarlar. Bu süreç osteoklastların kemik yüzeyine asit ve proteolitik enzimleri salgılaması ve organik kemik matriksini çözmesi şeklinde gelişir. Karbonik asit, hidroklorik asit, sitrik asit, laktik asit ve asit hidrolazlarla çözülen kemik matriksi difüzyon yoluyla osteoklastlara, oradan da periferdeki ekstraselüler sıvıya uzaklaştırılır. Bu şekilde Howship lakünaları adı verilen rezorpsiyon çukurları oluştururlar. Daha sonra da henüz tanımlanamamış bir sinyal ile rezorpsiyon durur ve osteoklastlar tutunma yerlerinden ayrılırlar (Nandi SK, 2010; Moy PK, 1993)

Formasyon aşaması osteoblastların kemik yüzeyinden howship lakünaları adı verilen rezorpsiyon çukurlarına gelmesi ve buraya yerleşmesi hareketiyle başlar. Birinci aşama olan organik madde oluşumudur. Howship lakünalarının derinliklerine hareket eden osteoblastlar tip I kollajen ve amorf madde salgırlar. Organik matriks tip I kollajen, proteinpeptitler, proteoglikanlar, lipitler ve osteoidlerden oluşur. İnorganik kristallerin konumlanacağı kanallar oluşturacak formasyonda dizilirler. Kemik yapımındaki son adım minerilizasyon dönemidir. Kemik minerallerinden özellikle kalsiyum ve fosfatın lokal depolanması ile buradan minerilizasyonun yayılması şeklindedir. Minerilizasyon matriks vezikülleri ile başlamakta ve osteoid doku kollajen fibrillerinin önce içinde sonra aralarında fibrillere paralel olarak oluşmaktadır (Nandi SK, 2010; Moy PK, 1993; Lanyon LE, 1993).

### **2.1.9 Kemik rejenerasyonu için membran tekniği uygulaması**

Bağ dokusunun iyileşme süresinin kemik yapıya göre hızlı olması kemik rejenerasyon prosesinin başarıyla gerçekleşmesine engel olabilmektedir. Kemik defektlerinin ve yara bölgelerinin iyileşme sürecinde yumuşak doku ve kemik

dokusunun farklı iyileşme hızları sonucu, komşu dokulardan gelen fibröz doku daha çabuk iyileşerek kavite içine hareket edebilir, kemik oluşumunu bozarak kemik formasyonunu tamamen veya kısmen engelleyebilir. Yumuşak doku göçü sonucu kemiğin devamlılığı ve fonksiyonu sağlanamaz ( Buser D , 1996).

Kemik rejenerasyonu için membran tekniğinin ortaya çıkması, bir anatomik bölgenin belli tipteki dokuyla iyileşmesi için mekanik bariyer kullanılması prensibine dayanır. Burada amaç kemik defektlerine doğru hızlı bir bağ dokusu proliferasyonun gelişmesini önleyerek, sadece osteojenik kapasiteli hücrelerin geçişine izin vermektir. Yeni kemik oluşumunda önemli bir yer tutan kan pıhtısının varlığı korunur ve osteoblastların canlı dokuyla temasta olması sağlanır ( Sottosanti JS, 1997).

Günümüzde pek çok kemik greft materyali kemik iyileşmesine yardımcı olmak, yeni kemik yapımını olumlu yönde etkilemek adına kullanılmaktadır. Kemik defektlerinin iyileşmesine yardımcı olmak üzere geliştirilmiş çeşitli greft materyallerine rağmen, iskeletsel bir defektin rekonstrüksiyonunda altın standart kavitenin doğal kemik dokusu ile rejenerasyonudur. Bu ihtiyaçlar karşılığında Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu (YKR) yöntemi ortaya çıkmış, kemik defektinin içine yumuşak bağ dokusu hücrelerinin geçişini engelleyerek, sadece osteojenik kapasiteli hücrelerin geçişine izin veren fiziksel bir bariyer yerleştirilmesi ile periosttan gelen genç osteojenik hücrelerin ortamda çoğalmasının sağlanabileceği bildirilmektedir. Böylece ortamdaki osteoblastların kemiği restore etmesi ile orijinal fonksiyonel bütünlüğün de oluşturulabileceği vurgulanmaktadır ( Sezer B, 2003).

### **2.1.10 Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu Mekanizması**

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu, bir membran bariyeri ile fibroblastları defektten uzak tutarak osteoblastların defekt içindeki kemik iyileşmesini organize etmesine olanak tanıyan yöntemdir. Bu yöntemin mekanizması yeni kemiğin periost ve osteojenik potansiyele sahip kemik iliği kökenli hücrelerden oluşmasına dayanır. Bariyer membranın temel işlevi kemik rejenerasyonu için belli bir sürede uygun bir ortam sağlamaktır (Buser D, 1996) .

YKR'de etkin sonuçların elde edilmesi için beş faktör göz önünde bulundurulmalıdır.

1. Uygun membran kullanımı,
2. Primer yumuşak doku iyileşmesinin sağlanması,
3. Membranın korumasında olan boşluğun oluşturulması ve devam ettirilmesi,
4. Membranın çevre kemiğe adaptasyonu ile stabilizasyonu,
5. Uzun bir iyileşme dönemidir (Hermann JS, 1996).

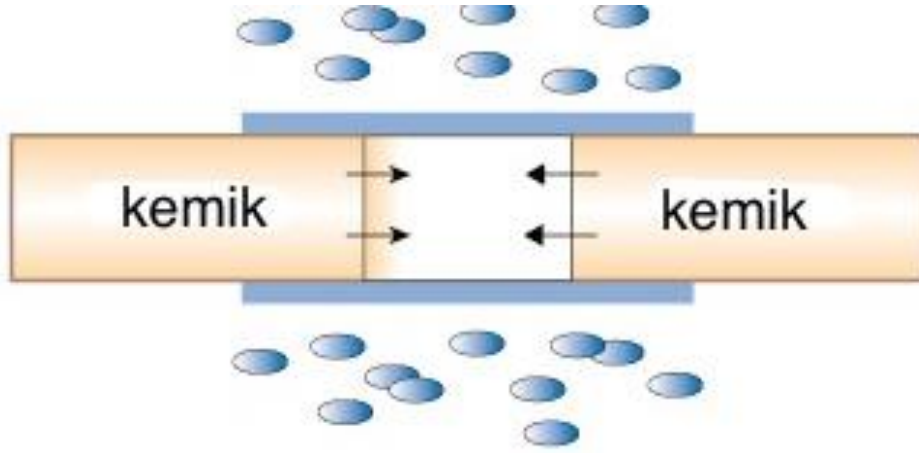
Fibroblast yönlenmesinin engellenmesi, heterotrofik hücre etkileşimi sayesinde kontakt inhibisyonun önlenmesi, hücrel inhibisyon faktörlerinin uzaklaştırılması, lokal büyüme faktörlerinin konsantrasyonu, membranın kendi stimülasyon özellikleri membranların kemik oluşumundaki etkinliğini şekillendiren mekanizmalardır (Hermann JS, 1996).

YKR uygulamalarında başarılı sonuçlar alınabilmesinde; kullanılan cerrahi tekniğe ek olarak, bariyer tıkanması ve stabilitesi, bariyer perforasyon boyutları, bariyer ve konak kemik arasında çevresel sızdırmazlık, yeterli kan temini ve kemik şekillendiren hücrelere erişimin içinde bulunduğu pek çok faktör önemlidir (Kostopoulos L, 1994; Rocuzzo M, 2004).

## **2.2 Rejeneratif bariyer membranlar:**

Bağ dokusunun oluşan boşluğa hareketini engellemek ve defekt bölgesindeki rejeneratif hücrelerin tekrar artışı teşvik etmek için flep ile defekt arasında fiziksel bir bariyer olarak konumlandırılan ve böylece planlanan kemiksel iyileşmeyi sağlayan biyomateryallere bariyer membran denir (Kostopoulos L, 1994).

Bariyer membran fibroblastların içeri büyümesini önler ve altta yatan kan pıhtısı içinde kemik oluşumuna bir alan sağlar (Şekil 2-3). Membran ayrıca engelleyici faktörleri dışlar ve büyüme faktörlerini korur (Buser D, 1996).



**Şekil 2-1:** Bariyer membranda seçici geçirgenlik

Bariyer membranlar kolay uygulanabilmeli, iyileşme sırasında stabil durabilmeli, fibröz dokuyu uzak tutabilmeli, steril olmalı ve çökmeye karşı dayanıklı olmalıdır. Doku içerisinde kalması istendiği durumlarda ekspoz olmamalı ve bakteri tutulumu ve invazyonuna olanak tanıyacak yapıda olmamalıdır. Bu sayede osteojenik etkiye sahip olan hücrelerin defekt içindeki etkinliği korunmuş olur (Kostopoulos L, 1994; Rocuzzo M, 2004).

Bariyer membran tekniklerindeki temel amaçlar eksiksiz kemik rejenerasyonunu sağlamak, kemik defektlerin ogmentasyonununu kolaylaştırılmak, kemik greftleme sonuçlarını iyileştirmektir. Membran bariyerler aynı zamanda mekanik stabilizasyonu, yaranın örtülmesini, pıhtının korunmasını sağlayarak içerisinde hücrelerin büyümesine izin verir ve lezyonun tabanında neovaskülarizasyonu sağlar. Bunları sağlayabilmesi için belirli özelliklere sahip olması gerekmektedir (Buser D, 1996). Bu özellikler beş temel kriter altında toplanmaktadır.

1. Biyolojik uyumluluk,
2. Kavite alanını koruma,
3. Geçirgenlik,
4. Şekillendirilebilme,
5. Klinik yönetilebilirlik (Scantlebury TV, 1993).

### **2.2.1 Biyolojik uyumluluk**

Membran biyolojik açıdan uyumlu olmalıdır. Malzeme ve doku arasında immün sistemi aktif hale getirecek, enfeksiyona sebep olabilecek doku uyumsuzluğu olmamalıdır. Dokuda amaçlanan iyileşme sonucunu etkilememelidir (Scantlebury TV, 1993).

### **2.2.2 Kavite Alanını Koruma**

Membran, planlanan kemik rejenerasyonu için yeterli bir alanın yaratılması ve bakımı için uygun sertliğe sahip olmalıdır. Bir membran doku iyileşmesi açısından en uygun alanı sağlamalı, aynı zamanda büyük defektlerde bile dokuya yeterli desteği vermelidir. Kavite alanını istenildiği formda ve şekilde oluşturabilmek adına membran kolay şekillendirilebilmeli fakat çiğneme gibi eksternal kuvvetler tarafından uygulanan baskıya da karşı koyabilecek yeterlikte olmalıdır. Eğer membran defekt alanına çökmüşse, yenileme için hacim azalmış ve uygun bir klinik sonuca ulaşamamıştır (Scantlebury TV, 1993; Heinze J, 2004).

### **2.2.3 Geçirgenlik**

Uygun bir membran, kemik yapımını engelleyen veya geciktiren fibröz doku yapımını engelleyecek yeterlilikte geçirgen olmalıdır. Geçirgenlik, potansiyel hücre invazyonu için büyük etkiye sahiptir. Geçirgenlik bu nedenle membran gözenekliliği ile yakından ilgilidir. (Lundgren D, 1995).

Membran gözenekleri; kemik ve yumuşak dokudaki iyileşmeyi, yenilenmeyi tetikleyen kanın, oksijenin, besinlerin ve hücre gelişimi için gerekli biyolojik maddelerin difüzyonuna olanak sağlar. Bunun yanında, bu gözenekler epitel hücrelerin geçirgenliğine engel olmalıdır; daha geniş bir gözenek boyutu hızlı büyüyen hücrelerin defekt alanı üzerinde yerleşmesine, infiltrasyonuna ve osteoblastik aktivitenin inhibe

edilmesine izin verir. Genişliği artmış gözenek boyutu, bakteriyel kontaminasyon için uygun ortamın oluşumunu hazırlar. Bu kontaminasyon membranların cerrahi olarak çıkarılması şeklinde ikinci cerrahiye gereksinime yol açar. Yapılan ikinci Cerrahi de yumuşak dokunun içeriye büyümesinin fazlalığı gibi istenmeyen durumlara yol açar. Aksi durumlarda; gözeneklerin çok küçük olduğu hallerde kollajen rezidivine, avasküler doku oluşumuna yol açar. Kapiller büyüme ve infiltrasyon sonucu hücre migrasyonu kısıtlanır. Gözenek boyutu ayrıca dokuyu destekleyecek membranın materyalinin kapasitesini de etkileyecektir. Daha geniş bir gözenek boyutu, membran üzerine hücre adezyonunun önemli başlangıç adımlarını sınırlandırması ve sonrasında kanlanmanın azalması, materyallerin yüzey alanının olumlu özelliklerini düşürecektir (Dickey ID, 2005; Heinze J, 2004; Zhang M, 2004).

#### **2.2.4 Şekillendirilebilirlik:**

Şekillendirilebilirlik, membran uygulanan doku rejenerasyon tekniklerinin olmazsa olmazı durumundadır. Bariyer membranının yapısal bütünlüğü ve elastikiyet özelliği, yeni kemik formasyonu için komşu orijinal kemik ile etkili kenar uyumunu sağlayacak özellikte olmalıdır. Şekillendirilebilirlik, kemik ile membran arasındaki defekt bölgesine fibröz bağ dokusu göçünü önlemek için sıkı bir kenar uyumu oluşturulmasını sağlar, yara iyileşmesi işlemi düzenler . (Becker W, 1999).

#### **2.2.5 Klinik Uygulanabilirlik:**

Bir membran klinik kullanım için pratik olmalıdır. Kullanımı zor olan membranlar, klinik uygulamada komplikasyonlara yol açacaktır. Rijit olmayan membranlar uygulama sırasında kavitenin stabilitesi anlamında sorun yaratırken çok rijit olan bir membran, kolay bir şekilde çevrelenemez ve keskin kenarlar dışı dokusunu delebilir ve sonrasında membranı açıkta bırakabilir. (Ito K, 1998).

Bunların yanısıra rejeneratif bariyer membranlar; güvenli olmalı, hastalık



taşınamalıdır. Biyolojik yıkımı kontrol edilebilir olmalıdır, yeterli iyileşme süresine izin vermelidir. (Heinze J, 2004; Zhang M, 2004).

### **2.3 Rejeneratif bariyer membrane çeşitleri:**

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunda kullanılan membranlar temel olarak 2 ana gruba ayrılır:

1. Rezorbe olmayan membranlar,
2. Rezorbe olabilen membranlar.

#### **2.3.1 Rezorbe Olmayan membranlar:**

Flep ile defekt arasında fiziksel bir bariyer olarak konumlandırılan ve biyolojik yıkıma uğramadığından çıkarılması için ikinci bir cerrahi işlem gerektiren biyomateryallere rezorbe olmayan membranlar denir. Komşu yumuşak dokudan gelen bağ dokusu hücrelerinin geçişine ve çoğalmasına izin vermeyecek biyolojik uyumluluk, doku entegrasyonunun ve şekillendirilebilirliğinin makul olması, defekt içine çökmemesi ile bariyer ve kemik dokusu arasında yeterli boşluk oluşturabilmesi, kolay klinik uygulanabilirlik gibi özellikleri taşıması rezorbe olmayan membranların kullanılabilirliğini artırırken materyali çıkarmak için ikinci bir cerrahi işleme gerek duyulması ve membranın ekspoz olma riskinin fazla olması kullanım alanını kısıtlamaktadır. Membranın ekspoz olması oral çevre ile yeni oluşan dokular arasında bir geçiş oluşmasına neden olur; enfeksiyon riski artar, kemik rejenerasyonu potansiyeli azalır, toplam tedavi süresi uzar (Sezer B, 2003 ; Hammarle CHF, 2003; Mundel RD, 1993).

Rezorbe olmayan membranların değerlendirilmesi ve sınıflandırılması şu şekilde olmaktadır;

1. PTFE (Politetrafloroetilen) membranlar
2. NanoPTFE membranlar
3. E-PTFE (Expanded politetrafloroetilen) membranlar

4. Titanyum takviyeli E-PTFE membranlar
5. D-PTFE membranlar
6. Titanyum membranlar

### **2.3.1.1 PTFE (Politetrafloroetilen) membranlar:**

Her bir karbon atomunun iki flor atomuyla birleşmesiyle oluşan termoplastik floropolimerdir. Flor atomlarıyla doymuş uzun ve düz bir karbon zincirinden meydana gelmiş moleküler yapıyı, karbon ve flor atomları arasındaki kuvvetli bağlar oldukça kararlı ve stabil kılar. Biyolojik olarak inert, kimyasal olarak non reaktif, neme, sürtünmeye dayanıklı olan teflon hiçbir maddeye yapışmaz, sürtünme katsayısı bütün katı cisimlerinkinden küçüktür. Doku reaksiyonuna ve akut enflamasyona sebep olmaz. Bununla birlikte toz halindeki teflon, zayıf enflamasyona neden olabilir. Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonundaki kullanımı dışında plastik ve rekonstrüktif cerrahide de kullanılmaktadır (Hammarle CHF, 2003; Barboza EP, 2008; Annibali S, 2012).

### **2.3.1.2 NanoPTFE membranlar:**

Nanopolitetrafloroetilende sinterleme işlemi yapılmaz. Böylece materyal daha esnek hale gelir, manüplasyon ve adaptasyonu kolaylaştırır. 0.2 - 0.3  $\mu\text{m}$ 'lik porların epiteliyal büyümeyi ve bakteriyel infiltrasyonu engellediği düşünülmektedir (Rakhmatia YD, 2013; Garg A, 2011).

### **2.3.1.3 E-PTFE (Expanded politetrafloroetilen) membranlar:**

Genişletilmiş politetrafloroetilen; sinterlenmiştir, ayrıca yapısında 5-30  $\mu\text{m}$ 'lik porlar içerir. Bilinen en inert biyomateryallerden biridir. Bu nedenle birçok yönden tıbbi amaçlara uygundur. Çekim kavitelelerinde, immedat implant uygulamalarında, implant uygulamalarından önce kemik ogmentasyonunda, kist

kavitelerinin kapatılmasında, implant yerleştirilmesindeki fenestrasyon defektlerinin tedavisinde, maksiller yarıkların düzeltilmesinde ve yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda kullanılmaktadır (Rakhmatia YD, 2013; Garg A, 2011).

Genişletilmiş politetrafloroetilen membranların özellikleri, değişebilir gözenekliliğe sahip olmaları, adapte olabilmelikleri ve doku uyumluluğu sağlayabilen bir mikroyapı olmalarıdır. PTFE nodları ve fibrillerinden oluşan bu mikroyapı, iyileşmekte olan doku kompleksinin stabilizasyonunu sağlamak ve epitelyal göçü engellemek için, bağ dokusunun büyümesine ve yerleşmesine olanak tanır (Rakhmatia YD, 2013; Garg A, 2011; Bartee BK, 1998). Geniş kemik defektlerinde e-PTFE membranı greft materyaliyle desteklenmedikçe mevcut boşluğu yeterli olarak kapatamamaktadır. En önemli dezavantajı, rezorbe olamadığı için ikinci bir cerrahi operasyon gerektirmesidir. Yaygın olarak sindirim, serebral ve kardiyovasküler ameliyatlarda kullanılmış ve temel araştırmalar doku merkezli onarımda etkin olduğunu göstermiştir (Herry Y, 2006; Rakhmatia YD, 2013; Garg A, 2011; Lamb JW, 2001).

E-PTFE membranı iki farklı mikroyapıya sahiptir: koronal kenar ve tıkaçıcı kısım. 25-30 µm'lik porlar içeren koronal kenar erken pıhtılaşma oluşumunu kolaylaştıran açık bir mikro yapıya ve membranı stabilize eden bir kollajen fiber eklentiye sahiptir. Tıkaçıcı kısım, diğer doku hücre türlerinin infiltrasyonunu önlerken besin girişine izin veren 8 µm'den daha az olan bir internodal aralığa sahiptir. E-PTFE asıl doku ara yüzünü stabilize eden doku hücre ekini destekleyen sayısız küçük gözenekten oluşur. Bu küçük gözenekler ayrıca epitel hücrelerin yer değiştirmesini engelleyecek şekilde davranır (Rakhmatia YD, 2013; Garg A, 2011).

#### **2.3.1.4 Titanyum Takviyeli E-PTFE membranlar**

Titanyum ile güçlendirilmiş e-PTFE membranlardır. Bu sayede iyileşmenin oluşması istenen bölgenin idamesinin sağlanması, yumuşak dokunun çökmesinin engellenmesi, greft materyali üzerine kuvvet gelmesini ve bunun sonucunda da rezorpsiyon oluşmasının engellenmesi hedeflenir. Bükülmeye olan direnci avantajıdır. Daha fazla boşluğun gerektiği durumlarda, özellikle çadır tekniğinin gerekliliğinde

titanyum takviyeli e-PTFE membranları kullanılabilir. Titanyum takviyeli e-PTFE bariyer membranlar kaviteyi korumak için iyi bir kapatma etkisi ve izolasyon sağlar (Garg A, 2011; Urban IA, 2014).

Mikro gözenekler, titanyum membranın ikinci cerrahi operasyon ile çıkarılması işleminde sökülmesini zorlaştırır. Makro gözeneklilik özelliği ayrıca membran hazırlanırken kesildiğinde veya büküldüğünde kesici kenar ve köşeler yaratır. Bu kesici kenar ve köşeler membranın açılmasına ve bakteri kontaminasyonun iyileşme bölgesine, kaviteye daha kolay yoldan girmesine olanak sağlar (Degidi M, 2003; Her S, 2012).

Titanyumun düşük yoğunluğu hem yüksek dayanıklılığa sahip hem de hafif bir dental malzeme olmasını sağlar. Titanyum membranların makro gözenekliliğinin engel olmadığı pürüzsüz yüzey özellik bakteriyel kontaminasyon açısından rezorbe olabilen malzemelere göre daha az elverişlidir. Difüzyona imkan tanıyan yapıları dolayısıyla rezorbe olabilen membranlar enfeksiyonlar için bakteri kontaminasyonu açısından potansiyel durumdadır (Von Arx T, 1998; Her S, 2012; Barber HD, 2007).

Bazı durumlarda titanyum oksit yüzey elde etmek için yüzey farklı işlemlerden geçirilebilir. Titanyum; yüksek dayanıklılığı ve sertliği, yüksek sıcaklıklara karşı olan dayanıklılığı ile kimyasal aşınmalara karşı dirençli oluşu sebebiyle yaygın şekilde pek çok cerrahi uygulamalarda kullanılmaktadır (Zablotsky M, 1991; Degidi M, 2003; Her S, 2012).

### **2.3.1.5 D-PTFE membranlar**

Yüksek yoğunluklu PTFE veya dens PTFE (d-PTFE) membranlar, fibrillerin şişmesini, genişlemesini engellemek amacıyla mikro gözenekli materyal yapıda üretilmişlerdir. Bu mikro gözenekli yapı gazların ve ufak moleküllerin geçişine izin verip bakteri geçişini engeller niteliktedir. Kaviteyi kapatmak amacıyla erken dönem e-PTFE'nin alternatifi olarak ortaya çıkmıştır (Urban IA, 2014; Carbonell JM, 2014; Ronda M, 2013).

Membran uygulanmasının ardından, hızlı bir şekilde biyo uyumlu yüzeyine hücresel adezyonu oluşturan plazma proteinleri ile kaplanır. Oluşan hücresel adezyon, membranın çevresindeki epitel hücre göçüne ve bakteriyel geçişe engel olur. Plazma proteinlerin ortamdaki durumu zar boyunca çözünür organik moleküllerin difüzyonunu kolaylaştırır (Waasdorp J, 2013; Hoffman O, 2008).

Yüksek yoğunluk ve küçük gözenek boyutundan dolayı, kemik büyüme alanına bakteri infiltrasyonu önlenmiştir. Uygulaması kolaydır. Ayrıca, primer yumuşak doku kapanması gerekli değildir. d-PTFE bakteri geçişini tamamen engeller ve ağız boşluğuna açılrsa bile, hala uygun membran bariyeri gibi davranmaya devam eder (Barber HD, 2007; Lamb JW, 2001; Urban IA, 2014).

### **2.3.1.6 Titanyum membranlar:**

Diş Hekimliği alanında günümüzde en çok kullanılan metal titanyum ve alaşımlarıdır. Titanyum alaşımları içerisinde de Saf Titanyum ve Ti-6AL-4V (titanyum 6-alüminyum 4-vanadyum) alaşımları en çok kullanılanlardır. Membran olarak da titanyum membranlar PTFE membranlardan sonra , diş hekimliği alanında kemik onarımında kullanılan bir diğer rezorbe olmayan materyaldir. Mekanik dayanıklılık, korozyona direnç ve diğer materyellerin hepsinden fazla kemiğe yakın elastik modüle sahip olma özelliği titanyum membranları öne çıkaran özelliklerdendir (Zablotsky M, 1991; Degidi M, 2003; Her S, 2012).

Titanyum membranlar, membran altındaki kavitenin ve uygulandıysa kemik greftinin stabil kalması için çok iyi mekanik özelliklere sahiptir. Sertliği geniş alanın hacimce korunarak onarımını sağlar ve çevre yumuşak dokunun çökmesini önler; bu özelliği ile altında uygulanmış olan greftin yerinden oynamasının önüne geçilmesini sağlar. Esnekliği ile mukozal basıncı önlerken plastisitesiyle eğilme, çevreleme gibi manipulasyon ile her çeşit kemik hasarına adapte olmayı sağlar (Von Arx T, 1998; Her S, 2012). Titanyum membranının bir diğer özelliği ise makro gözenekliliğidir. Titanyum membranlar makro gözenekler içeren titanyum folyodan oluşmaktadır. Makro gözenekler kanlanmanın sağlanmasında önemli bir rol oynar ve dokunun beslenmesi, yaranın rejenerasyonu sağlanır. Hücre dışından hücre içine besinlerin difüzyonuna izin verir. Bu makro gözenekliliğin bir diğer avantajı ise epitel hücrelerin yer değiştirmesinin kısıtlanması ve yumuşak doku göçünün önlenmesidir (Von Arx T,

1998; Her S, 2012).

### **2.3.2 Rezorbe olabilen membranlar:**

Defekt üzerinde fiziksel bir bariyer olarak konumlandırılan ve uygulanmalarını takiben hidroliz ile absorpsiyona uğrayan biyomateryallere rezorbe olabilen membranlar denir. Bu absorpsiyon süreci minimal 6 haftadır ve tam olarak 8 ayda tamamlanır. Krebs döngüsünde karbondioksit ve su ile elimine edilir (Garg A, 2011; Mc Ginnis M, 1998; Imbronito AV, 2002) .

Bu membranların en önemli avantajı uygulanmasının ardından çıkarılması için ikinci bir cerrahi işleme gerek duyulmamasıdır. Bunun bir sonucu olarak bakterilerle tekrarlayan kontaminasyon riski önlenir ve dolayısıyla enfeksiyon oluşma riski azalmış olur (Zablotsky M, 1991; Degidi M, 2003; Her S, 2012).

Rezorbe olabilen membranların dezavantajları, erken membran rezorpsiyonuna bağlı olarak minimal enflamatuvar reaksiyon görülebilmesi ve cerrahi uygulanmış alanın açılması, ortaya çıkması, bakteri geçişine imkan tanıyacak duruma gelmesidir. Değişebilen rezorpsiyon süresinin öngörülememesi ve bunun sonucu olarak kemik rejenerasyon miktarında önemli derecede azalma görülebilir. Eğer rezorpsiyon çok hızlı gerçekleşirse, ilave cerrahi operasyon ve kemik greftleme yöntemleri ihtiyacı doğabilir (Hammarle CHF, 2003; Barboza EP, 2008; Annibali S, 2012). Bu grup içindeki membranlar aşağıdaki gibi sınıflandırılır:

1. Sentetik membranlar
2. Doğal membranlar

#### **2.3.2.1 Sentetik membranlar:**

Kimyasal yapısı laktik asit ve glikolik asidin polimerleri şeklinde olan rezorbe olabilen sentetik materyallerdir. Poliaktik asit, sitrik asit esterleri, glikolat polimerleri, laktat polimerleri, üç katlı matriks fiber içinde düzenlenmiş glikolat ve laktat polimerleri, poliglikolik asit, polilaktik asit, sentetik rezorbe olabilen membranlardır. Absorpsiyonları ester bağlarının yıkımı şeklinde 30 ile 60 gün arasında

meydana gelir ve son ürün olarak enflamatuar reaksiyon oluşturabilme potansiyeli olan serbest asitler ortaya çıkar (Lundgren D, 1995; Laurell L,1993; Park SH, 2008).

Polilaktik asit, serbest laktitlerden sentez edilen ve peptit bağı olmadığı için immün cevap oluşturmayan bir materyaldir. Hidroliz yoluyla monomerlerine ayrılır. Bu monomerler metabolize olur ve akciğerler yoluyla karbondioksit ve su halinde uzaklaştırılır. Polilaktik asit membran kolay elde edilen bir materyal değildir ve cerrahi kullanımdan önce membranı şekillendirmek gerekir. Polilaktik asit membranlar uzun süre dayanıklılığını muhafaza ederler. Küçük boyutlarda hazırlanabilirler (Park JK, 2009; Monteiro AS, 2010).

Poliglikolik asit ise hidroksiasetik asidin bir polimeridir. Hidroliz yoluyla absorbe olur, doku tarafından iyi tolere edilir, inert bir maddedir, immün cevap ve enfeksiyon oluşturmaz. Poliglikolik asit parçalanma ürünleri bakterisit etki gösterdiklerinden doku reaksiyonları daha az görülür. Hidroliz yoluyla absorbe edilmeleri sonucunda son ürün olarak su, karbondioksit ve enerji açığa çıkarılır. Yapısı sade proteine benzer ancak ester bağları arasında tek karbon atomu vardır. Absorbsiyon zamanı enfeksiyonlardan, enflamatuar doku onarımından, gastrointestinal proteolitik enzimlerden etkilenmez. Emilim zamanı, dayanıklılık süresi dokuya göre değişmez sabittir (Mc Ginnis M, 1998; Gutta R, 2009).

### **2.3.2.2 Doğal membranlar:**

Ağırlıklı olarak kollajen yapıdaki rezorbe olabilen biyomateryallerdir. Kollajenin elde edildiği canlının türüne, alınan bölgenin yerine göre farklı alt gruplara ayrılır. Günümüzde sıklıkla kullanılan rezorbe olan membranların başında sığır tendon kollajeni, domuzlardan elde edilen çift katlı kollajen, domuz dermisinden elde edilen kollajen ile insan derisinden elde edilen hücresiz allogreftler, tabakalı kemik membranları ve amnion zarından elde edilen allogreftler görülmektedir (Lee HJ, 2008; Sezer B, 2003; Hammarle CHF, 2003).

Kollajen membran yüksek gerilme direnci, düşük uzama kabiliyeti, düşük antijenitesi, yara iyileşme ve pıhtılaşma üzerindeki olumlu etkileri gibi avantajlı biyolojik özellikleri ile günümüzde sık kullanılır hale getirmiştir. Kollajen membranlar,

uzun yıllardır periodontal, oral ve maxillofasial cerrahi ameliyatlarında bariyer membran olarak kullanılmaktadır. Deformasyona karşı güçlü ve dirençlidir (Lee HJ, 2008; Sezer B, 2003; Hammarle JHF, 2003). Tip I kollajen kemik oluşumu sırasında meydana gelirken vücut tarafından sentez edilen ilk ürünlerden biridir ve yüksek oranda kalsiyum bağlama özelliğine sahiptir. Fibriler kollajen, doku içine yerleştirilir yerleştirilmez edilir saf hale geçer. Yerleştirildiği kemik yüzeyine tutunur ve yer değiştirmez. Hazırlanması kolaydır. İnsanlarda kullanıldığında immün cevap oluşturmazlar ve hemostaza yardımcı olurlar. Rezorbe olan membranlar uygulandıklarında abzorbsiyon genellikle hidroliz yoluyla olur. Bu da kemik formasyonu üzerinde olumsuz etkisi olan asit çevrenin oluşmasına neden olur. Sadece kollajen membranlar normal doku döngüsüne benzer şekilde katabolik süreç ile rezorbe olurlar. Bu da kollajen membranlara diğer membranlarda olmayan bir avantaj sağlar (Lee HJ, 2008; Sezer B, 2003; Hammarle JHF, 2003). Kollajenin hemostatik bir ajan olma özelliği, trombosit ataşmanını ve fibrin bağlantısını uyarmaktadır. Oluşan pıhtının sabit kalmasını ve olgunlaşmasını sağlayarak iyileşme ve rejenerasyonu hızlandırmaktadır. Fibroblastlara karşı kemotaktik özelliklere sahiptir ve hücre migrasyonunu artırmaktadır. Böylece yaraların çabuk iyileşmesini ve greftin açığa çıkmasını engellediği belirtilmektedir. Ayrıca yarı geçirgen olan, doğal enzimatik degradasyon gösteren ve düşük antijeniteye sahip olan kollajen membranlar kolaylıkla manüple edilebilmektedirler (Sezer B, 2003, Lee HJ, 2008; Hammarle JHF, 2003).

Hücretsiz insan kadavra derisi, bir başka tip rezorbe olabilen membran materyalidir. Bu materyal, immünolojik red cevabını ve immünsüpresyon olasılığını ortadan kaldırmak için epitel dokusundan arındırılmış ve hücresizleştirilmiştir. Dermal allogreftler ağır yanıkların tedavisinde olduğu gibi, mukogingival cerrahi sonrası bariyer membran olarak ve dental implant çevresinde yumuşak doku gelişimi için bir bariyer membran olarak kullanılır. Dermal allogreftler çoğunlukla güvenlidir ve herhangi bir enfeksiyöz duruma neden olmaksızın normal bir yara iyileşme süreci göstermektedir. Bariyer membran kullanımları kapsamında, hücretsiz dermal allogreftlerin uygulanmaları ve uygulandıkları cerrahi bölgeye adapte olmaları kolaydır ve önceden tahmin edilebilecek resorpsiyon zamanlarına sahiplerdir. Hücretsiz bir yapıda olmaları, doku uyuşması aşamasında aktif görevi olan sınıf I ve sınıf II antijenlerinin yoksunluğuna bağlı olarak, hücretsiz dermal bariyer membranları immune cevap oluşturmamaya ilgili



olarak avantajlı bir duruma getirmektedir ( Simunek A, 2005).

Dondurularak kurutulmuş insana ait tabakalı kortikal kemiğinden oluşan materyal, bariyer membran olarak kullanıldığında, diğer bariyer membran materyalleriyle kıyaslanma durumunda belirgin bir başarı elde etmiştir. implant çevresindeki greft ogmentasyonu için yapılan yönlendirilmiş doku rejenerasyonu için bariyer membran olarak kullanılmaktadır. Tabakalı kemik membranları diğer resorbable materyallere göre daha az sıklıkta kullanılmaktadır (Liscic RM, 1999; Sottosanti JS, 1997; Couri CJ, 2002; Thomas MV, 2005; De Macedo NL, 2005).

## **2.4 Amnion Zar :**

Rezorbe olabilen doğal bir biyolojik örtü olan amnion zarı esnek, sağlam, saklanabilen, uygulaması kolay, insan kaynaklı bir materyaldir.

### **2.4.1 Amnion Zar Membranın Histolojik Yapısı ve Yapısal Özellikleri**

Amnion zarı, plasentayı oluşturan üç zardan en içte bulunan, fetüse en yakın membrandır. Sert, sağlam ve avasküler bir yapıdır. Amniotik sıvı ile temas halindedir, Histolojik olarak 0,02mm ile 0,5mm kalınlığındadır (Solomon A, 2003).

İnsan amniyon zarı, fetal zarlardan köken alır. Yaşamın erken döneminde fetusu oluşturan iç hücre kitlesi ile trofoblastlar arasında bir boşluk oluşur. Bu boşluğ□u çevreleyen hücreler amnion zarını oluştururlar ve bu boşluk da büyüyerek amniotik kaviteyi meydana getirir. Amnion zarının gelişimi gebeliğin çok erken dönemlerinde, 7-8. günlük embriyoda meydana gelmektedir. Ş□ekillenmiş embriyonun dorsal yüzeyinde ortaya çıkar ve mitoz bölünmeyle devam eden büyüme yaklaşık 28. haftaya kadar devam eder. 28 hafta sonunda mitotik aktivite durur fakat amniotik kesenin büyümesi devam eder. Bu büyüme hücrelerin gerilmesiyle sağlanır (Solomon A, 2003; Jain S, 2004; Dua HS, 2004).

Amnion zarı içten dışa olacak şekilde 5 farklı tabakadan oluşur. İçten dışa; tek katlı kübik epitel tabaka, bazal membran, kompakt tabaka, fibroblast tabaka ve

süngerimsi tabakadan meydana gelir. Damarlanma olmadığı için beslenme ve oksijen desteği çevre koryon sıvı, amniyon sıvısı ve fetal yüzey kan damarlarından sağlanır.(Gomes J, 2005; Hao Y, 2000).

Epitel tabakası tek katlı kübik epitel hücrelerinden oluşur. Amnion epitelyal hücrelerinin embriyonik disk ektoderminden kaynaklandığı kabul edilmektedir. Bu hücreler amniotik zarın iç kısmını desteklemektedirler. Epitel koryonun tamamını ve kordonu döşer. Amniyon zarının epitelinin amniyon sıvısı ile ilişkili olan yüzeyinde çok sayıda mikrovilluslar bulunur. Epitel hücre yüzeyinde bulunan mikrovilluslar amnion sıvısının hücrelere transferinde görev alır. Bu mikrovilluslar hem amniyon sıvısına besin, mineral ve düzenleyici proteinlerin dengeli bir şekilde geçişini sağlarlar, hem de yüzey alanını genişletirler. Epitel hücreleri çok sayıda hormon ve inflamasyon mediyatörü salgılayarak fetusun normal gelişimine önemli katkıda bulunur. Amnion zar epiteli, altındaki bazal membrana hücre uzantıları ve hemidesmozomlarla bağlanır. Bazal membran retiküler liflerden oluşan ince bir tabakadır. Bazal membran ile epitel tabakası arasında sıkı bir ilişki mevcuttur. İnsan vücudunda en kalın bazal membran amniyon zarında bulunur; bu, klinikte zarın dondurulup saklanması ve böylece epitel hücrelerinin uzun süre düzenli bir şekilde korunmasını ve canlı kalmasına olanak sağlar. Bazal membran proteoglikan ve özellikle heparin sülfattan zengindir. Bu proteoglikanlar amnion zarında bariyer vazifesi görür. Amnion bazal membranında tip IV ve tip VII kollajen, laminin-1, laminin-5, fibronektin bulunmaktadır (Goyal R, 2006; Tseng SC, 1997).

Amnion zarının makroskopik olarak iki farklı yüzü mevcuttur. Bunlardan ilki parlak, pürüzsüz saydam ve yapışkan olmayan epitel yüzü, diğeri mat ve yapışkan olan stromal yüzüdür. Kompakt tabaka, mezenkimal tabaka ve süngerimsi tabakalara bir arada stromal tabaka da denilmektedir. Kompakt tabaka kompleks retiküler ağ yapan hücrelerden meydana gelir ve amniyon zarının en güçlü destek tabakasıdır.. Kompakt tabaka zarın esneklik ve sağlamlığından sorumludur. Kollajen I, III ve IV den oluşur. Mezenkimal tabaka amniyon zarının en kalın tabakasıdır, yoğun fibroblast ağı içerir. Bu hücreler kompakt tabakanın ihtiyacı olan kollojeni ve ayrıca IL-6, IL-8 ve MCP-1 (monosit kemoaktan protein) gibi sitokinleri sentezlerler. Süngerimsi tabaka zarın en dış tabakasıdır. Süngerimsi tabaka dışta korion ile ilişkilidir ve amniyon ile koryon arasında retiküler hücrelerin oluşturduğu bir geçiş alanı oluşturur (Solomon A, 2003;

Hao Y, 2000).

#### **2.4.2 Amnion zarının biyokimyasal, immunolojik ve immunosupresif özellikleri**

Stromasında tip I, III, IV ve VII kollajenler, laminin ve fibronektin bulunmaktadır. Tip I kollagen kemik formasyonu meydana gelirken vücut tarafından sentez edilen ilk ürünlerden biridir ve yüksek oranda kalsiyum bağlama özelliğine sahiptir. Ayrıca amnion zarı stroması hyaluronik asitten zengindir (Sikder MA, 2010; Kar IB, 2014).

Amnion bazal membranının, epitel hücrelerinin göçünü hızlandırdığı, epitelin farklılaşmasını desteklediği, hücreleri apoptozisten koruduğu kabul edilmektedir. Amnion zarının stromasında epidermal büyüme faktörü, keratinosit, hepatosit ve fibroblast büyüme faktörleri bulunmaktadır. Ayrıca amnion zarının stromasının, oküler yüzey epitelinden salgılanan IL-1 $\alpha$ , IL-1 gibi inflamatuvar sitokinlerin üretimini baskıladığı gösterilmiştir. Antikor veya hücre sel bağışıklık cevabının oluştuğu gözlenmemiştir. Damarsız yapısı ile immunolojik red cevabına yol açmadığı, epitelinde HLA sınıf I ya da II antijen ekspresyonu olmadığından amnion zarı uygulaması için sistemik immunsupresyon yapılması gerekmemektedir. (Velez I, 2010; Niknejad H, 2008). Amnion zarı sadece fetüsü koruyan bir yapı değildir. Amnion sıvı içeriğinin dengesinden de sorumludur. Aynı zamanda metabolik olarak da aktiftir. Sitokin ve vazoaktif peptid de mevcuttur. Vazoaktif peptidler için endotelin 1 ve PTH benzeri protein sentezi örnek oluşturur. Bu sitokinler antibakteriyel aktivitenin sağlanmasında görev yaparlar. Uygulandığı ortamda antimikrobik özellik göstermektedir. Amniyon yüzey epitel hücrelerinde HLA A,B,C,DR ve  $\beta$ 2-mikroglobulin bulunmaz (Fetterolf DE, 2012).

Amnion zarının enflamasyonu baskılayıcı, anjiyogenezisi baskılayıcı, skar önleyici, antimikrobik ve nörotrofik etkileri önemlidir. Amnion zarı uygulanmış hastaların hiçbirinde akut red reaksiyonunun klinik belirtileri görülmemiş ve HLA antijenlerine karşı antikor üretimi olmamıştır. Amnion epitel hücrelerinin nötrofil ile makrofajların kemotaktik aktivitelerini inhibe ettiği ve B ile T lenfositlerinin proliferasyonunu baskıladığı gösterilmiştir (Khademi B, 2013; Amemiya T, 2015).

Aminon zar bünyesinde ve büyüme faktörlerinin üretimi de mevcuttur. Epidermal büyüme faktörü (EGF), keratinosit büyüme faktörü (KGF), hepatosit büyüme faktörü (HGF), değiştirici büyüme faktörü (TGF) gibi bir çok büyüme faktörünü, steroid hormonlarını (östrojen, progesteron), hidrolitik enzimleri, oksidasyon-reduksiyon enzimlerini, sekonder enzimleri ve daha bir çok faktörü bulunduran amniotik membran “canlı enzim müzesi” olarak nitelendirilmektedir (Nakamura T, 2003; Amemiya T,2015).

### **2.4.3 Amnion zarının etkileri**

Amnion zarı ; epitelizasyonu hızlandırmak , yara yüzeyinden protein ve sıvı kaybını önlemek, adhezyon oluşumunu azaltmak, antibakteriyel ve non-immünolojik etkiye sahip olmak, kollajen sentezine katkıda bulunmak, anjiyogenezisi, skar formasyonunu, ağrı ve enflamasyonu azaltmak gibi özelliklere sahip, kolay ve hızlı elde edilebilen ve değeri günden güne artan biyolojik bir örtüdür ( Amemiya T, 2015; Samandari MH, 2004).

Amnion zarının etki mekanizmaları; epitelizasyon için uygun yeni bir substrat olarak görev yapması, epitelyal hücre göçünü hızlandırması, bazal epitelyal hücrelerin yapışmasını pekiştirmesi, epitelyal değişimi uyarması, epitelyal apoptosisi önlemesi, matriks metalloproteinaz inhibitörleri (MMPs) salgılayıp doku tahribatını engellemesi, kollajen sentezine katkıda bulunması ve yapısında bulunan bir çok büyüme faktörü ve bazı enzimler sayesinde yara iyileşmesini hızlandırmak olarak sıralanabilir ( Kesting MR, 2014; Ameniya T, 2015).

#### **2.4.3.1 Amnion zarının enflamasyonu baskılayıcı etkisi**

Amnion zarının uygulamasının proteinaz ve matriks metalloproteinaz aktivasyonunu baskıladığı ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Enflamasyon inhibitörleri olan IL-1 reseptör antagonisti ve IL-10 hem amnion membranın epitelinde hem de mezenkimal hücrelerde gösterilmiştir ( Hao Y, 2000). Amnion zarın stromal matriksindeki epitelyal hücreler, lipopolisakkaritleri transforme ederek yangı oluşumunda rol oynayan interleukin-1  $\alpha$  ve  $\beta$ 'yi deprese ederek

antienflamatuar etki göstermektedir ( Nanda S, 2011; Rai M, 2011).

#### **2.4.3.2 Amnion zarının anjiogenezisi baskılayıcı etkisi**

Amnion zarının stroması normalde avaskülerdir ve yeni damar oluşumunu önlemektedir. Amnion zarı, güçlü bir endotel büyüme faktörü inhibitörü olan endostatin ve anjiyogenezisi baskılayıcı doku metalloproteinaz inhibitörü 1, 2, 3, 4 (TIMP 1, 2, 3, 4) sentezlemektedir. Ayrıca anjiogenezisi baskılayıcı etkisi olan trombospondin-1 de amnion epitel hücrelerince sentezlenmektedir. Amnion zarının hücre kültürünün güçlü bir şekilde yeni damar oluşumunu baskıladığı ve bunu amnion membran hücrelerinin vasküler endotel hücrelerinde büyüme ve migrasyonu inhibe etmelerine bağlı olduğu görülmüştür (Kothari CR, 2012; Velez I, 2010).

#### **2.4.3.3 Amnion zarının skar oluşumunu önleyici etkisi**

Amnion zarı istenmeyen keratosit apoptozu engeller ve sentezlenen hücre dışı matriks azaltır. Dolayısıyla, amnion zar uygulamasının inflamasyonu baskılayıcı etkisinin yanı sıra doğrudan skar oluşumunu önleyici etkisi de mevcuttur (Rai M,2011).

Amnion zarı içerdiği matriks metalloprotein-3 ile proteaz aktivitesini inhibe eder. Dokudaki yara iyileşmesi sırasında transforming büyüme faktörü-beta (TGF- $\beta$ ) tarafından aktive olan fibroblastlar skar oluşumundan sorumludur. Amnion zarının fibroblastik aktivasyondan sorumlu olan TGF- $\beta$  sinyalini azalması yönünde indüklediği gösterilmiştir. Böylece fibroblastlarının proliferasyonunu ve diferansiyasyonunu önleyerek skar oluşumunu önlemiş olur. Amnion zarı stromal matriksi IL-1 $\alpha$ , IL-1, IL-2, IL-8, INF  $\gamma$ , TNF, FGF, gibi yüzey epitelinden köken alan enflamatuar sitokinlerin salınımını baskılar ve skar oluşumu, neovaskularizasyon ve fibrozisin önlenmesinde anahtar rol oynar (Kesting MR, 2014; Samander I, 2004).

#### **2.4.3.4 Amnion zarının antimikrobik etkisi**

Amnion zar membranının mikroorganizmaların çoğalmasını inhibe ettiği gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda amnion zarının bakteri sayısını anlamlı derecede azalttığını, amnion zarı ile kaplı yaradan yapılan kültürlerde üreme olmadığı, kontrol olarak açık bırakılan yaradan yapılan kültürlerde ise koagülaz (+) stafilokoklar ve psödomonas pyocyanea ürettiği görülmüştür. Amnion zarı, yara üzerini kaplayarak steril

bir ortam yaratılmasına ve ameliyat sonrası enfeksiyon riskinin azaltılmasına katkıda bulunur. Amnion zarının antibakteriyel ve yara koruyucu etkileri de gösterilmiştir. Yine içerdiği progesteron ve diğer faktörler sayesinde Gram (+) mikroorganizmalara karşı bakteriyostatik etki göstermektedir ( Nanda S, 2011).

#### **2.4.3.5 Amnion zarının nörotrofik etkisi**

Nöron hücrelerinin in vitro ortamda nöron hücrelerinin, amnion zarının stromasında ve bazal yüzeyinde büyüdüğü, dolayısıyla amnion zarının bu hücrelerin büyümesinde etkili olduğu gösterilmiştir (Khadeni B, 2013; Amemiya T, 2009).

#### **2.4.3.6 Amnion zarının biyolojik bandaj ve epitelizasyonu sağlayıcı etkisi**

Amnion zarının biyolojik bandaj etkisi, epitelizasyonun sağlanmasına katkıda bulunmaktadır. Salgıladığı büyüme faktörlerinin etkisiyle reepitelizasyonu uyarır. Fakat uzun süre saklama ile bu faktörlerin miktarında azalma olur. Çevreden üzerine epitelyal hücre göçünü kolaylaştıran iyi bir zemin olma özelliği vardır. Amniotik bazal membran epitel hücrelerinin adezyonunu güçlendirir. Epitelyal hücrelerin proliferasyonunu ve diferansiyasyonunu kolaylaştırır, orijinal epitelyal fenotipin devamına destek olur ve goblet hücrelerinin de diferansiyasyonunu kolaylaştırır (Velez I, 2010; Niknejad H, 2008).

Amnion zarı, bazal membran özelliği ile epitel hücre adhezyonu, migrasyonu ve diferansiyasyonunu destekleyerek epitelizasyonu kolaylaştırmaktadır. Bariyer özelliği sayesinde antifibrotik etki göstermektedir (Solomon A, 2003; John T, 2003, Hao Y, 2000).

Uygulandığı bölgede yara zeminini kitle olarak doldurarak yara yüzeyinden protein ve sıvı kaybını önler. Yine açık olan sinir uçlarını kapatarak ağrıyı azaltır. Ayrıca orta şiddetteki defektlerde yara kontraktürünü azaltıcı etkiye sahiptir (Gomes J, 2005; Hao Y, 2000).

#### 2.4.4 Amnion zarının hazırlanması ve saklanması

Direk taze şekliyle kullanılacak amnion zarının hazırlanması; uygun bulunan donörlerden elde edilen plasentaların steril serum fizyolojik ile yıkayıp kan pıhtıları ve doku artıklarından temizlenmesi ile başlar; korion tabakasından ayrılan amnion zarının HIV riskini elimine etmek için % 0.025'lik sodyum hipoklorit solüsyonu ile yıkanması ile devam eder. Yıkama işleminin ardından uygun ebatlarda hazırlanan amnion zarları litresinde 500.000-2.000.000 İÜ. Penisilin ve 0.5-2 gram streptomisin bulunan steril serum fizyolojik içerisinde +4°C'de 12-24 saat bekletilmesinin ardından kullanıma hazır hale gelir. Amnion zarı, + 4°C'de bir hafta süre ile saklanabileceği gibi, daha uzun süreli saklamalar istendiği durumlarda % 20'lik gliserin ile dondurulması prosedürü uygulanmaktadır. (Alkan Z, 1987; Anderson SB, 2003; Colocho G, 1974 ; Demirkan F, 2002; Gharib M, 1996; Madhavan MH, 2003).

Doku bankalarında saklanmak üzere membranın hazırlanması ise; korion ve amnion zarının plasentadan ayrılması ile başlar ve 37°C'de serum fizyolojik içinde yıkanır. Böylece kan ve diğer dokulardan temizlenmiş olur. Daha sonra zar % 0.025'lik sodyum hipoklorit solüsyonu ile yıkanarak HIV riski elimine edilir. Bundan sonraki adım, zarın steril su ile yıkanarak gazlı bez üzerine yayılması ve istenen boyutta kesilmesidir. Zarlar daha sonra dondurularak (-80 °C) kurutulur ve bir kabın içinde paketlenildikten sonra radyasyonla (Kobalt 60 (<sup>60</sup>Co) gamma sterilizasyon ünitesinde; 10-40 kGy sterilizasyon dozunda sterilize edilir (Singh R, 2004; Sankar V, 2003; Erkol AY, 2004).

Amnion membran, ilk kez 1910 yılında Davis tarafından deri defektlerinin kapatılmasında greft materyali olarak kullanılmıştır. Daha sonraki yıllarda symblepharon tamirinde (De Rötth A,1940), akut okuler yanıkların tedavisinde (Sorsby A, 1946), yara iyileşmesinin hızlandırılmasında (Colocho G,1974), abdominal defektlerin tamirinde (Seashare JH,1975), iyileşmeyen deri ülserlerinde (Silverton JS,1979), idrar kesesi rekonstrüksiyonunda (Norris MA,1982; Fishman IJ,1987), yapay vaginal rekonstrüksiyonda (Georgy MS,1996), abdominal şirurjikal adhezyonların önlenmesinde (Gharib M,1996), korneal yüzey defektleri ve ülserlerin tedavisinde (Lee SH,1997), üretral defektlerin tamirinde (Brandt FI,2000), myelomeningocellerin

tamirinde (Hasegawa M,2004), vestibuloplasti olgularında (Samandri 2004), tendo adezyonlarının önlenmesinde (Demirkan F,2002; Özgenel GY, 2004), periferel sinir anastomozlarında (Özgenel GY,2004), maksillofasial defektlerin tamirinde (LawsonVG, 1985, 1986), tümör cerrahisi ve çene diseksiyonunda (Zohar Y, 1987), vestibulopalsti işleminde (Güler R, 1997; Samandari MH,2004; Kothari CR, 2012), bukkal mukoza defektlerinde (Mücke T, 2010) , gingival defektlerin tamirinde (Rinastiti M, 2006), dental implant uygulamalarında(Velez I, 2010), parietal kemikte defektlerin iyileşmesinde, (Gomes FR, 2001) ve kırık iyileşmesi (Sezgin S, 2008) gibi pek çok olguda kullanılmaktadır.

## 2.5 Piezocerrahi

Son yıllarda kemik ile ilgili uygulamalarda geniş bir kullanım alanı bulan piezocerrahi, bu aygıtların piezoelektrik prensiplerine göre çalışarak kullanıldığı ultrasonik vibrasyon yöntemiyle kesme yapılan bir tekniktir (Wallace SS, 2007).

Piezoelektrik aygıtlar, ilk piyasaya çıkan aygıtın ismine bağlı olarak piezocerrahi aletler olarak isimlendirilirler. Konvansiyonel cihazlara oranla daha hassas ve güvenli osteotomi ihtiyacına cevap olarak daha etkili osteotomi cihazları ortaya çıkarmak ve geliştirmek için pek çok çalışma yapılmıştır. Diş hekimliği alanında ultrasonik cihazlar, 1950’li yıllarda yüksek frekanslı ultrasonik dalgaların diş sert dokuları üzerindeki kesim özelliklerinin ortaya çıkarılmasının ardından ilk olarak periodontoloji ve endodonti alanlarında kullanım imkanı bulmuşlardır. Ultrasonik kemik kesileri ise ilk olarak 1975 yılında Horton ve arkadaşları tarafından tanımlanmışlardır (Horton JE, 1975). 2000 yılında Vercellotti ve arkadaşlarının bu cihazların sinir ve yumuşak doku koruyucu özelliğini öne çıkarmasıyla kullanımları işlerlik kazanmıştır. Cihaz yumuşak doku ve damar-sinir paketini koruyarak, yalnızca mineralize dokular üzerinde çalışır ( Volkov MV, 2009; Vercellotti T, 2005).

Piezocerrahi, piezoelektrik ultrasonik vibrasyonlar yoluyla güvenli ve etkili kemik kesilerinin uygulanmasına imkan sağlayan yeni bir tekniktir. Mikrometrik düzeyde hassas ve seçici osteotomiler yapabilmesinden dolayı, piezoelektrik cihazı, osteonekrotik hasarlar vermeden güvenli ve hassas şekilde kemik kesim olanağı sağlar (Vercellotti T, 2004).



Atravmatik veya minimal invaziv cerrahi girişimler, doku hasarının ve postoperatif semptomların minimumda tutulması yönünde önem arz eder. Günümüzde, tıbbi gelişmelerin paralelinde atravmatik cerrahinin önem kazanmasıyla, ultrasonik hareketlerin, titreşimlerin çevre yumuşak dokulara olağan bir hasar vermediği sonucundan yola çıkılarak, osteotomiler için ultrasonik dalgaların kullanımı rutin bir işlem haline gelmeye başlamıştır ( Stübinger S, 2005).

### **2.5.1 Piezocerrahinin tarihçesi**

Piezoelektrik etki ile oluşturulan ultrasonik vibrasyonun sert dokulardaki kesici etkisi ilk olarak Catuna tarafından 1953 yılında tanımlanmıştır (Catuna MC, 1953). Daha sonra 1974 yılında Volkov ve Shepeleva, 1981 yılında ise Aro ve arkadaşları tarafından ortopedik cerrahideki kullanımı tarif edilmiştir (Volkov MV ve Shepeleva IS, 1974; Aro H, 1981). Horton ve ark 1975 ve 1981 yıllarında piezocerrahi aletleri çene cerrahisinde ultrasonic osteotomiler oluşturmak üzere kullanmışlardır (Horton JE, 1975; 1981). 2000 yılında Vercellotti ve arkadaşlarının bu cihazların sinir ve yumuşak doku koruyucu özelliğini öne çıkarmasıyla kullanımları işlerlik kazanmıştır (Vercellotti T, 2005; Happe A, 2007).

2000 yılında kret genişletme konusunda ilk vaka çalışmaları yayınlanmış ve piezocerrahi aletlerinin seri çalışmalarına başlanmıştır. 2001 yılında piezocerrahi ile ilk sinüs lifting osteotomileri tarif edilmiş bunu takiben 2004 yılında ikinci jenerasyon piezocerrahi aletler piyasaya sunulmuştur. 2004 yılında piezocerrahi cihazı ile ilk ortognatik cerrahi operasyonlar gerçekleştirilmiştir. 2005 yılında ilk kez dental implant cerrahi uygulamalarında kullanılmıştır. Bu gelişmeyi takiben 2009 yılında üçüncü jenerasyon olan piezocerrahi aletler piyasaya sunulmuştur (Salami A, 2009; Gonzalez-Garcia A, 2008).

### **2.5.2 Piezoelektrik etki tanımı**

Piezoelektrik etki, üzerine elektrik akımı uygulanan quartz gibi bazı kristaller ve seramik malzemelerin polaritenin yönünde genleşip, polariteye dik yönde büzülmesi, daralması şeklinde ultrasonik bir frekansta salınım yapması, ultrasonik vibrasyon oluşturmasıdır. Yunanca basınç anlamına gelen “piezein” sözcüğünden türetilen “piezo”

sözcüğü ile tanımlanmıştır.. Elektrik akımının ultrasonik dalgaya dönüştürülmesi ile mikrovibrasyon elde edilmesi olayıdır. Piezocerrahi, mikro titreşimlerle kemiği kesmek için geliştirilmiş bir sistemdir. Bu titreşim hareketi piezoelektrik etkisi tarafından oluşturulur ( Schaeren S, 2008; Salami A,2009).

### **2.5.3 Piezocerrahi çalışma prensipleri**

Piezocerrahi; oral cerrahi, implantoloji ve maksillofasiyal cerrahi için ultrasonik mikro titreşimlerin komşu yumuşak dokulara hasar vermediği sonucundan ve daha hassas ve güvenli kemik kesim yapılabildiğinden yola çıkılarak geleneksel yöntemleri tamamlamak ve bazı vakalarda geleneksel yöntemlerin yerini almak için tasarlanmıştır (Eggers G, 2004; Coluzzi DJ, 2007).

Bu yöntem, ultrasonik mikrovibrasyonlarla çalışan, yumuşak dokuda nekrozlara sebep olmadan kemik osteotomileri yapmaya veya aşındırmaya yarayan, hassas, güvenli ve gelişmekte olan bir sistemdir (Munoz-Guerra MF, 2009; Hoigne DJ, 2006).

Piezocerrahi cihazı, üzerindeki ayar düğmeleri ile frekans ve kesme enerjisi açısından değişiklik yapılabilen mikrometrik, ultrasonik piezoelektrik titreşimler uygulayan çok amaçlı bir cihazdır. Piezocerrahi cihazı, ayak pedalı ile kontrol edilen elektrik ünitesi, ünite üzerinde ayar düğmeleri, piyasemen benzeri el parçası, irigasyon ünitesi ve el parçasına vidalanan farklı amaçlar için tasarlanmış değişik şekillerdeki uçlardan oluşur (Şekil 2-5). Bu uçlar otoklavlanabilir özel amaçlı ve kesici uçlardır. 5 W' ı aşan ve 16 W'a kadar ulaşan ultrasonik güç tarafından her biri 60 ile 210 um uzuluğunda, çizgisel titreşim şeklinde hareketler oluştururlar. Titanyum veya farklı sınıfta elmasla kaplı olabilirler (Barone A, 2008; Eggers G, 2004).



**Şekil 2-2:** Piezocerrahi cihazı

Piezocerrahi cihazlar genellikle 25 ila 29 kHz fonksiyonel bir frekans arasında çalışılır ancak istendiği takdirde 30 kHz' e kadar dijital olarak ayarlanabilme olanağı mevcuttur. Bu sıralı değişim kesici uçların kemiğe gömülmesini ve maksimum kesme kapasitesi sırasında aşırı ısınmasını engeller. Cihazın üzerinde ayarlanabilir steril solüsyon akışına izin veren soğutucu irrigasyon sistemi mevcuttur ( Walsh LJ, 2007; Wallace SS, 2007).

Piezocerrahi aletler normal ultrasondan 3 kat daha kuvvetlidirler ve bu nedenden dolayı etkili bir şekilde mineralize dokuyu kesebilirler. Dokuya özel seçici kesme özelliği dokuların su içeriğine, gerilme kuvvetine ve dokuların birbirinden farklı yoğunluklarına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Azaltılmış titreşim mesafesi ve titreşimlerin çizgisel oluşu, özellikle makro titreşimler kullanarak çalışan ossilasyon testereleri ve sadece makro düzeyde dönel hareket yaparak çalışan kemik frezleri gibi geleneksel kemik kesim metotları ile karşılaştırıldığında çok kolay intraoperatif uygulama ve hassas kesim olanağına izin verip, aleti manipülasyonu kolay bir hale getirmektedir. Piezocerrahinin en önemli avantajı doku sertliğini tanıyabilmesinden dolayı seçici kesim yapması ve mineralize dokular üzerinde çalıştığından mukoza,

epitelyal membranlar ve sinir ve damar gibi yumuşak dokulara zarar vermemesidir ( Vercellotti T, 2005; Stübinger S, 2005; Salami A, 2009).

Elektriksel akımı ultrasonik vibrasyona çeviren ve titreşimler halinde kullanıma sunan bölüm el parçası içindedir ve “transduser” olarak adlandırılır. Elektrik akımı el parçasının uç kısmına yakın konumlanmış piezoelektrik özellikteki seramik halkalarda deformasyon ve elektriklenme oluşturur. Halkalar genişleyip daralarak titreşirler. Transduser boyunca iletilen titreşimin şiddeti uçta bulunan amplifikatör tarafından artırılır. Böylece aktif uç polarizasyon yönünde ve daha bir miktarda polarizasyona dik ekseninde titreşir ( Vercellotti T, 2005; Sohn DS, 2007).

Piezoelektrik prensipler uyarınca oluşturulan ultrasonik vibrasyon, aletin uç kısmına takılan uçta titreşime sebep olur. Polarizasyonun yönündeki titreşimin genliği, markaya göre değişmekle birlikte 40-200 mikron arasında, vertikal titreşim ise 20-60 mikron arasında değişmektedir (SchleeM, 2006).

Ultrasonik vibrasyona maruz kalan materyalin üzerinde devamlı olarak tekrarlayan baskı ve çekme kuvvetleri etkili olur ve bu kuvvetler materyalin sıvı içeriği üzerindeki ve ortamdaki sıvı üzerindeki atmosferik basıncı düşürerek sıvıyı buharlaşma seviyesine çeker. Vibrasyonun en hızlı olduğu aletin uç kısmında halka benzeri kabarcıklar oluşur. Bu kabarcıklar sıvı veya gaz dolar ve vibrasyona devam eder. Gittikçe büyüyen kabarcıklar bir aşamada patlayarak çok sayıda küçük kabarcığa dönüşür. Bu mikropatlamlar bir şok dalgası oluşturur ve buna kavitasyon adı verilir ( Schaeren S, 2008, Vercellotti T, 2005; Stübinger, 2005).

Kemik cerrahisinde kavitasyon etkisi önemlidir. Kavitasyon esnasında enerji açığa çıkarak lokal ısı artışı ve basınç değişimine sebep olur. Kavitasyonun bakteri hücre duvarını parçaladığı ve antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu bildirilmiştir (Sakkas N, 2008).

Kavitasyon etkisi sayesinde titreşim yapan kesici ucun oluşturduğu gaz baloncuklarının kan damarlarının içine doğru hareket etmesi sonucunda hemostatik etki sağlanır. Buna bağlı olarak dönen aletlerle yapılan osteotomi işlemine göre daha az kanın olduğu ve daha iyi görüş sağlanan bir alanda çalışma imkanı sunar. İrrigasyon sıvısına uyguladığı titreşimler sayesinde operasyon alanı doku artıklarından arındırılır

ve dezenfeksiyon sağlanır ( Robiony M, 2007; Sakkas N, 2008; Eggers G, 2004)

#### 2.5.4 Piezocerrahi uçlar:

Piezocerrahi uçlar otoklavlanabilir özel amaçlı ve kesici uçlardır (Şekil 2-6). 5 W' ı aşan ve 16 W'a kadar ulaşan ultrasonik güç tarafından her biri 60 ile 210 um uzuluğunda, çizgisel titreşim şeklinde hareketler oluştururlar. Titanyum veya farklı sınıfta elmasla kaplı olabilirler (Robiony M, 2007; Sakkas N, 2008; Eggers G, 2004).



Şekil 2-3: Piezocerrahi uçlar

##### 2.5.4.1 SC uçlar:

SC uçlar, alveolar sırtın bölünmesi, atravmatik vertikal kemik insizyonu ve hassas osteotomiler için geliştirilmişlerdir (Şekil 2-7). Düz sırtı sayesinde özellikle ince alveol kemiği ortadan ayırma işlemlerinde başarılı sonuçlar elde edilir. Split osteotomi sırasında kemiğin kırılma riski aşırı kortikal durumlarda dahi önemli ölçüde düşüktür (Robiony M, 2007; Sakkas N, 2008; Eggers G, 2004).



**Şekil 2-4:** SC uç

#### **2.5.4.2 SL1 uçlar:**

SL1 uçlar, otojen kemik elde etmek ve atravmatik horizontal kemik insizyonu için geliştirilmişlerdir (Şekil 2-8). Uçların testere şekli kavite oluşumunda kolaylık sağlar. Kortikal kemiklerde , kesim etkinliğinin yüksek olması saptanan olgularda idealdir (Robiony M, 2007; Sakkas N, 2008; Eggers G, 2004).



**Şekil 2-5:** SL1 uç

### 2.5.4.3 SL2 uçlar:

SL2 uçlar; yuvarlak künt ucu itibariyle daha kontrollü osteotomiler için idealdir (Şekil 2-9). Sinüs yükseltme gibi scheineider membranın korunması gereken durumlar için ve zor horizontal kesiler için kullanılır (Robiony M, 2007; Sakkas N, 2008; Eggers G, 2004).



Şekil 2-6: SL2 uç

### 2.5.4.4 SL3 uçlar:

SL3 uçlar özellikle sinüs yükseltme cerrahisi sırasında, osteotomi sonrasında ortaya çıkan sinüs membranını kemik duvardan ayırabilmek için geliştirilmiş bir uçtur(Şekil 2-10). Kemik duvarı ile membranı arasında oluşabilecek perforasyon riskini azaltır, piezocerrahi tekniğin titreşimi ile membran kemikten ayrılır ( Robiony M, 2007; Sakkas N, 2008)



**Şekil 2-7:** SL3 uç

#### **2.5.4.5 SL4 uçlar:**

SL4 uçlar; otojen kemik partikülleri hazırlamak için geliştirilmiş uçlardır. Atravmatik bir şekilde kazıma yöntemiyle, uygun partikül boyutunda ve miktarında greft elde etmek için kullanılırlar (Şekil 2-11). Sinüs yükseltme işlemlerinde ulaşımın zor olduğu vakalarda da kullanıma uygundur ( Robiony M, 2007; Sakkas N, 2008; Eggers G, 2004).



**Şekil 2-8:** SL4 uç



Piezocerrahi cihazı aynı zamanda serum fizyolojik solüsyon aracılığıyla gerekli olan irrigasyonu da sağlar. Solüsyon ultrasonik titreşimlere maruz kalınca, çok küçük partiküllere parçalanarak çalışma alanını yıkar, artıkları ve kanı uzaklaştırarak, operasyon sahasının açıkça görülmesini sağlar. Piezocerrahi cihazının en dikkate değer özelliklerinden biri de cerrahın düzgün bir osteotomi hattı yapmasını kolaylaştıran manipülasyon kolaylığıdır. Düz olmayan tümsek yüzeylerde de uygulanabilir ve eğimli osteotomilerin kontrollü bir biçimde yapılmasına izin verir. El parçasını kullanmanın etkili yolu yüksek hızda ve en düşük basınçta kullanmaktır çünkü çalışma basıncını artırmak titreşimlerin kesilmesine yol açar. Ayarların uygun olan tedavi seçeneğine göre ayarlanması tedavi etkinliğinin artırılmasında önemli bir rol oynamasının yanında komşu dokulardaki yan etkilerin azaltılması açısından da ciddi bir önem sahiptir ( Robiony M, 2007; Sakkas N, 2008; Eggers G, 2004).

Piezocerrahi cihazının çalışma prensibi ve kullanımı diğer geleneksel cihazlardan tamamiyle farklılık gösterdiğinden yeterli beceriyi kazanmak etkin kullanım bakımından çok önemlidir ve kullanımını öğrenmek bir miktar zaman almaktadır. Cerrahi sırasındaki herhangi bir problemin üstesinden gelmek için geleneksel tekniklerde ki gibi el parçasına uygulanan basıncı artırmak yerine, istenen sonucu elde etmek için doğru basıncı bulmak gereklidir. Piezoelektrik cerrahide çalışma basıncını belli bir sınırın üzerine çıkarmak, kesici ucun titreşimlerini engelleyerek ultrasonik enerjiyi ısı enerjisine dönüştürür ve bundan dolayı doku hasarı oluşabilir. Oral ve maksillofasiyal operasyonlarda kemiği kesmek için en etkili ayar maksimum irrigasyon ile maksimum güçtür . El parçası kemik üzerinde aşırı kuvvet uygulamadan düzgün bir şekilde kaydırılır. Kesme sesi etkin şekilde kesim yapmayı sağlayacak kuvvetin tespiti için akustik bir geri bildirim olarak kullanılabilir (Preti G, 2007; Coluzzi DJ, 2007).

Kesme işlemi, düşük kesim etkinliğine bağlı olarak konvansiyonel osteotomi cihazlarına oranla daha uzun zaman alır . Geleneksel tekniklere göre operasyon süresi biraz daha uzundur. Kemik yapı ve kalınlığı osteotomi süresinin uzunluğunda etkilidir (Munoz-Guerra MF, 2009; Landes CA, 2008).

### 2.5.5 Piezocerrahi kullanım alanları:

Oral ve maksillofasiyal cerrahide sert ve yumuşak dokular arasında yakın bir ilişki olduğundan komşu yumuşak dokulara gelebilecek cerrahi travmanın en aza indirgenmesi oluşabilecek doku nekrozunun önüne geçilmesi gereken her koşulda piezoelektrik cerrahinin kullanımı endikedir. Piezoelektrik cerrahi cihazı, kemik cerrahisi sırasında sinirler, damarlar, mukoza gibi çevre yumuşak dokulara zarar verme riskini en aza indirmektedir (Kotrikova B, 2006; Stübinger S, 2005; Schaeren S, 2008).

Histolojik bulgularla desteklenen çalışmalar ile piezoelektrik kesimin yüksek güvenliği ve hassaslığı doğrulanmış ve intraoperatif görüşün azlığına bağlı anatomik güçlüklerin veya operasyon bölgesinde vasküler yapılar, sinirler veya mukoza gibi hassas yapıların var olduğu durumlarda kullanımı önerilmiştir (Gleizal A, 2007; Salami A, 2009).

Diş çekimi, endodontik cerrahi, periodontal cerrahi, gömülü dişlerin açığa çıkartılması veya cerrahi çekimi, maksiller sinüs tabanının cerrahi olarak yükseltilmesi, alveoler kret genişletmesi, mental ve inferior alveoler sinirlerin yerlerinin değiştirilmesi, kist operasyonları, dental implant uygulamaları, osteoentegre implantların çıkartılması işlemleri; maksiller ve mandibuler ortognatik cerrahi işlemler, oral ve maksillofasiyal distraksiyon osteogenezisi, intraoral ve ekstraoral otojenik kemik greftlerin elde edilmesi, rinoplasti gibi estetik cerrahi işlemler, orta kulak tümörlerinin eksizyonu ve fasiyal sinir dekompresyonu gibi cerrahi işlemler ; kraniyal osteoplastiler, kafa tabanı ve spinal cerrahi gibi beyin ve sinir cerrahisi işlemleri ; hafif ortopedik cerrahi işlemler ve el cerrahisi işlemleri piezocerrahinin kullanım alanlarıdır ( Wallace SS, 2007; Volkov MV, 2009; Stübinger S, 2005)

### 2.5.6 Piezocerrahi uygulamanın avantajları:

Piezocerrahi uygulamaların en önemli avantajı mineralize dokular üzerinde seçici kesi yapabilme özelliğidir. Piezocerrahi cihaz özellikle mekanik veya termal yaralanmadan kaçınılan; sinirler, damarlar, schneider membranı ve dura mater gibi önemli yumuşak dokulara yakın uygulanacak kemik kesilerinin olduğu vakalarda

oldukça kullanışlıdır. Piezocerrahi cihaz ile çalışılan durumlarda sinir dokunun direk uç ile temasında dahi sinirin yapısal bütünlüğünde bir bozulma meydana gelmez, fonksiyonel olarak zarar uğramaz. Sinir dokusundaki zarar ancak, cihazın doğru kullanılmaması sonucu cihaz tarafından sinir üzerine aşırı kuvvet uygulamasına bağlı oluşur ( Gonzalez-Garcia A, 2008; Coluzzi DJ, 2007; Hoige DJ, 2006).

Piezoelektrik cerrahi uygulanmasından sonra yara iyileşmesinin geleneksel yöntemlerden daha hızlı olduğunu belirtilmiştir. Canlı osteositlere zarar vermediğinden iyileşme hızla gerçekleşir. Osteotomi ve osteoplasti işlemlerinde piezoelektrik cihazın geleneksel karbit ve elmas frezlere oranla daha iyi bir kemik iyileşmesi ve şekillenmesi sağlar. Piezocerrahi cihazıyla uygulanan osteotomide bozulmuş yara iyileşmesi veya alveolit gibi bir komplikasyonlarla karşılaşılması oranı daha düşüktür (Happe A, 2007; Vercellotti T, 2005).

Hastanın operasyon sonrasındaki rahatsızlık hissini azalmasına bağlı olarak piezoelektrik cerrahinin daha yüksek derecede kabul gördüğü kabul edilmiştir. Histolojik ve biyomoleküler çalışmalar piezoelektrik cerrahisinden sonra dokuların döner sistemlere oranla önemli ölçüde daha hızlı iyileştiğini kanıtlamıştır. Geleneksel sistemlerle yapılmış implant kavileri piezo sistemiyle yapılanlarla karşılaştırıldığında piezo sistemiyle hazırlanan kavilerde daha az enflamatuar hücre olduğu gösterilmiştir ( Gruber RM, 2005; Vercellotti T, 2005)

Piezoelektrik cerrahi cihazının önemli avantajlarından biri; ultrasonik frekansın oluşturduğu kavitasyon etkisidir. İrigasyon solüsyonu kavitasyon etkisi ile bölgeyi yıkar, küçük damarları tıkar, artıkları ve kanı uzaklaştırarak, operasyon sahasının açıkça görülmesini sağlar. Yüksek basınçlı hava ile çalışan dönel aletlerle yapılan osteotomilerde meydana gelen hava-su basınç spreyi yerine kavitasyon etki olduğundan, irrigasyon ile meydana gelen deri altı amfizem riski azaltılır ( Farin G, 1994; Torrella F, 1998; Stübinger S, 2005).

Piezoelektrik ameliyat sistemleri bir osteotomi yaratmak için ultrasonik mikro titreşimler kullanır. Bu mikro titreşimler ile kemikte mikrometrik hassasiyette kesiler yapılabilir. İlâveten, düz bir el aleti kullanan cerrahi frezlerle kıyaslandığında derin ağız boşluklarında zor bölgelere çeşitli açılara sahip uçları vasıtasıyla ulaşım kolaylığı sağlar. Piezocerrahi cihazı ince ve kontrollü bir osteotomi gerçekleştirir, otojen kemik

alınması gibi uygulamaları kolaylaştırır (Sivolella S, 2006; Munoz-Guerra MF, 2009).

Geleneksel yöntemler sonucu ortaya çıkan makro titreşimler ve gürültünün aksine piezocerrahide ultrasonik mikro titreşimler vardır ve bu da daha az titreşim ve ses anlamına gelir. Mikro titreşimler ve azalan ses lokal anestezi altındaki hastanın osteotomi sırasındaki korkusunu ve psikolojik stresi en aza indirger. Piezocerrahi cerrahi işlemler sırasında küçük kemik parçalarının mikrometrik seçici kesim özelliği sayesinde etkin şekilde hazırlanmasına olanak sağlar, dış yüzeyine zarar vermeden kök yüzeyine yakın kemik greftlerinin çıkarılmasını sağlar. Kemik kesileri istenilene çok yakındır (Geha HJ, 2006; Eggers G, 2004).

### **2.5.7 Piezocerrahi uygulamanın dezavantajları:**

Geleneksel tekniklere göre biraz daha uzun operasyon süresi vardır. Kesme işlem, frezi gibi konvansiyonel osteotomi cihazlarına oranla daha uzun zaman alır. Kemik yapıya ve kalınlığına bağlı olarak osteotomi süresi hatta daha fazla zaman alabilir (Salami A, 2009; Wallace SS, 2007).

Cihaz maliyeti pahalı bir cihazdır. Piezoelektrik cerrahide çalışma basıncını belli bir sınırın üzerine çıkarmak, kesici ucun titreşimlerini engelleyerek ultrasonik enerjiyi ısı enerjisine dönüştürür ve bundan dolayı doku hasarı oluşabilir. Cerrahi sırasındaki herhangi bir problemin üstesinden gelmek için geleneksel tekniklerdeki gibi el parçasına uygulanan basıncı artırmak yerine, istenen sonucu elde etmek için doğru basıncı bulmak gereklidir. Piezocerrahi cihazının çalışma prensibi ve kullanımını diğer geleneksel cihazlardan tamamiyle farklılık gösterdiğinden yeterli beceriyi kazanmak etkin kullanım bakımından çok önemlidir ve kullanımını öğrenmek bir miktar zaman almaktadır (Ueki K, 2004; Chiriac G, 2005; Hoigne Dj, 2006; Barone A, 2008).

### 3 GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1 Gereç

Çalışmamızda:

- 240±20 gram ağırlığında 13 haftalık erkek 40 adet Sprague Dawley cinsi sıçan
  - Ketanest® flakon (Ketamin HCl, Parke Davis,Almanya)
  - Rompun® flakon (Xylazin hidroklorid, Bayer Türk Kimya Sanayi Limited Şirketi, Türkiye)
  - Ameliyat seti
  - Tur motoru ve piyasemen
  - Piezocerrahi aleti ve uçları
  - 3 mm çapında yuvarlak uçlu paslanmaz çelik frez
  - 20 mm x 20 mm ebatlarında amnion membran ( Sterishield amnion patch 20mm x 20mm)
  - 3-0 yarım yuvarlak (.) 20 mm ipek dikiş ipliği (Doğsan Tibbi Malzeme Sanayi A.Ş., Türkiye)
- kullanılmıştır.

#### 3.2 Yöntem

##### 3.2.1 Deney hayvanları ve grupları

Çalışmamızda deney hayvanlarının ameliyatlarını İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında , kemik dokularının histopatolojik incelemelerini İstanbul Üniversitesi. Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Anabilim Dalı`nda gerçekleştirdik.

Çalışmamızda 40 adet Sprague Dawley cinsi  $240\pm 20$  gram ağırlığında 13 haftalık erkek denek, deney süresi boyunca  $21\pm 1$  C sıcaklıkta, bağıl nem oranı %40-60, ışık periyodu 12 saat aydınlık 12 saat karanlık standardını sağlayacak şekilde otomatize edilmiş olan ortamda, metal kafesler içerisinde muhafaza edilmişlerdir. Denekler normal su (çeşme suyu) ve İstanbul Yem Sanayii tarafından hazırlanan yemlerle beslenmiştir (Tablo 3-1).

Ham protein	En az	% 24
Ham selüloz	En az	% 7
HCl'de çözülmeyen kül	En çok	% 2
Kalsiyum	En az-en çok	% 1- % 2.8
Fosfor	En az	% 0.9
Sodyum	En az	% 0.5- % 0.7
Sodyum klorür	En çok	% 1
Lizin		% 1
Metiyonin	En az	% 0.6
Enerji	2650 kcal/kg	

**Tablo :** Katı yem içeriği

Çalışmamızda kullanılan tüm deneklerin sağ ve sol tibiaları deney protokolüne dahil edilmiştir. Araştırmamız 2 ana grup ve 7. ve 21. günlerde sakrifikasyon dönemlerine göre düzenlenmiş 4 alt grup içermektedir.

Belirlenen ana ve alt gruplar aşağıdaki gibidir;

### **Ana gruplar**

- 1. grup; sağ tibialarına piezzocerrahi ; sol tibialarına piyasemen ve çelik frez yardımı ile defekt açılan grup
- 2. grup; sağ tibialarına piezocerrahi; sol tibialarına piyasemen ve çelik frez yardımı ile defekt açılıp , defekt üzeri amnion zar membran uygulanan grup

### **Alt gruplar :**

#### **1.Grup**

20 denekten oluşan bu grupta, deneklerin sağ tibialarına piezocerrahi ; sol tibialarına piyasemen ve çelik frez yardımı ile defekt açılmıştır. Sakrifikasyon günlerine göre 2 alt gruba ayrılmıştır;

- a. Kemik defektleri yapıldıktan sonra 7. günde sakrifiye edilen denekler
- b. Kemik defektleri yapıldıktan sonra 21. günde sakrifiye edilen denekler

#### **2.Grup**

20 denekten oluşan bu grupta, deneklerin sağ tibialarına piezzocerrahi; sol tibialarına piyasemen ve çelik frez yardımı ile defekt açılıp , defekt üzerine amnion zarı membran uygulanmıştır. Sakrifikasyon günlerine göre 2 alt gruba ayrılmıştır.

- a. Kemik defektleri yapıldıktan sonra 7. günde sakrifiye edilen denekler
- b. Kemik defektleri yapıldıktan sonra 21. günde sakrifiye edilen denekler

### **3.2.2 Cerrahi uygulamalar**

Deneklere, 5 mg / kg Xylazin hidroklorid ve 6 mg / kg Ketamin HCL karışımının periton içine enjeksiyonu ile genel anestezi uygulanmıştır. Standart postürde sabitlenen deneklerin sağ ve sol arka bacaklarının medial yüzeyleri temizlenerek cerrahi saha povidon iyot çözeltisi ile silinmiştir (Şekil 3-1).



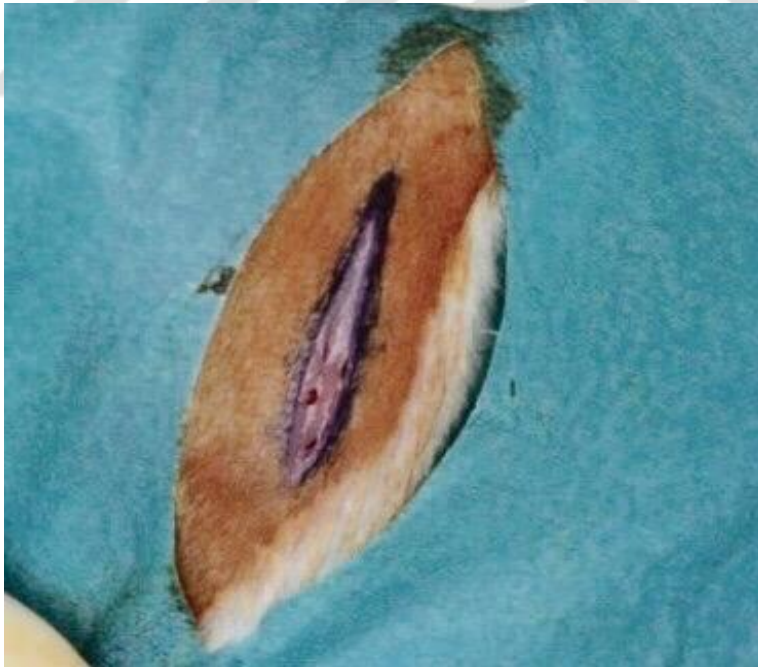
**Şekil 3-1:** Deneklerde cerrahi için hazırlanmış alan

Sağ ve sol bacaklar fleksiyon pozisyonuna getirilerek tibiaların medial yüzeylerine ulaşmak amacıyla 20-25 mm uzunluğunda longitudinal yönde cilt işaretlenmiştir (Şekil 3-2). Takiben cilt altı ve periost kesisi yapılmıştır (Şekil 3-3).





**Şekil 3-2:** Fleksiyon pozisyonuna getirilen tibiada insizyon sınırlarının belirlenmesi



**Şekil 3-3:** Cilt altı ve periost kesisi

Künt diseksiyonla sağ tibiaların medial yüzeyleri açığa çıkarılıp yumuşak dokular ekarte edilmiş, tur motoruna bağlı piyasemene takılan 3 mm çapındaki yuvarlak uçlu paslanmaz elik frezle, steril serum fizyolojik çözeltisi irrigasyonu altında 5 mm uzunluğunda 3 mm genişliğinde, kemiğin korteks ve medulla tabakalarını içine alan kemik defektleri oluşturulmuştur (şekil 3-4).

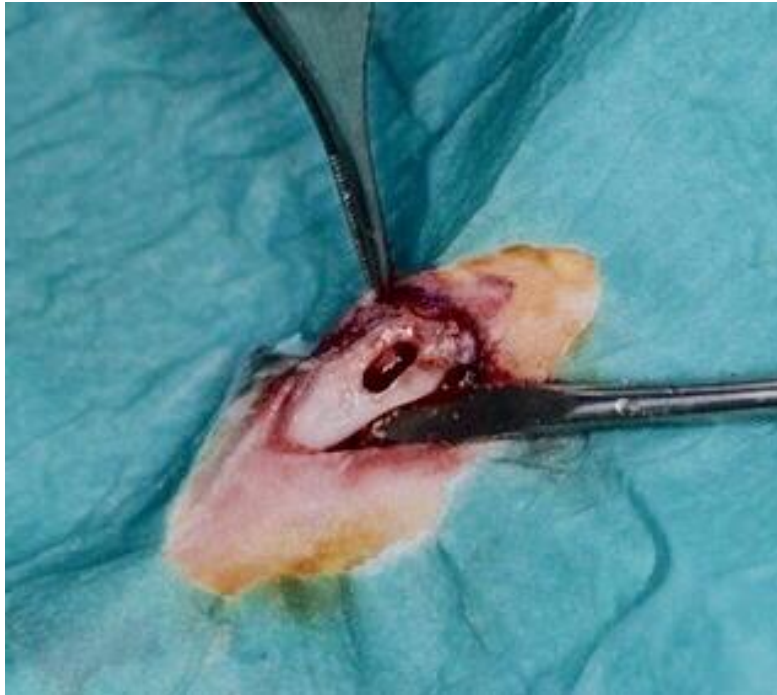


**şekil 3-4:** Serum irrigasyonu altında piyasemen ve elik frez yardımıyla deneklerin sağ tibialarında kemik defekti açılması

Künt diseksiyonla sol tibiaların medial yüzeyleri açığa çıkarılıp yumuşak dokular ekarte edilmiş piezocerrahi alet yardımıyla steril serum fizyolojik çözeltisi irrigasyonu altında 5 mm uzunluğunda 3 mm genişliğinde (şekil 3-5), kemiğin korteks ve medulla tabakalarını içine alan kemik defektleri oluşturulmuştur (şekil 3-6).



**Şekil 3-5:** Serum irrigasyonu altında piezocerrahi alet yardımıyla deneklerin sol tibialarında kemik defekti açılması



**Şekil 3-6:** Tibiada 5mm uzunluğunda 3mm genişliğinde hazırlanan kemik defekti

2. grubu oluşturan 20 deneğin tibialarında açılan defektlerin üzeri amnion zar membranı ile kapatıldı (Şekil 3-7; Şekil 3-8). Defekt çevresindeki yumuşak dokular serbestlenip ameliyat sahası ipek dikişlerle, dikiş araları eşit olacak biçimde kapatılmıştır. Denekler kontrol edilip yara bakımı yapıldıktan sonra kafeslere yerleştirilmiştir (Şekil 3-8.).

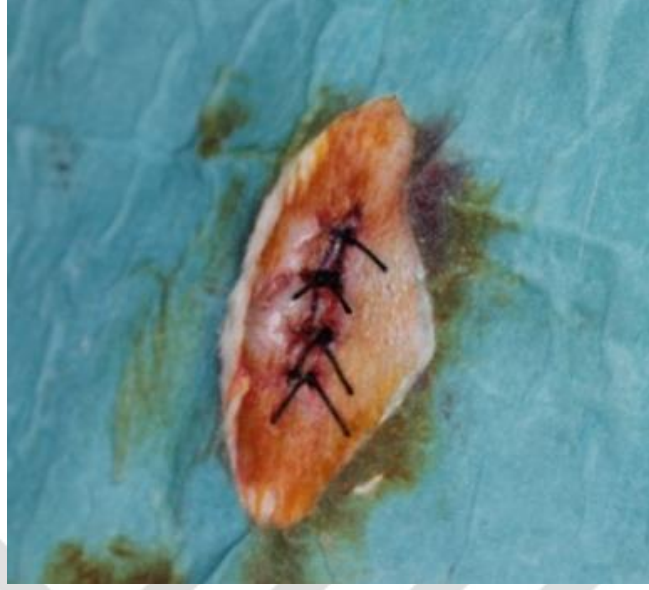


**Şekil 3-7:** Amnion zar



**Şekil 3-8:** 2. gruptaki deneklerin tibialarında açılan defektlerin üzerinde amnion zar membran uygulaması





**Şekil 3-9:** Defekt bölgesinin kapatılması

### 3.2.3 Işık mikroskopu takibi ve değerlendirme kriterleri

Yüksek dozda dietil eter anestezisinin irreversibl dönemdeki letal etkisi görüldükten sonra tüm deney ve kontrol gruplarının sakrifikasyon işlemleri tamamlandı. Sakrifikasyonun ardından sıçanların arka bacaklarında ameliyat bölgelerinin bulunduğu kısımlar çıkartıldı. %10' luk formol çözeltilisine alınan parçalar daha sonra yumuşak dokulardan temizlenerek defekt sahaları açığa çıkartıldı. Kemikler formik asit-sodyum nitrat çözeltilisine yerleştirildi ve 11-14 gün beklenerek dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyon süresince üç günde bir çözeltiler yenilendi. Daha sonra defekt sahalarını içine alacak biçimde kesilerek biçimlendirilen parçalar rutin takip yöntemleri ile işlem gördükten sonra enine kesit alınabilecek şekilde parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 5-7 µm kalınlığında seri kesitler alınarak lam üzerine yerleştirildi ve 70°C sıcaklıktaki etüvde deparafinize edildi. Daha sonra hematoksilin eosin (H&E) boyası ile boyandı ve ışık mikroskopunda farklı büyütmelemlerde incelendi.

Bütün gruplardan 7. ve 21. günlerde elde edilen kesitler aşağıdaki kriterlere göre değerlendirildi:

- İltihap
- Nekroz
- Fibröz doku oluşumu
- İyileşme skoru
- Yeni kemik yapımı
- Yabancı cisim reaksiyonu

#### **İltihabın değerlendirilmesi;**

%0 - %5 arası alanı kaplıyorsa (0)

%5 – %30 alanda ise (1),

%30– %60 arasında ve 1-2 mikro abse odağı içeriyorsa (2),

%60'ın üzerinde / çok sayıda mikro abse odakları içeriyorsa (3) olarak değerlendirildi.

#### **Nekrozun değerlendirilmesi;**

%0 - %5 arası alanı kaplıyorsa (0)

%5 – %30 arası (1),

%30 – %60 arası (2),

%60'tan fazla ise (3) olarak değerlendirildi.

#### **Fibrozin değerlendirilmesi;**

%0 - %5 arası alanı kaplıyorsa (0)

%5 – %30 arası (1),

%30 – %60 arası (2)

%60'tan fazla ise (3) olarak değerlendirildi.

**Yeni kemik yapımının değerlendirilmesi;**

%0 - %5 arası alanı kaplıyorsa (0)

%5 – %30 arası alanı kaplıyorsa (1),

%30 – %60 arası alanı kaplıyorsa (2)

%60'tan fazla alanı kaplıyorsa (3) olarak değerlendirildi.

**İyileşme Skorunun değerlendirilmesi;**

Fibröz doku (0)

Tamamlanmamış kıkırdak yapı (fibröz doku ile birlikte kıkırdak yapı) (1)

Tamamlanmış kıkırdak yapı (2)

Osifikasyon fazındaki tamamlanmamış kemik yapı (3)

Osifikasyonun orta fazındaki tamamlanmamış kemik yapı (4)

Osifikasyonun ileri fazındaki tamamlanmamış kemik yapı (5)

Tamamlanmış kemik yapı (6) olarak değerlendirildi.

**Yabancı cisim reaksiyonunun değerlendirilmesi;**

Var,

Yok olarak değerlendirildi.

## 4 BULGULAR

### 4.1 Işık mikroskobu değerlendirmeleri

Parafin bloklardan 5-7 µm kalınlığında alınan seri kesitler; hematoksilin eosin (H&E) boyası ile boyanıp ışık mikroskopunda farklı büyütmelerde incelendi.

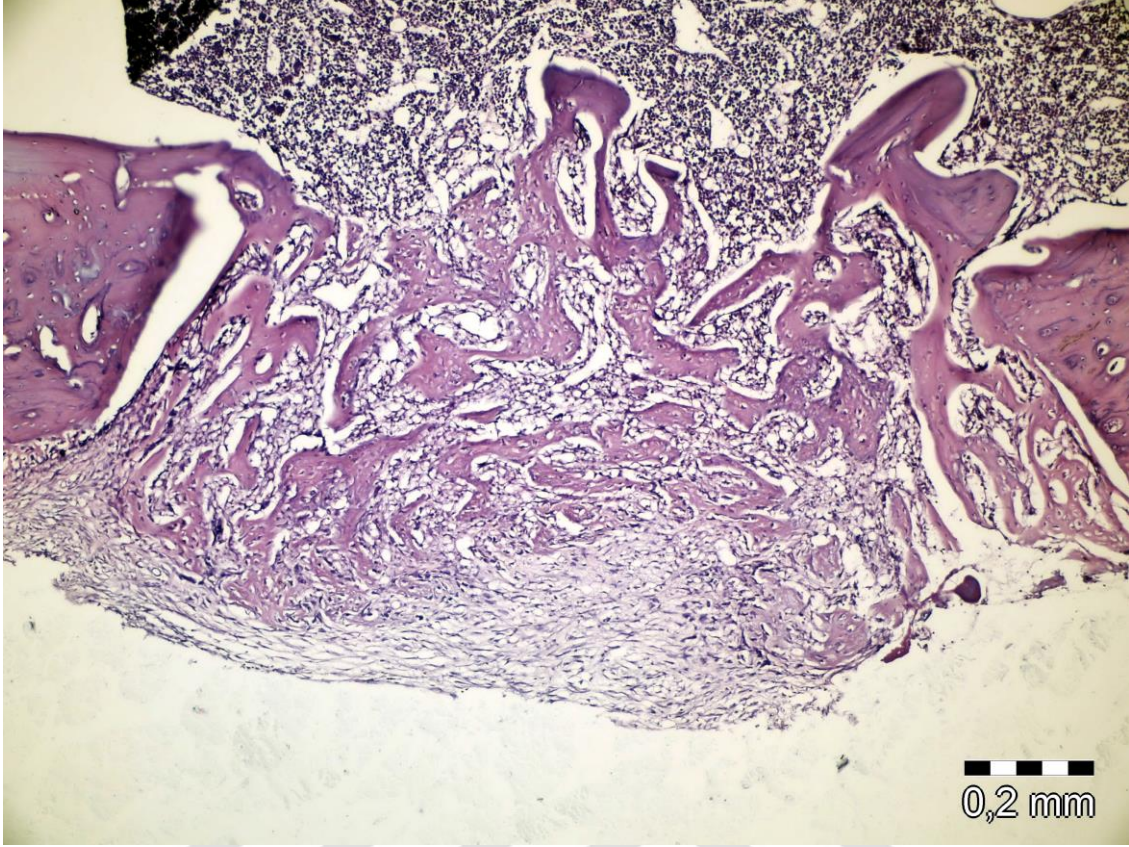
#### 4.1.1 1. Grup: Amnion zar membran uygulanmayan gruplar

20 denekten oluşan; sağ tibialarına piezocerrahi ; sol tibialarına piyasemen ve çelik frez yardımı ile defekt açılan gruplardır. Sakrifikasyon günlerine göre; 7. Gün ve 21. Gün olmak üzere 2 alt gruba ayrılıp ışık mikroskobu değerlendirmeleri yapıldı.

##### 4.1.1.1 7 günlük konvansiyonel cerrahi grubu

Defekt bölgesinde damardan zengin gevşek yapıda bağ dokusu içinde, ince, birbirleriyle anastomozlar yapan yeni yapılan ağsı kemik trabekülleri izlenmekteydi. Defekt bölgesinin yüzeyinde, kalınca, hafif derecede iltihapsal infiltrasyon içeren, aktif fibröz doku görülmekteydi (Şekil 4-1).

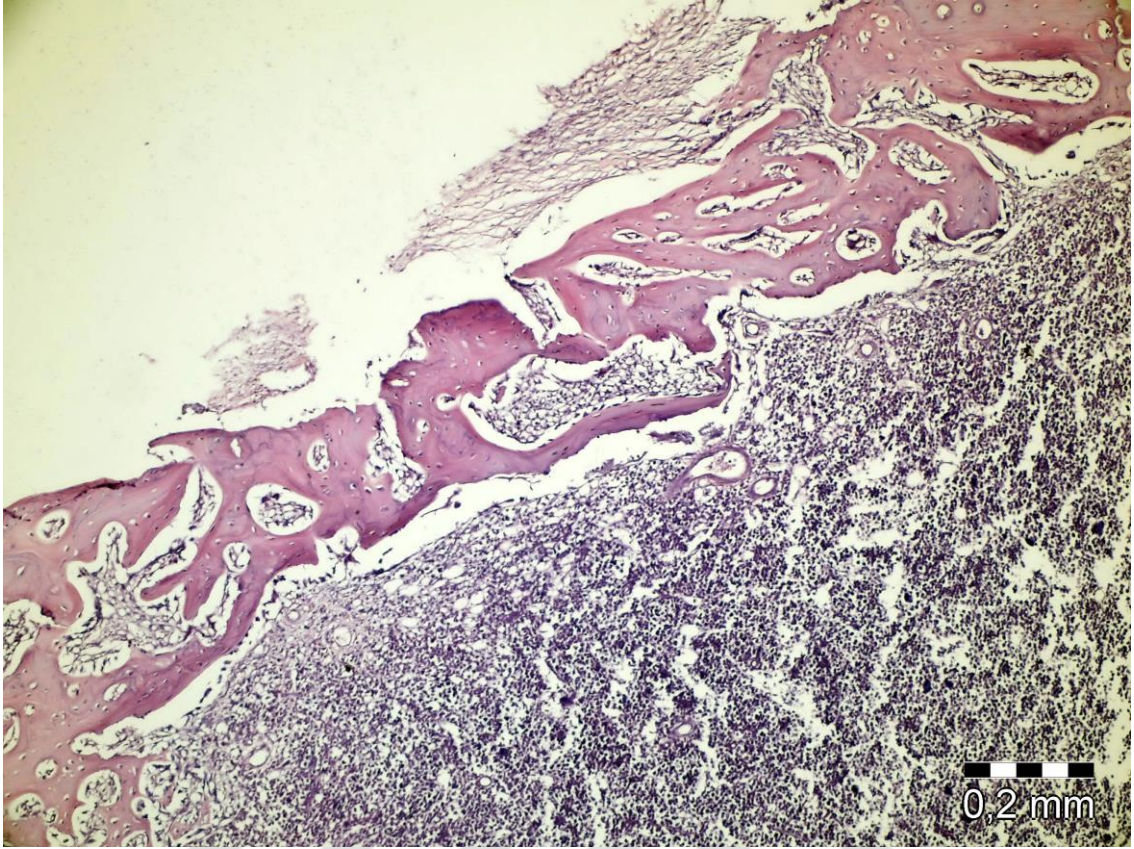




**Şekil 4-1:** Defekt bölgesinde, fibröz doku içinde yeni kemik trabekülleri ( H&E X 100)

#### **4.1.1.2 21 günlük konvansiyonel cerrahi grubu**

Defekt bölgesinde kırık fragmanları arasında kalınca köprü biçiminde, lameller hale gelmeye başlamış kortikal kemik dokusu görülmekteydi, periosteal ve endosteal bölgelerdeki fibröz doku incelmış, yer yer ortadan kalkmıştı, kemik iliği hipersellüler görünümdeydi (Şekil4-2).

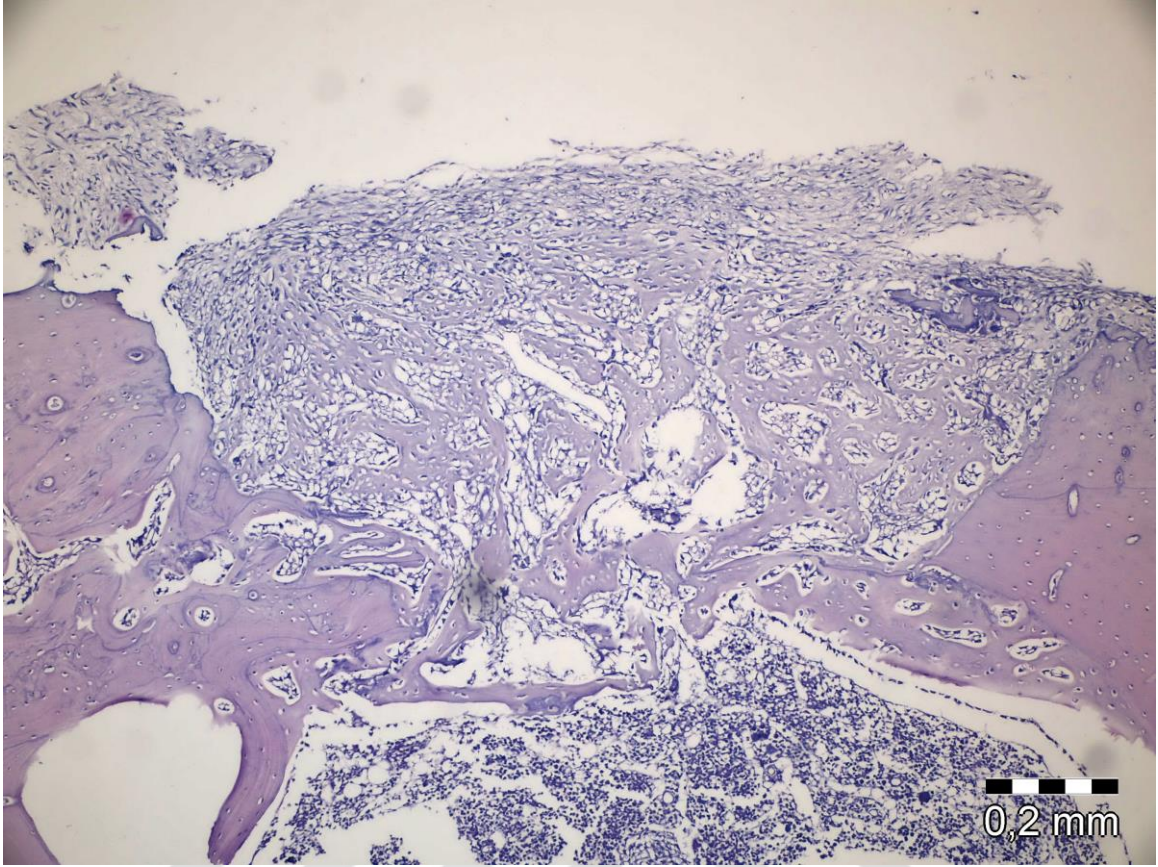


Şekil 4-2: Defekti köprü biçiminde kapatan kortikal kemik dokusu (H&EX100)

#### 4.1.1.3 7 günlük piezocerrahi grubu

Defekt bölgesinde defekt duvarları arasında damardan zengin, hafif iltihapsal infiltrasyon içeren , aktif fibröz doku içinde, ince, anastomozlar yapan yeni kemik trabekülleri izlenmekteydi (Şekil4-3).

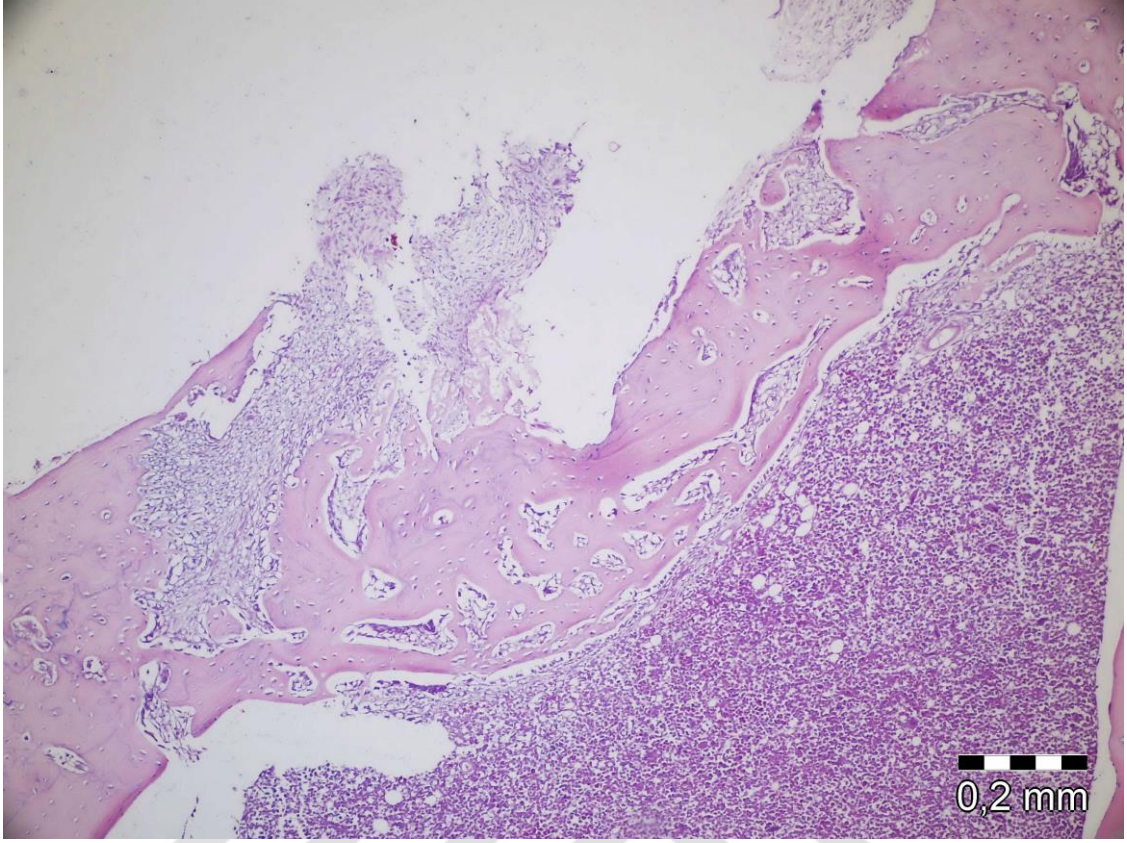




**Şekil 4-3:** Defekt bölgesini dolduran fibröz doku ve içinde ince yeni kemik trabekülleri (H&E X100)

#### **4.1.1.4 21 günlük piezocerrahi grubu**

Defekt bölgesinde, defekt duvarları arasında köprü oluşturan ve defeki kapatan biçimde, olgunlaşmış, kompakt kemik dokusu görülmekteydi, kemik dokusu çevresinde osteoklastlar izlenmekteydi (Şekil4-4).



**Şekil 4-4:** Defekti köprü biçiminde kapatan kortikal kemik dokusu (H&E X100)

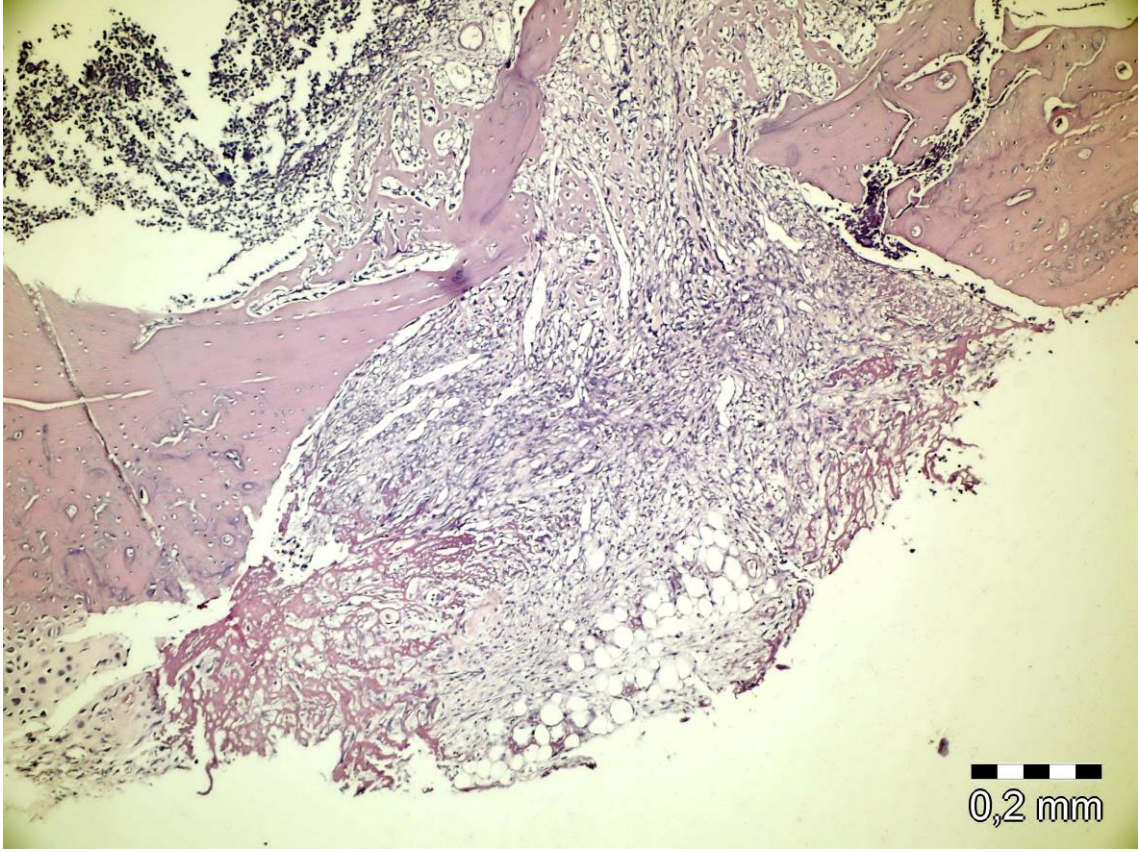
#### 4.1.2 2.Grup Amnion zar membran uygulanan gruplar

20 denekten oluşan; sağ tibialarına piezocerrahi ; sol tibialarına piyasemen ve çelik frez yardımı ile defekt açılıp, defekt üzerine amnion zarı uygulanan gruplardır. Sakrifikasyon günlerine göre; 7. Gün ve 21. Gün olmak üzere 2 alt gruba ayrılıp ışık mikroskobu değerlendirmeleri yapıldı.

##### 4.1.2.1 7 günlük konvansiyonel cerrahi + amnion zar membran grubu

Defekt bölgesinde defekti dolduran aktif fibröz doku içinde, kırık duvarlarına yakın ve yer yer değim halinde oluşan az miktarda ince yeni kemik trabekülleri izlenmekteydi. Çevrede hafif derecede iltihapsal hücre infiltrasyonu saptanmaktaydı (Şekil4-5).

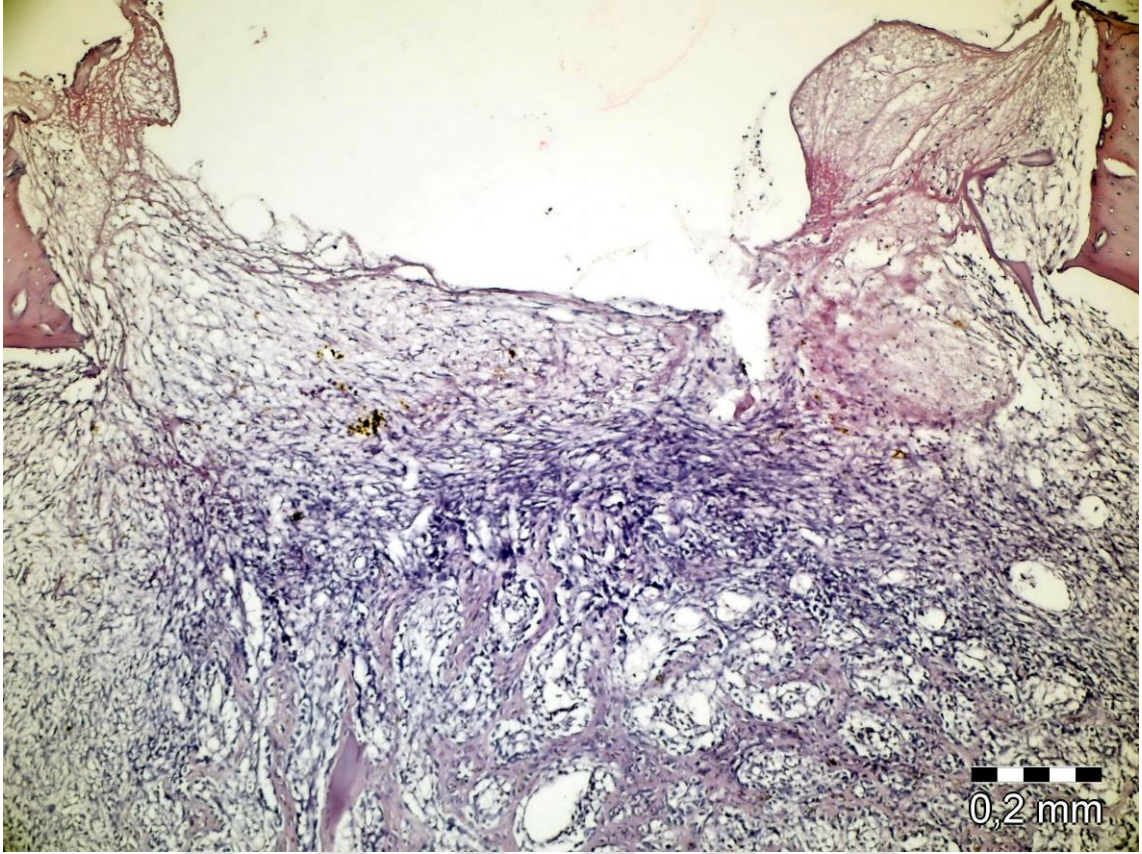




**Şekil 4-5:** Defekt duvarlarından başlayan ince kemik tabekülleri ( H&E X100)

#### **4.1.2.2 7 günlük piezocerrahi + amnion zar membran grubu**

Defekt bölgesinde aktif fibröz doku içinde az miktarda, ince kemik trabekülleri izlendi, periosteal yüzeyde fibröz dokunun geniş alanlarda, miksomatöz, dejenerasyon alanları içerdiği görüldü(Şekil4-6).

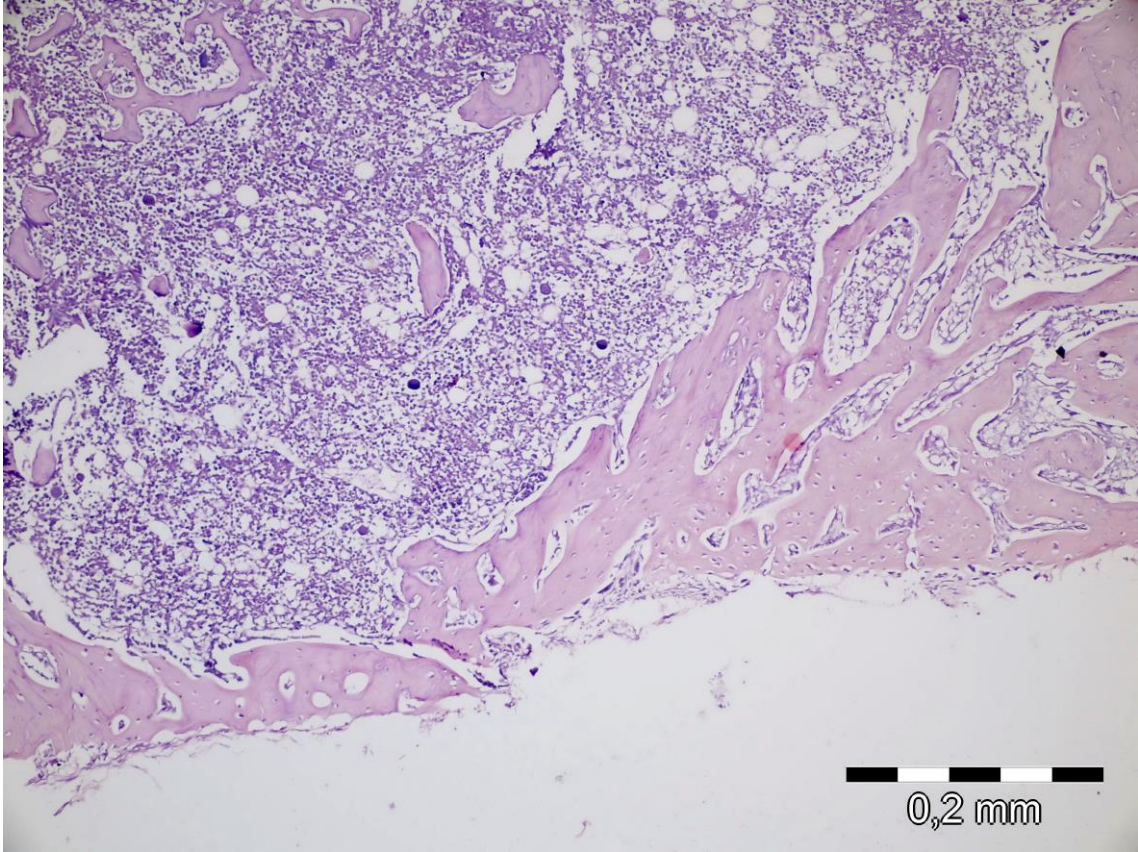


**Şekil 4-6:** Defekti dolduran fibröz dokuda miksomatöz dejenerasyon ve altında ince kemik trabekülleri.

#### **4.1.2.3 21 günlük konvansiyonel cerrahi + amnion zar membran grubu**

Defekt bölgesinde defekti büyük ölçüde kapatan, köprü biçiminde kompakt kemik dokusu görüldü. Defektin ortasında henüz kemikleşmemiş küçük bir alan bulunmaktaydı. Çevrede fibröz doku oluşumu çok az olarak görüldü (Şekil4-7).

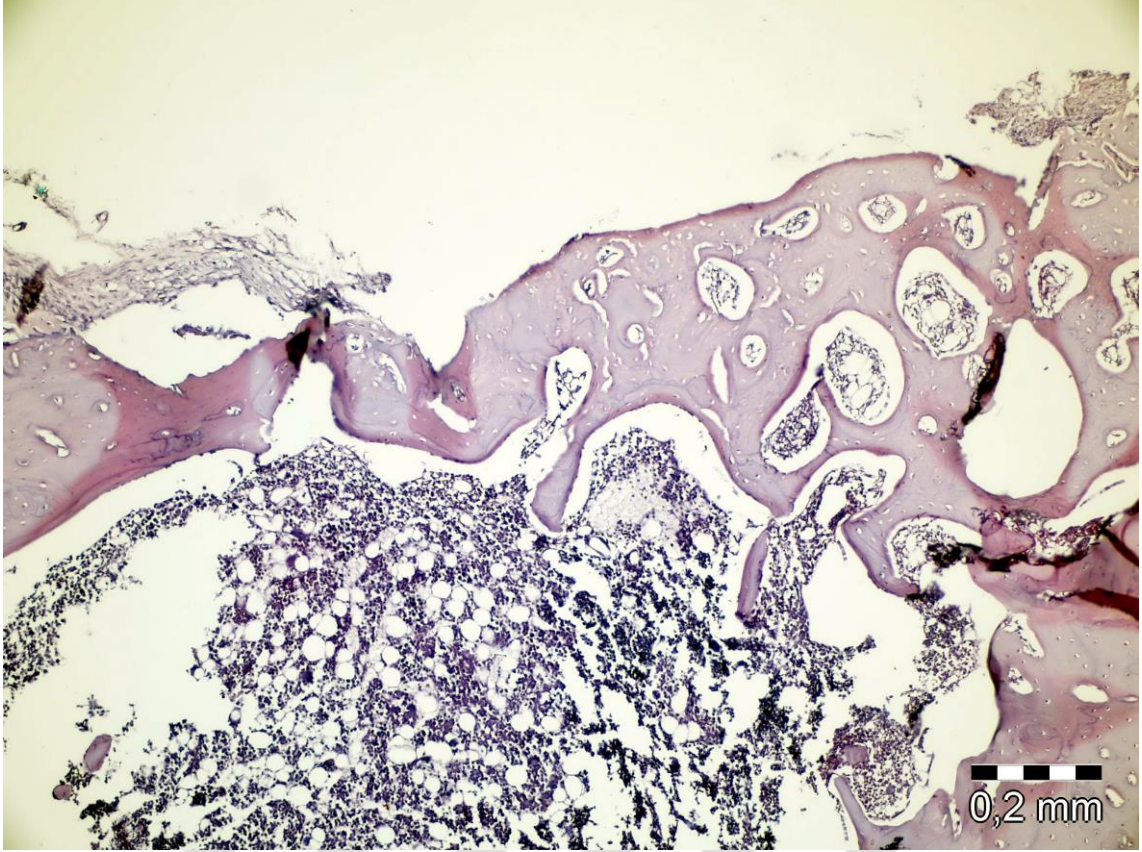




Şekil 4-7 : Defekti kapatan ince kortikal kemik dokusu (H&E X100)

#### 4.1.2.4 21 günlük piezocerrahi + amnion zar membran grubu

Defekt bölgesinde, defekti kapatmaya yönelik gelişen ve defekti büyük ölçüde kapatan ince kortikal kemik dokusu görülmekteydi (Şekil 4-8).



Şekil 4-8: Defekt bölgesinde ince, düzensiz kortikal kemik yapımı (H&E X100)

#### 4.2 İstatistiksel bulgular

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilks testi ile değerlendirilmiş ve parametrelerin normal dağılım göstermediği saptanmıştır. Parametrelerin iki grup arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U test kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Fisher's Exact Ki-Kare testi kullanıldı. Anlamlılık  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirildi.



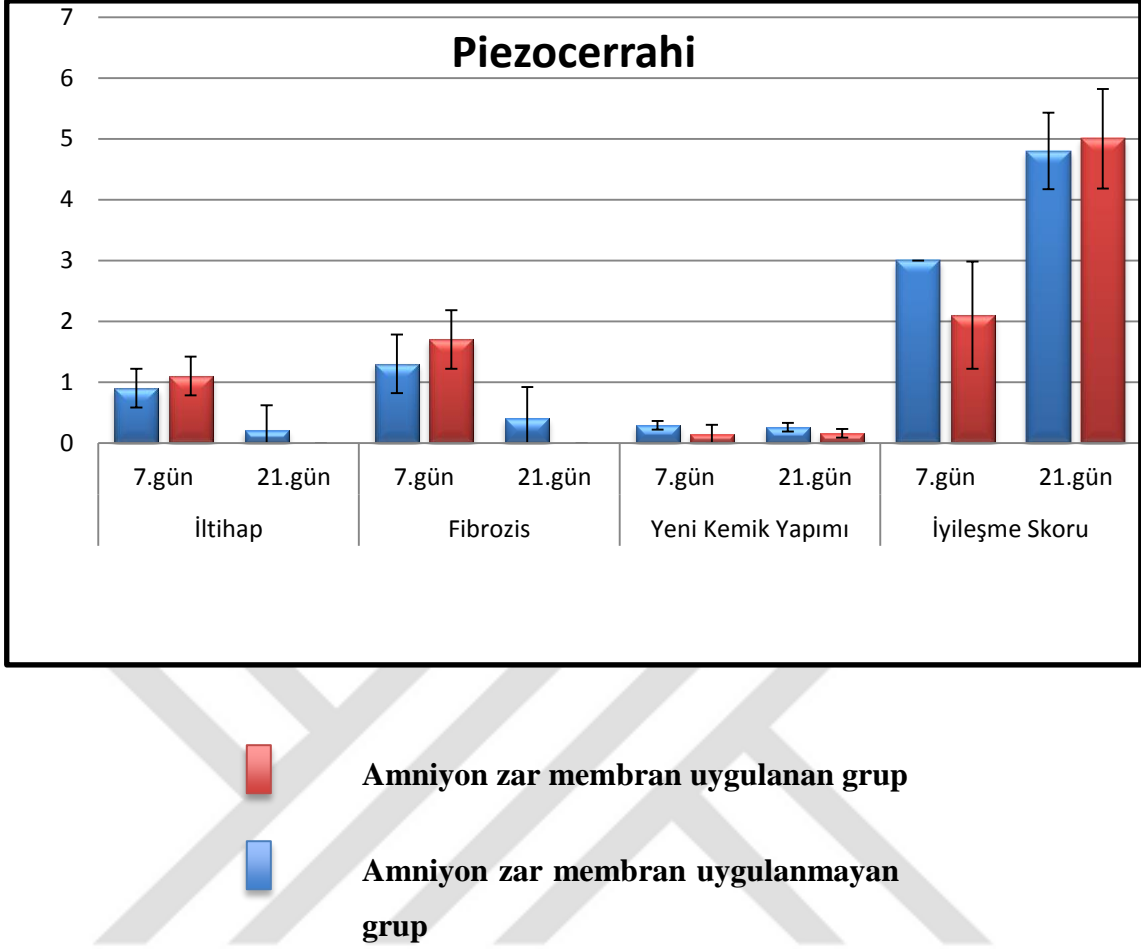
Piezocerrahi Cerrahi	Gün	Amniyon zar membran		<sup>1</sup> p
		uygulanmayan grup	uygulan grup	
		Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	
İltihap	7.gün	0,9±0,32 (1)	1,1±0,32 (1)	<b>0,168</b>
	21.gün	0,2±0,42 (0)	0±0 (0)	<b>0,146</b>
	<sup>1</sup> p	<b>0,002**</b>	<b>0,001**</b>	
Fibrozis	7.gün	1,3±0,48 (1)	1,7±0,48 (2)	<b>0,081</b>
	21.gün	0,4±0,52 (0)	0±0 (0)	<b>0,029*</b>
	<sup>1</sup> p	<b>0,002**</b>	<b>0,001**</b>	
Yeni Kemik Yapımı	7.gün	0,29±0,07 (0,3)	0,15±0,15 (0,1)	<b>0,008**</b>
	21.gün	0,26±0,07 (0,3)	0,16±0,07 (0,2)	<b>0,003**</b>
	<sup>1</sup> p	<b>0,343</b>	<b>0,648</b>	
İyileşme Skoru	7.gün	3±0 (3)	2,1±0,88 (2)	<b>0,005**</b>
	21.gün	4,8±0,63 (5)	5±0,82 (5)	<b>0,564</b>
	<sup>1</sup> p	<b>0,001**</b>	<b>0,001**</b>	
Nekroz n,%	7.gün	0 (%0)	2 (%20)	<b><sup>2</sup>0,474</b>
	21.gün	0 (%0)	0 (%0)	-
	<sup>2</sup> p	-	<b>0,474</b>	

<sup>1</sup>

Mann Whitney U Test

<sup>2</sup> Fisher's Exact Test\*  $p < 0.05$ \*\*  $p < 0.01$ 

**Tablo 4-1:** Piezocerrahi uygulanan grupta, gruplara ve günlere ilişkin istatistiksel değerlendirmeler



**Tablo 4-2:** Piezocerrahi uygulanan grupta, gruplara ve günlere ilişkin grafik değerlendirmeler

Piezocerrahi uygulanan grupta,

Amnion zar membranı uygulanan ve uygulanmayan grupların 7.gün iltihap düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ ).

Amnion zar membranı uygulanan ve uygulanmayan grupların 21.gün iltihap düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ ).

Amnion zar membran uygulanmayan grubun; 21.gündeki iltihap düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ( $p < 0.01$ ).

Amnion zar membran uygulanan grubun; 21.gündeki iltihap düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ( $p<0.01$ ).

Amnion zar membranı uygulanan ve uygulanmayan grupların 7.gündeki fibrozis düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ( $p>0.05$ ); Amnion zar membran uygulanmayan grubun; 21.gündeki fibrozis düzeyi, amnion zar membran uygulanan gruptan; anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

Amnion zar membran uygulanmayan grubun; 21.gündeki fibrozis düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ( $p<0.01$ ).

Amnion zar membran uygulanan grubun; 21.gündeki fibrozis düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ( $p<0.01$ ).

Amnion zar membran uygulanmayan grubun; 7.gün ve 21.gündeki yeni kemik yapımı düzeyi, amnion zar membran uygulanan gruptan; anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p<0.01$ ).

Amnion zar membran uygulanmayan grubun; 7. ve 21.gündeki yeni kemik yapımı düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Amnion zar membran uygulanan grubun; 7. ve 21.gündeki yeni kemik yapımı düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Amnion zar membran uygulanmayan grubun; 7.gündeki iyileşme skoru, amnion zar membrane uygulanan grubun 7. Gündeki iyileşme skorundan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p<0.01$ ). Amnion zar membranı uygulanan ve uygulanmayan grupların 21.gündeki iyileşme skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Amnion zar membran uygulanmayan grubun; 21.gündeki iyileşme skoru, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p<0.01$ ).

Amnion zar membran uygulanan grubun; 21.gündeki iyileşme skoru, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p<0.01$ ).

Amnion zar membranı uygulanan ve uygulanmayan grupların arasında 7.günde nekroz görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ). 21.günde amnion zar membranı uygulanan ve uygulanmayan gruplarda nekroz görülmemiştir.

Amnion zar membran uygulanmayan grupta; 7. ve 21.günde hiçbir hayvanda nekroz görülmemiştir.

Amnion zar membran uygulanan grupta; 7. ve 21.gündeki nekroz görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

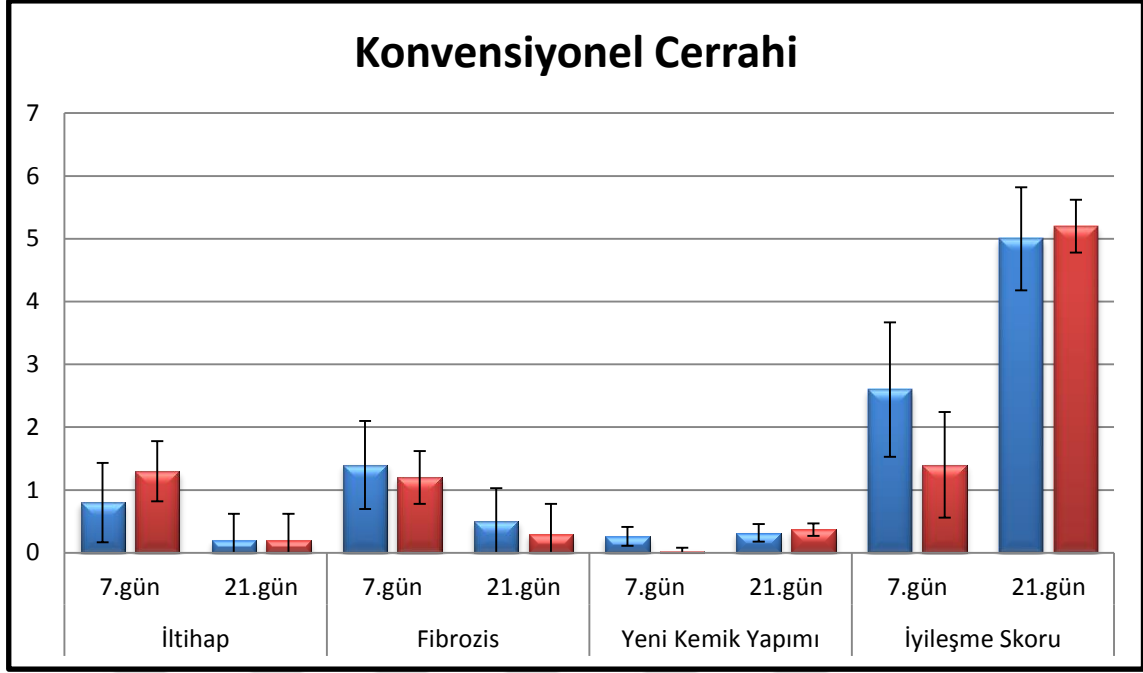
Konvensiyonel Cerrahi Gün	Amniyon zar membran uygulanmayan grup		Amniyon zar membran uygulanan grup	
		Ort±SS (medyan)		<sup>1</sup> p
İltihap	7.gün	0,8±0,63 (1)	1,3±0,48 (1)	<b>0,067</b>
	21.gün	0,2±0,42 (0)	0,2±0,42 (0)	<b>1,000</b>
	<sup>1</sup> p	<b>0,025*</b>	<b>0,001**</b>	
Fibrozis	7.gün	1,4±0,7 (1,5)	1,2±0,42 (1)	<b>0,335</b>
	21.gün	0,5±0,53 (0,5)	0,3±0,48 (0)	<b>0,374</b>
	<sup>1</sup> p	<b>0,008**</b>	<b>0,001**</b>	
Yeni Kemik Yapımı	7.gün	0,26±0,15 (0,3)	0,03±0,05 (0)	<b>0,003**</b>
	21.gün	0,32±0,14 (0,3)	0,37±0,1 (0,4)	<b>0,082</b>
	<sup>1</sup> p	<b>0,677</b>	<b>0,001**</b>	
İyileşme Skoru	7.gün	2,6±1,07 (3)	1,4±0,84 (1)	<b>0,015*</b>
	21.gün	5±0,82 (5)	5,2±0,42 (5)	<b>0,546</b>
	<sup>1</sup> p	<b>0,001**</b>	<b>0,001**</b>	
Nekroz n,%	7.gün	2 (%20)	6 (%60)	<b><sup>2</sup>0,170</b>
	21.gün	0 (%0)	1 (%10)	<b><sup>2</sup>1,000</b>
	<sup>2</sup> p	<b>0,474</b>	<b>0,057</b>	

<sup>1</sup> Mann Whitney U Test<sup>2</sup> Fisher's Exact Test

\* p&lt;0.05

\*\* p&lt;0.01

**Tablo 4-3:** Konvensiyonel cerrahi uygulanan grupta, gruplara ve günlere ilişkin istatistiksel değerlendirmeler



**Amnion zar membran uygulanan grup**



**Amnion zar membran uygulanmayan grup**

**Tablo 4-4 :** Konvensiyonel cerrahi uygulanan grupta, gruplara ve günlere ilişkin grafik değerlendirmeler

Konvensiyonel cerrahi uygulanan grupta,

Amnion zar membranı uygulanan ve uygulanmayan grupların 7.gün ve 21.günlerdeki iltihap düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Amnion zar membran uygulanmayan grubun; 21.gündeki iltihap düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

Amnion zar membran uygulanan grupta; 21.gündeki iltihap düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ( $p<0.01$ ).

Amnion zar membranı uygulanan ve uygulanmayan grupların 7.gün ve 21.günlerdeki fibrozis düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Amnion zar membran uygulanmayan grubun; 21.gündeki fibrozis düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ( $p<0.01$ ).

Amnion zar membran uygulanan grupta; 21.gündeki fibrozis düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ( $p<0.01$ ).

Amnion zar membran uygulanmayan grubun; 7.gündeki yeni kemik yapımı düzeyi, amnion zar membran uygulanan gruptan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p<0.01$ ). Amnion zar membranı uygulanan ve uygulanmayan grupların 21.gündeki yeni kemik yapımı düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Amnion zar membran uygulanmayan grubun; 7. ve 21.gündeki yeni kemik yapımı düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Amnion zar membran uygulanan grupta; 21.gündeki yeni kemik yapımı düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p<0.01$ ).

Amnion zar membran uygulanmayan grubun 7.gündeki iyileşme skoru, amnion zar membran uygulanan gruptan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Amnion zar membranı uygulanan ve uygulanmayan grupların 21.gündeki iyileşme skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Amnion zar membran uygulanmayan grubun; 21.gündeki iyileşme skoru, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p<0.01$ ).

Amnion zar membran uygulanan grupta; 21.gündeki iyileşme skoru, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p<0.01$ ).

Amnion zar membranı uygulanan ve uygulanmayan grupların arasında 7.günde ve 21.günde nekroz görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Amnion zar membran uygulanmayan grubun; 7. ve 21.gündeki nekroz görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Amnion zar membran uygulanan grupta; 21.gündeki nekroz oranı (%10), 7.günden (%60) daha düşük olmakla birlikte, bu farklılık anlamlılığa yakın ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

**Tablo 4-5:** Amnion zar membran uygulanmayan grupta ; cerrahi yönetime ilişkin istatistiksel değerlendirmeler

Amnion zar membran uygulanmayan grup	Gün	Piezzocerrahi Cerrahi	Konvensiyonel Cerrahi	<sup>1</sup> p
		Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	
İltihap	7.gün	0,9±0,32 (1)	0,8±0,63 (1)	<b>0,582</b>
	21.gün	0,2±0,42 (0)	0,2±0,42 (0)	<b>1,000</b>
Fibrozis	7.gün	1,3±0,48 (1)	1,4±0,7 (1,5)	<b>0,576</b>
	21.gün	0,4±0,52 (0)	0,5±0,53 (0,5)	<b>0,661</b>
Yeni Kemik Yapımı	7.gün	0,29±0,07 (0,3)	0,26±0,15 (0,3)	<b>0,820</b>
	21.gün	0,26±0,07 (0,3)	0,32±0,14 (0,3)	<b>0,404</b>
İyileşme Skoru	7.gün	3±0 (3)	2,6±1,07 (3)	<b>0,279</b>
	21.gün	4,8±0,63 (5)	5±0,82 (5)	<b>0,564</b>
Nekroz n,%	7.gün	0 (%0)	2 (%20)	<b><sup>2</sup>0,474</b>
	21.gün	0 (%0)	0 (%0)	-

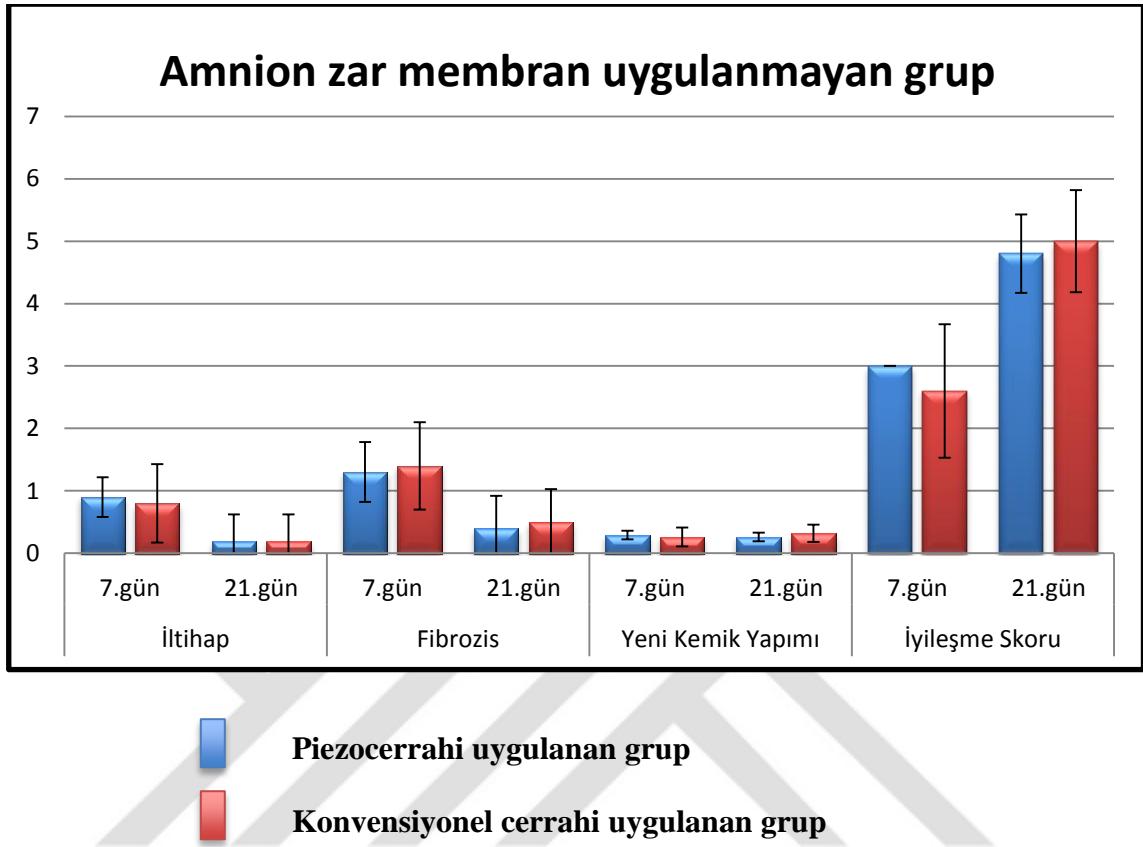
<sup>1</sup> Mann Whitney U Test

<sup>2</sup> Fisher's Exact Test

\*  $p<0.05$

\*\*  $p<0.01$





**Tablo 4-6:** Amnion zar membran uygulanmayan grupta ; cerrahi yönteme ilişkin grafik değerlendirmeler

Amnion zar membran uygulanmayan grupta;

Piezzocerrahi ve Konvensiyonel Cerrahi uygulanan grupların 7.gün ve 21.günlerdeki iltihap düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Piezzocerrahi ve Konvensiyonel Cerrahi uygulanan grupların 7.gün ve 21.günlerdeki fibrozis düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Piezzocerrahi ve Konvensiyonel Cerrahi uygulanan grupların 7.gün ve 21.günlerdeki yeni kemik yapımı düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

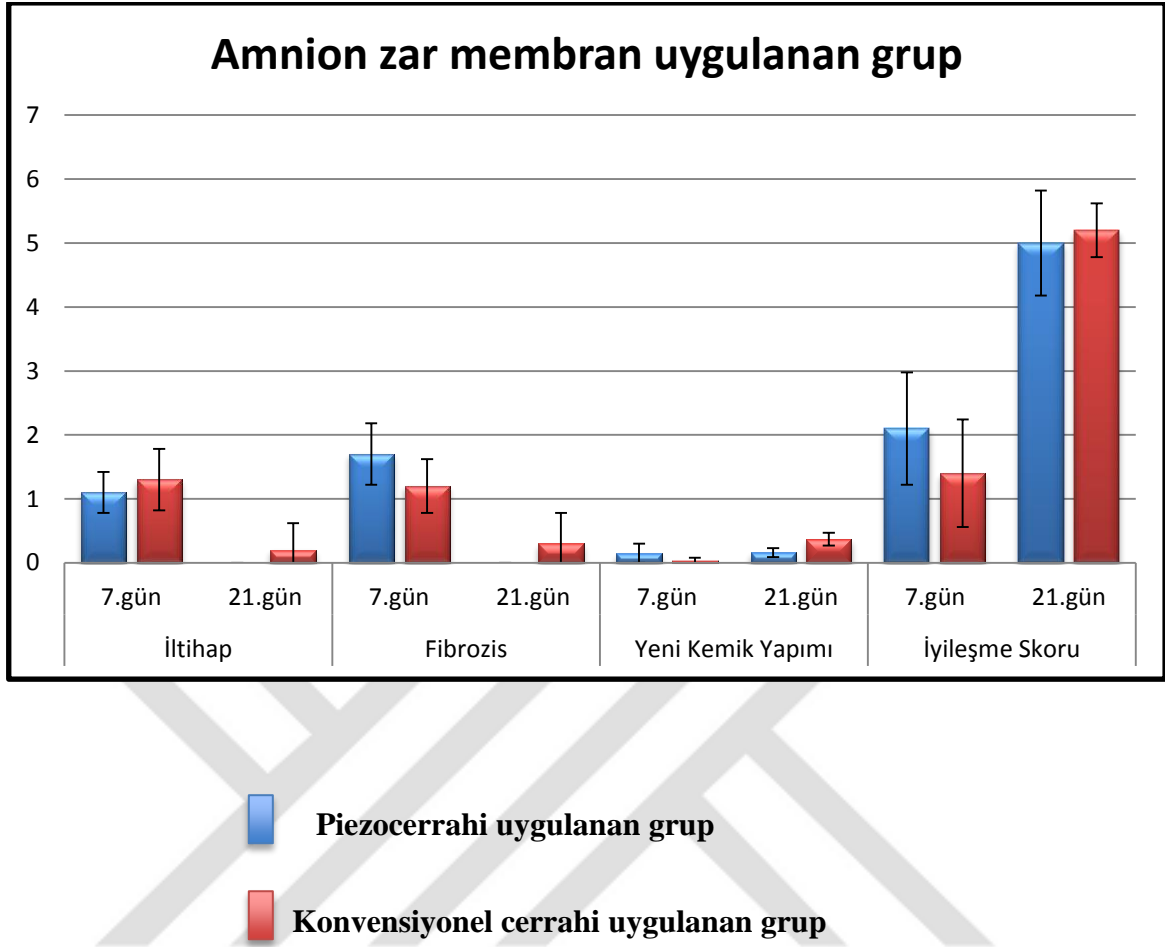
Piezzocerrahi ve Konvensiyonel Cerrahi uygulanan grupların 7.gün ve 21.günlerdeki iyileşme skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Piezzocerrahi ve Konvensiyonel Cerrahi uygulanan gruplar arasında 7.günde nekroz görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ). Amnion zar membran uygulanmayan grupta; 21.günde her iki cerrahi grubunda da nekroz görülmemiştir.

Deney	Gün	Piezzocerrahi	Konvensiyonel	<sup>1</sup> p
		Cerrahi	Cerrahi	
		Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	
İltihap	7.gün	1,1±0,32 (1)	1,3±0,48 (1)	<b>0,276</b>
	21.gün	0±0 (0)	0,2±0,42 (0)	<b>0,146</b>
Fibrozis	7.gün	1,7±0,48 (2)	1,2±0,42 (1)	<b>0,028*</b>
	21.gün	0±0 (0)	0,3±0,48 (0)	<b>0,067</b>
Yeni Kemik Yapımı	7.gün	0,15±0,15 (0,1)	0,03±0,05 (0)	<b>0,038*</b>
	21.gün	0,16±0,07 (0,2)	0,37±0,1 (0,4)	<b>0,001**</b>
İyileşme Skoru	7.gün	2,1±0,88 (2)	1,4±0,84 (1)	<b>0,064</b>
	21.gün	5±0,82 (5)	5,2±0,42 (5)	<b>0,546</b>
Nekroz n,%	7.gün	2 (%20)	6 (%60)	<b><sup>2</sup>0,170</b>
	21.gün	0 (%0)	1 (%10)	<b><sup>2</sup>1,000</b>

<sup>1</sup> Mann Whitney U Test      <sup>2</sup> Fisher's Exact Test      \*  $p<0.05$       \*\*  $p<0.01$

**Tablo 4-7:** Amnion zar membran uygulanan grupta; cerrahi yönetime ilişkin istatistiksel değerlendirmeler



**Tablo 4-8:** Amnion zar membran uygulanan grupta; cerrahi yönetime ilişkin grafik değerlendirmeler

Amnion zar membran uygulanan grupta;

Piezocerrahi ve Konvensiyonel Cerrahi uygulanan grupların 7.gün ve 21.günlerdeki iltihap düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Piezocerrahi uygulanan grubun 7.gün fibrozis düzeyi, Konvensiyonel cerrahi uygulanan gruptan anlamlı şekilde yüksek bulunurken ( $p<0.05$ ); 21.gündeki fibrozis düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Piezocerrahi uygulanan grubun 7.gündeki yeni kemik yapımı düzeyi, Konvensiyonel cerrahi uygulanan gruptan anlamlı şekilde yüksektir ( $p<0.05$ ).

Piezzocerrahi ve Konvensiyonel Cerrahi uygulanan gruplar arasında 21.günde kemik yapım düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Piezzocerrahi ve Konvensiyonel Cerrahi uygulanan grupların 7.gün ve 21.günlerdeki iyileşme skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

Piezzocerrahi ve Konvensiyonel Cerrahi uygulanan gruplar arasında 7.günde ve 21.günde nekroz görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).



## 5 TARTIŞMA

Günümüzde pek çok kemik greft materyali kemik iyileşmesine yardımcı olmak, yeni kemik oluşumunu olumlu yönde etkilemek amacıyla kullanılmaktadır. Kemik defektlerinin onarımına katkıda bulunmak amacıyla geliştirilmiş pek çok greft maddesi olmasına rağmen, iskeletsel bir defektin iyileşmesinde altın standart defektin doğal kemik dokusu ile ogmentasyonudur. Doğal kemik doku iyileşmesi ve yeni kemik oluşturulması sürecinin başarıyla gerçekleşmesini engelleyen en önemli unsur hızla iyileşen yumuşak dokulardır. Kemik defektlerinin ve yara bölgelerinin rejenerasyonu sürecinde bağ dokusu ve kemik dokusunun farklı iyileşme hızları sonucu, çevre dokulardan gelen fibröz doku daha hızlı yenilenerek olarak kavite içini doldurabilir, osteogenezisi bozarak istenilen kemik formasyonunu tamamen veya kısmen engelleyebilir. Fibröz iyileşme sonucu kemiğin devamlılığı ve fonksiyonu sağlanamaz ( Sezer B, 2003; Buck, BE, 1994; Carpio, L, 2000).

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu (YKR) yöntemi , kemik defektinin içine yumuşak bağ dokusu hücrelerinin invazyonuna engel olarak, sadece osteojenik hücrelerin invazyonuna müsaade eden yapıda seçici geçirgen özellikte fiziksel bir bariyer yerleştirilmesi ile periosttan gelen genç osteojenik hücrelerin ortamda çoğalmasının amaçlandığı bir yöntemdir. Uygun ortamın sağlanması ve bunun sonucunda ortamdaki osteoblastların kemiği restore etmesi ile orijinal fonksiyonel bütünlüğün sağlanması hedeflenir ( Sezer B, 2003; Hammarle CHF, 2003; Needleman, I, 2002).

Başta Linde ve ark., Nyman ve Becker olmak üzere pek çok araştırmacı yapmış oldukları deneysel çalışmalarda yönlendirilmiş kemik rejenerasyon yönteminin uygulandığı vakalarda kemik kavitesinin rejenerasyonun daha iyi olduğunu ve meydana gelen kemiğin kalite ve kantitesinin membran kullanılmayan gruba oranla çok daha ileri olduğunu rapor etmişlerdir (Linde A, 1993; Hermann JS, 1996; Nyman S, 1989; Becker W, 1999).

Dahlin ve ark. 1989 ve 1991 yıllarında yaptıkları çalışmalarda implant çevresi defektlerde bariyer membranların greft materyali olmaksızın tek başlarına kullanımının kemik rejenerasyonunu arttırdığını bildirmişlerdir ( Dahlin C,1989; Dahlin C,1991).

Bariyer membranların; blok greft uygulamalarında rezorpsiyon miktarına etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; ePTFE membran ile kaplı olmayan alanlarda çeşitli derecelerde greft kemiği rezorpsiyonu oluşurken membranla kaplı alanlarda rezorpsiyona bağlı greft hacmi kaybı olmadığı kaydedilmiştir ( Seibert J, 1990).

Antoun ve ark.'larının 13 hasta üzerinde yaptığı çalışmada bariyer membranların kemik rezorpsiyonuna etkisi araştırılmıştır. Deney grupları; yalnız ePTFE membran uygulanan ve ePTFE membrane ek olarak onlay kemik greftlerinin uygulandığı vakalar şeklinde oluşturulmuştur. Değerlendirmeler alveolar sırtın genişliğinin klinik olarak greft yerleştirmesini takiben 6.ayda ölçülmesi şeklinde yapılmıştır. Bariyer membran uygulanan grupta önemli ölçüde daha az rezorpsiyon gerçekleştiği rapor edilmiştir ( Antoun H, 2001).

Park, ve ark. bukkal dehissensli defektlerin rekonstrüksiyonunda iki farklı rezorbe olabilen membranın (ADM ve BME) etkilerini araştırmışlardır. Defektleri; sığır kollagen membran grup (BME), hücreli dermal matriks (ADM) ve membransız grup olarak 3 gruba ayırmışlardır. Başlangıçtaki ölçümler ve 6 aylık ölçümler; defekt yüksekliğini (DH), defekt genişliğini (DW) ve horizontal defekt derinliğini (HDD) içermiştir. Başlangıç defekt yüksekliği üç grup için anlamlı derecede farklı olmamıştır. Ortalama defekt yüksekliği yüzde azalması 6. ayda gruplar arasında önemli farklılık olmamıştır. Ortalama horizontal kemik kazancı membran grubu için, kontrol grubuna göre , anlamlı derecede fazla olmuştur. Rezorbe olabilen membranların uygulandığı gruplar ve membransız grupta benzer büyüklükte vertikal defekt boyutu gözlenmiştir. Rezorbe olabilen bariyer membranın başlıca etkisinin membransız uygulamalara kıyasla kemik kalınlığında daha büyük kazanç sağlamak olduğunu rapor etmişlerdir ( Park SH, 2008).

Von ve ark.'ları , inorganic sığır kemik minerali (ABBM) ve rezorbe olan kollajen bariyer membranla örtülü otojen kemik grefti uygulayarak yaptıkları horizontal kret ogmentasyonunun sonuçlarını araştırmak için 42 hastada klinik çalışma yapmışlar, kret genişlik kazancını ortalama 4.6 mm olarak rapor etmişlerdir (Von Arx, T., 2006). 1996 yılında ise ePTFE membranlarla kombine edilerek kullanılan otojen blok greftler ile implant yerleştirilmesi öncesi horizontal kret ogmentasyonu uygulamalarını içeren bir çalışma yayınlamışlardır. Buser ve ark ortalama 3.53 mmlik kret genişlik kazancını

olduğunu bildirmişlerdir (Buser D, 1996).

Von ve ark. yayınladıkları bir araştırmada greft uygulamasıyla birlikte bariyer membran olarak titanyum mesh kullanmışlardır. Klinik uygulamadaki kontrollerde rezorpsiyon oranı %10 olarak rapor edilmiştir. Araştırmacılar bunun sebebi olarak mesh'in grefte daha yüksek stabilite sağlaması ve yumuşak doku invazyonunu engellemesi olduğunu bildirmişlerdir ( Von Arx T, 1998).

Biz de bu bilgiler ışığında iyi bir kemik rejenerasyonu sağlamak, kemik defektlerin ogmentasyonununu kolaylaştırılmak, kemik greftleme sonuçlarını iyileştirmektir temel amaçlarıyla; membran bariyerlerin mekanik stabilizasyon, kaviteninin örtülmesi, pıhtının korunması, fibrozisin önlemesi özelliklerinden yola çıkarak yönlendirilmiş kemik rejenerasyon yöntemini çalışmamızda uyguladık.

Piezocerrahi ile amnion zar membranı uygulanan ve uygulanmayan grupların 7.gündeki fibrozis düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ; amnion zar membran uygulanmayan grubun; 21.gündeki fibrozis düzeyi, amnion zar membran uygulanan gruptan; anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Konvansiyonel yöntemle defekt oluşturulan gruplarda ise amnion zar membranı uygulanan ve uygulanmayan grupların 7.gün ve 21.günlerdeki fibrozis düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır . Bu istatistiksel analiz sonucunda piezocerrahi yöntemin kullanıldığı gruplarda amnion zarının kemik defektinin içine yumuşak bağ dokusu hücrelerinin geçişini engelleyerek fibrözisi önleyecek şekilde bariyer görevini yerine getirdiğini söyleyebiliriz.

Sıçanla yapılan çalışmalarda insan ile yapılan çalışmalara göre daha kısa sürede sonuç alınmaktadır. Ayrıca insanla yapılan çalışmalarda hastaların programa uyumunu sağlayabilmek zordur. Yapılan çalışmaların patolojik araştırmasının yapılabilmesi için, hastadan biyopsi alınması gerekebilir ve bu da hastanın tekrar opere edilmesini gerektirir. Doku kültürlerinden elde ettiğimiz sonuçları ise bir organizma için yorumlamak zor olmaktadır. 240±20gr ağırlığında tespit edilen sıçanlarda yeterli kemik kalınlığının bulunacağını düşünmekteyiz ayrıca kemik iyileşmesi, cinsiyet hormonları tarafından etkilenebilmektedir. Bu nedenle çalışmamızda erişkin sıçan kullandık ve erkek sıçan kullanımını tercih ettik.

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunda beklenen sonuçların başarılı şekilde elde edilmesi için beş kriterin doğru şekilde yerine getirilmesi gerektiği ileri sürülmektedir. Bunlar sırası ile; uygun membran kullanımı, primer yumuşak doku iyileşmesinin sağlanması, bariyer membranın uygulandığı kavitenin korunması ve devam ettirilmesi, membranın çevre kemiğe adaptasyonu ile stabilizasyonu ve uzun bir iyileşme periyodudur. Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu tekniğinin başarısında etkili olan bu faktörlerin sağlanabilmesi için yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda çok sayıda membran materyali kullanılmıştır ( Hermann JS, 1996; Comelini R, 2004; Brunel G, 2001; Brydone AS, 2010; Buck, BE, 1994).

Kemik rejenerasyonunun tamamlanabilmesi için gereken zaman konusunda pek çok farklı görüş bildirilmiştir. Iglhaut ve ark. cerrahi uygulamadan 2-7 gün sonra hücre migrasyonunun arttığını ve artan mitotik aktivite ile üçüncü haftanın sonuna kadar kemik rejenerasyonunun devam ettiğini ileri sürmektedirler. ( Iglhaut J, 1988).

Sezer ve ark.'larının iki farklı kollajen bariyer membranın (Tutoplast-Dura ve Collatamp) kemik rejenerasyonuna etkisini araştırdıkları çalışmalarında her iki tip kollajen bariyer membranın kemik rejenerasyonu ve kemik devamlılığının sağlanmasında etkili olduğunu, fakat daha uzun süre ortamda bulunması ve daha yavaş rezorpsiyon göstermesi, yönlendirilmiş kemik rejenerasyon tekniği ile gerçekleştirilen cerrahi işlemlerde Tutoplast-Dura'nın Collatamp'dan daha iyi sonuç verdiğini bildirmişlerdir ( Sezer B, 2003).

Kim ve ark.'na göre, kemik rejenerasyonunda 5 haftalık süreç oldukça önem taşımaktadır ve bu süre içerisinde membran uygulandığı ortamdaki varlığını sürdürmelidir. Eğer membran daha erken dönemde rezorbe olursa, başlayan rezorpsiyon ile oraya çıkan kaviteye geçen bağ dokusunun kemik formasyonunu engelleyeceğini ve kemik devamlılığının bozulacağını belirtmişlerdir ( Kim YK, 2010).

Kemik rejenerasyonunun başarısının uygulanan materyal seçiminden de etkilendiği bildirilmiştir. Rezorbe olabilen bariyer membranların kemik greftleri ile kombine olarak kullanımı, rezorbe olmayan membranların kemik greftleriyle kombine olarak kullanıldığı uygulamalara benzer başarıda sonuçlar göstermiştir. Sığır kollajen membranlar (BME), insan ve hayvan çalışmalarında başarılı bariyer fonksiyonu göstermiştir. Özellikle ikinci bir Cerrahi uygulama ihtiyacının olmaması önemli bir



avantaj olarak bildirilmiştir. Kollejenolitik enzimlere karşı yetersiz dirence sahip olması nedeniyle kısa sürede rezorbe olmaktadır. Rezorpsiyon süresini 16-18 haftaya arttırmak amacıyla sitrik asid/formaldehitte işlem görmüş BME uygulamalarının avantajlı olacağı bildirilmiştir. ( Park SH, 2008).

Schliephake ve ark. köpeklerde yaptıkları çalışmada dental implant çevresi defektlerde rezorbe olabilen membranlarla rezorbe olmayan membranları karşılaştırmışlardır. Kemik iyileşmesinin erken döneminde iki membran arasında önemli bir fark gözlenmezken iyileşmenin geç dönemlerinde rezorpsiyonun başlamasına bağlı olarak yeni oluşan mineralize dokunun kalitesi açısından rezorbe olmayan membranların daha iyi sonuçlar verdiğini rapor etmişlerdir ( Schliephake H, 1997).

De Vicente ve ark. tek aşamalı uygulamalarda rezorbe olabilen membranların rezorbe olmayan membranlara iyi bir alternatif olabileceği bildirilmiştir ( De Vicente JC, 2006)..

Hürzeler ve ark. implant çevresi defektlerde ksenogreftle beraber kollajen veya ePTFE membran kullanılması arasında anlamlı bir fark olmadığını rapor etmişlerdir ( Hürzeler MB, 1998).

Linde ve ark. da bariyer membran uygulanan alanları değerlendirdikleri çalışmalarında, kemik rejenerasyonunun tamamlanması için gerekli osteogenezisin başlamasının yaklaşık 2 hafta sürdüğünü bildirmişlerdir ( Linde A, 1993).

Mundel ve ark., tavşanların zigomatik arklarında oluşturdukları 5 mm çaplı defektlere kollajen membran uygulamışlardır. Defektlerdeki osteogenezisin 2. haftadan itibaren görülmeye başladığını ve 4. haftada kemik rejenerasyonunun tamamlandığını, kavite içinde fibrözise rastlanmadığını, kontrol gruplarında ise, fibröz doku büyümesi olduğunu bildirmişleridir ( Mundel RD, 1993) .

Biz de çalışmamızda deney gurubuna rezorbe olabilen bir membran tercih edilmiştir. Denekleri 7. ve 21. günlerdeki sakrifikasyon dönemlerine göre erken ve geç dönem şeklinde gruplandırdık. Her iki cerrahi teknik gurubunda da amnion zar membran uygulanan grubun; 21.gündeki fibrozis düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak

anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur . Bu sonuçla rejenerasyon için gerekli 3 haftalık süreçte amnion membranının kullanılan membranın bu dönem içerisinde bariyer görevini yerine getirecek şekilde bütünlüğünü koruduğunu ifade edebiliriz.

Amnion zarı; epitelizasyonu hızlandırmak , yara yüzeyinden protein ve sıvı kaybını önlemek, adhezyon oluşumunu azaltmak, antibakteriyel ve non-immünolojik etkiye sahip olmak, kollajen sentezine katkıda bulunmak, anjiyogenezisi, nebde formasyonunu, ağrı ve enflamasyonu azaltmak gibi etkilere sahip, kolay ve hızlı uygulanabilen ve değeri günden güne yükselen bir biyolojik örtüdür ( Amemiya T, 2015; Samandari MH, 2004).

Amnion zarının görevleri; epitelizasyon için uygun yeni bir materyal olarak işlev görmesi, epitelyal hücre iyileşmesini hızlandırması, bazal epitelyal hücrelerin adezyonunu arttırması, epitelyal diferansiasyonu stimüle etmesi, epitelyal apoptosisi önlemesi, doku metalloproteinaz inhibitörleri salgılayıp doku tahribatını önlemesi, kollajen sentezine katkıda bulunması ve yapısında bulunan bir çok büyüme faktörü ve bazı enzimler sayesinde yara iyileşmesini hızlandırmak olarak sıralanabilir ( Kesting MR, 2014; Ameniya T, 2015).

Kumar ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada amnion zar membranının, daha az morbidite, hızlı iyileşme, iyi protez uyumu, kontraktür ve komplikasyon görülmemesi açısından oral mukoza membrana alternatif olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir (Kumar S, 2006).

Solomon 2003 yılında yaptığı bir çalışmada kontrakte soketlerde amnion zarı uygulamıştır . Amnion zarın, konjonktiva epitelinden farklı olan bukkal ve nazal mukozadan üstün olduğunu belirtmiştir ( Solomon A, 2003).

Poonyathalang ve arkadaşları tarafından oküler soket kontraktürü olan 20 hastaya amnion zar uygulanmıştır . Hastalar ortalama 13,6 ay izlenmiş, işleme bağlı greft reddi, enfeksiyon gibi komplikasyonların görülmediği rapor edilmiştir . Yirmi hastanın 16'sına protez takılabilmiş, protez takma başarısı %80 olarak bildirilmiştir (Poonyathalang, 2005).

Bajaj ve arkadaşları soket kontraktürü olan 20 hastanın 10'una amnion zar membran, 10'una oral mukoz membran uygulamışlardır. Olguların üst ve alt forniks

derinliğine, soket hacimlerine, protez hareketliliğine bakılmıştır. İki cerrahi grupta da benzer sonuçlar izlenmiştir (Bajaj MS, 2006).

Biz de çalışmamızda bu bilgiler ışığında aynı ve benzer endikasyonların tedavisinde oral mukozal membrana alternatif olarak kullanılan amnion zarı kullanmayı tercih ettik.

Marangon , amniotik membran transplantasyonu sonrası enfeksiyon karakteri ve insidansını belirlemek amacıyla yaptığı çalışmada; transplantasyon uygulanan 326 olguda % 3.4 (11 olgu) oranında enfeksiyon geliştiğini ve yapılan kültürlerde en çok Gram (+) mikroorganizmaların izole edildiğini bildirmektedir (Marangon FB, 2004).

Amnion zarının post operatif adezyonları önlemek amacıyla kullanıldığı başarılı çalışmalar vardır. Bu çalışmalardan birinde amnion zarı adezyonları belirgin şekilde azaltmış, intraabdominal apseleri lokalize olarak tutmuş ve olumsuz bir durum oluşmamıştır (Trelford-Sauder M, 1978).

Üriner sistemde ureter defektinin tamiri için kullanılmış ve başarılı sonuç alınmış çalışma mevcuttur (Turan C, 1989). Amnion zarının hyaluronik asit ile birlikte perinöral adhezyonları ve fleksör tendon tamiri sonrasında gelişen adezyonların önlenmesinde başarıyla kullanılabileceği hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (Ozgenel GY, 2004).

Amnion zarı oftalmoloji alanında çok tercih edilen bir materyal olmuştur. Büllöz keratit, kimyasal ve fiziksel birçok yaralanmada amnion zarı fizyolojik bir örtü olarak kullanılmış başarılı sonuçlar alınmıştır ( Lee H, 2006; Tejwani S, 2007).

Tejwani ve ark.'ları termal ve kimyasal yaralanma olan 69 hastanın 72 gözüne uyguladıkları amniotik membran transplantasyonu ile olumlu sonuçlar elde ettiklerini, bu olumlu etkinin amniotik zarının erken dönemde hem inflamasyonu engelleyerek skar gelişimi ve fibrozisi önlemesi, hemde altındaki dokuda epitelizasyonu artırması ile bağlantılı olabileceğini belirtmişlerdir ( Tejwani S, 2007).

Benzer şekilde Lee ve ark'ları büllöz keratopatili hastalarda amniotik membranın uygulamasının olumlu etkilerini bildirmişlerdir. Amnion zarının bir mekanik bariyer olarak ve TGF-b seviyesini azaltarak altındaki kök hücrelerin

fibroblast gibi farklı hücelere farklılaşmasını engelleyerek fibrozisi önleyebileceği belirtilmiştir ( Lee H, 2006).

Kalça tüberkülozuna bağlı olarak gelişen eklem dejenerasyonunun tedavisinde, yeni eklem yüzeyi oluşturmak amacıyla kullanımında da (Amniotik artroplasti) başarılı sonuçlar literatürde yer almaktadır ( Vishwakarma GK, 1986).

Mencucci ve ark.'ları invitro olarak amniotik membranın antibiyotikli (netilmisin) ortamda antibiyotiği abzorbe edebildiğini, antibiyotiksiz ortama alındığında ise bu antibiyotiği ortama salarak antibiyotik için taşıyıcı olabileceğini göstermişlerdir ( Menucci R, 2006).

Koizumi ve ark.'ları yaptıkları çalışmada stromal ve epitelyal amnion bölgelerinde epidermal büyüme faktörü, hepatosit büyüme faktörü, keratinosit büyüme faktörü,transforming büyüme faktörü (TGF - a, TGF -  $\beta 1$  , -2, -3 ) ve fibriblast büyüme faktörünün mRNA ekspresyonunu tesbit etmiştir. Shimazaki ve ark.'ları ise amnion zarının TGF-beta ve bFGF ürettiklerini göstermişlerdir ( Koizumi NJ , 2000; Shimazaki J, 1997).

Heiligenhaus ve ark.insan amnion zarını HSV1 kornea ülserli fareler üzerinde uygulamış, bunun sonucunda stromal inflamasyon ve ülserasyonda azalma olduğu gözlemlenmiştir ( Heiligenhaus A, 2001).

Faulk ve ark.' ları 16 hastada yaptıkları çalışmada, hastaların bacaklarındaki kronik ülserli bölgelerde amnion zar uygulamışlardır. 5 gün sonra uygulama yapılan bölgelerden biyopsi örnekleri alınmış, yapılan histolojik incelemede damarlanmanın arttığı görülmüştür ( Faulk WP, 1980).

Lawson ve ark.'ları toplamda 30 hastada maksillofasial defektlerin tamirinde taze amnion zar ile kaplı pektoral kas flep kullanmışlar ve mukokütanöz fleplere göre daha iyi bir intraoral doku iyileşmesinden bahsetmişlerdir ( LawsonVG, 1985, 1986).

Zohar ve ark.'ları tümör cerrahisi ve çene diseksiyonu sonrası oluşan flep nekrozunun amnion zar uygulanması ile başarılı şekilde tedavisini yayınlamışlardır ( Zohar Y, 1987).

Mücke ve ark.'ları 47 adet sıçanda hazırladıkları bukkal mukoza defektlerinde amnion zar membran ile polyglaktin membranı karşılaştırılmıştır. Yumuşak doku iyileşmesinin 7. günlük takipte amnion membran kullanılan grupta daha iyi olduğu bildirilmiştir (Mücke T, 2010).

Güler ve ark. mandibular vestibüloplasti uygulamalarında amnion zar kullandıkları bir çalışma yayınlamışlardır. Güler 20 hastada radyasyon ile steril edilmiş amnion zarı kullanmıştır. Çalışmasında amnion zarının anjiojenik özelliği üzerinde durmuş, vestibüloplasti bölgesinde artan kanlanmaya ve damarlanmaya dikkati çekmiştir (Güler R, 1997).

Samandari ve ark.'ları 7 hasta üzerinde yaptıkları mandibular vestibüloplasti uygulamalarında taze amnion zarı kullanmıştır. Çalışmasında herhangi bir doku reddiyle karşılaşmadığını rapor etmiş, 6 aylık takibinde bukkal derinlikteki %17 ile %40 arasındaki azalmayı raporlamıştır ( Samandari MH,2004).

Kothari ve ark.'ları yetersiz vestibül derinliğe sahip 10 hastada yaptığı çalışmada greft materyali olarak amnion zarını kullanmış, 3 aylık takibinde doku reddine ve nekroza rastlamadığını bildirmiştir (Kothari CR, 2012).

Rinastiti ve ark. 30 tavşanın maxillasında çalışmış, gingivalarında 4 mm çapında defekt alanları oluşturmuş. Kontrol grubunu boş bırakırken, deney gruplarına amnion zarı uygulaması yapmışlardır. Grupları epitelizasyon, damarlanma ve doku olgunlaşması açısından değerlendirmişler, amnion uygulanan deney grubunda bu kriterlerin daha iyi sonuç verdiğini raporlamışlardır (Rinastiti M, 2006).

Velez ve ark. 2010 yılında amnion zar membran ile dental implant alanında ilk çalışmayı yapmışlardır. 10 hastada maxilla ve mandibulanın her bir yarım bölgesine en az iki implant olacak şekilde uygulamalar yapmışlardır. Deney grubunda implant uygulanan bölge amnion zar ile örtüldükten sonra cerrahi olarak kapatılmış, kontrol grubunda implant uygulanan bölgenin cerrahi olarak kapatılmasından önce herhangi bir uygulama yapılmamıştır. Gruplar ağrı skorlaması, yumuşak doku iyileşmesi, yumuşak doku hacmi, skar oluşumu ve inflamasyon kriterlerine göre değerlendirilmiştir. Uzun dönem sonuçlarda gruplar arasında skar oluşumu dışında anlamlı bir fark rapor edilmemiştir. Skar oluşumu bakımından amnion zar uygulanan grubun avantajı rapor

edilmiştir. 6 günlük erken dönemde epitelizasyon ve ağrı skorlamasında amnion uygulanan grubun daha iyi olduğu bildirilmiştir (Velez I, 2010).

Gomes ve ark'larının 36 adet tavşanda yaptıkları bir çalışmada hayvanların kafatasında (parietal kemikte) defekt oluşturmuşlar. Hayvanları iki gruba ayırmışlar, gruplardan ilkinde defektin üzerini amnion zarı ile sarıp iyileşmeye bırakmışlar. İkinci gruba ise oluşturdukları defekti otojen demineralize dentin matrisi ile doldurup üzerini amnion zarı ile sarmışlar. Histolojik olarak takiplerinde amnion zarı uygulanan grupta iyileşmenin geciktiğini tespit etmişler. Amnion zarının 4. haftada rezorbe olduğu enfeksiyon yada rejeksiyon olmadığı tespit edilmiş. Çalışmanın özeleştirisinde amnion zarı kullanılmayan bir grup olmamasına değinilmiştir (Gomes FR, 2001).

Sezgin ve arkadaşlarının 2008 yılında amnion zarının kırık iyileşmesi üzerine yaptığı çalışmada amnion uygulanan grupta kemik iyileşmesi kullanılmayan gruba göre geride kalmıştır. Enfeksiyon oranı da amnion grubunda literatürden farklı olarak daha sık gözlenmiştir. Amnion membranı kullanılan grupta defekt çevresinde fibroblastik aktivite ile kollojene benzer madde birikimi görülmüştür. Amnion zarı ile iyileştirilmiş kemiklerde normal kemiğe göre çok fazla defleksiyon meydana gelmiş bunla orantılı olarak mukavemet yeteneğide o derece zayıf olmuştur. Amnion zarının bu haliyle kullanımını kemik kaynamasını olumsuz etkilemiştir. Çalışma sonunda amnion zarı ile iyileştirilmiş femurların diğer gruptan farklı olarak kırık hattının beyaz, yumuşak bir iyileşme dokusu ile örtülmüş olduğunu görülmüştür (Sezgin S, 2008).

Bizimde çalışmamızda Piezocerrahi ve konvansiyonel cerrahi gruplarında; amnion zar membran uygulanmayan grubun 7.gündeki iyileşme skoru, amnion zar membran uygulanan gruptan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur . Amnion zar membranı uygulanan ve uygulanmayan grupların 21.gündeki iyileşme skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır .İyileşme skoru amnion zar uygulanmayan gruplarda erken dönemde daha iyi iken geç dönemde amnion zar uygulanan gruba aradaki bu fark ortadan kalkmıştır. Bu değişimi amnion zarının erken dönemde bariyer özelliğinin etkisiyle damarlanmanın engellenmesi ve buna bağlı iyileşmenin azalması şeklinde yorumlamaktayız. Bariyer etkisinin osteosit oluşmasını ve yeni damarlanmanın kallusa invazyonunu engellemiş olabileceği düşünülmüştür. Bariyer etkisi nedeniyle defekt alanının iyileşmeye etkisi olan periost ve çevre yumuşak

dokuyla da bağlantısı kalmadığını düşünmekteyiz. Geç dönemde membranın rezorbsiyonuyla bariyer etkisi giderek ortadan kalkmış ve iyileşme membran olmayan gruptaki ile aynı şekilde tamamlanmıştır.

Atravmatik cerrahi girişimler, doku hasarının ve postoperatif semptomların minimumda tutulması anlamında önem arz eder. Günümüzde, tıbbi gelişmelerin ışığında atravmatik cerrahinin önem kazanmasıyla, ultrasonik hareketlerin, titreşimlerin çevre yumuşak dokulara olağan bir hasar vermediği sonucundan yola çıkılarak, osteotomiler için ultrasonik dalgaların kullanımı oral ve maksillofasial cerrahide önem kazanmıştır (Robiony M, 2007).

Horton ve ark , 1975 senesinde; ultrasonik aletler, döner aletler ve cerrahi osteotomlar ile defekt oluşturdukları bir histolojik çalışma yayınlamıştır. Ultrasonik aletlerle osteotomilerin yapılmasının mümkün olduğunu bildirmişlerdir. En pürüzsüz kemik yüzeyini konvansiyonel döner aletlerle oluşturmuşlardır. Osteotom veya ultrasonik aletlerle yapılan osteotomilerin en düzgün şekilde iyileştiğini göstermişlerdir (Horton JE, 1975). Horton ve ark. dişlerin cerrahi çekiminde ultrasonik aletlerin kullanıldığı bir çalışma yayınlamışlardır. Klinik ve histolojik değerlendirmelerde olumsuz histolojik değişimlere rastlanılmamıştır (Horton JE, 1981).

Stübinger ve ark. yaptıkları çalışmada piezocerrahi cihazı uygulamalarının gözle görülebilir herhangi bir koagülasyon nekrozuna neden olmadığını fakat cihazın el parçasında uzun süreli çalışmaya bağlı olarak ısı artışı olduğunu bildirmişlerdir (Stübinger S, 2005).

Vercelotti ve ark. yaptıkları bir çalışmada; alınan kesitler üzerinde yapılan histolojik incelemede kesim yüzeylerinde herhangi bir koagülasyon nekrozu oluşumu gerçekleşmediğini bildirmiş ve canlı osteosit varlığını göstermişlerdir (Vercelotti T,2001).

Walmsley ve ark. yaptığı bir çalışmada ultrasonik aletlerin 20 kHz lık uygulamalarında intravasküler trombüs oluşumuna neden oldukları bildirilmiştir (Walmsley AD, 1987).

Williams ve Chater, 25 kHz frekansta pulpa kılcallarındaki tromboz riskinin daha düşük olduğunu fakat intrapulpal kılcallarda platelet agregasyonu olasılığının her zaman mümkün olduğunu bildirmişlerdir. (Williams AR,1980).

Robiony ve ark. yaptıkları osteotomiler sonrasında elde ettikleri kemik partikülleri üzerinde yaptıkları histolojik incelemelerde, herhangi bir koagülasyon nekrozuna rastlamadıklarını fakat histolojik kesitlerde canlı hücre de gözlemediklerini bildirmişlerdir. Uygulama sonrasında dişlerin vitalitesinin devam ettiğini ve el parçasındaki ısı artışının konvansiyonel döner aletlerden ve ossilasyon testerelerinden farklı olmadığını bildirmişlerdir (Robiony M, 2007).

Kotrikova ve ark. yaptıkları deneysel bir çalışmada piezocerrahi aletinin osteotomi etkinliğini ve osteotomi sırasındaki ısı artışlarını değerlendirmiştir. Osteotomiler sırasında en fazla ısı artışı piezocerrahi cihazıyla yapılan osteomilerde meydana geldiği rapor edilmiştir. Yumuşak ve sert dokularda gözle görülür bir koagülasyon nekrozuna rastlanılmamıştır (Kortikova B, 2006).

Chapple ve ark. yaptıkları bir çalışmada farklı frekanstaki ultrasonik dalgaların periodontal iyileşmeyi yüksek derecede arttıran derecelerde kök yüzeyi destrüksiyonu yapabileceğini bildirmişlerdir (Chapple IL, 1995).

Hoigne ve ark. piezoelektrik cerrahi uygulamasından sonra yara iyileşmesinin konvansiyonel yöntemlerden daha iyi olduğunu bildirmişlerdir (Hoigne Dj, 2006).

Vercelotti ve ark. yaptıkları bir çalışmada osteotomi ve osteoplasti uygulamalarında piezoelektrik cihazının etkinliğini araştırmışlardır. Bu cihazın etkinliğini karbit frezler ve elmas frezlerle karşılaştırabilmek için postoperatif kemik değişim düzeylerini ölçmüşlerdir. Çalışmanın sonucunda; osteotomi ve osteoplasti işlemlerinde, piezoelektrik cihazın, geleneksel karbit ve elmas frezlere oranla daha iyi bir kemik iyileşmesi ve şekillenmesi oluşturduğu rapor edilmiştir (Vercelotti T, 2005).

Kortikova ve ark. yaptıkları klinik bir çalışmaya ait piezocerrahi cihazıyla uyguladıkları 120 adet osteotomide bozulmuş yara iyileşmesi veya alveolit gibi bir komplikasyon olmadığını bildirmişlerdir (Kortikova B, 2006).



Schlee ve ark. yaptıkları çalışmada postoperatif ağrı hissini azalmasına bağlı olarak piezocerrahinin daha yüksek derecede kabul gördüğünü bildirmişlerdir (Schlee M,2006; Horton JE,1981; Grenga V, 2004).

Giraud ve ark. ultrasonik kemik cerrahisinin selektif kesim avantajının yanında, ısıdaki yüksek artış, orta ve uzun dönem etkilerine dair bilgilerin azlığı ve kesici ve özel uçlarının kullanıma bağlı yorgunluk gibi dezavantajları olduğunu bildirmişlerdir (Giraud JY, 1991).

Geha ve ark. yaptıkları bir çalışmada piezocerrahi cihazı kullanımı ile bilateral sagittal split ramus osteotomisi yaptıkları vakaların uygulama sonrası inferior alveoler sinirde postoperatif ikinci ayında %80 e varan oranda duyuusal iyileşme görüldüğünü bildirmişlerdir.

Robiony ve ark. yaptıkları bir araştırmada, segmental maksiller Le Fort I osteotomisini piezoelektrik cerrahi cihazı ile uygulamışlardır. Piezocerrahi cihazının, mikrometrik ve doğrusal titreşimleri sayesinde maksillanın vestibuler ve palatal yüzlerindeki sert ve yumuşak dokulara minimal zarar vererek maksimum kesim uygulanabilirliğini rapor etmişlerdir (Robiony M, 2004). 2007 yılında yaptıkları çalışmada cerrahi yardımlı rapid palatal ekspansiyon tedavisi planladıkları vakalarda pterygomaksiller birleşimi piezocerrahi cihazıyla ayırmanın descending palatinal arterin korunması için etkili bir yol olduğunu bildirmişlerdir ( Robiony M, 2007).

Ueki ve ark. ortognatik cerrahi uygulamalarında pterygoid çıkıntılarının osteotomilerinde ultrasonik cihazları uyguladıkları bir çalışma yapmışlardır. Yaptıkları çalışma sonucunda ultrasonik cihaz kullanımının descending palatin arter gibi, pterygomaksiller bölgedeki hassas damarları ve sınırları korumada başarılı olduğunu bildirmişlerdir (Ueki K, 2004).

Chiriac ve ark, piezoelektrik cihaz ve geleneksel frezler yoluyla elde edilen greft materyallerinde osteositlerin canlılığını ve kemik partiküllerinin morfolojik durumlarını karşılaştırdıkları bir çalışma yayınlamışlardır. Çalışmanın sonucunda, canlı osteosit varlığı açısından piezoelektrik cihaz uygulanan grup ile konvansiyonel frezlerin uygulandığı grup arasında anlamlı bir fark olmadığı rapor edilmiştir. ( Chiriac G, 2005).

Berengo ve ark. ları ise , otojen kemik greft elde etme yöntemlerinin kemik hücreleri üzerine olan etkilerini araştırdıkları benzer bir klinik çalışmada, yavaş veya hızlı devirde dönen rond frez ve implant frezi kullanılarak alınan kemik partiküllerinde canlı osteosite rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Mekanik el aleti ve pizeocerrahi ile alınan greftlerde oosteositlerin canlı kaldıklarını gözlemlemişlerdir (Berengo M, 2006).

Biz de çalışmamızda oluşturduğumuz gruplarda; piezocerrahi teknik ve konvansiyonel rotary alet, frezlerle uygulanan tekniği, oluşturduğumuz defekt bölgesindeki ve kemikteki iltihap, nekroz, fibröz doku oluşumu, iyileşme skoru, yeni kemik yapımı ve yabancı cisim reaksiyonu parametrelerine göre karşılaştırmayı amaçladık. Ayrıca piezocerrahi ve yönlendirilmiş kemik rejenerasyon yöntemini amnion zar membran aracılığıyla kombine kullandığımız gruplarda parametrelerde artan/azalan istatistiksel değişikliği göstermeyi hedefledik.

Çalışmamızda amnion zar uygulanmayan gruplarda , piezocerrahi uygulanan grup ile konvansiyonel cerrahi teknik kullanılan grup arasında iltihap, nekroz, fibröz doku oluşumu, iyileşme skoru, yeni kemik yapımı ve yabancı cisim reaksiyonu parametrelerine göre erken ve geç dönemde istatistiksel açıdan bir fark bulamadık. Yönlendirilmiş kemik rejenerasyon yöntemini amnion zar membran aracılığıyla uyguladığımız gruplarda piezocerrahi uygulanan grubun erken dönemdeki yeni kemik yapımı düzeyi, konvansiyonel cerrahi uygulanan gruptan anlamlı şekilde yüksek iken bu fark geç dönemde ortadan kalkmıştır ve piezocerrahi ile konvansiyonel cerrahi uygulanan gruplar arasında geç dönemde yeni kemik yapım düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Piezocerrahi uygulanan grupta amnion zarının erken dönemdeki varlığı ve bariyer etkisi yeni kemik oluşumunu olumsuz yönde daha az etkilemiştir.

## SONUÇLAR

1. Piezocerrahi ile amnion zar membranı uygulanan ve uygulanmayan grupların 7.gündeki fibrozis düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ; amnion zar membran uygulanmayan grubun; 21.gündeki fibrozis düzeyi, amnion zar membran uygulanan gruptan; anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Konvansiyonel yöntemle defekt oluşturulan gruplarda ise amnion zar membranı uygulanan ve uygulanmayan grupların 7.gün ve 21.günlerdeki fibrozis düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır . Bu istatistiksel analiz sonucunda piezocerrahi yöntemin kullanıldığı gruplarda amnion zarının kemik defektinin içine yumuşak bağ dokusu hücrelerinin geçişini engelleyecek bariyer görevini yerine getirdiğini söyleyebiliriz.
2. Her iki cerrahi teknik gurubunda da amnion zar membran uygulanan grubun; 21.gündeki fibrozis düzeyi, 7.günden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur . Bu sonuçla rejenerasyon için gerekli 3 haftalık süreçte amnion membranın kullanılan membranın bu dönem içerisinde bariyer görevini yerine getirecek şekilde bütünlüğünü koruduğunu ifade edebiliriz.
3. Çalışmamızda amnion zar uygulanmayan gruplarda , piezocerrahi uygulanan grup ile konvansiyonel cerrahi teknik kullanılan grup arasında iltihap, nekroz, fibröz doku oluşumu, iyileşme skoru, yeni kemik yapımı ve yabancı cisim reaksiyonu parametrelerine göre erken ve geç dönemde istatistiksel açıdan bir fark bulamadık.
4. Yönlendirilmiş kemik rejenerasyon yöntemini amnion zar membran aracılığıyla uyguladığımız gruplarda piezocerrahi uygulanan grubun erken dönemdeki yeni kemik yapımı düzeyi, konvansiyonel cerrahi uygulanan gruptan anlamlı şekilde yüksek iken bu fark geç dönemde ortadan kalkmıştır ve piezocerrahi ile konvansiyonel cerrahi uygulanan gruplar arasında geç dönemde yeni kemik yapım düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Piezocerrahi uygulanan grupta amnion zarının erken dönemdeki varlığı ve bariyer etkisi yeni kemik oluşumunu olumsuz yönde daha az etkilemiştir.

5. Piezocerrahi ve konvansiyonel cerrahi gruplarında; amnion zar membran uygulanmayan grubun 7.gündeki iyileşme skoru, amnion zar membran uygulanan gruptan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur . Amnion zar membranı uygulanan ve uygulanmayan grupların 21.gündeki iyileşme skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır .İyileşme skoru amnion zar uygulanmayan gruplarda erken dönemde daha iyi iken geç dönemde amnion zar uygulanan grupla aradaki bu fark ortadan kalkmıştır. Bu değişimi amnion zarının erken dönemde bariyer özelliğinin etkisiyle damarlanmanın engellenmesi ve buna bağlı iyileşmenin azalması şeklinde yorumlamaktayız. Bariyer etkisinin osteosit oluşmasını ve yeni damarlanmanın kallusa invazyonunu engellemiş olabileceği düşünülmüştür. Bariyer etkisi nedeniyle defekt alanının iyileşmeye etkisi olan periost ve çevre yumuşak dokuyla da bağlantısı kalmadığını düşünmekteyiz. Geç dönemde membranın rezorbsiyonuyla bariyer etkisi giderek oratadan kalkmış ve iyileşme membran olmayan gruptaki ile aynı şekilde tamamlanmıştır.
6. Piezocerrahi uygulanan grupta amnion zar membran uygulanmayan grubun; 7.gün ve 21.gündeki yeni kemik yapımı düzeyi, amnion zar membran uygulanan gruptan; anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur . Konvansiyonel cerrahinin tercih edildiği gruplarda amnion zar membran uygulanmayan grubun; 7.gündeki yeni kemik yapımı düzeyi, amnion zar membran uygulanan gruptan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Amnion zar membranı uygulanan ve uygulanmayan grupların 21.gündeki yeni kemik yapımı düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.

## KAYNAKLAR

- Amemiya T, Nakamura T, Yamamoto T, Kinoshita S, Kanamura N (2015) Autologous Transplantation of Oral Mucosal Epithelial Cell Sheets Cultured on an Amniotic Membrane Substrate for Intraoral Mucosal Defects. *PLoS ONE* 10(4): e0125391. doi:10.1371/journal.pone.0125391
- Alkan Z. (1987): Yara iyileşmesinin plasenta kullanımını ile hızlandırılması. *A.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi*. 34(3): 519-533.
- Anderson Sb., Ferreira De Souza R., Hofmann- Rummelt C., Seitz B. (2003): Corneal calcification after amniotic membrane transplantation. *Br. J. Ophthalmol.* 87: 587-91.
- Annibali, S., Bignozzi, I., Sammartino, G., La Monaca, G., & Cristalli, M. P. (2012). Horizontal and vertical ridge augmentation in localized alveolar deficient sites: a retrospective case series. *Implant dentistry*, 21(3), 175-185.
- Antoun H, Sitbon JM, Martinez H, Missika P. A prospective randomized study comparing two techniques of bone augmentation: onlay graft alone or associated with a membrane. *Clin Oral Implants Res* 2001,12: 632–639.
- Aro H, Kallioniemi H, Aho AJ, Kellokumpu-Lehtinen P. (1981) Ultrasonic device in bone cutting. A histological and scanning electron microscopical study. *Acta Orthop Scand.* 52(1):5-10.
- Barber, H. D., Lignelli, J., Smith, B. M., & Bartee, B. K. (2007). Using a dense PTFE membrane without primary closure to achieve bone and tissue regeneration. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 65(4), 748-752.
- Barboza, E. P., Francisco, B. S., & Ferreira, V. F. (2008). Soft tissue enhancement using non-expanded PTFE membranes without primary closure. In *Research Forum Poster Session. Annual Meeting*.
- Barone A, Santini S, Marconcini S, Giacomelli L, Gherlone E, Covani U. (2008) Osteotomy and membrane elevation during the maxillary sinus augmentation procedure. A comparative study: piezoelectric device vs. conventional rotative instruments. *Clin Oral Implants Res.* 19(5):511- 515.
- Bajaj MS, Pushker N, Singh KK, Chandra M, Ghose N: Evaluation of amniotic membrane grafting in the reconstruction of contracted socket. *Ophthal Plast Reconstr Surg.* 2006; 22:116-20.
- Becker W, Dahlin C, Lekholm U, Bergstrom C, van Steenberghe D, Higuchi K, Becker BE. Five-year evaluation of implants placed at extraction and with dehiscences and fenestration defects augmented with ePTFE membranes: results from a prospective multicenter study. *Clin Implant Dent Relat Res* 1999,1: 27–32.
- Berengo M, Bacci C, Sartori M, Perini A, Della Barbera M, Valente M. (2006) Histomorphometric evaluation of bone grafts harvested by different methods.

- Minerva Stomatol. 55(4):189-198.
- Bilezikian J, Raisz L, Martin TJ. (2008) Principles of Bone Biology, 3rd Edition. San Diego, CA: Academic Press. Inc. ; Chap.10
- Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA. (1996) Principles of bone biology. San Diego: Academic Press; 3: 30-32.
- Bloom W, Fawcett DW. (1975) A textbook of histology. 10th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, chap 10.
- Borovecki F, Pecina-Slaus N, Vukicevic S. (2007) Biological mechanisms of bone and cartilage remodelling--genomic perspective. *Int Orthop.* 31(6):799- 805 <http://dx.doi.org/10.1007/s00264-007-0408-8>.
- Boyne PJ. (1984) Tissue Transplantations. in: Textbook of Oral and Maxillofacial Surgery. Kruger G.O. (ed) 6th ed.,C.V. Mosby Co.,St.Louis ;296 - 332.
- Brandt Fl., Albuquerqu Cd., Lorenzato Fr. (2000): Female uretral reconstruction with amnion grafts. *Int. J. Surg. Invest.* 1(5): 409-14.
- Brunel G, Brocard D, Duffort JF, Jacquet E, Justumus P, Simonet T, Benque´ E. Bioabsorbable materials for guided bone regeneration prior to implant placement and 7-year follow-up: report of 14 cases. *J Periodontol* 2001,72: 257–264.
- Brydone AS, Meek D, Maclaine S. (2010) Bone grafting, orthopaedic biomaterials, and the clinical need for bone engineering. *Proc Inst Mech Eng H.* 224(12):1329-43.
- Buck, B.E., Malinin, T.L. (1994). Human bone and tissue allografts. *Clin Orthop*, 303, 8-17.
- Buser D, Dula K, Hirt HP, Schenk RK. Lateral ridge augmentation using autografts and barrier membranes. A clinical study in 40 partially edentulous patients. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1996,54: 420–432.
- Cankaya AB.(2006) Deneysel olarak oluşturulan kemik defektlerinde sıvı nitrojen ve karbondioksit gazı uygulamasının kemik iyileşmesi üzerine olan etkilerinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi.İstanbul.İÜ Dişhekimliği Fakültesi.
- Carbonell, J. M., Martín, I. S., Santos, A., Pujol, A., Sanz-Moliner, J. D., & Nart, J. (2014). High-density polytetrafluoroethylene membranes in guided bone and tissue regeneration procedures: a literature review. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 43(1), 75-84.
- Carpio, L., Loza, J., Lynch, S., Genco, R. (2000). Guided bone regeneration around endosseous implants with anorganic bovine bone mineral. A randomized controlled trial comparing bioabsorbable versus non-resorbable barriers. *Journal Periodontology*, 71(11), 1743-1749.
- Catuna MC. Sonic surgery. *Ann Dent* 1953;12:100. The use of ultrasonic instrumentation for the transection and uniting of bone tissue in orthopaedic surgery.

Re- constr Surg Traumatol.14:147-152.

Cetinkale O. (2001): Yanık yarası ve tedavisi. cilt hastalıkları ve yara bakımı sempozyumu.İst., 89-103.

Chapple IL, Walmsley AD, Saxby MS, Moscrop H. Effect of instrument power setting during ultrasonic scaling upon treatment outcome. *J Periodontol.* 66:756-60, 1995

Chiriac G, Herten M, Schwarz F, Rothamel D, Becker J. Autogenous bone chips: influence of a new piezoelectric device (Piezosurgery) on chip morphology, cell viability and differentiation. *J Clin Periodontol.* 32:994-9, 2005

Choi, Y. Y., Chung, B. G., Lee, D. H., Khademhosseini, A., Kim, J. H., & Lee, S. H. (2010). Controlled-size embryoid body formation in concave microwell arrays. *Biomaterials*, 31(15), 4296-4303.

Chuck Rs., Graff Jm., Bryant Mr., Sweet Pm. (2004): Biomechanical charecterization of human amniotic membrane preparations for ocular surface reconstruction. *Ophthalmic Res.* 36: 341-48.

Colocho G., Graham WP. (1974): Human amniotic membrane as aphysiologic wound dressing. *Arch. Surg.* 109: 307.

Coluzzi, D. J., & Convisar, R. A. (2007). *Atlas of laser applications in dentistry* (pp. 14-15). Quintessence Publishing Company.

Comelini R, Cangini F, Martuscelli G, Wennström J. (2004) Deproteinized bovine bone and biodegradable barrier membranes to support healing following immediate placement of transmucosal implants: a short-term controlled clinical trial. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 24(6): 555-563.

Couri, C. J., Maze, G. I., Hinkson, D. W., Collins III, B. H., & Dawson, D. V. (2002). Medical grade calcium sulfate hemihydrate versus expanded polytetrafluoroethylene in the treatment of mandibular class II furcations. *Journal of periodontology*, 73(11), 1352-1359.

Cowin, S. C. *Bone Mechanics Handbook*. 2<sup>nd</sup> edn. Boca, Raton, London, New York, Washington: CRC Press. 2001; Bölüm 1: 1-68, Bölüm 2: 1-24.

Cruess RL. *Healing of bone, tendon and ligament. Fractures* 2nd ed. Philadelphia, Lippincott Co, 1984; 1: 147-167.

Currey, JD. *Bones: structure and mechanics*. Princeton University Press, 2002.

Dahlin C, Sennerby L, Lekholm U, Linde A, Nyman S. Generation of new bone around titanium implants using a membrane technique: an experimental study in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 1989;4:19–25.

Dahlin C, Lekholm U, Lindhe A. Membrane-induced bone augmentation at titanium implants. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 1991;11:273–282.

Degidi, M., Scarano, A., & Piattelli, A. (2003). Regeneration of the alveolar crest using

- titanium micromesh with autologous bone and a resorbable membrane. *Journal of Oral Implantology*, 29(2), 86-90.
- De Macedo, L. G. S., de Macedo, N. L., & Monteiro, A. D. S. F. (2009). Fresh-frozen human bone graft for repair of defect after adenomatoid odontogenic tumour removal. *Cell and tissue banking*, 10(3), 221-226.
- De Rötth A. Plastic repair of conjunctival defects with amniotic membranes. *Arch Ophthalmol*, 1940; 23:522
- De Vicente JC, Recio O, Martin-Villa L, Junquera LM, Lopez-Arranz JS. Histomorphometric evaluation of guided bone regeneration around implants with SLA surface: an experimental study in beagle dogs. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2006;35:1047–1053.
- Demirkan F., Çolakoğlu N., Herek Ö., Erkula G. (2002): The use of amniotic membrane in flexor tendon repair: An experimental model. *Arch. Ort. Trau. Surg. Sep*; 122(7): 396-9.
- Deng HW, Liu YZ. (2005) *Current Topics in Bone Biology*. Singapur: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.
- Deok-Won L, et al. "Bone regeneration effects of human allogeneous bone substitutes: a preliminary study." *Journal of periodontal & implant science* 40.3 (2010): 132-138.
- Di Lullo GA, Sweeney SM, Korkko J, Ala-Kokko L, San Antonio JD.(2002) Mapping the ligand-binding sites and disease-associated mutations on the most abundant protein in the human, type I collagen. *J Biol Chem*. 8;277(6):4223-31.
- Dickey ID, Hugate RR, Reach JS, Zobitz ME, Zhang R, Dimaano N. Soft tissue ingrowth and attachment to alumina ceramic foam: an in-vivo canine study. *Trans Orthop Res Soc* 2005,30:283.
- Dua, H. S., Gomes, J. A., King, A. J., & Maharajan, V. S. (2004). The amniotic membrane in ophthalmology. *Survey of ophthalmology*, 49(1), 51-77.
- Eggers, G., Klein, J., Blank, J., & Hassfeld, S. (2004). Piezosurgery®: an ultrasound device for cutting bone and its use and limitations in maxillofacial surgery. *British Journal of oral and maxillofacial surgery*, 42(5), 451-453.
- Erimoğlu C. (1990) İnsan anatomisi. İstanbul, İ.Ü. Basımevi ve Film Merkezi, 6-7.
- Erkol Ay., Haznedaroğlu H., Özkara T., Taşkın H. (2004): Tissue banking in the Turkey. *Cell and tissue banking*. 4: 169-172.
- Farin, G., Fischer, K., & Muller, D. (1994). U.S. Patent No. 5,776,092. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Faulk WP, Matthews R, Stevens PJ, Bennett JP, Burgos H, Hsi BL (1980) Human amnion as an adjunct in wound healing. *Lancet* 1(8179):1156–1158



- Fetterolf, D. E., & Snyder, R. J. (2012). Scientific and clinical support for the use of dehydrated amniotic membrane in wound management. *Wounds: a compendium of clinical research and practice*, 24(10), 299-307.
- Fishman IJ., Flores FN., Scott FB., Spjut HJ., Morrow B. (1987): Use of fresh placental membranes for bladder reconstruction. *J. Urol. Nov*; 138(5): 1291- 1294.
- Garg, Arun K. Bone biology, harvesting, grafting for dental implants: rationale and clinical applications. Quintessence Publishing Company, 2004.
- Gartner LP, Hiatt JL.(2001) Color textbook of Histology. Philadelphia: Saunders,Elsevier. Chap. 4, page 73.
- Geha HJ, Gleizal AM, Nimeskern NJ, Beziat JL. Sensitivity of the inferior lip and chin following mandibular bilateral sagittal split osteotomy using Piezosurgery. *Plast Reconstr Surg*. 118:1598-607, 2006
- Georgy MS., Aziz NL. (1996): Vaginoplasty using amnion graft: New surgical technique using the laparoscopic transillumination light. *J. Obst. Gynecol*. 16: 262-264.
- Gharib M., Ure BM., Klose M. (1996): Use of amnion grafts in repair of gastroschisis. *Pediatr. Surg. Int*. 11: 96-99.
- Giraud JY, Villemain S, Darmana R, Cahuzac JP, Autefage A, Morucci JP. Bone cutting. *Clin Phys Physiol Meas*. 1991;12:1-19.
- Gleizal, A., Bera, J. C., Lavandier, B., & Beziat, J. L. (2007). Piezoelectric osteotomy: a new technique for bone surgery—advantages in craniofacial surgery. *Child's Nervous System*, 23(5), 509-513.
- Gomes FR, Anjos JS, Nogueira TO.Guimaraes SAC:Histologic evaluation of the osteoinductive property of autogenous demineralized dentin matrix on surgical bone defects in rabbit skulls using human amniotic membrane for guided bone regeneration.*Oral Maxillofac Implants*.2001;16(4):563-71
- Gomes J, Romano A, Santos MS, Dua HN: Amniotic membrane use in ophthalmology. *Curr Opin Ophthalmol* 2005; 16:233-240.
- González-García, A., Diniz-Freitas, M., Somoza-Martín, M., & García-García, A. (2008). Piezoelectric and conventional osteotomy in alveolar distraction osteogenesis in a series of 17 patients. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 23(5).
- Goyal R, Jones SM, Espinosa M, Green V, Nischal KK: Amniotic membrane transplantation in children with symblepharon and massive pannus. *Arch Ophthalmol* 2006: 124; 1435-1440.
- Grenga V, Bovi M. Piezoelectric surgery for exposure of palatally impacted canines. *J Clin Orthod*. 38:446-8, 2004

- Gruber, R. M., Kramer, F. J., Merten, H. A., & Schliephake, H. (2005). Ultrasonic surgery—an alternative way in orthognathic surgery of the mandible: A pilot study. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 34(6), 590-593.
- Gutta, R., Baker, R. A., Bartolucci, A. A., & Louis, P. J. (2009). Barrier membranes used for ridge augmentation: is there an optimal pore size?. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 67(6), 1218-1225.
- Güler R, Ercan MT, Ulutuncel N, Devrim H, Uran N (1997) Measurement of blood flow by the <sup>133</sup>Xe clearance technique to grafts of amnion used in vestibuloplasty. *Br J Oral Maxillofac Surg* 35(4):280–283
- Hammarle CHF, Jung RE. Bone augmentation by means of barrier membranes. *J Periodontol* 2003; 33:36-53
- Hao Y, Ma DH, Hwang DG, Kim WS, Zhang F: Identifica- tion of antiangiogenic and antiinflammatory proteins in hu- man amniotic membrane. *Cornea*, 19: 348-352, 2000.
- Happe A. Use of a piezoelectric surgical device to harvest bone grafts from the mandibular ramus: report of 40 cases. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2007;27:241–9.
- Hasegawa M., Hironori F., Yutaka H., Junkoh Y. (2004): Autologous amnion graft for repair of myelomeningocele: Technical note and clinical implication. *J. Clin. Neuroscience*. 11(4): 408-11.
- Heiligenhaus A, Bauer D, Meller D, Steuhl KP, Tseng SC (2001) Improvement of HSV-1 necrotizing keratitis with amniotic mem- brane transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42(9):1969–1974
- Heinze J. A space-maintaining resorbable membrane for guided tissue regeneration. In: *Annual conference of the International Association of Dental Research*, 2004.
- Her, S., Kang, T., & Fien, M. J. (2012). Titanium mesh as an alternative to a membrane for ridge augmentation. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 70(4), 803-810.
- Hermann JS, Buser D. Guided bone regeneration for dental implants. *Curr Opin Periodontol* 1996;3:168-177
- Hoigne DJ, Stübinger S, Von Kaenel O, Shamdasani S, Hasenboehler P. Piezoelectric osteotomy in hand surgery: first experiences with a new technique. *BMC Musculoskelet Disord*. 7:36, 2006
- Hoffmann O, Bartee BK, Beaumont C, Kasaj A, Deli G, Zafiroopoulos GG. Alveolar bone preservation in extraction sockets using non-resorbable dPTFE membranes: a retrospective non-randomized study. *J Periodontol* 2008; 79(8): 1355-69.
- Holick MF, Krane SM, Potts JT. Calcium, phosphorus and bone metabolism: Calcium regulating hormones. In: Fa- uci AS et. al. *Harrison's Principals of Internal Medicine* 14th Edition. Mc Graw- Hill Company, USA, 1998, p: 2214-2227.

- Horton JE, Tarpley TM Jr., Jacoway JR Clinical applications of ultrasonic instrumentation in the surgical removal of bone. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 51:236-42, 1981
- Horton JE, Tarpley TM Jr, Wood LD. The healing of surgical defects in alveolar bone products with ultrasonic instrumentation, chisel, and rotary bur. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 39:536-46, 1975
- Hürzeler MB, Kohal RJ, Naghshbandi J, Mota LF, Conradt J, Hutmacher D, Caffesse RG. Evaluation of a new bioresorbable barrier to facilitate guided bone regeneration around exposed implant threads. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 1998;7:315–320.
- Iglhaut J, Aukhil I, Simpson DM, Johnston MC, Kock G. Progenitor cell kinetics during guided tissue regeneration in experimental periodontal wounds. *J Periodontol* 1988; 64; 925-933.
- Imbronito, A. V., Todescan, J. H., Carvalho, C. V., & Arana-Chavez, V. E. (2002). Healing of alveolar bone in resorbable and non-resorbable membrane-protected defects. A histologic pilot study in dogs. *Biomaterials*, 23(20), 4079-4086.
- Ito K, Nanba K, Murai S. Effects of bioabsorbable and non-resorbable barriers on bone augmentation in rabbit calvaria. *J Periodontol* 1998,69:1229–37.
- Jain, S., & Rastogi, A. (2004). Evaluation of the outcome of amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in symblepharon. *Eye*, 18(12), 1251-1257.
- Jee WSS. Structure and function of bone tissue, in Bronner F, Worrell RV(Eds) *Orthopaedics, Principles of Basic and Clinical Science*, CRC Press, Boca Raton, FL, 1999, chap. 1.
- Jee WSS. Integrated bone tissue physiology, Anatomy and physiology. in Cowin SC(Ed) *Bone Mechanics Handbook*. 2. ed. Florida: CRC press; 2001:1- 68
- Jee WSS. Integrated bone tissue physiology, Anatomy and physiology. in Cowin SC(Ed) *Bone Mechanics Handbook*. 2. ed. Florida: CRC press; 2001:1- 68
- Jungueria LC, Carneiro J. *Basic Histology*. 10<sup>th</sup> edn. Rio de Janeiro, Brazil: Lange Medical Books Mc Graw-Hill. 2003; 141-159
- Kar, I. B., Singh, A. K., Mohapatra, P. C., Mohanty, P. K., & Misra, S. (2014). Repair of oral mucosal defects with cryopreserved human amniotic membrane grafts: prospective clinical study. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 43(11), 1339-1344.
- Kesting MR, Wolf KD, Nobis CP, Rohleder NH. Amniotic membrane in oral and maxillofacial surgery, *Oral Maxillofac Surg* (2014) 18:153–164
- Khademi, B., Bahrani-fard, H., Azarpira, N., & Behboodi, E. (2013). Clinical application of amniotic membrane as a biologic dressing in oral cavity and pharyngeal defects after tumor resection. *Archives of Iranian medicine*, 16(9), 503.

- Kılıçoğlu, S. S. (2002). Mikroskobi düzeyinde kırık iyileşmesi. *Ank Üni Tıp Fak Mecm*, 2, 143-50.
- Kim YK, Kim SG, Lim SC, Lee HJ, Yun PY. A clinical study on bone formation using a demineralized bone matrix and resorbable membrane. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010,109:e6–11.
- Koizumi NJ, Inatomi TJ, Sotozono CJ, Fullwood NJ, Quantock AJ, Kinoshita S (2000) Growth factor mRNA and protein in preserved human amniotic membrane. *Curr Eye Res* 20(3):173–177
- Kostopoulos, L., & Karring, T. (1994). Augmentation of the rat mandible using guided tissue regeneration. *Clinical oral implants research*, 5(2), 75-82.
- Kothari CR, Goudar G, Hallur N, Sikkerimath B, Gudi S, Kothari MC (2012) Use of amnion as a graft material in vestibuloplasty: a clinical study. *Br J Oral Maxillofac Surg* 50(6):545–549. doi:10.1016/j.bjoms.2011.09.022
- Kotrikova B, Wirtz R, Krempien R, Blank J, Eggers G, Samiotis A, Mühling J. Piezosurgery--a new safe technique in cranial osteoplasty? *Int J Oral Maxillofac Surg*. 35:461- 5, 2006
- Kumar S, Sugandhi P, Arora R, Pandey PK: Amniotic membrane transplantation versus mucous membrane grafting in anophthalmic contracted socket. *Orbit*. 2006; 25:195-203.
- Kurkcu, M., Benlidayi, M. E., Ozsoy, S., Ozyegin, L. S., Oktar, F. N., & Kurtoglu, C. (2008). Histomorphometric evaluation of implants coated with enamel or dentine derived fluoride-substituted apatite. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine*, 19(1), 59-65.
- Lamb III, J. W., Greenwell, H., Drisko, C., Henderson, R. D., Scheetz, J. P., & Rebitski, G. (2001). A comparison of porous and non-porous teflon membranes plus demineralized freeze-dried bone allograft in the treatment of class II buccal/lingual furcation defects: A clinical reentry study. *Journal of periodontology*, 72(11), 1580-1587.
- Landes, C. A., Stübinger, S., Rieger, J., Williger, B., Ha, T. K. L., & Sader, R. (2008). Critical evaluation of piezoelectric osteotomy in orthognathic surgery: operative technique, blood loss, time requirement, nerve and vessel integrity. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 66(4), 657-674.
- Lanyon, L. E. (1993). Osteocytes, strain detection, bone modeling and remodeling. *Calcified tissue international*, 53(1), S102-S107.
- Laurell, I. Karring, t., nyman, s., gottlow, j. A. N., & (1993). Development of the biological concept of guided tissue regeneration—animal and human studies. *Periodontology* 2000, 1(1), 26-35.
- Lawson VG (1985) Oral cavity reconstruction using pectoralis major muscle and

amnion. *Arch Otolaryngol* 111(4):230–233

Lawson VG (1986) Pectoralis major muscle flap with amnion in oral cavity reconstruction. *Aust N Z J Surg* 56(2):163–166

Lee H, Ha SW, Kim JC: A novel application of amniotic membrane in patients with bullous keratopathy. *J Korean Med Sci.* 2006;21 :324-28

Lee HJ, Kim YK, Kim SG, Lim SC, Yun PY. A clinical study on bone formation using a demineralized bone matrix and resorbable membrane. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010,109:e6–11.

Lee SH., Tseng SCG. (1997): Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. *Am. J. Ophthalmol.* 123: 303-312.

Li Z., Li, Z. B. (2005). Repair of mandible defect with tissue engineering bone in rabbits. *ANZ Journal Surgery*, 75(11), 1017-1021.

Lian, J. B., Stein, G. S., Canalis, E., Gehron-Robey, P., and Boskey, A. L. (1999) Bone formation: osteoblast lineage cells, growth factors, matrix proteins and the mineralization process, in *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed., Favus, M. 1., Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, chap. 3; 79-86.

Linde A, Thoren C, Dahlin C, Sandberg E. Creation of new bone by an osteopromotive membrane technique: an experimental study in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1993,51:892–7.

Liscic RM, Brinar V, Miklic P, et al. Creutzfeldt-Jakob disease in a patient with a lyophilized duramater graft. *Acta Medica Croatica* 1999,53(2):93-96.

Luiz Carlos J., Junqueira C. *Temel Histoloji*. Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. 2006; 141-159

Lundgren D, Lundgren AK, Sennerby L, Nyman S. Augmentation of intramembranous bone beyond the skeletal envelope using an occlusive titanium barrier. An experimental study in the rabbit. *Clin Oral Implants Res* 1995, 6: 67–72.

Lynch SE, Max R, Nevins M, Lynch L. (2008) *Tissue Engineering* 2. Ed;14.

Madhavan Hn., Priva K., Malathi J., Joseph Pr. (2003): Preparation of amniotic membrane for ocular surface reconstruction. *Indian J. Ophthalmol.* Mar; 51(1): 108.

Marangon Fb., Alfonso Ec., Miler D., Remonda Nm., Mualem Ms., Tseng Sc. (2004): Incidence of microbial infection after amniotic membrane. *Cornea.* Apr; 22 (3): 204-7.

Martin RB, Burr DB. (1989) Mechanical adaptation, in *Structure, Function and Adaptation Of Compact Bone*. New York: Raven Press; chaps.2,4,7 and 8

Martin RB, Burr DB, Sharkey NA. (1998) *Skeletal Tissue Mechanics*. New York:

- Springer. Clinical and radiographic evaluation, following delivery of fixed reconstructions, at GBR treated titanium fixtures. *Clin Oral Implants Res* 1998, 9: 292–302.
- McGinnis, M., Larsen, P., Miloro, M., & Beck, F. M. (1998). Comparison of resorbable and nonresorbable guided bone regeneration materials: a preliminary study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 13(1), 30-35.
- Mencucci R, Menchini U, Dei R:Antimicrobial activity of antibiotic-treated amniotic membrane: An in vitro study. *Cornea* 2006;25:428-31
- Monteiro AS, Macedo LG, Macedo NL, Balducci I. Polyurethane and PTFE membranes for guided bone regeneration: histopathological and ultrastructural evaluation. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2010,15: e401–6.
- Moy, P. K., Lundgren, S., & Holmes, R. E. (1993). Maxillary sinus augmentation: histomorphometric analysis of graft materials for maxillary sinus floor augmentation. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 51(8), 857-862.
- Mundel RD, Mooney MP, Siegel MI, Losken A. Osseous guided tissue regeneration using a collagen barrier membrane. *J Oral Maxillofac Surg* 1993; 51: 1004-1012
- Muñoz-Guerra MF, Naval-Gías L, Capote-Moreno A. (2009) Le Fort I osteotomy, bilateral sinus lift, and inlay bone-grafting for reconstruction in the severely atrophic maxilla: a new vision of the sandwich technique, using bone scrapers and piezosurgery. *J Oral Maxillofac Surg*.67(3):613-618.
- Mücke T, Loeffelbein DJ, Holzle F, Slotta-Huspenina J, Borgmann A, Kanatas AN, Mitchell DA, Wagenpfeil S, Wolff KD, Kesting MR (2010) Intraoral defect coverage with prelaminated epigastric fat flaps with human amniotic membrane in rats. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 95 (2):466–474. doi:10.1002/jbm.b.31738
- Nakamura, T., Koizumi, N., Tsuzuki, M., Inoki, K., Sano, Y., Sotozono, C., & Kinoshita, S. (2003). Successful regrafting of cultivated corneal epithelium using amniotic membrane as a carrier in severe ocular surface disease. *Cornea*, 22(1), 70-71.
- Nanda, S., Chakraborty, S., & Amit Ray, I. (2011). Healing of cervical necrotizing fasciitis using amniotic membrane as a dressing material. *National journal of maxillofacial surgery*, 2(2), 147.
- Nandi SK, Roy S, Mukherjee P, Kundu B, De DK, Basu D.(2010) Orthopaedic applications of bone graft & graft substitutes: a review. *Indian J Med Res*.132:15-30. <http://www.icmr.nic.in/ijmr/2010/july/0704.pdf>
- Needleman, I., Tucker, R., Giedrys-Leeper, E., Worthington, H.(2002) A Systematic Review of Guided Tissue Regeneration for Periodontal Infrabony Defects, *J Periodontal Res*, 37: 380-388.
- Niknejad, H., Peirovi, H., Jorjani, M., Ahmadiani, A., Ghanavi, J., & Seifalian, A. M.



(2008). Properties of the amniotic membrane for potential use in tissue engineering. *Eur Cells Mater*, 15, 88-99.

Norris MA., Cohen MS., Warren MM., Becker SN., Baur PS., Seybold HM. (1982): Bladder reconstruction in rabbits with glutaraldehyde-stabilized amniotic membranes. *Urology*. Jun; 19(6): 631-635.

Nyman, S., Lindhe, J., & Karring, T. (1989). Reattachment-new attachment. *Textbook of clinical periodontology*, 450.

Ozgenel GY, Filiz G: Combined application of human amniotic membrane wrapping and hyaluronic acid injection in epineurectomized rat sciatic nerve. *J Reconstr Microsurg*. 2004 Feb;20(2): 153-7.

Ozgenel GY: The effects of a combination of hyaluronic and amniotic membrane on the formation of peritendinous adhesions after flexor tendon surgery in chickens. *J Bone Joint Surg Br*. 2004 Mar;86(2):301-7

Park, J. K. & Jung, H. Y.(2009). Long-term performance of DMFC based on the blend membrane of sulfonated poly (ether ether ketone) and poly (vinylidene fluoride). *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(9), 3915-3921.

Park SH, Lee K, Misch C. et al. Effect of absorbable membranes on sandwich bone augmentation. *Clin Oral Impl Res*. 2008; 19:32-41

Poonyathalang A, Preechawat P, Pomsathit J, Mahaisaviriya P: Reconstruction of contracted eye socket with amniotic membrane graft. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2005; 21:359-62.

Preti, G., Martinasso, G., Peirone, B., Navone, R., Manzella, C., Muzio, G., ... & Schierano, G. (2007). Cytokines and growth factors involved in the osseointegration of oral titanium implants positioned using piezoelectric bone surgery versus a drill technique: a pilot study in minipigs. *Journal of periodontology*, 78(4), 716-722.

Rai, M., Ramaraj, P. N., & Sharma, A. (2011). Use of amniotic membrane as dressing in cervical necrotizing fasciitis. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 69(4), 1125-1128.

Rakhmatia, Y. D., Ayukawa, Y., Furuhashi, A., & Koyano, K. (2013). Current barrier membranes: titanium mesh and other membranes for guided bone regeneration in dental applications. *Journal of prosthodontic research*, 57(1), 3-14.

Recker RR. (1992) Embryology, Anatomy and Microstructure of Bone. In Coe FI, Favus MJ, eds. *Disorders of Bone and Mineral Metabolism*. New York: Raven: 219-240.

Rinastiti M, Harijadi SAL, Sosroseno W (2006) Histological evaluation of rabbit

gingival wound healing transplanted with human amniotic membrane. *Int J Oral Maxillofac Surg* 35 (3):247–251

Robiony M, Polini F, Costa F, Vercelotti T, Polliti M. Piezoelectric bone cutting in multi-piece maxillary osteotomies. *J Oral Maxillofac Surg.* 62:759-61, 2004

Robiony M, Polini F, Costa F, Zerman N, Politi M. Ultrasonic bone cutting for surgically assisted rapid maxillary expansion (SARME) under local anaesthesia. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 36:267-9, 2007

Rocuzzo, M., Ramieri, G., Spada, M. C., Bianchi, S. D., & Berrone, S. (2004). Vertical alveolar ridge augmentation by means of a titanium mesh and autogenous bone grafts. *Clinical oral implants research*, 15(1), 73-81.

Ronda M, Rebaudi A, Torelli L, Stacchi C. Expanded vs. dense polytetrafluoroethylene membranes in vertical ridge augmentation around dental implants: a prospective randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Implants Res.* 2013; (Epub ahead of print).

Sakkas, N., Otten, J. E., Gutwald, R., & Schmelzeisen, R. (2008). Transposition of the mental nerve by piezosurgery followed by postoperative neurosensory control: a case report. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 46(4), 270-271.

Salami, A., Dellepiane, M., Proto, E., & Mora, R. (2009). Piezosurgery in otologic surgery: four years of experience. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, 140(3), 412-418.

Samandari Mh., Yaghmaei M., Ejlali M., Moshref M., Saffar As. (2004): use of amnion as a graft material in vestibuloplasty: a preliminary report. *Oral Surg. Oral 1Med. Oral Path.* May; 97: 574-8.

Sankar V., Muthusamy R. (2003): Role of human amniotic epithelial cell transplantation in spinal cord injury repair research. *Neuroscience.* 118: 11-17.

Scantlebury, T. V. (1993). 1982-1992: A Decade of Technology Development for Guided Tissue Regeneration\*. *Journal of periodontology*, 64(11s), 1129-1137.

Schaeren S, Jaquier C, Heberer M, Tolnay M, Vercelotti T, Martin I. Assessment of nerve damage using a novel ultrasonic device for bone cutting. *J Oral Maxillofac Surg* 2008,66,593-596.

Schlee M, Steigmann M, Bratu E, Garg AK. Piezosurgery: basics and possibilities. *Implant Dent.* 15:334-40, 2006

Schliephake H, Kracht D. Vertical ridge augmentation using polylactic membranes in conjunction with immediate implants in periodontally compromised extraction sites: an experimental study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997,12: 325–334.

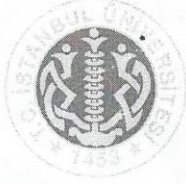
Seashare JH., Mac Naughton RJ., Talbert JL. (1975): Treatment of gastrochisis and omphalocele with biological dressing. *J. Pediatr. Surg.* Feb; 10(1): 9-17.



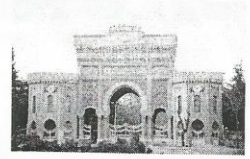
- Seibert J, Nyman S. Localized ridge augmentation in dogs: a pilot study using membranes and hydroxyapatite. *J Periodontol* 1990,3: 157–165.
- Sezer B,Seçkin T,Yüçetürk AC,Ünal T,İlgenli T.Farklı iki tip kollagen membranın kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine etkisinin histomorfometrik olarak değerlendirilmesi.Ege Dişhek. Fak. Derg. 2003,24,119-127
- Sezgin S: Amnion zarının kırık iyileşmesi üzerine etkisi. Konya: S.Ü. Meram Tıp Fakültesi, 2008.
- Shimazaki J, Yang HY, Tsubota K (1997) Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in patients with chemical and thermal burns. *Ophthalmology* 104(12):2068–2076
- Sikder, M. A., Khan, A. A., Ferdousi, F., Pradhan, L., & Tareq, B. H. (2010). Reconstruction of oral mucosal defect with Oven Dried Human Amniotic Membrane graft: A case report. *Bangladesh Journal of Medical Science*, 9(3), 170.
- Sikavitsas VI, Temenoff JS, Mikos AG. Biomaterials and bone mechanotransduction. *Biomaterials* 2001;22(19): 2581-2593.
- Silverton JS., Trelford JD., Roussere JT. The use of amniotic membrane in acute massive full- thickness loss of the abdominal wall from clostridial myonecrosis. *Ann. Plast. Surg.* 1979; 3: 558-566.
- Simunek, A., Kopecka, D., & Cierny, M. (2005). The use of oxidized regenerated cellulose (Surgicel®) in closing Schneiderian membrane tears during the sinus lift procedure. *West Indian Medical Journal*, 54(6), 398-399.
- Singh R., Chouhan US., Purohit S., Gupta P., Kumar P., Kumar A., Chacharkar MP., Kachhawa D., Ghiya BC. (2004): Radiation processed amniotic membranes in treatment of non-healing ulcers of different etiologies. *Cell And Tiss. Banking.* 5: 129-134.
- Sippel Kc., Ma Jj., Foster Cs. (2001): Amniotic membrane surgery. *curr. Opht. Opht.* Aug; 12(4): 269- 81.
- Sivolella, S., Berengo, M., Scarin, M., Mella, F., & Martinelli, F. (2006). Autogenous particulate bone collected with a piezo-electric surgical device and bone trap: a microbiological and histomorphometric study. *Archives of oral biology*, 51(10), 883-891.
- Sohn DS, Ahn MR, Lee WH, Yeo DS, Lim SY. Piezoelectric osteotomy for intraoral harvesting of bone blocks. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2007,27,127–131.
- Solomon A, Espana EM, Tseng SC: Amniotic membrane transplantation for reconstruction of the fornices. *Ophthalmology* 2003; 110: 93-100.
- Sorsby A, Symons HM. Amniotic membrane grafts in coustic burns of the eye. *Br J Ophthalmol* 1946; 30: 337-345

- Sottosanti, J. S. (1997). Calcium sulfate: a valuable addition to the implant/bone regeneration complex. *Dental implantology update*, 8(4), 25-29.
- Söderhäll C, Marenholz I, Kerscher T, Rüschenhoff F, Esparza-Gordillo J, Worm M, et al. (2007) Variants in a novel epidermal collagen gene (COL29A1) are associated with atopic dermatitis. *PLoS Biol.* 5(9):e242. doi:10.1371/journal.pbio.0050242
- Stübinger S, Kuttnerberger J, Filippi A, Sader R, Zeilhofer HF. Intraoral piezosurgery: preliminary results of a new technique. *J Oral Maxillofac Surg.* 63:1283-7, 2005
- Tejwani S, Kolari RS, Sangwan VS, Rao GN: Role of amniotic membrane graft for ocular chemical and thermal injuries. *Cornea* 2007;26:21-26
- Thomas, M. V., Puleo, D. A., & Al-Sabbagh, M. (2005). Calcium sulfate: a review. *Journal of long-term effects of medical implants*, 15(6).
- Torrella, F., Pitarch, J., Cabanes, G., & Anitua, E. (1998). Ultrasonic osteotomy for the surgical approach of the maxillary sinus: a technical note. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 13(5), 697-700.
- Tseng SC, Prabhasawat P, Lee SH. Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. *Am J Ophthalmol* 1997;124:765-74.
- Tsiridis, E., Upadhyay, N., & Giannoudis, P. (2007). Molecular aspects of fracture healing: which are the important molecules?. *Injury*, 38(1), S11-S25.
- Ueki K, Nakagawa K, Marukawa K, Yamamoto E. Le Fort I osteotomy using an ultrasonic bone curette to fracture the pterygoid plates. *J Craniomaxillofac Surg.* 32:381-6, 2004
- Urban, I. A., Lozada, J. L., Jovanovic, S. A., Nagursky, H., & Nagy, K. (2014). Vertical ridge augmentation with titanium-reinforced, dense-PTFE membranes and a combination of particulated autogenous bone and anorganic bovine bone-derived mineral: a prospective case series in 19 patients. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 29(1).
- Urist MR.(1965) Bone formation by autoinduction. *Science*, 1965; 150: 893-899.
- Van der Weijden F. (2005) *The Power of Ultrasonics*. Quintessence Books.
- Velez I, Parker WB, Siegel MA, Hernandez M (2010) Cryopreserved amniotic membrane for modulation of periodontal soft tissue healing: a pilot study. *J Periodontol* 81(12):1797-1804. doi:10.1902/jop.2010.100060
- Vercellotti T, Nevins ML, Kim DM, Nevins M, Wada K, Schenk RK, Fiorellini JP. Osseous response following resective therapy with piezosurgery. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 25:543-9, 2005
- Vishwakarma GK, Khare AK:Amniotic arthroplasty for tuberculosis of the hip. A preliminary clinical study. *J Bone Joint Surg Br.* 1986 Jan;68(1):68-74

- Volkov MV, Shepeleva IS. (1974) The use of ultrasonic instrumentation for the transection and uniting of bone tissue in orthopaedic surgery. *Reconstr Surg Traumatol*.14:147-152. (Bakınız Poblete-Michel MG ve Michel JF. 2009).
- Von Arx T, Kurt B. Implant placement and simultaneous peri-implant bone grafting using a microtitanium mesh for graft stabilization. *Int J Periodont Restor Dent* 1998,18:117-27.
- Von Arx, T., & Buser, D. (2006). Horizontal ridge augmentation using autogenous block grafts and the guided bone regeneration technique with collagen membranes: a clinical study with 42 patients. *Clinical oral implants research*, 17(4), 359-366.
- Waasdorp, J., & Feldman, S. (2013). Bone regeneration around immediate implants utilizing a dense polytetrafluoroethylene membrane without primary closure: a report of 3 cases. *Journal of Oral Implantology*, 39(3), 355-361.
- Wallace, SS., Forum, SJ. Effect of maxillary sinus augmentation on the survival of endosseous dental implants. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003,8,328-343.
- Walmsley AD, Laird WR, Williams AR. Intra-vascular thrombosis associated with dental ultrasound. *J Oral Pathol*. 16:256-9, 1987
- Walsh, L. J. (2007). Piezosurgery: an increasing role in dental hard tissue surgery. *Australasian Dental Practice*, 18(5), 52-56.
- Williams AR, Chater BV. Mammalian platelet damage in vitro by an ultrasonic therapeutic device. *Arch Oral Biol*. 25:175-9, 1980
- Wraighte, P. J., & Scammell, B. E. (2006). Principles of fracture healing. *Surgery (Oxford)*, 24(6), 198-207.
- Zablotsky, M., Meffert, R., Caudill, R., & Evans, G. (1991). Histological and clinical comparisons of guided tissue regeneration on dehisced hydroxylapatite-coated and titanium endosseous implant surfaces: A pilot study. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 6(3).
- Zhang R, An Y, Toth CA ve arkadaşları: Osteogenic protein-1 enhances osseointegration of titanium implants coated with periapatite in rabbit femoral defect. *J Biomed Mater Res* 71-B: 408-413, 2004
- Zohar Y, Talmi YP, Finkelstein Y, Shvili Y, Sadov R, Laurian N (1987) Use of human amniotic membrane in otolaryngologic 47 practice. *Laryngoscope* 97(8 Pt 1):978-980



**T.C**  
**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ**  
**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU**



Sayı: 2014/ 76

22/07/2014

Sayın: Prof.Dr. Hülya KOÇAK BERBEROĞLU  
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Karar No: 76  
Başvuru Tarihi: 17.07.2014

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, aşağıda çalışma materyali belirtilen Araş.Gör.Şemsettin Ender İLKER'e ait "Piezoelektrik Cihazı ve Cerrahi Frezle Oluşturulan Kemik Defektlerinde Amnion Zarı (sterishield amnion patch) Uygulanması ile Kemik İyileşmesinin Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul İlkelerine uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Sıçan
	Cinsiyeti	Erkek
	Sayısı	40
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi	Eylül 2014/ Eylül 2015	

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ  
İÜ HADYЕК Başkanı

Prof.Dr. Mehmet YALDIRIK  
İÜ HADYЕК Başkan Yrd.

Prof.Dr. Pınar YAMANTÜRK ÇELİK  
Üye

Prof. Dr. Ufuk ÇAKATAY  
Üye

Doç.Dr. Alper OKYAR  
Üye

Yard.Doç.Dr. Altan ARMUTAK  
Üye

Uzm.Vet.Hek. Fatma TEKELİ  
Üye

Mak.Yük.Müh.Dr. Burak OLGUN  
Üye

Av. Selma DEMİR  
Üye