



**EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ (EGF) VE DÖNÜŞTÜRÜCÜ BÜYÜME
FAKTÖRÜ- β (TGF- β)' NİN HIZLI ÜST ÇENE GENİŞLETME
SONRASINDA RAT MİDPALATAL SÜTURUNDAKİ KEMİK OLUŞUMU
ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Yağmur UZUN ŞENGÖR

**DOKTORA TEZİ
ORTODONTİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ARALIK 2015

Dt. Yağmur Uzun Şengör tarafından hazırlanan “Epidermal büyüme faktörü (EGF) ve dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β)’ nın hızlı üst çene genişletme sonrasında rat midpalatal süturundaki kemik oluşumu üzerine etkisinin incelenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / ~~OY ÇOKLUĞU~~ ile Gazi Üniversitesi Ortodonti Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Neslihan Üçüncü

Ortodonti, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum



Başkan : Prof. Dr. Sema Yüksel

Ortodonti, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum



Üye : Prof. Dr. Nilüfer Darendeliler

Ortodonti, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum



Üye : Prof. Dr. Okan Akçam

Ortodonti, Ankara Üniversitesi

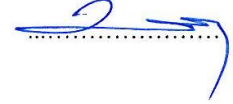
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum



Üye : Doç. Dr. Yıldırım Karşlıoğlu

Patoloji, GATA

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum



Tez Savunma Tarihi: 08/12/2015

Jüri üyeleri tarafından ~~YÜKSEK LİSANS~~ / DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Yağmur UZUN ŞENGÖR

08.12.2015

EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ (EGF) VE DÖNÜŞTÜRÜCÜ BÜYÜME
FAKTÖRÜ- β (TGF- β)' NİN HIZLI ÜST ÇENE GENİŞLETME SONRASINDA RAT
MİDPALATAL SÜTURUNDAKİ KEMİK OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİNİN
İNCELENMESİ
(Doktora Tezi)

Yağmur UZUN ŞENGÖR
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Aralık 2015

ÖZET

Bu çalışmanın amacı; Epidermal büyüme faktörü (EGF) ve Dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β) 'nın hızlı üst çene genişletmesi (RME) sonrasında midpalatal suturedaki kemik formasyonu üzerine etkilerini incelemek ve değerlendirmektir. Çalışmada, 10-12 haftalık 24 adet erkek wistar rat kullanılmıştır. Ratların üst keser dişleri arasına bir ekspansiyon apareyi yerleştirilmiştir. Uygulamanın 1. gününde premaksiller bölgeye 1. grupta 200 ng EGF, 2. grupta 200 ng TGF- β , 3.grupta 100 ng EGF ve 100 ng TGF- β 'dan oluşan karışım, kontrol grubu olan 4.grupta ise 200 ng %0,9 izotonik sodyum klorür (serum fizyolojik) enjekte edilmiştir. Aparey yerleştirildikten 14 gün sonra yeni kemik oluşumunun histolojik ve histomorfometrik değerlendirmesi için ratlar sakrifiye edilmiştir. Her bir ratın uygulama öncesi ve uygulama sonrası ağırlık ve dişler arası mesafe değişimleri kaydedilmiştir. Hematoksilen-eozin (HE) boyanan kesitlerde histolojik olarak osteoblast, osteoklast ve yeni damar oluşum miktarı; histomorfometrik olarak yeni kemik alanı ve yeni kemiğin total kemiğe olan oranı yüzdesel olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda; EGF uygulanması, kontrol grubuna göre osteoblast, osteoklast, yeni damar oluşum miktarı, yeni kemik alanı ve yeni kemiğin total kemiğe oranının yüzdesel değerlendirilmesinde istatistiksel olarak anlamlı artış sağlamıştır. Ancak, TGF- β uygulanması tüm gruplara göre osteoblast, osteoklast, yeni damar oluşum miktarı, yeni kemik alanı ve yeni kemiğin total kemiğe oranının yüzdesel değerlendirilmesinde istatistiksel olarak anlamlı en fazla artış ile kemik oluşumu göstermiştir.

Bilim Kodu : 1045
Anahtar Kelimeler : Epidermal büyüme faktörü (EGF), Dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β), hızlı üst çene genişletmesi, kemik oluşumu
Sayfa Adedi : 122
Danışman : Prof. Dr. Neslihan Üçüncü

THE INVESTIGATION OF EPIDERMAL GROWTH FACTOR (EGF) AND
TRANSFORMING GROWTH FACTOR- β (TGF- β) ON BONE FORMATION
IN RAT MIDPALATAL SUTURE AFTER RAPID MAXILLAR EXPANSION

(Ph. D. Thesis)

Yağmur UZUN ŞENGÖR
GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

December 2015

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate and evaluate the effects of Epidermal Growth Factor (EGF) and Transforming Growth Factor- β (TGF- β) on bone formation in rat midpalatal suture after rapid maxillary expansion (RME). 10-12 week old 24 male wistar rats were used in this study. An expansion device was placed between the upper incisors of rats. At the first day of application, injections were made to the premaxillary area: 200ng EGF was injected in the first group; 200 ng TGF- β was injected in the second group; 100ng EGF+ 100ng TGF- β was injected in the third group and isotonic solution (0.9%) was injected in the fourth group which served as control. 14 days after expansion device was applied, the rats were sacrificed for histological and histomorphological evaluation of new bone formation. The weight and the distance between upper incisors of each rat were recorded before and after RME treatment. From the sections which staining with hematoxylin-eosin (HE) osteoblasts, osteoclasts and neovascularization were analyzed histologically and new bone area and the ratio of new bone area to the total bone area were evaluated histomorphologically. Results showed that EGF injection caused a statistically significant increase in the number of osteoblast, osteoclast, neovascularization, new bone area and the ratio of new bone to the total bone when compared to the control group. However, TGF- β injection caused the highest increase in the number of osteoblast, osteoclast, new vessel formation, new bone area and the ratio of new bone to the total bone when compared to other groups in the study.

Science Code : 1045
Key Words : Epidermal Growth Factor (EGF), Transforming Growth Factor- β (TGF- β), Rapid maxillary expansion, bone formation
Page Number : 122
Advisor : Prof. Dr. Neslihan Üçüncü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalışmam boyunca engin bilgisini, desteğini, hoşgörüsünü esirgemeyen, sabrı ve ilgisiyle çalışmama ışık tutan değerli hocam ve tez danışmanım sayın Prof. Dr. Neslihan Üçüncü'ye,

Tez çalışmamın uygulama aşamasında yardımlarını, bilgilerini esirgemeyen sayın Prof. Dr. Nesrin Hasırcı'ya,

Tez çalışmamın histolojik ve histomorfometrik değerlendirilmesi boyunca sabrını, hoşgörüsünü, desteğini esirgmeden bana yol gösterici olan hocam sayın Doç. Dr. Yıldırım Karşlıoğlu'na,

Doktora öğrenciliğim boyunca destek ve katkılarından dolayı Ortodonti Anabilim Dalı'ndaki değerli hocalarıma,

Doktora eğitim sürecimdeki katkılarından dolayı TÜBİTAK'a;

Tez çalışmamın pilot çalışma aşamasından en son anına kadar her zaman yanımda destek olan değerli dostum Dr. Dt. Eren Korunmuş'a

Doktora eğitimim boyunca acı tatlı pek çok anı beraber yaşadığımız değerli arkadaşlarım Dr. Dt. Erdal Bozkaya, Dt. Ayşegül Ayhan Bani, Dt. Amine Buğra, Dr. Dt. Nehir Canıgür Bavbek, Jale Demirbaş, Hayri Kılıçarslan ve diğer tüm bölüm arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca her anımda yanımda olan, beni destekleyen, gücüme güç katan, ben olmamı, şu an bu satırları yazmamı sağlayan canım annem Münire Uzun ve canım babam Halil İbrahim Uzun'a,

Tanıdığım andan beri yüzümü güldüren, hayatıma sevgi katan, değer kazandıran sevgili eşim, çalışma arkadaşım Dt. Cenk Şengör'e,

Tezimin uygulama aşamasından itibaren benimle olan, varlığıyla hayatıma anlam katan, neşem, mutluluğum, bitanecik meleğim, şekerparem Elif Naz Şengör'e sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Maksiller Darlık	5
2.1.1. Maksiller darlık tarihçesi.....	5
2.1.2. Maksiller darlık etyolojisi	10
2.1.3. Posterior çapraz kapanış.....	13
2.1.4. Posterior çapraz kapanış görülme sıklığı	15
2.1.5. Maksiller darlığın tedavisi.....	16
2.2. Deney Hayvanlarında Uygulanan Hızlı Maksiller Ekspansiyon Çalışmaları.....	23
2.3. Kemik Dokusu.....	25
2.3.1. Kemik hücreleri.....	26
2.3.2. Kemik remodelingi (depozisyon ve rezorpsiyonu)	27
2.3.3. Kemğin gerilme ve sıkışmaya karşı direnci	28
2.4. Kemikleşme.....	28
2.4.1. Endokondral kemikleşme.....	28
2.4.2. İntramembranöz kemikleşme	29

	Sayfa
2.5. Büyüme Faktörleri.....	31
2.5.1. Epidermal büyüme faktörü.....	32
2.5.2. Dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β).....	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1. Gereç	37
3.1.1. Araştırmanın deney safhasında kullanılan malzemeler.....	37
3.1.2. Araştırmanın deney safhasında kullanılan farmakolojik ajanlar.....	38
3.2. Yöntem	38
3.2.1. Deney hayvanlarının çalışma için hazırlanması.....	38
3.2.2. Çalışma gruplarının oluşturulması	39
3.2.3. Aparey dizaynı	42
3.2.4. Büyüme faktörlerinin hazırlanması	42
3.2.5. Deneyin sonlandırılması.....	42
3.2.6. Örneklerin incelenmesi	43
3.2.7. İstatistiksel analiz	47
4. BULGULAR.....	49
4.1. Kullanılan Aparey ve Ratlar ile İlgili Gözlem Bulguları	49
4.2. Ağırlık Ölçüm Bulguları	49
4.3. Maksiller Dişler Arası Mesafe Ölçüm Bulguları.....	51
4.4. Histolojik ve Histomorfometrik Bulgular	54
5. TARTIŞMA	69
5.1. Amacın Tartışılması	69
5.2. Gereç ve Yöntemin Tartışılması	71
5.2.1. Deney hayvanı seçimi.....	71
5.2.2. Apareyin uygulama bölgesi ve şeklinin seçimi	73
5.2.3. Apareyin uygulama süresinin seçimi.....	75

	Sayfa
5.2.4. Uygulanan maddenin seçimi	76
5.3. Bulguların Tartışılması.....	78
5.3.1. Ratlarda gözlemsel bulguların tartışılması.....	78
5.3.2. Ratlarda ağırlık değişimleriyle ilgili bulguların tartışılması	79
5.3.3. Ratlarda maksiller dişler arası mesafe değişimleriyle ilgili bulguların tartışılması.....	80
5.3.4. Histolojik bulguların tartışılması.....	80
5.3.5. Histomorfometrik bulguların tartışılması.....	82
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	85
KAYNAKLAR	87
EKLER.....	103
EK 1. Etik Kurul Onayı	100
ÖZGEÇMİŞ	105

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Parafin takip protolü	44
Çizelge 3.2. Hematoksilen-eozin boyama protokolü.....	44
Çizelge 4.1. E grubunda uygulama öncesi ağırlık ile uygulama sonrası ağırlıklar arasındaki farklılığa ilişkin wilcoxon testi sonuçları.....	49
Çizelge 4.2. T grubunda uygulama öncesi ağırlık ile uygulama sonrası ağırlıklar arasındaki farklılığa ilişkin wilcoxon testi sonuçları.....	50
Çizelge 4.3. E+T grubunda uygulama öncesi ağırlık ile uygulama sonrası ağırlıklar arasındaki farklılığa ilişkin wilcoxon testi sonuçları	50
Çizelge 4.4. K Grubunda uygulama öncesi ağırlık ile uygulama sonrası ağırlıklar arasındaki farklılığa ilişkin wilcoxon testi sonuçları	50
Çizelge 4.5. Uygulama öncesi ağırlık ve uygulama sonrası ağırlık bakımından E, T, E+T ve K grupları arasındaki farklılığa ilişkin Kruskall-Wallis H testi	51
Çizelge 4.6. E Grubunda uygulama öncesi mesafe ile uygulama sonrası mesafe arasındaki farklılığa ilişkin Wilcoxon testi sonuçları.....	52
Çizelge 4.7. T grubunda uygulama öncesi mesafe ile uygulama sonrası mesafe arasındaki farklılığa ilişkin Wilcoxon testi sonuçları.....	52
Çizelge 4.9. K grubunda uygulama öncesi mesafe ile uygulama sonrası mesafe arasındaki farklılığa ilişkin Wilcoxon testi sonuçları.....	53
Çizelge 4.10. Uygulama öncesi mesafe ve uygulama sonrası mesafe bakımından E, T, E+T, K grupları arasındaki farklılığa ilişkin Kruskall-Wallis H testi.....	53
Çizelge 4.11a. Sütur alanındaki aktif osteoblast, osteoklast ve yeni damar oluşum sayısının yarı kantitatif skalaya göre değerlendirilmesi	57
Çizelge 4.11b. Sütur alanındaki aktif osteoblast, osteoklast, yeni damar oluşum sayısı, yeni kemik alanı ve yeni kemiğin total kemiğe oranının yüzdesel olarak değerlendirilmesi	58
Çizelge 4.12. Osteoblast değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskall-Wallis H testi.....	60
Çizelge 4.13. Osteoklast değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskall-Wallis H testi.....	62
Çizelge 4.14. Yeni damar oluşum değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskall-Wallis H testi	63

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.15. Yeni kemik alanı değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskall-Wallis H testi	64
Çizelge 4.16. Yeni kemik yüzde değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskall-Wallis H testi	66

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekiller	Sayfa
Şekil 2.1. Rat kafatasındaki sütur ve kemikler	24
Şekil 2.2. Rat kafatasının şematik görünümü	24
Şekil 2.3. Süturu oluşturan histolojik tabakalar	30
Şekil 2.4. EGF'nin kimyasal yapısı	33
Şekil 4.1. Uygulama öncesi ve sonrası ağırlık dağılım grafiği	51
Şekil 4.2. Gruplarda uygulama öncesi ve sonrası mesafe dağılım grafiği	54
Şekil 4.3. Gruplar arasında osteoblast dağılım tablosu	61
Şekil 4.4. Gruplar arasında osteoklast dağılım tablosu	62
Şekil 4.5. Gruplar arasında yeni damar oluşum dağılım tablosu	63
Şekil 4.6. Gruplar arasında yeni kemik alanı dağılım tablosu	65
Şekil 4.7. Gruplar arasında yeni kemik yüzde dağılım grafiği	66

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Hızlı üst çene genişletmesi uygulamalarında kullanılan apareyler	6
Resim 2.2. Ragno fan-type ekspansiyon apareyi.....	18
Resim 2.3. RME'nin fronto-maksiller suture etkisi	20
Resim 2.4. Ratlarda uygulanan RME yöntemleri.....	25
Resim 3.1. Uygulamada kullanılan motor ve klinik piyasemen.....	38
Resim 3.2. Uygulamada kullanılan Hamilton enjektörü	38
Resim 3.3. Uygulanan apareyin önden görünümü	39
Resim 3.4. Rat üst dişlerine aparey uygulaması için yapılan hazırlık	40
Resim 3.5. Rat dişlerinin önden görünümü	40
Resim 3.6. Enjeksiyon bölgesi (X).....	40
Resim 3.7. Diseke edilen rat maksillasının oklüzalden görünümü.....	45
Resim 3.8. Histolojik inceleme için kesit alınması	45
Resim 4.1. Rat midpalatal suturunun histolojik görüntüsü (HE X200).....	55
Resim 4.2. HE boyanmış örneklerde hücreler (HE X400)	55
Resim 4.3. Ekspanse olmuş midpalatal sutureda kemik oluşum bölgelerinin histolojik görüntüsü	56
Resim 4.4. E grubuna ait maksiller suture örneğinin HE ile boyalı kesiti HE X400 ..	57
Resim 4.5. T grubuna ait maksiller suture örneğinin HE ile boyalı kesiti HE X400 ..	59
Resim 4.6. E+T grubuna ait maksiller suture örneğinin HE ile boyalı kesiti HE X400	59
Resim 4.7. K grubuna ait maksiller suture örneğinin HE ile boyalı kesiti HE X400..	60

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

mm

Açıklamalar

Milimetre

mm²

Milimetre kare

kg

Kilogram

gr

Gram

mg

Miligram

ng

Nanogram

µm²

Mikro milimetre kare

Da

Dalton

ml

Mililitre

Kısaltmalar

Açıklamalar

BSA

Bovin serum albumin

DDY

Dudak damak yarığı

ECGF

Endotelial hücre büyüme faktörü

ECM

Ekstrasellüler matriks

EGF

Epidermal büyüme faktörü

HE

Hematoksilen-eozin

LDSE

Lorenzon-Darendeliler self ekspander

NGF

Sinir büyüme faktörü

PLF

Periostin benzeri faktör

RME

Hızlı üst çene genişletmesi

SME

Yavaş üst çene genişletmesi

TGF-β

Dönüştürücü büyüme faktörü beta

TME

Temporomandibuler eklem

1. GİRİŞ

Ortodontinin temel hedefi, oklüzal ilişkilerin düzeltilmesi, dental ve fasial estetik elde edilmesi, elde edilen sonucun stabilitesi ve devamlılığının sağlanması arasında sağlam bir dengenin kurulmasıdır. Bu çerçevede, çene-yüz sisteminde görülebilen normalden sapmış durumlar (anomaliler), ortodontinin uğraşı alanına girmektedir. Bu anomaliler, sagittal, vertikal ve transversal yönde olabilmektedir[1].

Kraniofasial bölgede görülen iskeletsel anomalilerin belki de en sık görüleni maksillanın transversal yönde dar olmasıdır. Bu darlık nedeniyle görülen maloklüzyonlar; maksillanın iskeletsel ve/veya dişsel, tek ya da çift taraflı posterior çapraz kapanışlarıdır[2].

Çapraz kapanışların ve fonksiyonel kaymaların erken teşhis ve tedavi edilmesi ile ileri dönemde kraniofasial iskelette ve dentofasial yapılarda meydana gelebilecek bozukluklar önlenmektedir. Erken dönemde çapraz kapanışların tedavi edilmesi, sürmekte olan daimi dişlerin normal konumlarına yönlendirilmesi, temporomandibular eklem ile uyumlu bir oklüzyon sağlanması ve mevcut maloklüzyonun şiddetinin azaltılması açısından büyük önem taşımaktadır[3]. Bu sayede mandibulanın fonksiyonel kayma yapmadan normal vertikal kapanışına izin verilerek kondillerin pozisyonel simetrisi de sağlanmış olmaktadır[4].

Çapraz kapanışların tedavisinde kullanılan protokollerden biri, hızlı üst çene genişletmesidir. Hızlı üst çene genişletmesi (RME), diş ve/veya palatal mukozaya diş hareket limitlerini aşan lateral yönde kuvvet uygulayarak midpalatal süturun açılması ve maksiller darlığın elimine edilmesi işlemidir. Uygulanan kuvvetler süturun bioelastik sınırını aşınca midpalatal süturda ortopedik açılma ve maksiller kemiklerde ayrılma meydana gelmektedir ki ayrılma kuvveti bioelastik dayanıklılık sınırlarının altına düşünceye kadar bu ayrılma devam etmektedir. Ayrılma sonlandıktan sonra midpalatal sütur, reorganizasyon ve remodeling olayları ile stabilize olmaya başlamaktadır. RME uygulaması ile sütura palatina media ve posterior dentisyon genişliğindeki artışı midpalatal süturdaki aktif kemik formasyonu takip eder. Ancak üst birinci büyük azılar arası mesafede elde edilen artış; pekiştirme dönemi uzun tutulmadığı ve aktif kemik formasyonu tamamlanmadığı takdirde nükle sonuçlanmaktadır. Alveolar kemik remodelinginin yetersiz olması, palatal konnektif dokuların geriliminin artması, diğer fasiyal kemiklere

bağlı süturlardaki rejenerasyon veya oral kas fonksiyonlarının kalıcı olmaması olası nüks nedenlerinin başında gelmektedir[5].

Maksiller genişletme sonrası nüks eğiliminin uzun yıllar boyunca devam ettiği ileri sürülmektedir. Bishara[6], RME sonrası süturun radyolojik olarak 3 ayda normal görüntü verdiğini, histolojik olarak ise 6 ay sonra organize olarak kalsifikasyonunu tamamladığını belirtmiştir.

Ekstrom ve arkadaşları[7] ile Jacobs ve arkadaşları[8]'nın yaptığı çalışmaların sonuçları benzer şekilde RME sonrası en az 6 ay süreyle pekiştirme yapılması gerektiğini ortaya koymuştur. Bu süre içerisinde suture palatina medianının osteogenezisine ve böylece diğer maksiller süturların yeniden organizasyonuna ve stabilizasyonuna izin verilmiş olunur.

Da silva ve ark[9], yaşları 5 ile 10 arasında değişen 17 hasta üzerinde ekspansiyon öncesi ve ekspansiyon sonrası BT kayıtları aldıkları çalışmalarında midpalatal süturun anterior nazal spinadan posterior nazal spinaya kadar komple kemikleşmesinin 8-9 ay sürdüğünü belirtmişlerdir. Bunun yanı sıra, ekspansiyonun miktarına bağlı olarak 1.5- 4 yıl pekiştirme periyodu uygulanması gerektiğini belirten çalışmalar da mevcuttur[10].

Günümüzde yukardaki bilgiler doğrultusunda bu süre, genişletme sonrası oluşan nüks nedeniyle oldukça uzun tutulmaktadır. Hem hekim hem de hastalar açısından zaman, tedavi için çok önemli bir unsurdur. Üst çene genişletmesi sonrasındaki bu pekiştirme döneminde, aktif hiçbir işlemin yapılmadığı, tedavi sürecinin rölantiye alındığı göz önünde tutulursa bu sürecin kısaltılması daha da büyük önem kazanmaktadır.

Üst çene genişletmesi sonrasında oluşan nüks oranının azaltılması, daha stabil sonuçların daha çabuk elde edilmesi uzun yıllardan beri araştırılan önemli bir konudur. RME sonrasında meydana gelebilecek nüksün önlenmesi amacı ile pek çok yöntem ve farklı ilaç kullanılmıştır.

Kemik yapım hızını ve kemik yoğunluğunu artırarak pekiştirme süresini kısaltmak için suture bölgesine pek çok uygulama yapılmıştır. Bunlar; dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β) [11], endotelial hücre büyüme faktörü (ECGF)[12], periostin benzeri faktör (PLF)[13], GSK-3 β inhibitörü[14] enjeksiyonu, lazer ile biyostimülasyon uygulanması[15,

16], osteoklastik aktivitenin baskılanması yoluyla meydana gelebilecek nüksün önlenmesi amacı ile RME sonrasında birinci nesil bifosfonat uygulanması [17], sistemik kalsitonin[18], zoledronik asit[19], propolis[20], thymoquinone[21], boron uygulanması [22], antioksidan etkisinden faydalanmak için sistemik veya topikal vitamin C[23], kemikte rejenerasyon etkisinden faydalanmak için ED-71 (D vitamini analogu) uygulanması[24], teriparatid, kalsiyum, D vitamini ve bunların kombinasyonlarının uygulanması[25], periosteal stimülasyon terapisi yapılması[26], sistemik resvatrol [27], sistemik sarı kantaron (*Hypericum perforatum*) [28], topikal ozon [29], östrojen ve testosteron hormonu [30], kök hücre tedavisi uygulanması[31] işlemleridir.

Epidermal büyüme faktörü (EGF), birçok dokuda bulunarak trombosit degranülasyonu sırasında salınan bir maddedir. Hücrelerin çoğunda EGF'ye ait reseptörler bulunur. En çok sayıda reseptör epitel hücrelerinde bulunmakla birlikte, fibroblast ve düz kas hücrelerinde de reseptörleri vardır. Bu reseptörler sayesinde EGF, epitel hücreler, endotel hücreler ve fibroblastlar için kemotaktik özellik göstermektedir[32].

Yapılan rat çalışmalarının sonuçlarına göre, EGF reseptörleri damak kubbesinin oluşumu sırasında önemli bir görev üstlenmektedir. EGF reseptörleri distorsiyona uğratılmış transgenik farelerin damak süturunun kapanmadığı yarı damaklı olarak doğduğu görülmektedir[33].

Transgenik farelerin kranial suturelarının kapanmasını stimüle etmek amaçlı yapılan çalışmada, EGF enjeksiyonu ile periost ve endosteumda osteoblast sayısında artış görülerek suturen kapanmasının hızlandığı rapor edilmiştir[34].

Günümüzde yapılan EGF çalışmaları daha çok yara dokusu ve epitelizasyon üzerinde yoğunlaşmıştır. Granülasyon dokusu, kollagen ve glikozaminoglikan düzeyini artırır; iyon salınımını, glikolizisi, DNA ve RNA ile protein yapımını artırıcı özellik gösterir[35]. Yara iyileşmesinde ve epitelizasyonda etkinliği kabul edilmiş bir faktörün kemik yapımına etkisi üzerine yapılmış araştırma sayısı oldukça azdır[36-38].

Bu nedenle çalışmamızda, kemik yapımını stimüle edici etkisi bilinen dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β)[11] ile daha önce bu konuda çalışma yapılmamış olan EGF' nin tek başına yada TGF- β ile karışım halinin RME sonrasında rat midpalatal suturendaki kemik

formasyonu üzerine etkilerinin histolojik ve histomorfometrik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Maksiller Darlık

2.1.1. Maksiller darlık tarihçesi

Maksiller darlığın tanımını ilk olarak MÖ 460-377 yılları arasında Corpus Hippokratikum yapmıştır. Bu tanımlamada, dar ve derin damak yapısı sebebiyle dişlerle ilgili sorunlardan ve beraberinde gelen semptomlar olan başağrısı ve kulak şikayetlerinden bahsedilmektedir[39].

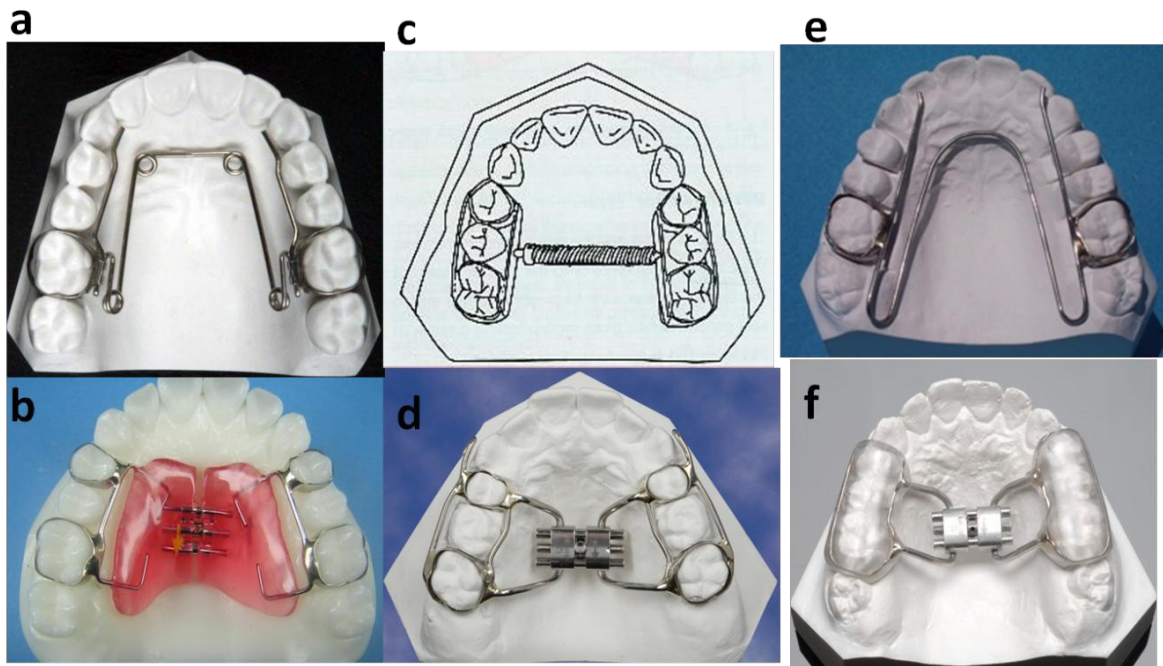
Maksiller darlığın temel tedavi sürecinde, 1728’de Fauchard[40], 1757’de Bourdet[41], 1803’de Fox[42], 1819’da Delabarre[43], 1850’de Allen[44], 1859’da Westcott[45] gibi araştırmacılar tarafından bazı yavaş genişletme tekniklerinin kullanılmasından başka uygulamada bulunulmamıştır.

İlk olarak 1860 yılında E.H. Angell, üst çenenin kuvvet uygulanarak hızlı bir şekilde genişletilmesi hakkındaki bilgi vermiştir ve yayımlanan makalesinde, küçükazılar arasına uyguladığı çift yönlü vida sayesinde midpalatal süturun açılabilceğini öne sürmüştür. Bir tarafta 1. ve 2. küçükazılardan, diğer tarafta ise yalnızca 2. küçükazıdan destek alacak şekilde dizayn edilen aparey 14 yaşında bir kız çocuğuna uygulanmıştır. Günde 2 defa vidanın çevrilmesinin sonucu olarak 2 hafta sonunda üst çenenin, ön kısmındaki dişler arasında boşluk oluşacak şekilde genişlediğini ve üst çene sağ-sol segmentlerinin ayrıldığını rapor etmiştir. O tarihlerde x ışını daha bulunmadığından bu görüşü kanıtlanamamış, oldukça eleştirilmiş ve kuşkuyla karşılanmıştır. Bunun anatomik olarak imkansız olduğunu veya mümkün olsa bile kullanılmasının tehlikeli olduğunu düşünen araştırmacılar çıkmıştır. Tartışmalar, Landsberger tarafından 1909 yılında intermaksiller süturun ayrıldığının radyolojik olarak gösterilmesiyle son bulmuştur[39].

Daha sonra Illinois Üniversitesi Ortodonti Bölümünde Brodie ve arkadaşları [46] tarafından 1938’de yapılan araştırmayla ortodontik mekanikler ile oluşturulan kemik değişikliklerinin x ışınları ile incelenmesi sağlanmış; ortodontik tedaviye eşlik eden gerçek kemik değişikliklerinin alveolar yapılar ile sınırlı kaldığı açıklanmıştır.

Thorne ve Hugo [47], hızlı üst çene genişletmesinin etkilerini seri röntgenlerle incelemiş ve maksiller apikal kaideye önemli artışlar tespit etmişlerdir.

Ricketts [48], 1960 yılında, üst daimi 1. büyükazıları bantlayarak ve bu bantlara 1 mm'lik yuvarlak çelik telden hazırlanmış, 4 heliksli, W şeklinde tel lehimleyerek Quadhelix adını verdiği aygıtla üst çeneyi genişletmiştir (Resim 2.1a). Bu aygıtın hafif, devamlı kuvvetler ilettiğini ve özellikle süt ve karma dentisyonda uygulandığında iskeletsel etkilerinin olduğunu belirtmiştir.



Resim 2.1. Hızlı üst çene genişletmesi uygulamalarında kullanılan apareyler

a: Quadheliks; b: Haas; c:Minne; d:Hyrax; e:W apareyi; f:Capsplint apareyi

Haas [49], 1961 yılında, yaptığı hayvan çalışmasında; üst çene genişletme uygulamasının klinik olarak ağrısız olduğunu, süturun çok fazla direnç göstermeyerek 2 haftada 15 mm kadar ayrılabilmesini ve resiprokal olarak alt dişlerde de genişleme gerçekleştiğini belirtmiştir. Bu bulgulardan cesaret alarak hastalar üzerinde yaptığı klinik çalışmalar ile RME'nin üst çenenin ortopedik düzeltiminde etkili olan mekanizmaları oklüzal, sefalometrik ve posteroanterior filmler ile destekleyerek bunların açığa kavuşturulmasını sağlamıştır[50-52].

Haas [50], 1965 yılında kendi adını verdiği sabit, doku destekli apareyini tanıtmış, aygıt bu dönemden sonra hızla popüler olmuştur (Resim 2.1b). Aygıt, üst 1. büyükazılar ve üst 1.

küçükazılardan oluşan 4 bant, her bandın bukkal ve lingual yüzeylerine lehimlenmiş kalın tellerden oluşmaktadır. Araştırmacı, bu akrilik plak sayesinde dişlerde daha az devrilme olduğunu ve vida ile uygulanan kuvvetin sadece dişlere değil, apareyin içine aldığı sert ve yumuşak dokulara da yayıldığını klinik olarak kanıtlamıştır.

Isaacson ve Ingram [53], 1964 yılında, daimi birinci büyük azı dişlere uyguladığı bantların arasına yerleştirdiği açık yayların vida aktivasyonu ile sıkıştırılması ile daha düşük kuvvetler uygulayarak üst çene genişletmesi yapan Minne genişletme apareyini tanıtmıştır (Resim 2.1c).

Cleall ve arkadaşları[54], 1965 yılında, Macacus Rhesus maymunları üzerinde akrilik plaktan ve dişlerden bantlar kullanarak destek alan RME apareyi kullanarak, premaksiller ve midpalatal suturedaki histolojik ve radyografik değişiklikleri değerlendirmişlerdir. Radyolojik olarak sutureda meydana gelen açılmayı, histolojik olarak ise suturen organize olmamış fibröz doku ve düzensiz kemik çıkıntıları içerecek şekilde açıldığını göstermişlerdir.

Biederman [55], 1968 yılında, daha hijyenik olacağını vurguladığı sadece diş destekli bir apareyden bahsetmiştir. Vida yardımıyla kuvvet uygulayan bu aparey birinci küçük ve büyük azı dişlerden destek almaktadır. Hyrax apareyi, sağ ve sol damak kubbesinden akrilik parçalar ile destek aldığı için damak mukozasında enflamasyona neden olduğu bildirilen Haas apareyine göre daha kolay temizlenebilmesi ve daha az irritasyona neden olması bakımından avantajlıdır (Bkz Resim 2.1d).

Cohen ve Silverman [56], 1973 yılında, bantlar olmadan posterior dişleri bukkal, palatinal, interproksimal ve isteğe göre oklüzalden kaplayan akrilik plak ve ortasında bir vidaya sahip, yerleştirmesi daha kolay bir aparey geliştirmişlerdir. Bu aparey damakta akrilik yapı içermemektedir.

Cotton [57], 1978 yılında, Minne apareyi kullanarak üst çene genişletmesi uyguladığı maymunlarda, bu aparey ile %45-65 arasında midpalatal sutureda açılma elde edilebildiğini bildirmiştir (Bkz Resim 2.1c). Aynı yıl Hicks [58], yine Minne apareyi kullanarak yaşları 10 ile 15 arasında değişen 5 hastada yavaş üst çene genişletmesi (SME) uygulamıştır. Yaklaşık 1 kg kuvvet uygulayarak üst çene segmentlerinin ayrılabilirdiğini ve dental ark genişliğinin 3,8-8,7 mm arttığını bildirmiştir.

Harberson ve Myers [59], 1978 yılında, süt ve karışık dişlenme döneminde W apareyi kullanarak posterior bölgede çapraz kapanışın düzelmesi sırasında midpalatal sutureda radyografik olarak açılma meydana geldiğini bildirmişlerdir (Bkz Resim 2.1e).

Subtelny [60], 1980 yılında, üst çenede azı dişlerin oklüzalini akrilik ile kapatarak apareyin dizaynının değişmesi ile hem dişlerdeki bukkale devrilmenin azalacağını, hem de vertikal boyutu artmış olan vakalarda fayda sağlanacağını iddia etmiştir. Ayrıca bu sayede kuvvetin nazomaksiller komplekse daha fazla iletileceğini belirtmiştir.

Timms[39], 1981 yılında, üst santral dişler dışında tüm dişlerin oklüzal yüzeylerini örten iki ayrı krom kobalt döküm plak ve bir vidadan oluşan Cap Splint apareyini tanıtmıştır (Bkz Resim 2.1f). Bu apareyi kullanarak tedavi ettiği 32 hastada üst çenenin genişletilmesi için kullanılan kuvvet sisteminin sfenoid kemiğin pterygoid prosesine doğru yöneldiğini bildirmiştir [39].

Howe[61], 1982 yılında, Hyrax vidasının kollarının posterior dişlerin etrafından servikal seviyesinde dolaşan metal iskelete lehimlemiş ve ardından posterior dişlerin dişeti kenarından oklüzale kadar olan kısımlarını akrilik ile örterek akrilik yapıştırılabilir genişletme apareyini yayımladığı bir vaka raporu ile tanıtmıştır. Spolyar[62] ise, genişletme vidasının kollarına ankraj olarak kullanılmak istenilen dişlerin kronlarının palatinalinde tersine u bükümleri vermiş ve ilgili dişlerin üzerini akrilik ile kaplayan bir aparey dizayn etmiştir.

Vardimon ve arkadaşları[63], 1989 yılında, maymunlar üzerinde yaptıkları araştırmada üst çene genişletmesi için mıknatıslardan yararlanmışlardır.

Arndt [64], 1993 yılında, üst çene arkında genişleme sağlamak amacıyla, ağız ısıyla aktive olan, hafif ve sürekli kuvvet uygulayabilen nikel titanyum genişletme aygıtını geliştirmiştir. Araştırmacı, bu aygıtın anterior ve posterior bölgede transversal yönde eşit palatal genişletme sağladığını belirterek hem hasta açısından kolay tolere edilebildiğini hem de hekim açısından uygulama kolaylığı sağladığını bildirmiştir.

Darendeliler ve arkadaşları [65], 1993 yılında, 250-500 gr'lık devamlı kuvvet uygulayan kobalt mıknatıslar ile maksiller genişletme yapmışlar; hafif fakat devamlı kuvvetler uygulayarak daha stabil sonuçlar elde edilebileceğini bildirmişlerdir.

Darendeliler ve Lorenzon[66], 1994 yılında, Lorenzon-Darendeliler Self Expander (LDSE) adını verdikleri, ortasındaki süperelastik yay tam olarak sıkıştırıldığında 800 gr kuvvet uygulayabilen bir aparey geliştirmişlerdir.

Memikoğlu ve İşeri[67], 1997 yılında, posterior dişler ile üst çenenin palatinal bölgesini tamamen, anterior dişlerin ise sadece palatinal yüzeylerini örten ve ortasında bir vida bulunduran Rijit Akrilik Bonded Maksiller Expander adlı genişletme apareyini literatüre kazandırmışlardır. Bu aparey ile yaptıkları diğer çalışmanın sonucunda üst çene genişletmesi sonrası elde edilen ortalama ortopedik açılmanın büyük kısmının iskeletsel olduğunu bildirmişlerdir[68].

Toroğlu ve arkadaşları [69], 2002 yılında, Quadhelix apareyini modifiye ederek gerçek tek taraflı maksiller darlık vakalarında uyguladıkları Asimetrik Maksiller Ekspansiyon aygıtı ile dişlerde çapraz kapanış olan tarafta genişleme kaydettiklerini ve bu aygıtın tek taraflı arka çapraz kapanışların tedavisinde etkili olduğunu, bazı hastalarda midpalatal sutureda açılma gözlemlendiği, midpalatal suturen açılma göstermediği hastalarda ise arkadaki genişlemenin belirgin bir şekilde posterior dişlerin bukkale devrilmesiyle oluştuğunu belirtmişlerdir.

Lamparski ve arkadaşları[70], 2003 yılında, Hyrax apareyinin boyutlarını sadece molar dişlere yerleştirilen bantlara genişletme vidasından ayrılan kollar lehimleyerek, daha da azaltmışlar ve Biederman[55]'in dört diştten destek alan Hyrax apareyi ile midpalatal suturen açılması ve dişsel etkileri bakımından benzer sonuçların ortaya çıktığını savunmuşlardır.

Wichelhaus ve arkadaşları [71], 2004 yılında, vida haznesinde nikel titanyum açık coil yaylar bulunduran Hyrax vidasının bir modifikasyonu olan sürekli kuvvet uygulayan hafızalı vida olarak isimlendirdikleri RME apareyini tanıtmışlardır. Vidanın sabah, öğle ve akşam ikişer defa 1/4 tur çevrilmesini önermişlerdir.

2.1.2 Maksiller darlık etyolojisi

A-Doğumsal etkenler

1. Mikrognathi Superior: Maksilla genetik olarak normalden küçüktür, maksilla tek ya da çift taraflı olarak daralmıştır ve apikal kemik kaidesi yetersizdir.
2. Dudak Damak Yarıkları (DDY): Kombine veya ayrı ayrı oluşabilmektedir. Hem unilateral hem de bilateral damak yarıklarında damak komponentlerinin gelişmemesine bağlı olarak maksiller kollaps görülmektedir[72, 73]. Bu vakalarda yanak kaslarının güçlü etkilerine bağlı olarak üst çene segmentlerinin palatinal yönde premaksillaya doğru hareket etmesi, oklüzyonun yetersiz olması, çiğnemenin tam olarak yapılamaması ve yarığın tamiri sonucunda oluşan skar dokusunun üst çene gelişimine engel olması gibi etkenler nedeniyle üst çenede darlık ve çapraz kapanış oluşabilmektedir[73].
3. Craniofacial Dysostosis (Crouzon Sendromu): Kafa kaidesi süturlarının erken kapanması sonucu üst yüzün, özellikle maksillanın büyüme ve gelişiminde yetersizlik vardır.
4. Cleidocranial Dysostosis: Büyüme gelişim eksikliği ve/veya yavaşlığı sonucu fontoneller ve süturlar geç kapanır. Buna bağlı olarak sütural büyüme gösteren üst yüz, üst çene ve paranasal sinüslerde gelişim eksikliği vardır. Bu anomaliye sahip bireylerin damakları dar ve derindir.
5. Otomandibuler Dysostosis (Hemifacial Microsomia): Yüzün yarısı diğer yarısına göre küçük kalmış olup, hem sagittal hem de transversal yönde asimetri vardır. Etkilenen tarafta maksilla ve zigomatik kemik büyüklüğü azalmıştır.
6. Mongolism (Down Sendromu): 21 nolu kromozomun bir çift değil üç adet olmasından kaynaklanır. Fontaneller ve süturlar geç kapanır. Maksillada büyüme ve gelişim eksikliği olduğundan posterior çapraz kapanış mevcuttur.
7. Akondroplazi: Kıkırdaksal kemikleşmenin eksikliği ile buna bağlı olarak periosteal kemik gelişiminin yetersiz olmasıyla karakterize bir anomalidir. Bu anomalide maksilla uzayın her üç yönünde hipoplaziktir.

8. Binder Sendromu: Spina nazalis anteriorun yokluğu ve nazal kemiklerin çöküklüğü ile ilgili olarak yüzün orta üçlüsünün yani maksillanın hipoplazisi ile karakterize konjenital bir anomalidir. Nazal hava yolunda da darlık söz konusudur.

B- Çevresel Etkenler:

1. Doğumsal travma: Doğum sırasında hekimin doğumu kolaylaştırmak amacıyla çocuğun damak kubbesinden destek alması sonucu damakta derinleşme ve darlık oluşur.

2. Dişsel etkenler: Çoğunlukla süt ve karışık dişlenme döneminde görülen fonksiyonel çapraz kapanış, erken dönemde tedavi edilmediği takdirde hem temporomandibular eklem (TME) de fonksiyonel kaymalara, hem de çenelerde kaidede asimetrik gelişime neden olmaktadır[6].

Kutin ve Hawes [74], 1969 yılında, süt ve karma dişlenme dönemindeki 3-9 yaş arası çocuklarda teşhis ettikleri üst çene darlığının etiyolojisi olarak; uzun süre ağızda kalmış süt dişlerini, erken dönemde süt dişi kayıplarını, çapraşıklıkları, parmak emme alışkanlığını, dudak damak yarığı sendromunu ve diş/ark boyu uyumsuzluklarını göstermişlerdir.

Süt dişlerinin zamanında düşmeyip uzun süre ağızda kalması, yerine gelen daimi dişlerin çapraz kapanışta sürmesine sebep olabilir[75].

3. Anormal Fonksiyon ve Alışkanlıklar: Parmak emme alışkanlığı olan çocuklarda emme işlemi sırasında parmağın basıncı, dilin basıncı, emme ile oluşan ağız içi negatif basınç ve mimik kaslarının basıncı ile üst çene alveol kemiği ve diş kavsi transversal yönde daralarak damak derinleşebilir. Parmak emme sırasında parmak ağıza yerleştirilince dil aşağıda konumlanır. Emme esnasında çalışan kaslar posterior dişlerin bukkal yüzeylerine basınç yaparken dil aşağıda konumlandığı için bu basınç karşılıksız kalır ve üst çenede daralma gözlenir. Thilander ve arkadaşları[76], süt dişlenme döneminde çapraz kapanış görülmesini parmak emme alışkanlığına bağlamaktadırlar.

Parmak emme ile benzer bir mekanizma ile uzun süre emzik emen bebeklerde de posterior çapraz kapanış görülebilir[77, 78]. Emzik emme sırasında, dil normal konumundan daha aşağı ve önde konumlanmaktadır. Bu nedenle, yanakların posterior dişler üzerine olan etkisini karşılayacak palatal destek azalarak dilin alt posterior dişler üzerine daha fazla

lateral kuvvet uygulamasına neden olmaktadır. Üst çenede dilin, palatinalden destek olamaması daha dar bir üst çene oluşumuna ve alt dişlere basıncının artması ile daha geniş bir alt çene oluşumuna sebep olmaktadır. Bu anormal değişiklikler sonucunda hem anterior open bite hem de transversal bozukluklar oluşarak posterior çapraz kapanışa eğilim artmaktadır[77]. Doğumdan 3 yaşına kadar olan yaş aralığındaki emzik emen İsveçli kız çocuklarının %26'sında çapraz kapanış olduğu teşhis edilmiştir[78].

4. Nazal obstrüksiyona bağlı ağız solunumu veya ağız solunumu alışkanlığı: Ağız solunumu yapan hastalarda nefes alabilmek için ağız sürekli açıktır ve dil normalden aşağıda konumlanmıştır. Böylece ağız boşluğunu çevreleyen nöromusküler yapı içerden desteklenemez ve bu kas kuvvetleri normal olsa bile üst çenede ve üst dental arkta transversal yönde daralmaya sebep olur. Uzun yüz sendromu veya adenoid yüz olarak adlandırılan vakalarda yüksek nazal dirençten dolayı ağız solunumu görülmektedir. Bu gibi problemi olan hastalarda retrognatik bir mandibula, protrüze olmuş üst keser dişler, yüksek ve V şeklini almış bir maksilla, daralmış bir maksiller dental ark, kısa ve zayıf üst dudak, zayıf perioral kaslar görülmektedir.

Linder-Aronson ve Lindgren[79], üst çene darlığı ile birlikte genellikle nazal tıkanıklığın ve buna bağlı ağız solunumunun görüldüğünü, ancak erken dönemde yapılacak müdahalelerle ağız solunumunun terk edilerek burun solunuma geçildiğinde problemin kendiliğinden düzelebileceğini ifade etmişlerdir.

Brogan [80], burun solunumu yetersiz olan 516 bireyden %56.8'inde tek veya çift taraflı çapraz kapanış olduğunu tespit etmiştir.

Büyümüş tonsil ve adenoidler[81], nazal tıkanıklık[81, 82] ve nazal alerji gibi solunum hastalıkları[81] ağız solunumuna neden olduklarından dolayı olarak üst çene darlığında da etken sayılabilmektedirler.

Rhesus maymunlarında burun deliklerini tıkmak suretiyle deneysel olarak ağız solunumu oluşturan Harvold ve arkadaşları[83], deney hayvanlarında kontrol gruplarına kıyasla maksillanın küçüldüğünü ve kanin dişlerin çaprazda sürdüğünü gözlemlemişlerdir.

Behlfelt ve arkadaşları[84], yaptıkları 2 farklı çalışmada genişlemiş tonsillalara sahip olan bireylerle normal tonsillalara sahip olan bireylerdeki dental ve kraniofasiyal yapıları karşılaştırmışlardır. Genişlemiş tonsillalara sahip olan hastaların normal bireylere göre daha dar üst dental arklara ve mandibulaya, daha fazla posterior çapraz kapanışa, önde konumlanmış üst keserlere, artmış overjete ve azalmış overbitea sahip olduklarını bulmuşlardır. Araştırmacılar bu iki grup arasındaki farklılıkların, genişlemiş tonsillaların sebep olduğu açıkkağız postürü, dilin altta ve önde konumlanması ve hyoid kemiğinin daha altta konumlanmasıyla ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir.

2.1.3. Posterior çapraz kapanış

Posterior çapraz kapanış; üst çene posterior dişlerin bukkal tüberküllerinin karşıt alt çene dişlerinin lingual tüberkülleriyle teması olarak tanımlanmıştır[85]. Tek veya çift taraflı olarak görülebilmekle beraber tek veya daha fazla dişi de içerebilmektedir[74, 86, 87]. Bu oklüzal uyumsuzluk genellikle üst çenenin alt çeneye göre genişliğinin yetersiz olmasından kaynaklanmaktadır[88].

Haas[50], üst çene yetersizliğinin gerçek mi yoksa göreceli mi olduğunun tespitinin önemli olduğunu söylemiştir. Göreceli yetersizliği; üst ve alt çenelerin üst yüz yapıları ile karşılaştırıldığında üst çenenin normal boyutta olmasına karşın alt çenenin büyük olması olarak tanımlarken, gerçek üst çene yetersizliğini ise üst çenenin bukkal diş segmentleri ile birlikte normalden dar olması olarak tarif etmiştir.

Moyers[86], posterior çapraz kapanışı iskeletsel, kassal ve dişsel olarak sınıflamıştır. McDonald ve Avery[89] ise, posterior çapraz kapanışın etyolojisini, kassal yerine fonksiyonel terimini tercih ederek, iskeletsel, fonksiyonel ve dişsel başlıkları altında toplamıştır.

İskeletsel posterior çapraz kapanış

Üst çene ve alt çene arasında transversal yönde bir uyumsuzluk vardır. Bunun sorumlusu her iki çeneden biri veya her ikisi de olabilmektedir[90]. Üst çene dar olabileceği gibi, alt çene normalden daha geniş olabilmektedir.

Süt dişlenme dönemindeki posterior çapraz kapanışın nedeni genellikle üst arkın daralmış olmasıdır[88]. Bu durum, üst veya alt çenenin birbirine göre asimetrik büyümesinden veya genişliklerindeki uyumsuzluktan kaynaklanabilmektedir[86].

İskeletsel posterior çapraz kapanış hem çift taraflı hem de tek taraflı olarak görülebilmektedir.

Çift taraflı iskeletsel posterior çapraz kapanış

Çift taraflı çapraz kapanışlar genellikle anteroposterior ve/veya transversal düzlemdeki iskeletsel yetersizlikler sonucunda görülmektedir. Proffit ve Fields, çift taraflı posterior çapraz kapanışı üst sağ ve sol azı dişlerin alt karşıt azı dişlere göre palatinalde konumlanması olarak tanımlamaktadır. Bu maloklüzyonun sebebi daha çok, üst çene transversal yetersizliğidir. Ancak alt çenenin fazla gelişmiş olmasından da kaynaklanabileceği unutulmamalıdır[88].

Tek taraflı iskeletsel posterior çapraz kapanış

Üst çenede tek taraftaki posterior dişlerin alt çenedeki posterior dişlere göre palatinalde konumlanması olarak tanımlanabilmektedir. Alt çene oklüzyona geçerken düz bir yol izlemektedir. Hem sentrik ilişkide hem de sentrik oklüzyonda aynı tarafta çapraz kapanış mevcuttur[90].

Fonksiyonel posterior çapraz kapanış

Oklüzal erken temaslar sonucunda alt çenenin maksimum interküspidasyon sağlayacak şekilde kapandığında bir tarafa doğru kaymasıyla karakterize olan çapraz kapanışlardır[90]. Pinto ve arkadaşları[3] alt çenenin genellikle morfolojik olarak simetrik olduğunu fakat asimetrik olarak konumlandığını söylemişlerdir.

Ingervall ve Thilander[91], çocuklarda erken temaslar sonucu görülen çene kaymalarını laterale zorlama kapanış (lateral forced bite) olarak tanımlamışlardır. Nerder ve arkadaşları [92], lateral kaymaya neden olan zorlama rehberliğin (forced guidance) bazen erken temas eden dişlerle birlikte, alt çenenin nöromusküler rehberliğiyle birlikte olduğunu belirtmişlerdir.

Oklüzal erken temasların sebebi genellikle üst çenenin morfolojik olarak dar olmasıdır. Alt ve üst dişler tüberkül tüberküle oklüzyon sağlayamayacağı için alt çene bir tarafa kayarak kapanmaktadır[3].

Ülgen[90], fonksiyonel çapraz kapanışların mümkün olduğunca erken tedavi edilmeleri gerektiğini aksi takdirde, morfolojik hale dönüşüp asimetri oluşturacağını ve tedavilerinin zorlaşacağını belirtmiştir. Bazı yazarların, normal kapanma paterninin sağlanması, gelişen oklüzyonun yeniden yapılanması ve faydalı değişiklikler için aktif büyüme periyodunun kullanılmasının erken dönemdeki tedavi ile mümkün olacağını belirtmesi bu tespiti destekler niteliktedir[3, 93].

Dişsel posterior çapraz kapanış

Dişsel posterior çapraz kapanış, bir veya bir grup dişin palatine eğimli olmasından dolayı oluşan çapraz kapanışlardır. Bu durum, bazal kemiğin transversal boyutu ve şeklinden etkilenmemektedir[88].

2.1.4. Posterior çapraz kapanış görülme sıklığı

Üst çenede darlığa bağlı olarak meydana gelen posterior çapraz kapanışın görülme sıklığı, süt dentisyonda %2,1[94] ile %23,3 [95]; daimi dentisyonda %2[96] ile %10[97] aralığında rapor edilmiştir. Irklara göre yapılan değerlendirmeler dikkate alındığında ise Afroamerikan çocuklarda %1-2[94], Beyaz Amerikalılarda %7[74, 94], Avrupalı çocuklarda ise daha yüksek %13-23'lük [95] posterior çapraz kapanış görülme sıklığı kaydedilmiştir.

Thilander ve arkadaşları[76], karma dişlenme döneminde bu oranın %8-16 arasında olduğunu belirtmişlerdir.

Sandıkçıoğlu ve Hazar[98], İzmir Bornova bölgesinde 958 Türk çocukta yaptıkları araştırmada %2,7'lik posterior çapraz kapanış görülme sıklığı kaydetmiştir. Başçıftçi ve arkadaşlarının[99] 2002'de Konya ilinde 965 çocukta yaptıkları çalışmada, posterior çapraz kapanışlı çocukların oranı %9,5 olarak kaydedilmiştir.

2.1.5. Maksiller darlığın tedavisi

Üst çene darlığının tedavi planlamasında, darlığın iskeletsel mi yoksa dişsel mi olduğunun teşhisinin yapılması büyük önem taşımaktadır. Oklüzyonun iyi bir şekilde değerlendirilebilmesi için apikal kemik kaidelerinin dikkate alınması gerektiği ve apikal kemik kaide gelişiminin dişlerin pozisyonları ile uyumlu olmadığı vakalarda uygulanan mekanik tedavilerin başarılı ve stabil olmayacağı ileri sürülmektedir [100]. Apikal kemik kaidesinin yeterli olduğu ve yalnız dişsel bir darlığın olduğu vakalarda yalnız diş kavsinin genişletilmesi gerekmektedir. Ancak, apikal kemik kaidesinde bir darlık ve bununla beraber oluşan kompanzasyondan dolayı dişlerin kronlarında bukkal yönlü devrilme mevcutsa midpalatal suturen açılmasıyla apikal kaidenin genişletilmesi hedeflenmelidir[6, 50, 90, 101].

Thilander ve arkadaşları[76] posterior çapraz kapanış problemi olan 28 çocuğun tedavi görmeden 5 yaşından 13 yaşına kadar takibi sonunda 6 tanesinin kendiliğinden düzelme gösterdiğini belirtmişlerdir. Bunun yanı sıra, üst çene darlığının kendiliğinden düzelmesinin mümkün olmadığını ve tedavi edilmesi gerektiğini söyleyen araştırmacılar da vardır[6, 74].

Üst çenenin darlığının tedavisinde suturen açılma hızına bağlı olarak yavaş üst çene genişletmesi (SME) ve hızlı üst çene genişletmesi (RME) şeklinde uygulamalar yapılmaktadır[6, 98, 99].

Yavaş, yarı hızlı ve fan-type hızlı maksiller ekspansiyon

Hızlı üst çene genişletmesi sonucu ankraj dişlerde meydana gelen rezorpsiyon[102-106], ödem, hemoraji, inflamasyon[57] gibi istenmeyen durumlar bu uygulamadaki ağır kuvvetlerin sorgulanmasına yol açmıştır. Bu düşünceler doğrultusunda, Isaacsson ve Ingram [107], RME ile oluşan kuvvetleri ölçtükleri çalışmalarında yüz iskeletindeki kuvvet birikimlerinin önüne geçilmesi açısından daha yavaş bir genişletme programının daha fizyolojik olabileceğini belirtmişlerdir.

Devamlı ve nispeten daha hafif kuvvetlerle yapılan yavaş ekspansiyon, birçok klinisyen tarafından üst çene genişletmesinde kullanılmıştır[58, 59, 108-112].

Yavaş üst çene genişletmesi (SME) yöntemi ile 450-900 gram arasında kuvvet uygulayan apareyler kullanılarak genişletme işlemi ortalama 2 -6 aylık bir sürede tamamlanmaktadır[6, 113].

Storey' in çalışmasında SME ile elde edilen haftada 0,5-1 mm'lik genişletmenin suturen burun tarafındaki kemiğin fizyolojik adaptasyonu için ideal olduğu belirtilmiştir[114].

Hicks [58], hızlı genişletmenin yavaş genişletmeden belirgin oranda daha fazla iskeletsel cevap oluşturmadığını iddia etmiştir. Süt dişlenme veya karma dişlenme dönemlerinde uygulanan SME ile üst çenenin ortopedik separasyonundan bahsetmiş ve yavaş üst çene genişletmesi ile elde edilen toplam değişimin %16'sı ile %30'u arasında değişen oranlarda iskeletsel etki olduğunu söylemiştir.

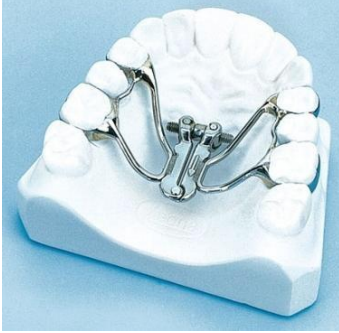
Mossaz-Joelson ve Mossaz[111] Minne expander apareyi ve Sandıkçioğlu ve Hazar [98] ise Quadhelix apareyi (Bkz Resim 2.1A) uygulayarak yaptıkları SME ile aynı miktarda yani %50 oranında dişsel ve %50 oranında iskeletsel etki elde ettiklerini bildirmişlerdir. Bunun yanı sıra, SME ile suturel dokuların direnci kırılmadığından iskeletsel etkiden ziyade ortodontik diş hareketi ile posterior dişlerin bukkale devrildiğini bildiren araştırmalar da vardır[6, 113].

Yaptığı histolojik çalışmalar sonucunda Bell [93], SME ile üst çenenin yeniden pozisyonlanması ve yeniden şekillenmesi sırasında doku bütünlüğünün ve devamlılığının korunduğunu ve bu nedenle nüksün daha az olacağını bildirmiştir.

Ragno adı verilen, örümcek şeklindeki fan-type maksiller ekspansiyon vidası, 1996 yılında, Schellino ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Bu vida, asimetric olarak çalışmaktadır ve maksiller arkta yelpaze şeklinde açılma sağlamaktadır (Resim 2.2). Fan-type RME, intermolar bölgede darlığı bulunmayan ve anterior bölgede özellikle interkanin bölgede darlığı olan vakalarda kullanılmaktadır. Çünkü interkanin bölgede, intermolar bölgeye göre daha fazla ekspansiyon sağlamaktadır [115].

Levrini ve Filippi[116], bilateral dudak damak yarığına sahip 6 yaşındaki erkek hastalarında Ragno vidasını uygulamış ve tedavi sonunda daha önceki çalışmalardan farklı olarak

interkanin genişlikte intermolar genişlikten daha fazla artış elde etmişlerdir (Resim 2.2). Sökücü ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada benzer sonuçlar bildirmektedirler [117].



Resim 2.2. Ragno fan-type ekspansiyon apareyi

Hızlı maksiller ekspansiyon (RME) endikasyonları

RME, lateral düzensizliği olan, tek taraflı veya çift taraflı birkaç dişi içeren posterior çapraz kapanışa sahip hastaların tedavisinde kullanılmaktadır. Üst çene darlığı, dişsel, iskeletsel veya hem dişsel hem iskeletsel şeklinde olabilir[50].

RME'nin bir diğer endikasyonu ön-arka yönde düzensizliği bulunan hastalardır. Örneğin, çapraz kapanışı olan veya olmayan sınıf II div. I maloklüzyonlu bireyler ve üst çene darlığı veya çapraz kapanışı olan sınıf III maloklüzyonlu bireyler için hızlı üst çene genişletmesi önerilmektedir[50].

RME, çekimsiz tedavi edilebilecek sınır vakalarda, üst arktaki çapraşıklıkla çözerek, ark boyunu arttırmak amacıyla da kullanılabilir. Bishara ve Staley [6], tedavi planı yaparken bazı faktörleri göz önünde tutmak gerektiğini belirtmişlerdir. Onlara göre; üst ve alt 1. büyükazı ve 1. küçükazı genişlikleri arasındaki uyumsuzluk miktarı önemlidir, 4mm ve üzerindeki uyumsuzluklarda hızlı üst çene genişletmesi düşünülmelidir. Ayrıca, çapraz kapanışın şiddeti, kaç dişi kapsadığı, büyükazı ve küçükazıların başlangıç angulasyonları göz önünde bulundurulmalıdır.

Bell [93], RME ile elde edilen iskeletsel yanıtın, posterior dişleri normal oklüzyona yönlendirerek asimetrik kondiler pozisyonu düzelterek, böylece mandibulanın daha vertikal yönde kapanmasını sağlayarak, fonksiyonel kaymaları ve olası temporomandibular eklem (TME) disfonksiyonlarını önleyeceğini belirtmiştir.

Üst çenesi dar olan bireylerde gülme esnasında ağız kenarlarında bukkal koridorların oluştuğu, bu tip vakalarda çekimli veya çekimsiz olmasına bakmaksızın üst çenenin genişletilmesi gerektiği ileri sürülmektedir. Üst kaninler arası mesafenin arttırılması ile bukkal koridorlar azaltılarak veya tamamen ortadan kaldırılarak estetik bir görünüm elde edileceği belirtilmektedir[2].

McNamara hızlı üst çene genişletmesi endikasyonlarını şu şekilde sıralamıştır:

- Posterior çapraz kapanışlar
- Posterior dişlerin aksiyal eğimlerinin düzeltilmesi
- Ark boyunun arttırılması
- Üst çene darlığı görülen Sınıf II ve Sınıf III maloklüzyonlar
- Maksiller sütural sistemin mobilizasyonu
- Nazal direncin düşürülmesi
- Fonksiyonel çene ortopedisi veya ortognatik tedavi hazırlığı
- Gülümsemenin Genişletilmesi [2]

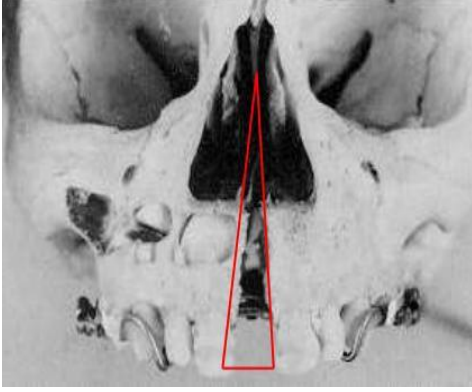
Hızlı maksiller ekspansiyon kontrendikasyonları

- Bir dişi çapraz kapanışta olan hastalar [6]
- Maksilla ve mandibulasında iskeletsel asimetrisi olan, anteroposterior ve vertikal yönde ciddi yetmezliği olan yetişkin bireyler[101]
- İskeletsel açık kapanış eğilimi bulunan, dudakları arasında büyük açıklık olan, iskeletsel sınıf II maloklüzyonla beraber uzamış alt yüz ve artmış fasiyal konveksiteye sahip hastalar[118]
- Anterior açık kapanışı olan, dik mandibular düzlem eğimli ve konveks profilli hastalar [67]
- Kooperasyonu zayıf olan hastalar

Hızlı maksiller ekspansiyon ile oluşan değişimler

Dişlere ve maksiller alveolar süreçlere uygulanan kuvvet, ortodontik diş hareketi için gerekli sınırın üstüne çıktığında uygulanan ortopedik kuvvetin etkisiyle periodontal ligament sıkışır, alveolar süreçler eğilir, ankraj dişler devrilir ve midpalatal suture açılır.

Bu ayrılma, anteroposterior yönde paralel değildir. Tepesi spina nasalis posteriorda, tabanı anteriorda olan üçgen şeklindedir[6]. Yani anteriordan posteriora doğru azalır. Frontal düzlemde her bir maksiller kemik, merkezi fronto-maksiller suture olacak şekilde rotasyon yaparak aşağıya ve öne doğru hareket etmektedir[101] (Resim 2.3).



Resim 2.3. RME'nin fronto-maksiller suture etkisi

Palatal kubbenin orijinal yüksekliğinin korunduğunu belirtenler[119] olsa da, genel olarak maksillanın palatal proçeslerinin aşağıya indiği, dolayısıyla damak kubbesinin düzleştiği ve damak derinliğinin azaldığı kabul edilmektedir[120].

Hasta açısından RME uygulamasına eşlik eden en belirgin klinik fark, kesici dişler arasında oluşan diastemadır. Transseptal lifler tarafından çekilen dişler uygulama sonunda tekrar proksimal kontakta gelirler[101]. RME sonucunda, alveolar bükülme ve periodontal ligamentin kompresyonu nedeniyle, posterior dişlerin uzun eksenlerinde belirgin bir devrilme gözlenir[6].

Değişimin miktarı ve kalıcılığı konusunda birtakım anlaşmazlıklar olsa da, RME ile genellikle alt çenenin aşağıya ve geriye doğru hareket ettiği kabul edilir. RME sırasında mandibular düzlem açısının artmasının nedeni, maksiller posterior dişlerin ekstrüze olması ve devrilme hareketi yapmasıdır[6]. RME'yi takiben mandibular intermolar mesafenin de arttığı bildirilmiştir[101, 121].

Mandibuladan sonra yüzün en büyük kemiği olan maksilla; sfenoid, zigomatik, nazal, frontal, lakrimal, etmoid, vomer, inferior nazal konka ve palatin kemiklerle bağlantı yapmaktadır[39]. Üst çene genişletmesi sırasında bu yapılara da kuvvet iletilmektedir. Wertz[101], kuru kafalara RME uyguladığında, maksillo-nazal, maksillo-frontal ve

maksillo-etmoidal sturların etkilendiğini, ancak pterigo-palatin ve maksillo-palatin süturlarda herhangi bir değişimin olmadığını gözlemlemiştir.

Rhesus maymunlarına kuvvet uygulanması sonucunda midpalatal sturu inceleyen Cleall ve arkadaşları[54], süturun açıldığını ve oluşan boşluğun disorganize fibröz bağ dokusu ile dolduğunu, fakat daha sonra hızlı bir şekilde kemikleşerek süturun normal görünümünü kazandığını bildirmişlerdir.

Gardner ve Kronman [122], maymunları, palatal genişletme sonrası ultraviyole ışık altında incelemişler ve midpalatal sturla birlikte maksillanın infratemporal bölgesinde, sfenoidin büyük kanatlarında, zigomatik arkta, pterygoid plaklarda ve hamular proeslerde kemik apozisyonu tespit etmişlerdir.

Brossman ve arkadaşları[123], maymunlarda gerçekleştirdikleri RME sonrasında, maksiller segmentlerin büyük lde birbirinden ayrıldığını, eksternal yüzeylerinde kemik yığılımlı olduğunu ve belirgin bir deformasyon oluştuğunu bildirmişlerdir.

Hızlı genişletilmiş bir sütural dokunun histolojik resminde serbestçe yüzen kemik parçaları, çok sayıda mikrofraktürler, kist şeklinde oluşumlar, enflamasyon yapısında ve yüksek derecede damarlanmış disorganize bağ dokusu ve immatür kemik dokusuyla birlikte hızlı distrofik kemikleşme gözlenmektedir[7, 54].

Arat ve arkadaşları[124], farklı büyüme periyodundaki hastalarda yapılan RME işlemi sonrası kemik dokulardaki değişimleri kemik sintigrafisi metoduyla incelemişler ve metabolik aktivite artışının en fazla olduğu bölgenin süturun anterior kısmı olduğunu belirtmişlerdir.

Bıçakçı[125], Laser Doppler Flowmetry kullanarak RME sırasında ve sonrasında midpalatal sütür bölgesinde kan akımındaki farklılıkları kontrol etmiş ve RME sırasında sütür bölgesinde kan akımında artış gözlemlemiştir. Bu artışı, bölgedeki enflamasyona, hücre proliferasyonu ve yığılımlına bağlamış, sütür bölgesindeki tamir ve rejenerasyon gibi olayların kan akımında artışa neden olduğunu belirtmiştir. Pekiştirme dönemi sonundaki kan akımı seviyesinin başlangıç seviyesine yaklaşmış olmasına rağmen hala devam ettiğini bildirmiş ve 3 aylık pekiştirme dönemi sonunda dahi reorganizasyonun devam ettiğini göstermiştir.

Horizontal düzlemde incelendiğinde, midpalatal sütür anteriorda paralel olarak ayrılır ancak posteriorda zigomatik ark ve sfenoid kemiğin korpusu direnç göstererek paralel ayrılma gerçekleşmesine engel olmaktadır [115].

Jafari ve arkadaşları[126] ve İşeri ve arkadaşları[127] RME' nin kraniofasiyal yapılar üzerindeki biyomekanik etkilerini, sonlu elemanlar modelleri üzerinde yaptıkları çalışmalarla incelemişler ve RME ile kraniofasiyal kompleksin birçok kısmında yüksek kuvvetlerin oluştuğunu belirtmişlerdir.

İşeri ve arkadaşları[127], maksillada kanin ve molar bölgede, alt nazal kavitenin lateral duvarlarında, zigomatik ve nazal kemiklerde ve en çok da sfenoid kemiğin pterygoid süreçlerinin superior kısmında yani kafa kaidesine yakın olan bölgede yüksek stres seviyeleri tespit etmişlerdir. Jafari ve arkadaşları[126] da, zigomatik butress bölgesinde ve maksillanın tüber bölgesinde yüksek stres seviyesi tespit etmişlerdir. Ayrıca, maksillanın frontal süreci civarında, nazomaksiller, nazofrontal ve frontomaksiller suturelarda, zigomatik arkta, zigomatikomaksiller ve zigomatikotemporal suturelarda da yüksek stres seviyeleri oluştuğunu göstermişlerdir. Sonuç olarak araştırmacılar, çalışmalarının bulgularına dayanarak, genişletmeye karşı oluşan esas direncin, midpalatal suturedan ziyade çevre iskelet yapılardan kaynaklandığını göstermişlerdir[126, 127].

Adkins ve arkadaşları[128] Hyrax aпараты ile yapılan RME' nin ark boyunda yaptığı değişiklikleri incelemişler ve maksiller ark boyundaki artışın, interpremolar genişlik artışının yaklaşık 0.7 katı olduğunu bulmuşlardır. Adkins ve arkadaşları bu çalışmalarında, intermolar genişlikte 6,5 mm, interpremolar genişlikte 6.1 mm, interkanin genişlikte ise 2.9 mm artış bulmuşlardır.

Garrett [129], CBCT ile yaptığı çalışmasında yapılan iskeletsel ekspansiyonun 1. premolar hizasında %55, 2. premolar hizasında %45 ve 1. molar hizasında %38 oranlarında olduğunu bildirmiştir.

Memikoğlu ve İşeri [68], bonded RME aпараты ile yaptıkları çalışmalarında, tedavi sonunda maksiller interkanin genişliğin stabil kalmayıp azaldığını, maksiller intermolar genişliğin ise retansiyon dönemi sonunda da stabil kaldığını bulmuşlardır[130].

2.2. Deney Hayvanlarında Uygulanan Hızlı Maksiller Ekspansiyon Çalışmaları

Maksiller kemiklerin kuvvet uygulanarak birbirinden ayrılması ile ilgili ilk deneysel yaklaşım 1914 yılında Dewey tarafından gerçekleştirilmiştir[131]. Dewey, 2 yaşındaki köpeklerde, kaninler arasında genişletme yapmıştır. Daha sonraki yıllarda birçok araştırmacı üst çene genişletmesini çeşitli yönleriyle incelemek için bazı hayvanlarda deneysel uygulamalar yürütmüştür.

Cleall ve arkadaşları[54], Murray ve Cleall[132], Walters[120], Cotton[57], Muguerza ve Shapiro[110], Guyman ve arkadaşları[133], Vardimon ve arkadaşları[63, 134] maymunlar; Debbane[135], Brin ve arkadaşları[136], Vardimon ve arkadaşları[134, 137], Wang ve arkadaşları[138] kediler; Haas[50], Sun ve arkadaşları[139] ise domuzlar üzerinde üst çene genişletmesi yapmışlardır.

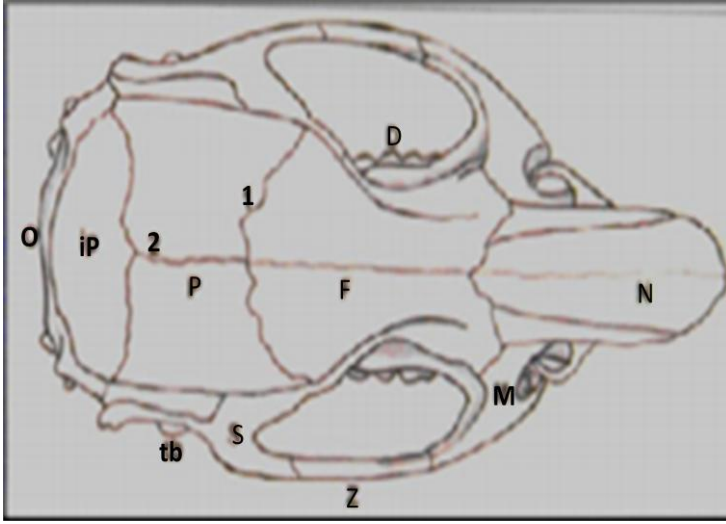
Tavşanlar üzerinde yürütülen sınırlı sayıdaki çalışmalarda ise premaksiller[24, 114], midnazal[140] ve midpalatal[18, 141] süturlarda çeşitli şekilde genişletmeler yapılmıştır.

Mörndal[142], Southard ve Forbes[143], Takahashi[144], Zahrowski ve Turley[145], Sawada ve Shimizu[11], Chang ve arkadaşları[12], Kanekawa ve Shimizu[146], Kobayashi ve arkadaşları[17, 147], Lee ve arkadaşları[17], Darı [16], Öztürk[19], Uysal[23, 24, 26, 27], Kara ve arkadaşları[21], Altan ve arkadaşları[20] gibi birçok araştırmacı da üst çene genişletmesinde ratları tercih etmişlerdir.

Diğer deney hayvanlarına göre daha ucuza elde edilebilmeleri, histolojik kesitlerin hazırlanmasının kolay olması, hücresel ve moleküler biyolojik teknikler için gereken antikörlerin çoğunun yalnızca ratlar için mevcut olması gibi etkenler, deneysel çalışmalarda çoğunlukla ratların tercih edilmesini sağlamıştır.

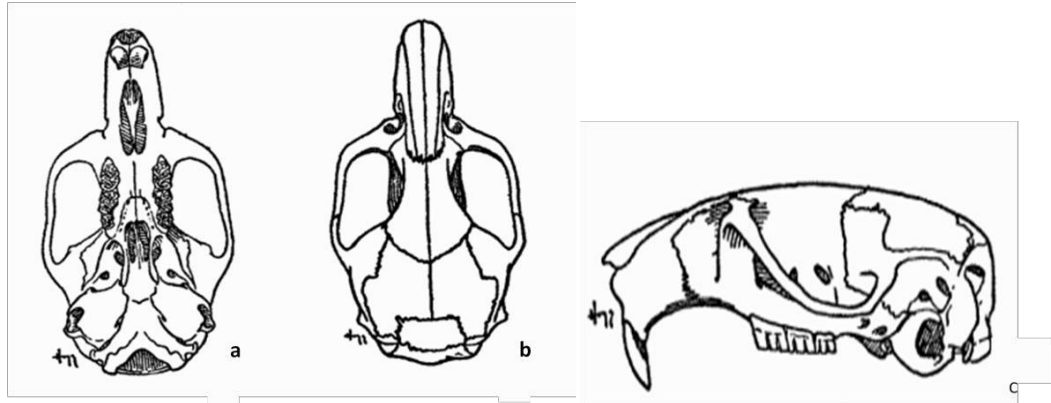
Rat, tipik bir omurgalıdır. İskelet sistemi aksiyal ve appendiküler bölümlere ayrılır. Aksiyal iskelet, kafatası, omurga, sternum ve kaburgaları, appendiküler iskelet ise pektoral kavşak, üst ekstremité, pelvis ve alt ekstremitéyi kapsar. Uzun nazal kemik yapının arkasında kafatası boşluğunun tavanını yapan frontal ve parietal kemikler bulunur. Parietal kemik ile oksipital kemik arasında interparietal kemik vardır (Şekil 2.1, 2.2).

Ratlarda 6 hafta bebeklik-çocukluk, 15 hafta ergenlik, 24 hafta genç erişkinlik, 52 hafta geç erişkinlik dönemi olarak tanımlanmaktadır. Wistar türü erkek ratların erişkin ağırlığı ortalama 300-350gr'dır[148]. 10-12 haftalık 180-220g ağırlığındaki erkek bir ratın büyüme gelişimi insanda erkek bireylerde 13-15 yaşına yani büyüme gelişimin tamamlanmasından önceki döneme tekabül etmektedir[149].



Şekil 2.1. Rat kafatasındaki suture ve kemikler

D: Molar dişler F: Frontal kemik M: Maksillanın zigomatik çıkıntısı N: Nazal kemik O: Oksipital kemik P: Parietal kemik S: Skuamoz kemik İP: İnterparietal kemik tb: Timpanik bulla 1: Koronal suture 2: Sagittal suture[150]

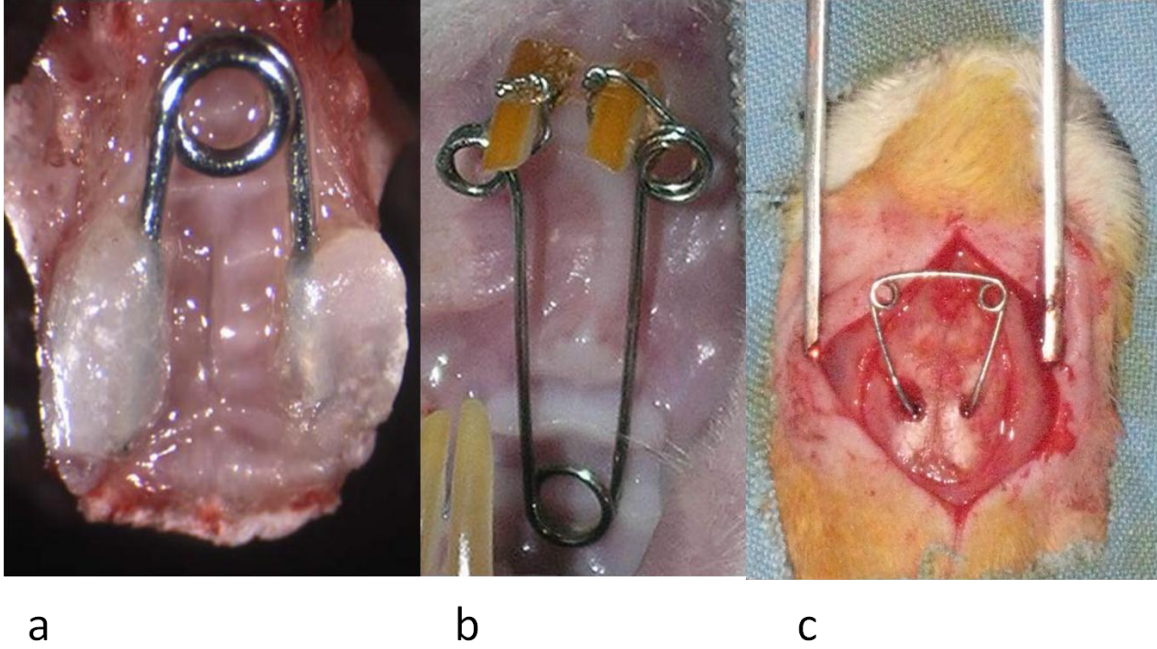


Şekil 2.2. Rat kafatasının şematik görünümü

a: rat kafatasının alttan görünümü b: rat kafatasının üstten görünümü c: rat kafatasının yandan görünümü

Ratlar üzerinde yapılan üst çene genişletme uygulamalarının çoğu, kemirgen olmalarından dolayı oldukça uzun birer kökü olan üst iki keser dişinden destek alınarak premaksiller bölgede yapılmıştır. Ratların üst kesici dişleri arasına ekspansif yönde kuvvet uygulayarak premaksiller genişletme elde edilmiştir (Resim 2.4b). Ratın ağzının küçük ve ağız

açıklığının az olması bukkal dişlere (premolar ve molar) ulaşmayı ve suture palatina mediyayı ayıracak bir işlem yapmayı zorlaştırmaktadır. Ayrıca ratların premolar ve molar dişlerinin ağız içinde görünen kron boyları da oldukça kısadır, bu nedenle posterior dişlerden destek alan bir aparatın yapımı zordur. Ratlarla ilgili üst çene genişletme uygulamaları arasında Takahashi ve arkadaşları[144], Kobayashi ve arkadaşları[147] ile Hou ve arkadaşları[151]'nin yürüttüğü çalışmalarda molar dişler arasına kuvvet uygulanarak maksiller genişletme yapıldığı bildirilmiştir (Resim 2.4a). Ratların ağız içinde çalışılması zor olduğundan bazı yazarlar[17, 152], rat kafatasındaki sagittal sutureda genişletme yapmayı tercih etmişlerdir. Ancak bu yöntem de oldukça invaziv ve travmatiktir (Resim 2.4c).



Resim 2.4. Ratlarda uygulanan RME yöntemleri

a: ratlarda molar dişlere kuvvet uygulanarak yapılan ekspansiyon[151].

b: ratlarda ön üst keser dişlere kuvvet uygulanarak yapılan ekspansiyon [21].

c: ratlarda kafatasındaki sagittal sutureda kuvvet uygulanarak yapılan ekspansiyon[19].

2.3. Kemik Dokusu

Kemik, dinamik, iyi organize olmuş, çevreden gelen mekanik ve hormonal uyarılara göre kendini şekillendirebilen yüksek seviyede damarlanması ve innervasyonu olan mineralize olmuş bir bağ dokusudur. Olgunlaşmış kemik, merkezinde yağlı ya da hematopoietik doku içeren kemik iliği, bunu çevreleyen kemik dokusu ve kemik dokusunu örten periosttan meydana gelir. Kemik dokusu, nöromusküler ağı destek sağlayarak, kas fonksiyonlarını

düzenlerken[153] kalsiyum ve fosfat deposu olarak görev yaparak mineral metabolizmasında da önemli bir rol oynamaktadır [154].

Kemiğin kimyasal yapısı %71 inorganik tuzlar (kalsiyumfosfat ve kalsiyumhidroksiapatit), %18,5 kollagen lifler, %0,25 mukopolisakkarid, %1,75 protein ve %8,5 sudan oluşmaktadır. Kemik sert ve mineralize yapıda olmasına rağmen %2,5 esneme oranına sahiptir. Kemik dokusu mm² başına 15 kg basınca ve 10 kg çekme kuvvetine dirençlidir. Bu direnç, kemiğin elastik özelliğinden kaynaklanmaktadır ancak bu değerler aşıldığında kemik dokusunda kırık veya çatlak oluşur[155].

Vücuttaki toplam kemiğin %75'ini kortikal (kompakt) kemik ve kalan %25' ini de trabeküler (spongioz) kemik oluşturur. Kompakt kemik spongioz kemiğe göre çok daha serttir, dış kuvvetlere dayanıklıdır, yassı kemiklerin iç ve dış yüzeylerini ve uzun kemiklerin dış yüzeylerini oluşturur. Spongioz kemik ise daha yumuşak ve daha zayıftır, ancak yine de strese dayanıklıdır ve içinde kemik iliği mevcuttur[156]. Beslenme, kortikal kemikte Havers kanalları ile trabeküler kemikte ise ekstraselüler sıvıdan difüzyon yoluyla sağlanmaktadır. Trabeküler kemik metabolik olarak daha aktif bir yapıya sahiptir. Yenilenme hızı trabeküler kemikte yıllık %20, kortikal kemikte %4 olarak tespit edilmiştir [157].

2.3.1. Kemik hücreleri

Kemik içerisinde temel olarak 3 farklı hücre ayırt edilebilir; matriks üreten osteoblastlar, osteositler ve doku rezorbe eden osteoklastlardır. Osteoblastlar ve osteositler mezenkimal kök hücrelerinden kaynak alırken, osteoklastlar hematopoetik orijinlidirler[158].

Osteoblastlar, kemik matriksinin organik kısmının yapımından sorumlu hücrelerdir. Kemik dokusu yüzeyinde, düzensiz tek sıra şeklinde yanyana dizilmişlerdir. Morfolojik olarak küboidal şekillidir. İnorganik yapının apozisyonu osteoblastların varlığına bağlıdır. Kemik yapımı sırasında bazı osteoblastlar, matriks içinde sıkışıp kalarak osteositlere dönüşürler[158].

Osteoblastlara oranla daha az aktivite gösteren osteositler, kemik yapının korunmasında temel rol oynarlar[159]. Erişkin iskeletin kemik hücrelerinin %90-95'inden fazlasını oluşturan osteositler, matriks proteini ve hücre organellerini azaltarak canlılıklarını yıllar boyunca korurlar[160]. Kemik yapısının ve kütlelerinin korunmasından sorumlu, mekanik

uyaranlara hassas bu hücreler, kemik dokudaki gerilime cevap verip osteoklastları ihtiyaç alanlarına çekerek remodelingi arttırmış olurlar[161].

Kemik iliğindeki hematopoetik kök hücrelerden kaynak alan osteoklastlar, kemik rezorpsiyonundan sorumlu, çok çekirdekli, büyük, hareketli ve lizozomal enzimler taşıyan hücrelerdir. Ayrıca çok sayıda mitokondri, golgi aygıtı ve serbest ribozom da içermektedir [158]. Osteoklastlar erişkin iskeletindeki tüm kemik hücrelerinin %1'den az bir kısmını meydana getirirler[157]. Aktif kemik döngüsünün olduğu yerlerde sayıları artar. Osteoblastlarla beraber kuvvete bağlı olarak kemik ve kıkırdığın remodelasyonunda aktif rol oynamaktadırlar. Kemik rezorpsiyonunun başladığı bölgelerde, enzimatik olarak açılmış, howship laküna adı verilen çukurcularda bulunurlar[158]. Rezorbe edecekleri kemik yüzeyine hidrolitik enzimler salgılayarak kemiğin ve kalsifiye olmuş kıkırdığın organik ve inorganik matrikslerini yıkıma uğratırlar. Osteoblastlarla beraber kuvvete bağlı olarak kemik şekillenmesine imkan verirler. Kemik ve kıkırdığın repozisyonu ve kemiğin yeniden şekillenmesinde rol oynarlar[155].

2.3.2. Kemik remodelingi (depozisyon ve rezorpsiyonu)

Kemik sabit bir destek dokusu olmayıp sürekli olarak yıkım ve ardından yeni kemik yapımı şeklinde yeni yapılanma göstermektedir. Canlı kemik dokusu, mekanik zorlama çizgileri boyunca matriks ile mineral depolarını devamlı yeniler ve adapte eder. Normal koşullar altında bu iki olay, oluşan kemik dokusu miktarı rezorbe olan kemik dokusu miktarına eşit olacak şekilde dengeli bir biçimde devam eder. Böylelikle kemiğin total kütlesi korunmuş olur [155].

Osteoklastlar, küçük fakat yoğun kitleler halinde ortaya çıktıktan sonra 0,2-1 mm çapında birkaç mm uzunluğunda tüneller açarak yaklaşık 3 hafta boyunca kemiği rezorbe ederler. Bu sürenin sonunda osteoklastların kaybolup tünelin osteoblastlarla dolmasıyla yeni kemik oluşumu başlar. Kemiğin sürekli olarak depozisyonu ve rezorpsiyonunun yani remodelinginin fizyolojik olarak pekçok önemi vardır. Öncelikle kemik, streslerin derecesi ile doğru orantılı olarak kuvvetini ayarlamaktadır. Sonuçta kemikler ne kadar ağır yüklerle maruz kalırsa o derece kalınlaşmaktadır. Hatta stres paternleri ile uyumlu olarak, mekanik kuvvetleri uygun şekilde desteklemek için depozisyon ve rezorpsiyonla kemiğin şekli bile yeniden düzenlenebilir. Ayrıca, eski organik matriks dejenere oldukça kemik nispeten

güçsüz bir hale gelir kırılabilirliği artar ve yeni organik matrikse gerek duyulur. Bu sayede kemiğin normal dayanıklılığı devam ettirilmiş olur[162].

2.3.3. Kemiğin gerilme ve sıkışmaya karşı direnci

Kemiğin kollagen liflerinin gerilme direnci çok fazladır ve tendonlarınkine benzer. Diğer yandan, fiziksel özellik olarak mermere benzeyen kalsiyum tuzları da çok yüksek sıkışma direncine sahiptir. Bu özelliklere kollagen liflerle kristaller arasındaki bağlanmanın derecesi de eklendiğinde kemik dokusu gerilme ve sıkışmaya karşı büyük bir direnç kazanmış olur. Bu şekilde kemik bir betonarme inşaata benzemektedir. Aslında kemiğin sıkışmaya direnci en iyi betonarme yapıdan bile güçlü, gerilmeye direnci ise ona yakındır[162]. Kemik sert ve mineralize bir yapıda olmasına rağmen, kırılma olmaksızın %2.5 oranında esneyebilir. Bu bükülme, sıkışma ve gerilme bölgeleri oluşturarak formasyon ve rezorpsiyon alanları oluşmasına neden olur[153].

2.4. Kemikleşme

Kemik dokusu şu sıraya göre oluşmaktadır; mezenkim hücrelerin osteoblastlara farklılaşması, osteoblastların kemik dokusunun organik kısmı olan kollagen fibrilleri ve esas maddeyi salgılaması, organik maddenin mineralizasyonu (hidroksiapatit kristallerinin esas maddeye çökmesi) ve osteoklastların ortamda belirmesi[163].

Kemik oluşumu iki farklı yoldan olmaktadır: İntramembranöz (direkt, zarsal) kemikleşme ve endokondral (indirekt, kıkırdaksal) kemikleşme.

2.4.1. Endokondral kemikleşme

Bu tip kemikleşme, kıkırdağımsı matriks salınımı yapan ve ileride kondrositlere dönüşecek olan differansiye olmamış mezenkimal hücrelerin kemik yapım sahasında birikmesi ile başlar. Hyalin ve hyaline benzer yapıdaki kıkırdağın oluşmasından sonra, kıkırdağın bazı bölgeleri kalsifiye olur, kondrositler büyür, damarsal yapılar kıkırdak dokunun içerisine ilerler, kartilaj dokunun içerisine yerleşen hücreler dokuda rezorpsiyon yaratarak kemik iliği boşluklarını oluştururlar. Damarsal yapılar ile beraber sahaya ulaşmış olan osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşürler ve kalsifiye kartilaj ve olgunlaşmamış

kemik üzerinde kemik matriksinin oluşmasını sağlarlar. Olgunlaşmamış kemik ya da örgü kemik diye adlandırılan bu kemik farklılaşarak lameller kemiğe dönüşür[164].

2.4.2. İntramembranöz kemikleşme

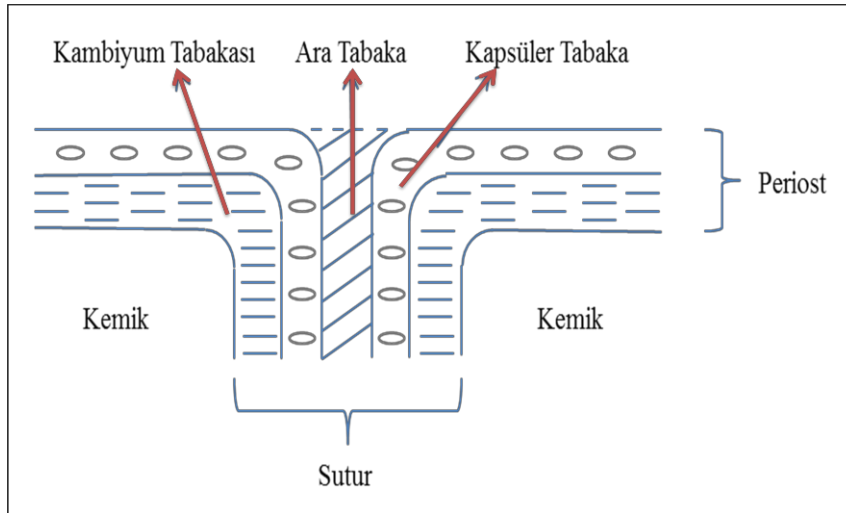
Mezenkimal dokular içerisindeki kemik oluşumudur. Çoğu yassı kemik bu yolla iyileşir. Organizmada kafatası, sternum, pelvis gibi yassı kemiklerde, yüz kemiklerinde, mandibulanın coronoid proçesinde ve simfizis dışındaki bölgelerinde, kısa ve uzun kemiklerin kompakt kısımlarında görülür. Mezenkimal hücreler osteoblastlar farklılaşarak kemik matriksi oluştururlar. Oluşturdukları trabeküler kemik yapıları primer kemikleşme merkezi olarak adlandırılır. Trabeküllerin kollagen yapıları birbirine paralel yapıda değildir. Kalsifikasyon ve osteoid oluşumunu takiben osteoblastlar osteosit haline gelir. Mezenkimal hücrelerin mitotik çoğalması ile osteoprogenitör hücreler ve osteoblastlar oluşur ve yeni kemik oluşumu devam eder. Kansellöz yapı içerisindeki trabeküler yapı yeterli olunca içlerindeki interstisyel vasküler bağ dokusu kemik iliği haline gelir. Oluşan birçok kemikleşme merkezi birleşerek oksipital kemik gibi yapıları yaparlar. Kalsifiye olmayan mezenkimal hücreler periost ve endosteuma döner[165].

Süturlarda kemikleşme

Birbirine komşu iki kemik arasında bulunan suture, bir bağ dokusu şeridinden ibarettir. Sutureda karşı karşıya gelen iki kemiğin üzerini örten periost sutureda da devam ediyormuş gibi düşünülebilir. Her iki kemik periostu sutureda ayrı ayrı birbirlerine sırtlarını vermiş olarak, iki ayrı periost halinde devam etmektedir. Periost bir bağ dokusu membranıdır. Periostun en üst tabakası fibröz bir tabaka olup fibroblastlar, kollagen lifler, damar ve sinirlerden oluşmuştur. Periostun kemiğe komşu tabakası ise esas kemik yapan kambiyum tabakası olup osteoblastların çoğaldığı, osteoblastlar tarafından salgılanan kollagen lifler üzerine kalsiyum tuzlarının çökerek sharpey lifleri haline dönüştüğü ve kemiğin imal edildiği tabakadır. Sutureda karşı karşıya gelen iki kemiğin de ayrı ayrı birer kambiyum tabakası ve fibröz dokudan oluşan birer kapsüler tabakası vardır. İki kapsüler tabaka arasında da kan damarlarının bulunduğu bir ara tabaka bulunur. Sutureda karşı karşıya gelen iki kemiğin de ayrı ayrı birer kambiyum tabakası bulunduğundan her iki kemik de ayrı ayrı büyür. Her iki kemik eşit miktarlarda büyüyebildiği gibi biri diğerinden daha fazla büyüyebilir[90].

Ekspansiyon kuvveti uygulamasına karşı suturelarda oluşan değişiklikler

Kafa ve yüz kemiklerinin kemikleşme merkezlerinden olan ve komşu iki kemik arasında bulunan suturelar kemik büyümesinde önemli yeri olan osteojenik aktiviteye sahip ince bir bağ dokusundan oluşmaktadır. Bir sutureda iki komşu kemik arasında esas itibariyle her kemik ünitesine ait birer kambial ve birer kapsüller tabaka mevcuttur. İki kapsüller tabaka arasında bir ara tabaka vardır (Şekil 2.1). Böylece kemiksel ünitelerin birisinden başlamak üzere evvela bir kambial tabaka sonra kapsüller tabaka daha sonra da ara tabaka yer alır. Diğer kemiğe doğru devam ettikçe yine önce kapsüller tabaka ve sonrada bir kambial tabaka gelir. Sutureda asıl büyüme faaliyeti kambial tabakada meydana gelir. O halde her sutureda iki komşu kemiğe ait birer büyüme yeri vardır. Suturelarda büyüme karşılıklı kemik kenarları üzerine yeni kemik ilavesi suretiyle meydana gelir. Buradaki kemikleşme intramembranöz tür kemikleşmedir.



Şekil 2.3. Sutureu oluşturan histolojik tabakalar

Sutureu oluşturan iki kemiğin üzerini örten periost sutureda da iki ayrı periost halinde devam etmektedir. Periost kemik büyümesinde ve oluşumunda osteoblastik ve kondrojenik farklılaşmayı destekleyen prekürsör hücreleri ve birçok farklı hücreyi barındırmaktadır[151].

Midpalatal suturea uygulanan ekspansiyon kuvvetleri osteoklastların aktivasyonu sonucu kemik rezorbsiyonunu ve periosteal hücrelerin proliferasyonu ve diferansiyonuna bağlı olarak da kemik oluşumunu arttırmaktadır.

Hou ve arkadaşları[151], fareler üzerinde yaptıkları çalışmada kuvvet uygulaması sonucunda midpalatal suturedaki değişiklikleri şu şekilde rapor etmişlerdir: genişleme sonrasında birinci günden başlayarak kollagen lifler suture boyunca reoryante olurlarken aynı zamanda periosteal hücreler suture doğru göç etmeye başlar. 3. günde suture mekanik kuvvete paralel yönde spindle-shaped hücrelerle dolar ve kondrositlerin sayısında azalma görülür. 7. günde palatal kemik uçlarında yeni kemik oluşumu gözlemlenir ve bu oluşan yeni kemik yüzeyinde periosteal hücreler iyice artmaya devam eder ve 14. günde genişlemiş olan sutureun içi fibröz doku ile dolar. Sutureun oral tarafında yeni oluşan kemik, orijinal sutureun kırıldak tabakasına benzer bir yapıda birkaç tabaka kondrositle kaplanır ancak sutureun nazal tarafında kırıldak benzeri yapı oluşmadan direk nazal epitel altında kemik oluşmaya başlar.

2.5. Büyüme Faktörleri

Büyüme ve farklılaşma evrelerinde etkili olan pekçok faktör bulunurken, hücre çoğalması ile ilgili olayların başlamasında temel rolü büyüme faktörleri üstlenmektedir. Biyolojik olarak aktif polipeptit hormonlar olan büyüme faktörleri, rejenerasyon sırasında hücrelerin stimülasyonu ve regülasyonunda; doku tamiri sırasında ise mitogenez, migrasyon, matriks sentezi ve remodelasyonda görev almaktadırlar. Bu işlevlerini osteoblastlar, sementoblastlar ve fibroblastlar gibi çeşitli hedef hücrelerdeki özgün reseptörlere bağlanarak gerçekleştirmektedirler[166].

Büyüme faktörlerinin çoğu ekstrasellüler matrikste (ECM) depolanmaktadır. Matriksin yıkılmasıyla ortama salınan bu mediatörler doku remodelasyonu ve rejenerasyon sırasında farklı etkilere sahip karmaşık bir sinyal ağının parçası olarak görev yaparlar[167]. Kendilerini üreten hücrelerin de etkilenmesini sağlayan otokrin yolla etkilerini gösterebilecekleri gibi, daha sıklıkla, üretildikleri hücre tipinden farklı bir hücre tipini etkileyecek parakrin yolla da etki gösterebilmektedirler[168].

Büyüme faktörlerinin herhangi bir hücreyi etkileyebilmesi, o hücrenin, o faktör için reseptöre sahip olup olmamasına bağlıdır. Reseptöre bağlanma gerçekleştikten sonra hücre içinde özgün bir cevaba neden olan bir seri sinyal ortaya çıkar. Her hücrenin farklı büyüme faktörleri için farklı sayıda reseptörü bulunmaktadır. Büyüme faktörlerinin o bölgedeki konsantrasyonu ve reseptöre bağlanan miktarı, elde edilecek sonucu belirler. Ekstrasellüler

matriks, büyüme faktörlerinin çözünürlüğünü değiştirerek, hücrel aktiviteleri düzenleyecek faktör konsantrasyonunun değişmesini sağlayabilmektedir. Ayrıca büyüme faktörlerinin bağlanıp çözülmesini ayarlayarak, ortamdaki faktörler için rezervuar görevi görürken herhangi bir hücrenin, herhangi bir büyüme faktörüne vereceği yanıtı da belirleyebilmektedir[169].

2.5.1. dermal büyüme faktörü

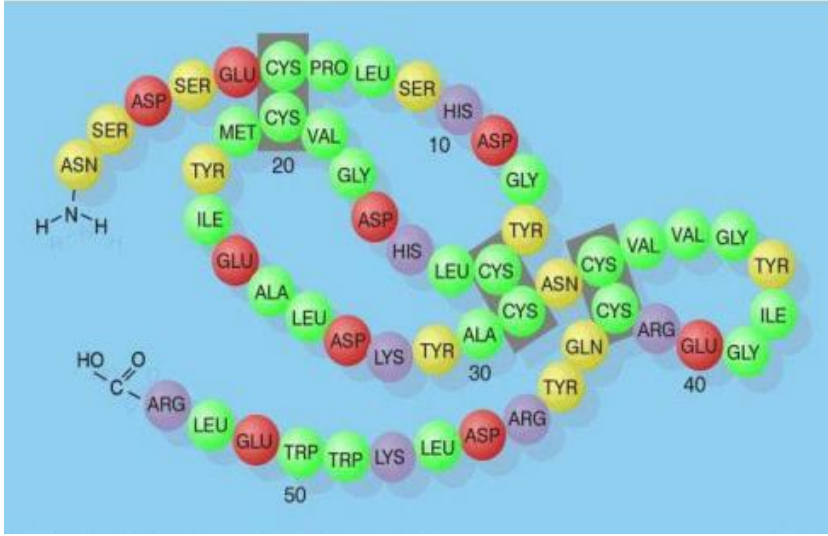
Epidermal büyüme faktörü (EGF) ilk kez 1962 yılında Dr. Stanley Cohen isimli araştırmacı tarafından erkek farenin submandibular tükürük bezinden izole edilmiştir[170]. Cohen, erkek fare submandibular tükürük bezinde Sinir büyüme faktörünü (NGF) izole etmeye çalışırken bu bezlerden elde ettiği ekstrenin yeni doğan farelere enjekte edilmesi sonucu erken diş sürmesi ve erken gözkapağı açılması sağladığını gözlemleyerek etken maddeyi izole etmiş ve bu maddeye epidermin gelişimini hızlandırıcı etkisinden dolayı epidermal büyüme faktörü adını vermiştir[170, 171].

İnsan EGF'si, amino asit dizisinde lizin, fenilalanin ve alanin bulundurmayan 53 amino asitten oluşmuş, 6.000 dalton moleküler ağırlığında, tek zincirli bir polipeptittir (Şekil 2.4). İzoelektrik noktası 4'tür. Metanol ve etilen glikol içinde çözünür aynı zamanda su içinde de çözünürlüğü çok yüksektir.

Fare EGF'sinin molekül ağırlığı 6041 Da ve izoelektrik noktası ise 4,6'dır. Kaynar su içinde biyolojik aktivitesi stabildir, fakat seyreltilmiş asit veya alkali içinde ısıtılırsa biyolojik aktivitesi zarar görmektedir. Kimyasal özellikleri benzer olan insan ve fare EGF'leri aynı biyolojik aktiviteleri göstermektedirler.

EGF molekülünün bir ucu -NH₂ grubu, diğer ucu ise -COOH grubu ile sonlanmaktadır. Polipeptit, altı sistein köküne sahiptir ve üç tane disülfid bağı içerir. Bu disülfid bağları molekülün biyolojik aktivitesi için mutlak gereklilik göstermektedir.

EGF'nin öncül molekülü 1217 amino asit içerir. Öncül molekül olgun EGF'den 24 kat daha büyüktür ve prepro EGF olarak adlandırılmaktadır[35, 172].



Şekil 2.4. EGF'nin kimyasal yapısı

EGF, pek çok mezodermal ve ektodermal kökenli hücre için mitojenik özellik göstermektedir. EGF, bir sitokindir ve doku diferansiyasyonu ve organogenezisi uyarır. Neotanal kemiricilerde diş sürmesini ve göz kapaklarının erken açılmasını sağlarken, fetal sıçanlarda, koyunlarda ve tavşanlarda akciğerin olgunlaşmasını başlatmaktadır. Organ kültürlerinde damak gelişimine yardımcı olur, gastrointestinal, karaciğer ve pankreatik olgunlaşmayı stimüle eder, tiroid ve adrenal bezin gelişiminde rol oynar, meme bezi gelişimi ve yara iyileşmesini stimüle eder[32].

Embriyonik testis gelişiminde görev almaktadır. Spermatogenezin mayotik fazını uyararak erkekte reproduktif fonksiyonda rol oynarken, sertoli ve leyding hücrelerinin aktivasyonu yoluyla spermatogenezi kontrol eder[35].

EGF, birçok dokuda bulunarak trombosit degranülasyonu sırasında salınan bir maddedir. Hücrelerin çoğunda EGF'ye ait reseptörler bulunur. Endotel, fibroblast ve düz kas hücrelerinde reseptörleri bulunmasına rağmen en çok sayıda reseptör epitel hücrelerinde bulunmaktadır. Epitel ve endotel hücreler ile fibroblastlar için kemotaktik özelliği vardır. Bu özelliği sayesinde anjiogenez ve kollagenaz aktivitesini uyarıcı özelliğe sahiptir[32]. EGF reseptörleri ile yapılan rat çalışmalarının sonuçlarına göre damak kubbesinin oluşumu sırasında önemli bir görev üstlendiği görülmüştür[33].

Farklı yara modellerinde EGF'lerin etkilerini araştıran birçok çalışma yapılmıştır. EGF, her gün topikal uygulandığında, tavşan kulağı yara modeli, epidermal yaralar ve parsiyel

kalınlıktaki yarıkların epitelizasyonunu arttırmıştır[173, 174]. Kobaylarda, EGF ile desteklenen yaralarda, desteklenmeyenlere oranla, daha fazla kollagen ve glikozaminoglikan toplandığı, ayrıca selülaritenin arttığı gösterilmiştir[175].

EGF, keratinosit ve fibroblast gibi hem mezodermal hem de ektodermal kökenli hücreler üzerinde proliferatif etkiye sahiptir. EGF granülasyon dokusu, kollagen ve glikozaminoglikan düzeyini artırır; iyon salınımını, glikolizisi, DNA ve RNA ile protein yapımını artırıcı özellik gösterir[35]. Etki ettikleri hücrede 2-50 ng/ml konsantrasyonları, hidroksiprolin içeriğini ve ALP aktivitesini arttırarak protein sentezini, Tip I ve Tip III kollagen sentezini uyarmaktadır[38].

EGF'nin, hem osteoblastların diferansiyasyonunu stimüle ederek hem de osteoprogenitör hücreleri aktive ederek kemik yapımına iki yoldan etki ettiği görülmektedir[176]. EGF'nin fizyolojik konsantrasyonu kemikteki DNA sentezini arttırarak hücre çoğalmasını uyarmaktadır[177].

Çekim soketine uygulanan EGF'nin, 14. Günde enflamatuar komponenti azalttığı, kollagen fibrillerini arttırdığı ve osteoid oluşumu ile immatür kemik oluşumunu başlattığı görülmüştür [36, 37]

Transgenik farelerin kranial suturelarının kapanmasını stimüle etmek amaçlı yapılan çalışmada, EGF enjeksiyonu ile periost ve endosteumda osteoblast sayısında artış görülmektedir[34].

2.5.2. Dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β)

Büyüme faktörlerinden dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β), hemen hemen bütün hücrelerde sentez edilen önemli bir polipeptit olup, hücreler olayların çoğunu düzenlemektedir[169]. TGF- β , trombosit, makrofaj, lenfositler, kemik, böbrek gibi farklı dokulardan izole edilebilmektedir. Alfa ve beta olmak üzere iki tipi vardır. TGF-alfa yapısal ve biyolojik etkileri bakımından EGF'ye benzer özellikler göstermekte EGF reseptörlerine bağlanabilmektedir. TGF- β ise moleküler yapı ve biyolojik aktivite açısından ve sahip olduğu kendine spesifik reseptörleri ile TGF-alfa dan oldukça farklı

özellikler göstermektedir[178]. TGF- β ailesine ait 40'ın üzerinde farklı üye izole edilmiştir[179].

TGF- β 'nın etkileri hücre tipine spesifiktir ve diğer büyüme faktörleriyle sinerjist veya antagonist etkileşim içinde olduğu bilinmektedir[180]. Hemen hemen bütün hücrelerin TGF- β için reseptörü vardır ve en azından teorik bilgi olarak TGF- β ile uyarılabilirler. TGF- β , nöroektodermal, epitelyal ve mezenşimal hücre tiplerinde; hücre proliferasyonundan, farklılaşmasından ve ekstrasellüler matriks üretiminin düzenlenmesinden sorumludurlar. Bu büyüme faktörleri hücre tipine spesifik olarak, hücre farklılaşmasını ve proliferasyonunu hem inhibe hem aktive edebilecek özelliklere sahiptirler[181]. TGF- β 'lar, proteinazların üretimini azaltarak ve ECM'yi meydana getiren proteinlerin ve mRNA'ların sentezini stimüle ederek ECM üretimini arttırmaktadır. TGF- β , ECM komponentlerinin sentez ve yıkımını düzenlemekle birlikte, hücre yüzey reseptörleri aracılığıyla ECM ve hücreler arasında etkileşimde belirleyici rol oynamaktadır. Hücre matriks etkileşimi sayesinde TGF- β , normal morfogenezis ve yara iyileşmesi sırasında hücrelerin; migrasyonu, farklılaşması ve büyümesinde etkili olmaktadır[181].

TGF- β , tip 1 kollagen, fibronektin, proteoglikan ve tenascin sentezini stimüle ederken kollagenaz, transin ve katepsin D gibi proteinazların sentezini azaltmaktadır. TGF- β insan fibroblastları, monositler ve nötrofiller için kemotaktik özellik göstermektedir. Bu özelliklerinden dolayı TGF- β izoformları yara iyileşmesinde rol oynamaktadır[182].

TGF- β 'nın yara iyileşmesi bağlamında en önemli etkisi inflamatuvar hücre kemotaksisini uyarması ve ECM sentezini arttırmasıdır[183]. Kollagen sentezinin en güçlü uyarıcısı olarak bilinen TGF- β , yara kontraksiyonu ve matriksi organize edebilme özelliği nedeni ile de doku tamiri sonrası yeniden şekillenme fazında görev almaktadır[184]. Trombositlerin alfa granülleri içinde yoğun miktarda bulunur ve hasarlı bölgeye degranülasyonla salınmaktadır. Üretimi otokrin yolla düzenlemektedir[169].

Terapötik girişimlerde TGF- β 'nın bağ doku oluşumunu arttırdığı gözlenmiştir. Travma, cerrahi girişim ve yangından kaynaklanan doku yaralanmalarının iyileşmesi esnasında makrofaj ve lenfositlerin aktivasyonunda artış göstermektedir. Aktif olan bu hücrelerden TGF- β salgılanmaktadır. Matriksi organize edebilme özelliği nedeni ile remodeling olayında görev yapar. TGF- β tek başına, endotel hücre proliferasyonunu inhibe ederken, başka

bir kofaktörle birlikte ise anjiogenezi stimüle eder. Ayrıca epitelyal hücre proliferasyonunu uyarır ve yara kontraksiyonunda rol oynar[185].

TGF- β yara iyileşmesindeki hücre göçü, proliferasyon, ECM sentezi, kollagen sentezi, anjiyogenez ve yeniden modellenme olaylarının belli bir düzen içerisinde devam etmesini düzenlemektedir. Aynı zamanda TGF- β , iyileşme oranını ve tamir edilen dokunun yara gerilim kuvvetini de artırır. TGF- β 'nın ratlarda lineer insizyonel yaraların iyileşmesini arttırdığı gösterilmiştir[186].

İn vitro çalışmalarda, TGF- β nın kemik, kırık ve bağ doku fibroblastları için mitojenik etkiye sahip olduğu saptanmıştır[187].

TGF- β , mineralize kemik matriksinde kilit rol oynamaktadır. Kemik gelişimi ve fraktür kallusunun iyileşmesi sırasında kemik yüzeyindeki matür osteoblastlar tarafından yüksek konsantrasyonlarda salgılanmaktadır[188, 189].

Ratların midpalatal süturuna RME sonrası TGF- β enjeksiyonunu takiben yapılan incelemelerde osteoid doku oluşumunun hızlandığı osteoblastların sayıca büyük artış gösterdiği ve kemik oluşumu için gereken sürenin önemli ölçüde kısaldığı rapor edilmiştir[11].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya başlamadan önce, 03/07/2013 tarih ve 66332047-604.01.02/124-15155 sayılı Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı alınmıştır (Bkz Ek-1).

Çalışmamızda kullanılan ratlar Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarından temin edilmiş ve çalışmamızın deneysel kısmı Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Doku kesitlerinin hazırlanması, histolojik ve histomorfometrik değerlendirme GATA Patoloji Anabilim Dalı tarafından yapılmıştır.

3.1. Gereç

Çalışmamızda 4 grup bulunmaktadır. Çalışmada, her grupta 6 rat olmak üzere toplamda 10-12 haftalık 193 ± 4 gr ağırlığında 24 erkek wistar albino rat kullanılmıştır. Kullanılan ratlar veteriner hekim tarafından kontrol edilmiştir ve genel sağlık durumlarının normal olduğuna dair onay alınmıştır.

3.1.1. Araştırmanın deney safhasında kullanılan malzemeler

- 0.020" A.J. Wilcock Australian Wire
- 0.10 mm ligatür teli (Dentaurum; 751-001-00)
- Tweed pensi (Dentaurum; 012-351-00, Germany)
- Bird Beak pens (Dentaurum; 004-139, Germany)
- Kesici pens (Dentaurum; 016-153-00, Germany)
- Portegü (Dentaurum; 000-030-00, Germany)
- Motor ve klinik piyasemen (Saeshin Strong 210) (Resim 3.1)
- Piyasemen için 0.7mm çaplı elmas rond frez
- Dijital kumpas (0.01mm hassasiyetinde)
- Hamilton enjektörü (25µl, Model 702 RN SYR) (Resim 3.2)
- Hamilton enjektör ucu (25s gauge, small Hub RN NDL) (Resim 3.2)



Resim 3.1. Uygulamada kullanılan motor ve klinik piyasemen



Resim 3.2. uygulamada kullanılan Hamilton enjektörü

3.1.2. Araştırmanın deney safhasında kullanılan farmakolojik ajanlar

- Ketamine-HCL (Ketalar -Eczacıbaşı)
- Ksilazin HCL (Rompun® -Bayer)
- Sodyum Pentobarbital (Petothal, Abbot, ABD)
- Epidermal Growth Faktör Human Recombinant (Sigma; E9644)
- Transforming Growth Faktör Human Recombinant (R&D Systems; 240-B002)
- Albumin (Sigma; A9647)
- %0,9 İzotonik Sodyum Klorür (serum fizyolojik)

3.2. Yöntem

3.2.1. eney hayvanlarının çalışma için hazırlanması

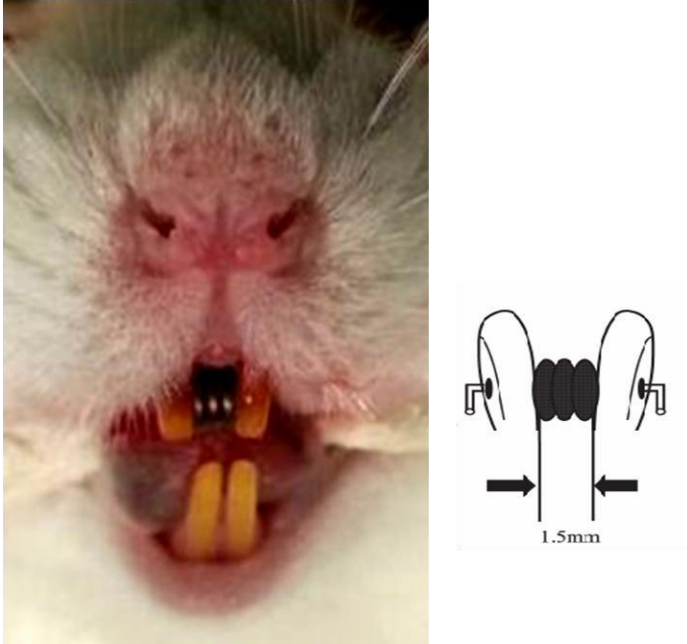
Denekler, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık siklusu sağlanacak şekilde tutularak, yumuşak diyet ve içme suyu ile beslenmeleri sağlanmıştır. Oda ısısı 22 ± 2 °C'de sabit tutulmuştur. Bulundukları odanın nispi nem oranı %30-45 arasında tutularak odanın havalandırması

filtre edilmiştir. Ratlar gruplarına göre kafeslerde altlarında talaş olacak şekilde barındırılmıştır. Kafesler her gün temizlenerek kuru altlıklar konulmuştur.

3.2.2. Çalışma gruplarının oluşturulması

Denekler rastgele seçilerek 4 gruba ayrılmıştır ve çalışmamız şematik olarak aşağıdaki gibi yürütülmüştür:

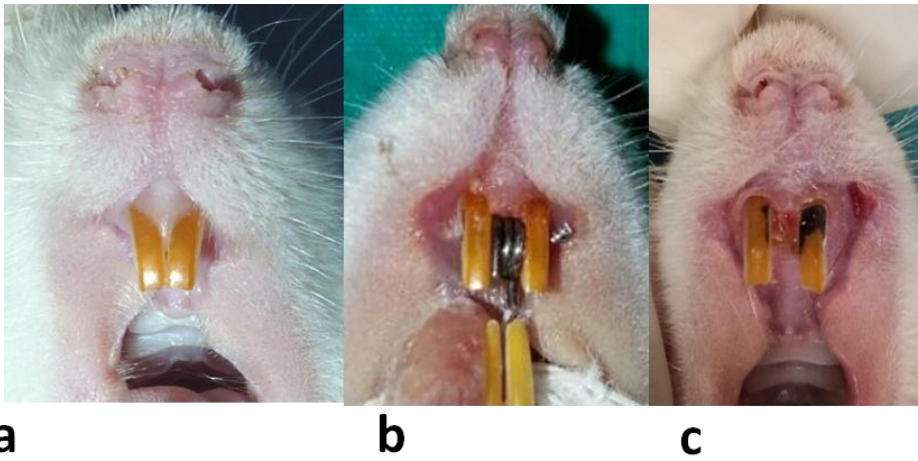
EGF Grubu: Çalışma grubundaki 6 rat için ekspansiyon amaçlı 0,020" A.J. Wilcock tel ile 3 heliksten oluşan toplam kalınlığı 1,5 mm olan ekspansiyon apareyi bükülmüştür (Resim 3.3). Ratların üst keser dişlerine mesiodistal yönde dakikada 35000 devirle dönen asma motor ile 0,7 mm çaplı elmas rond frez kullanılarak delik açılmıştır (Resim 3.4). Ekspansiyon apareyi iki keser arasına yerleştirilerek 0,10 mm lik tel ligatür ile deliklerden geçirilerek sabitlenmiştir (Resim 3.5). Ratların üst keser dişleri ile molarları arasında kalan diastema olarak adlandırılan premaksiller bölgeye uygulamadan sonraki 1. günde 200 ng EGF, mikroşırınga kullanılarak enjekte edilmiştir (Resim 3.6). Bu denek grubundaki 6 rat, aparey uygulamasının 14. gününün sonunda sakrifiye edilerek oluşan yeni kemik değerlendirilmesi için incelemeye alınmıştır.



Resim 3.3. Uygulanan apareyin önden görünümü



Resim 3.4. Rat üst dişlerine aparey uygulaması için yapılan hazırlık

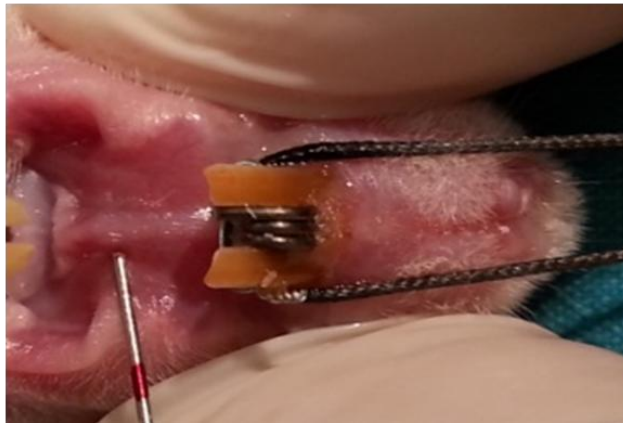
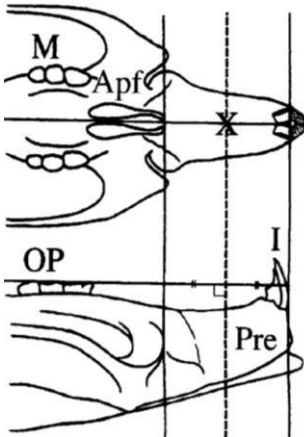


Resim 3.5. Rat dişlerinin önden görünümü

a: aparey uygulaması öncesi rat üst dişleri

b: aparey uygulaması ile beraber rat üst dişleri

c: aparey uygulaması sonrası açılmış rat üst dişleri



Resim 3.6. Enjeksiyon bölgesi (X)

TGF- β Grubu: Çalışma grubundaki 6 rat için ekspansiyon amaçlı 0,020" A.J. Wilcock tel ile 3 heliksten oluşan toplam kalınlığı 1,5 mm olan ekspansiyon apareyi bükülmüştür (Resim 3.3). Ratların üst keser dişlerine mesiodistal yönde dakikada 35000 devirle dönen asma motor ile 0,7mm çaplı elmas rond frez kullanılarak delik açılmıştır (Resim 3.4). Ekspansiyon apareyi iki keser arasına yerleştirilerek 0,10 mm lik tel ligatür ile deliklerden geçirilerek sabitlenmiştir (Resim 3.5). Ratların üst keser dişleri ile molarları arasında kalan diastema olarak adlandırılan premaksiller bölgeye uygulamadan sonraki 1. Günde 200 ng TGF- β mikroşırınga kullanılarak enjekte edilmiştir (Resim 3.6). Bu denek grubundaki 6 rat, aparey uygulamasının 14. gününün sonunda sakrifiye edilerek oluşan yeni kemik değerlendirilmesi için incelemeye alınmıştır.

EGF + TGF- β (Karışım) Grubu: Çalışma grubundaki 6 rat için ekspansiyon amaçlı 0,020" A.J. Wilcock tel ile 3 heliksten oluşan toplam kalınlığı 1,5 mm olan ekspansiyon apareyi bükülmüştür (Bkz Resim 3.3). Ratların üst keser dişlerine mesiodistal yönde dakikada 35000 devirle dönen asma motor ile 0,7mm çaplı elmas rond frez kullanılarak delik açılmıştır (Bkz Resim 3.4). Ekspansiyon apareyi iki keser arasına yerleştirilerek 0,10 mm lik tel ligatür ile deliklerden geçirilerek sabitlenmiştir (Bkz Resim 3.5). Ratların üst keser dişleri ile molarları arasında kalan diastema olarak adlandırılan premaksiller bölgeye uygulamadan sonraki 1. günde 100ng EGF ve 100ng TGF- β olmak üzere toplam 200 ng büyüme faktörü karışımı mikroşırınga kullanılarak enjekte edilmiştir (Bkz Resim 3.6). Bu denek grubundaki 6 rat, aparey uygulamasının 14. gününün sonunda sakrifiye edilerek oluşan yeni kemik değerlendirilmesi için incelemeye alınmıştır.

Kontrol Grubu: Kontrol grubundaki 6 rat için ekspansiyon amaçlı 0,020"A.J. Wilcock tel ile 3 heliksten oluşan toplam kalınlığı 1,5 mm olan ekspansiyon apareyi bükülmüştür (Bkz Resim 3.3). Ratların üst keser dişlerine mesiodistal yönde dakikada 35000 devirle dönen asma motor ile 0,7mm çaplı elmas rond frez kullanılarak delik açılmıştır (Bkz Resim 3.4). Ekspansiyon apareyi iki keser arasına yerleştirilerek 0,10 mm lik tel ligatür ile deliklerden geçirilerek sabitlenmiştir (Bkz Resim 3.5). Ratların üst keser dişleri ile molarları arasında kalan diastema olarak adlandırılan premaksiller bölgeye uygulamadan sonraki 1. günde 200ng %0,9 sodyum klorür (serum fizyolojik) solüsyonu büyüme faktörleri için kullanılan taşıyıcı mikroşırınga kullanılarak enjekte edilmiştir (Bkz Resim 3.6). Bu denek grubundaki 6 rat, aparey uygulamasının 14. gününün sonunda sakrifiye edilerek oluşan yeni kemik değerlendirilmesi için incelemeye alınmıştır.

3.2.3. Aparey dizaynı

Çalışmamızda ekspansiyon amaçlı kullanılan aparey, Sawada ve Shimizu'nun [11], Saito ve Shimizu'nun [15], Kanekawa ve Shimizu'nun [146], Itou ve arkadaşları [190]'nın çalışmalarında kullandığı aparey rehber alınarak hazırlanmıştır. Ekspansiyon apareyi, 0,020" A.J Wilcock tel kullanılarak tweed pensinin kalın ucuyla 3 sarımın toplam mesio-distal genişliği 1,5 mm olacak şekilde hazırlanmıştır. Ratların üst keser dişlerine mesiodistal yönde dakikada 35000 devirle dönen asma motor ile 0,7mm çaplı elmas rond frez kullanılarak delik açılmıştır. Ekspansiyon apareyi iki keser arasına yerleştirilerek 0,10 mm yarıçaplı tel ligatür ile deliklerden geçirilerek sabitlenmiştir (Bkz Resim 3.3, 3.4 ,3.5).

3.2.4. Büyüme faktörlerinin hazırlanması

1mg/ml EGF elde etmek için, şişe içeriği 0,2 mm filtreden geçirilmiş 10 mM asetik asit kullanarak seyreltilmiştir. Elde edilen konsantrasyonun aktif hale geçirilebilmesi için %0,1 bovin serum albumin (BSA) kullanılmıştır. Solüsyon aktif hale geçirildikten sonra 4°-8°C de 1 ay saklanabilmektedir. Bizim çalışmamızda, uygun konsantrasyonda aktif hale geçirilmiş olarak hazırlanan EGF solüsyonu buz aküsü içinde muhafaza edilerek ortalama 1 saat içinde çalışmamızda kullanılan deneklere enjekte edilmiştir.

1mg/ml TGF- β elde etmek için, şişe içeriği 0,2mm filtreden geçirilmiş 4mM asetik asit kullanarak seyreltilmiştir. Elde edilen konsantrasyonun aktif hale geçirilebilmesi için %0,1 BSA kullanılmıştır. Solüsyon aktif hale geçirildikten sonra 2°-8°C de 1 ay saklanabilmektedir. Bizim çalışmamızda, uygun konsantrasyonda aktif hale geçirilmiş olarak hazırlanan TGF- β solüsyonu buz aküsü içinde muhafaza edilerek ortalama 1 saat içinde çalışmamızda kullanılan deneklere enjekte edilmiştir.

3.2.5. eneyin sonlandırılması

Tüm uygulamalar Ketamin 45mg/kg ve Ksilazin 5mg/kg karışımı ile sağlanan anestezi altında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın başladığı gün ve 14 gün sonrasında dijital tartı ile her bir ratın ağırlıkları tespit edilmiş, üst kesici dişler arası mesafe gingival marjinde dişlerin mezial kenarlarından dijital kumpas yardımıyla ölçülmüştür.

Apareylerin yerinden çıkmasını ve dişlerin kırılmasını önlemek amacıyla yem pelletleri su ile yumuşatılmış ve ratlar her gün düzenli olarak kontrol edilmiştir.

14 günlük deney süreci sonunda tüm gruptaki ratlar 200 mg/kg sodyum pentobarbital ile sakrifiye edilmiş ve ardından deneklerin premaksillaları diseke edilerek fiksasyon işlemi için %10'luk formalin solüsyonuna konulmuştur. Maksiller süturdaki nüks etme olasılığını engellemek için apareylerin çıkarılması fiksasyon işlemi tamamlandıktan sonra yapılmıştır.

3.2.6. Örneklerin incelenmesi

Klinik inceleme

Her gün yapılan ağız içi muayenelerde apareylerin tutuculuğu, stabilitesi, yumuşak dokularda iritasyon olup olmadığı, genel muayenelerde ratların gıda tüketiminde bir azalma olup olmadığı takip edilmiştir.

Ratların deney başlamadan önce ağırlık ölçümleri kaydedilip, uygulama sonrası kilo kaybı olup olmadığı değerlendirilmiştir.

Ekspansiyon apareyi takılan her bir ratın ekspansiyon öncesi ve sonrasında dişler arasındaki açılma miktarı, kesici dişlerde diş eti hizasından dişlerin mezial kenarlarından 0.01 mm hassasiyetli dijital kumpas kullanılarak ölçülmüştür.

Histolojik ve histomorfometrik inceleme

Sakrifiye edilen ratların maksillaları en az 48 saat süreyle %10'luk tamponlanmış formalin solüsyonunda tespit edilmiştir. Fiksasyon işleminden sonra örnekler 24 saat süreyle akarsu altında yıkanmıştır. Daha sonra Morse's solüsyonu içinde 3 gün boyunca dekalsifiye edilmiş ve aparey çıkarılmıştır (Resim 3.7). Dekalsifiye maksillada kesici dişler rehber alınarak sagittal düzleme dik olarak kesitler alınmıştır (Resim 3.8A, 3.8B). Dekalsifikasyonun ardından materyaller tekrar 24 saat boyunca yıkanmış ve ototeknikon cihazında 14 saat boyunca 3 seri alkol ile dehidrasyon, 3 seri ksilen ile şeffaflandırma ve 3 seri sıvı parafin ile sertleştirme işlemleri uygulanarak doku takibi yapılmıştır. Parçalar daha sonra parafin bloklara gömülerek bloklama işlemi gerçekleştirilmiştir. Uygulanan parafin takip protokolü çizelge 3.1'de gösterilmiştir. Bloklama işleminden sonra her bir doku örneğinden standart 4mikrometre kalınlığında alınan kesitler önce 60° de etüvde ve ksilende deparafinize edildikten sonra azalan alkol serilerinden geçirilerek rehidrate

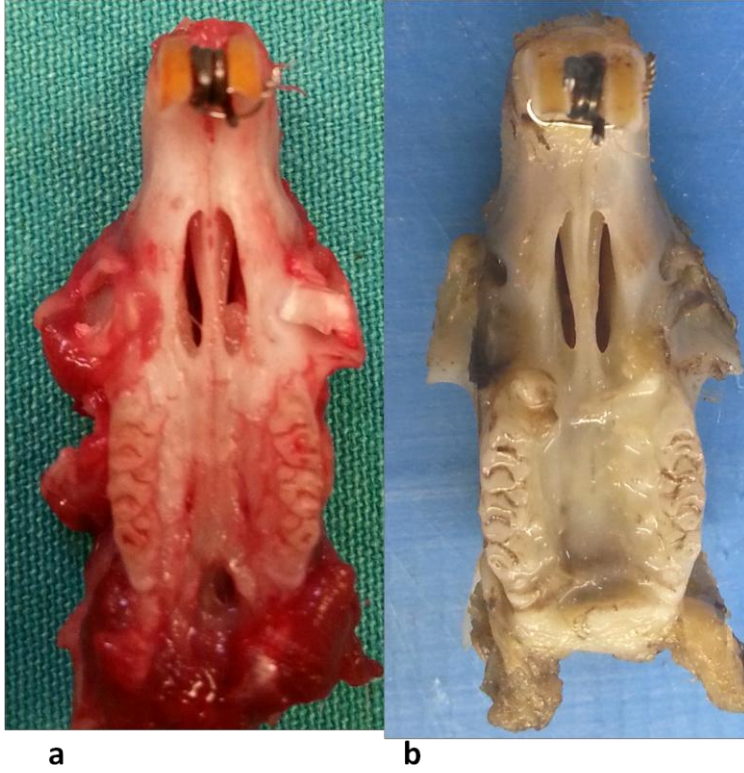
edilmiştir ve daha sonra hematoksilen-eozin (HE) yöntemi ile boyanmıştır. Alınan seri kesitlerde süturun en iyi görüldüğü örnek seçilerek histolojik ve histomorfometrik değerlendirmeye alınmıştır. Uygulanan HE protokolü çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Parafin takip protokolü

İŞLEM	MADDE	SÜRE
TESPİT	%10 formalin	24 saat
DEKALSİFİKASYON	Morse’s solüsyonu	3 hafta
DEHİDRATASYON	%50 alkol	½ saat
	%60 alkol	½ saat
	%70 alkol	½ saat
	%80 alkol	½ saat
	%95 alkol	1 saat
	%95 alkol	1 saat
ŞEFFAFLAŞTIRMA	Alkol: ksilen	½ saat
	Ksilen	1 saat
	Ksilen	1 saat
İNFİLTRASYON	Ksilen-parafin	½ saat
	Parafin	1 saat
	Parafin	1 saat
GÖMME	Parafin	

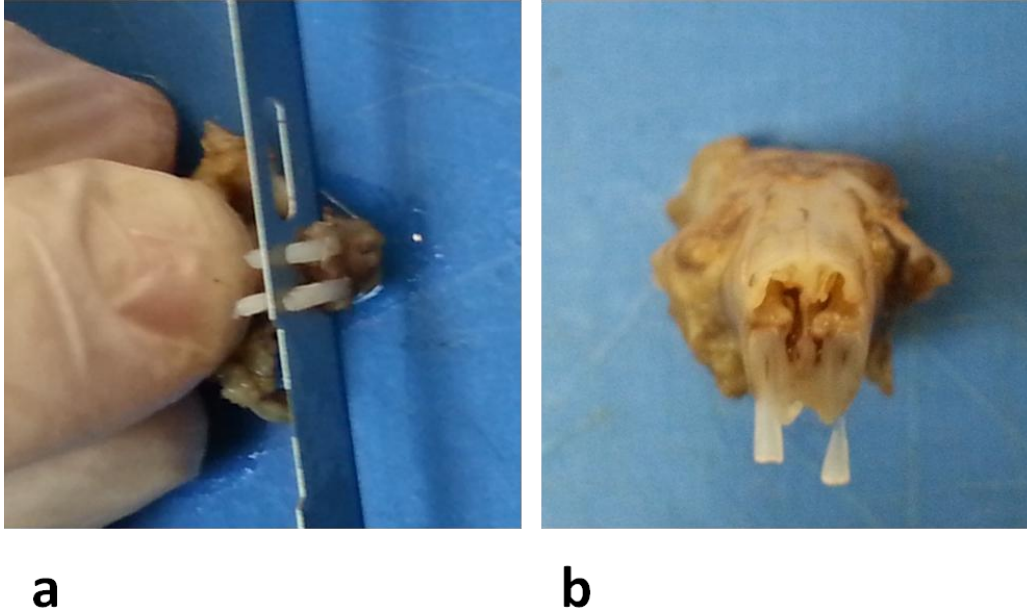
Çizelge 3.2. Hematoksilen-eozin boyama protokolü

İŞLEM	MADDE	SÜRE
DEPARAFİNİZASYON	60°C ETÜVDE	1 GECE
DEPARAFİNİZASYON	Ksilen	30 dakika
	Ksilen	30 dakika
REHİDRATASYON	%95 alkol	2 dakika
	%80 alkol	2 dakika
	%70 alkol	2 dakika
	%60 alkol	2 dakika
YIKAMA	Akar su	5 dakika
BOYAMA	Hematoksilen	3 dakika
YIKAMA	Akar su	5 dakika
DİFERANSİYASYON	Asit-alkol	1-2 saniye
YIKAMA	Akar su	5 dakika
BOYAMA	Eozin	2 dakika
YIKAMA	Akar su	5 dakika
	%80 alkol	1 dakika
	%95 alkol	1 dakika
	Ksilen	1 saat
KAPAMA	Entellan	



Resim 3.7. Diseke edilen rat maksillasının oklüzalden görünümü

a: rat maksillasının sakrifiye ve diseke edildikten hemen sonraki halinin görünümü
b: rat maksillasının Morse's solüsyonunda dekalsifiye olmuş halinin görünümü



Resim 3.8 Histolojik inceleme için kesit alınması

a: Kesici dişler rehber alınarak sagittal düzleme dik alınan kesitlerin görünümü
b: Kesit alındıktan sonra rat maksillasının önden görünümü

HE boyanan kesitler, Nikon Eclips 80i marka ışık mikroskobu ve Nikon DXM1200C dijital kamera yardımıyla X400 büyütmede (4'lük objektif ile) incelenmiş; yeni kemik alanı ve yeni kemiğin total kemiğe oranı histomorfometrik yöntemle ölçülmüştür.

Aktif osteoblast, osteoklast ve yeni damar oluşum (neovaskülarizasyon) için, her denekten X400 büyütmede (40'luk objektif ile) randomize seçilmiş 3 alanda (3 BBA / Büyük Büyütme Alanı) sayım yapılmıştır. Sonuçlar, ayrıca aşağıda belirtilen yarı kantitatif skalaya göre de değerlendirilmiştir.

Sütür alanındaki aktif osteoblast, aktif osteoklast ve yeni damar oluşum sayısı

yok: 0, 1-10: + (hafif), 11-20: ++ (orta), >20: +++ (şiddetli) olarak skorlanmıştır.

Histomorfometrik analiz için X400 büyütmede elde edilen HE boyalı kesitler kullanılmıştır. Nikon Eclips 80i marka ışık mikroskobu ve Nikon DXM1200C dijital kamera yardımıyla X40 büyütmede (4'lük objektif ile) alınan görüntüler açık kaynak kodlu ve Java programlama dili ile geliştirilmekte olan ImageJ görüntü işleme ve analizi programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu amaçla, ImageJ programının makro dili ile çalışmamıza özel olarak iki ayrı görüntü işleme ve analizi rutini geliştirilmiştir. Alan ölçümü için hazırlanan makro uygulamasında aşağıda belirtilen algoritma takip edilmiştir:

- 1- Her bir denekten X40 büyütmede elde edilmiş ve kaydedilmiş görüntülerin ImageJ programına aktarılması
- 2- Kullanıcıdan yeni oluşan kemik bölgelerinin sınırlarının poligon çizimi aracı yardımıyla çevrelenmesini isteyen uyarının görüntülenmesi
- 3- Kullanıcının yeni kemik oluşumu bölgesinin sınırlarını çizmesi
- 4- Çizim işlemi bittikten sonra yeni kemik alanının hesaplanması ve sonucun ekranda gösterilmesi.

Yeni kemik yüzdesi için hazırlanmış olan makro uygulamasında ise benzer şekilde aşağıdaki işlem basamakları tanımlanmıştır.

- 1- Her bir denekten X40 büyütmede elde edilmiş ve kaydedilmiş görüntülerin ImageJ programına aktarılması

- 2- Görüntünün üzerine, düzenli aralıklarla yerleştirilmiş artı işaretleri içeren bir ızgara (grid) yerleştirilmesi
- 3- Kullanıcıdan sırasıyla önce yeni kemik alanları üzerine düşen grid noktalarının sayılarak işaretlenmesi, sonra da eski kemik alanlarına karşılık gelen grid kesmelerinin sayılıp işaretlenmesi gerektiğini bildiren uyarının gösterilmesi
- 4- Kullanıcının yeni kemik alanları üzerindeki noktaları sayması
- 5- Kullanıcının eski kemik alanları üzerindeki noktaları sayması
- 6- Makronun sonlandırılmasıyla, stereolojik hesaplamanın program tarafından yapılıp, yeni kemiğin eski kemiğe yüzey alanı olarak oranının ekranda gösterilmesi

Piksel² cinsinden bulunan değerler 1 piksel=0,53µm olacak şekilde µm² ye çevirilerek histomorfometrik analiz tamamlanmıştır.

3.2.7. İstatistiksel analiz

Bu çalışmada elde edilen veriler SPSS 20 paket programı ile analiz edilmiştir.

Değişkenlerin normal dağılımdan gelme durumları araştırılırken birim sayıları nedeniyle Shapiro Wilk's' den yararlanılmıştır. Sonuçlar yorumlanırken anlamlılık düzeyi olarak 0,05 kullanılmış olup; $p < 0,05$ olması durumunda değişkenlerin normal dağılımdan gelmediği, $p > 0,05$ olması durumunda ise değişkenlerin normal dağılımdan geldikleri belirtilmiştir.

Kruskal Wallis-H Testinde anlamlı farklılıkların görülmesi durumunda Post-Hoc Çoklu Karşılaştırma Testi ile aralarında farklılık olan gruplar belirlenmiştir.

İki bağımlı değişken arasındaki farklılık incelenirken değişkenlerin normal dağılımdan gelmemesi durumunda Wilcoxon Testi kullanılmıştır.

Sonuçlar yorumlanırken anlamlılık düzeyi olarak 0,05 kullanılmış olup; $p < 0,05$ olması durumunda anlamlı bir farklılığın olduğu, $p > 0,05$ olması durumunda ise anlamlı bir farklılığın olmadığı belirtilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Kullanılan Aparey ve Ratlar ile İlgili Gözlem Bulguları

Çalışmamızda uyguladığımız apareylerin tel bükümü aynı kişi tarafından yapılarak standart olarak hazırlanmış, tutuculuğunun ve doku uyumunun deney süresince istenen düzeyde olduğu gözlenmiştir. Bazı ratların diş etlerinde kullanılan apareye bağlı uygulama sırasında ve sonrasında hafif bir hiperemi dışında herhangi bir eritem, ödem, periodontal problem veya enflamasyon bulgusuna rastlanmamıştır. Deneyin son günlerine yaklaştıkça ön dişlerde vertikal yönde uzama görülmüştür.

Ratların kesici dişleri arasında apareye bağlı istenen bir ayrılma oluşturulduğundan, buna bağlı gıda tüketiminde azalma olmasını engellemek için gıdalar su ile yumuşatılarak verilmiştir. Yapılan klinik değerlendirme sonrasında ratların ekspansiyon uygulamasını genel olarak iyi tolere ettiği, uygulama esnasında hiçbir ratın kaybedilmediği ve kullanılan ekspansiyon apareyinin sütural açılma sağlamada başarılı olduğu tespit edilmiştir.

4.2. Ağırlık Ölçüm Bulguları

Ratların uygulama öncesi ve sonrası ağırlık ölçümleri kaydedilip aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

Çizelge 4.1. E Grubunda uygulama öncesi ağırlık ile uygulama sonrası ağırlıklar arasındaki farklılığa ilişkin Wilcoxon testi sonuçları

	E Grubu						Wilcoxon İşaret Testi	
	n	Mean	ss	Median	Minimum	Maximum	z	p
UYG ÖNCESİ AĞIRLIK gr	6	195,6	1,1	195,6	194,0	196,9	-2,2	0,028
UYG SONRASI AĞIRLIK gr	6	209,2	1,3	209,0	207,6	210,9		

E Grubunda uygulama öncesi ve sonrası ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0,05$). E Grubunda uygulama öncesi ağırlık sonrasına göre anlamlı derece düşüktür (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.2. T Grubunda uygulama öncesi ağırlık ile uygulama sonrası ağırlıklar arasındaki farklılığa ilişkin Wilcoxon testi sonuçları

	T Grubu						Wilcoxon İşaret Testi	
	n	Mean	ss	Median	Minimum	Maximum	z	p
UYG ÖNCESİ AĞIRLIK gr	6	195,2	1,7	195,0	192,6	197,7	-2,2	0,028
UYG SONRASI AĞIRLIK gr	6	209,1	4,6	207,8	204,9	215,8		

T Grubunda uygulama öncesi ve sonrası ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0,05$). T Grubunda uygulama öncesi ağırlık sonrasına göre anlamlı derecede düşüktür (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.3. E+T grubunda uygulama öncesi ağırlık ile uygulama sonrası ağırlıklar arasındaki farklılığa ilişkin Wilcoxon testi sonuçları

	E+T Grubu						Wilcoxon İşaret Testi	
	n	Mean	ss	Median	Minimum	Maximum	z	p
UYG ÖNCESİ AĞIRLIK gr	6	195,1	3,3	196,1	188,7	197,6	-2,2	0,028
UYG SONRASI AĞIRLIK gr	6	212,2	5,1	212,1	206,3	217,9		

E+T Grubunda uygulama öncesi ve sonrası ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0,05$). E+T Grubunda uygulama öncesi ağırlık sonrasına göre anlamlı derece düşüktür (Çizelge 4.3).

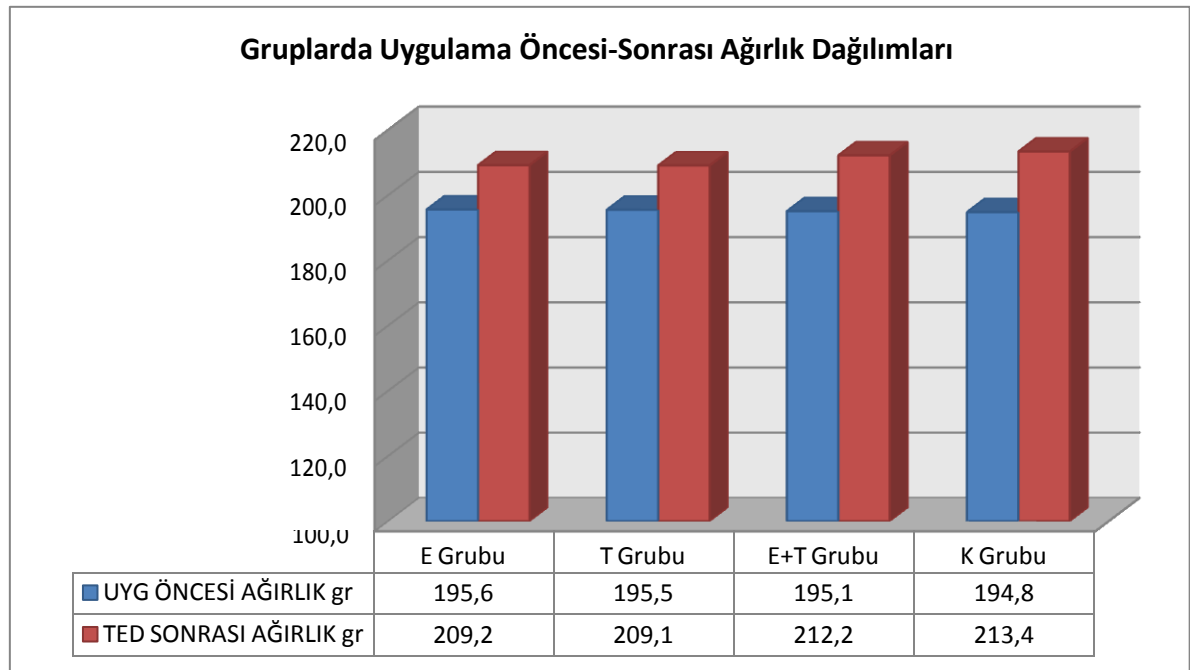
Çizelge 4.4. K Grubunda uygulama öncesi ağırlık ile uygulama sonrası ağırlıklar arasındaki farklılığa ilişkin Wilcoxon testi sonuçları

	K Grubunda						Wilcoxon İşaret Testi	
	n	Mean	ss	Median	Minimum	Maximum	z	p
UYG ÖNCESİ AĞIRLIK gr	6	194,8	2,4	195,5	190,0	196,5	-2,2	0,028
UYG SONRASI AĞIRLIK gr	6	213,4	2,2	213,4	211,0	216,2		

K Grubunda uygulama öncesi ve sonrası ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0,05$). K grubunda tedavi öncesi ağırlık, sonrasına göre anlamlı derece düşüktür (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.5. Uygulama öncesi ağırlık ve uygulama sonrası ağırlık bakımından E, T, E+T ve K grupları arasındaki farklılığa ilişkin Kruskal-Wallis H testi

								Kruskall-Wallis H testi		
		n	Mean	ss	Median	Minimum	Maximum	Sıra Ort.	H	p
UYG. ÖNCESİ AĞIRLIK gr	E Grubu	6	195,6	1,1	195,6	194,0	196,9	12,50	1,08	0,781
	T Grubu	6	195,2	1,7	195,0	192,6	197,7	10,92		
	E+T Grubu	6	195,1	3,3	196,1	188,7	197,6	14,92		
	K Grubu	6	194,8	2,4	195,5	190,0	196,5	11,67		
UYG. SONRASI AĞIRLIK gr	E Grubu	6	209,2	1,3	209,0	207,6	210,9	9,33	5,74	0,125
	T Grubu	6	209,1	4,6	207,8	204,9	215,8	9,17		
	E+T Grubu	6	212,2	5,1	212,1	206,3	217,9	14,08		
	K Grubu	6	213,4	2,2	213,4	211,0	216,2	17,42		



Şekil 4.1, Uygulama öncesi ve sonrası ağırlık dağılım grafiği

Uygulama öncesi ağırlık ve uygulama sonrası ağırlık bakımından tüm gruplar (E, T, E+T ve K grupları) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p>0,05$) (Çizelge 4.5, Şekil 4.1).

4.3. Maksiller Dişler Arası Mesafe Ölçüm Bulguları

Ekspansiyon apareyi takılan her bir ratın ekspansiyon öncesi ve sonrasında dişler arasındaki açılma miktarı, üst kesici dişlerde diş eti hizasından dişlerin mezial

kenarlarından 0.01 mm hassasiyetli dijital kumpas ile ölçülmüş istatistiksel değerlendirme yapılarak aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

Çizelge 4.6. E Grubunda uygulama öncesi mesafe ile uygulama sonrası mesafe arasındaki farklılığa ilişkin Wilcoxon testi sonuçları

	E Grubu						Wilcoxon İşaret Testi	
	n	Mean	ss	Median	Minimum	Maximum	z	p
UYG. ÖNCESİ MESAFE mm	6	,199	,003	,199	,196	,203	-2,201	0,028
UYG. SONRASI MESAFE mm	6	1,708	,009	1,707	1,694	1,718		

E Grubunda uygulama öncesi ve sonrası mesafe arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0,05$). E grubunda uygulama öncesi mesafe sonrasına göre anlamlı derece düşüktür (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.7. T Grubunda uygulama öncesi mesafe ile uygulama sonrası mesafe arasındaki farklılığa ilişkin Wilcoxon testi sonuçları

	T Grubu						Wilcoxon İşaret Testi	
	n	Mean	ss	Median	Minimum	Maximum	z	p
UYG. ÖNCESİ MESAFE mm	6	,199	,002	,199	,197	,201	-2,201	0,028
UYG. SONRASI MESAFE mm	6	1,708	,010	1,710	1,694	1,719		

T Grubunda uygulama öncesi ve sonrası mesafe arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0,05$). T grubunda uygulama öncesi mesafe sonrasına göre anlamlı derece düşüktür (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.8. E+T Grubunda uygulama öncesi mesafe ile uygulama sonrası mesafe arasındaki farklılığa ilişkin Wilcoxon testi sonuçları

	E+T Grubu						Wilcoxon İşaret Testi	
	n	Mean	ss	Median	Minimum	Maximum	z	p
UYG. ÖNCESİ MESAFE mm	6	,195	,002	,195	,192	,198	-2,214	0,027
UYG. SONRASI MESAFE mm	6	1,699	,010	1,697	1,690	1,714		

E+T Grubunda uygulama öncesi ve sonrası mesafe arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0,05$). M grubunda uygulama öncesi mesafe sonrasına göre anlamlı derece düşüktür (Çizelge 4.8).

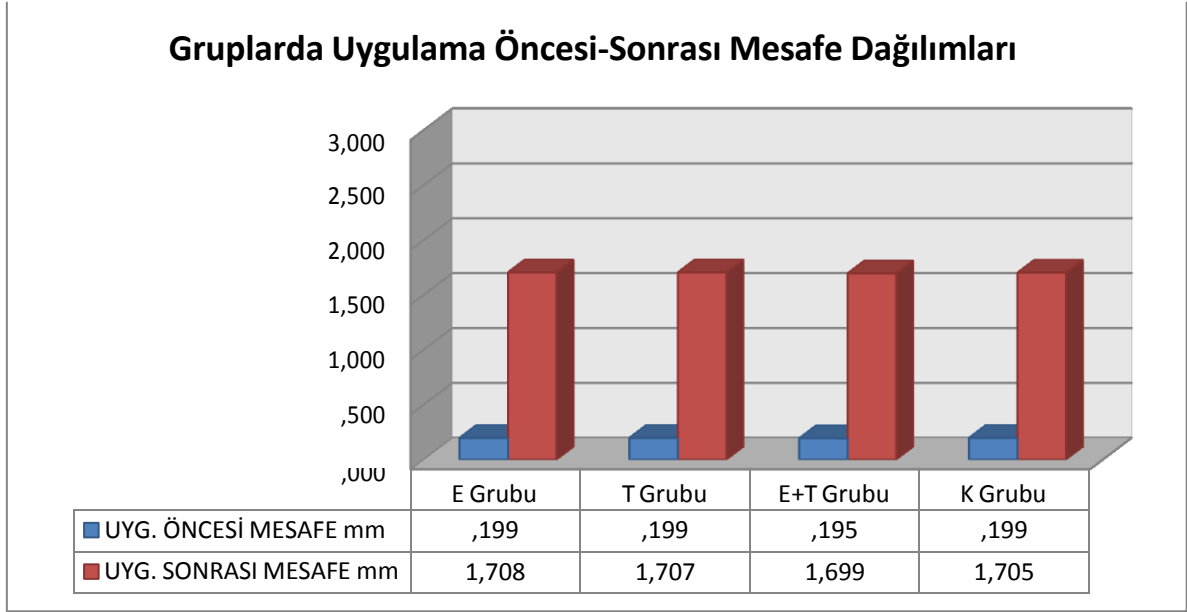
Çizelge 4.9. K Grubunda uygulama öncesi mesafe ile uygulama sonrası mesafe arasındaki farklılığa ilişkin Wilcoxon testi sonuçları

	K Grubu						Wilcoxon İşaret Testi	
	n	Mean	ss	Median	Minimum	Maximum	z	p
UYG. ÖNCESİ MESAFE mm	6	,199	,002	,199	,196	,202	-2,201	0,028
UYG. SONRASI MESAFE mm	6	1,705	,009	1,708	1,692	1,715		

K Grubunda uygulama öncesi ve sonrası mesafe arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0,05$). K grubunda tedavi öncesi mesafe sonrasına göre anlamlı derece düşüktür (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.10. Uygulama öncesi mesafe ve uygulama sonrası mesafe bakımından E, T, E+T, K grupları arasındaki farklılığa ilişkin Kruskal-Wallis H testi

								Kruskal-Wallis H testi			
		n	Mean	ss	Median	Minimum	Maximum	Sıra Ort.	H	p	İkili Karşılaştırma
UYG. ÖNCESİ MESAFE mm	E Grubu	6	,199	,003	,199	,196	,203	14,75	8,01	0,056	-
	T Grubu	6	,199	,002	,199	,197	,201	15,17			
	E+T Grubu	6	,195	,002	,195	,192	,198	5,50			
	K Grubu	6	,199	,002	,199	,196	,202	14,58			
UYG. SONRASI MESAFE mm	E Grubu	6	1,708	,009	1,707	1,694	1,718	14,67	4,18	0,243	-
	T Grubu	6	1,708	,010	1,710	1,694	1,719	15,08			
	E+T Grubu	6	1,699	,010	1,697	1,690	1,714	7,67			
	K Grubu	6	1,705	,009	1,708	1,692	1,715	12,58			



Şekil 4.2. Gruplarda uygulama öncesi ve sonrası mesafe dağılım grafiği

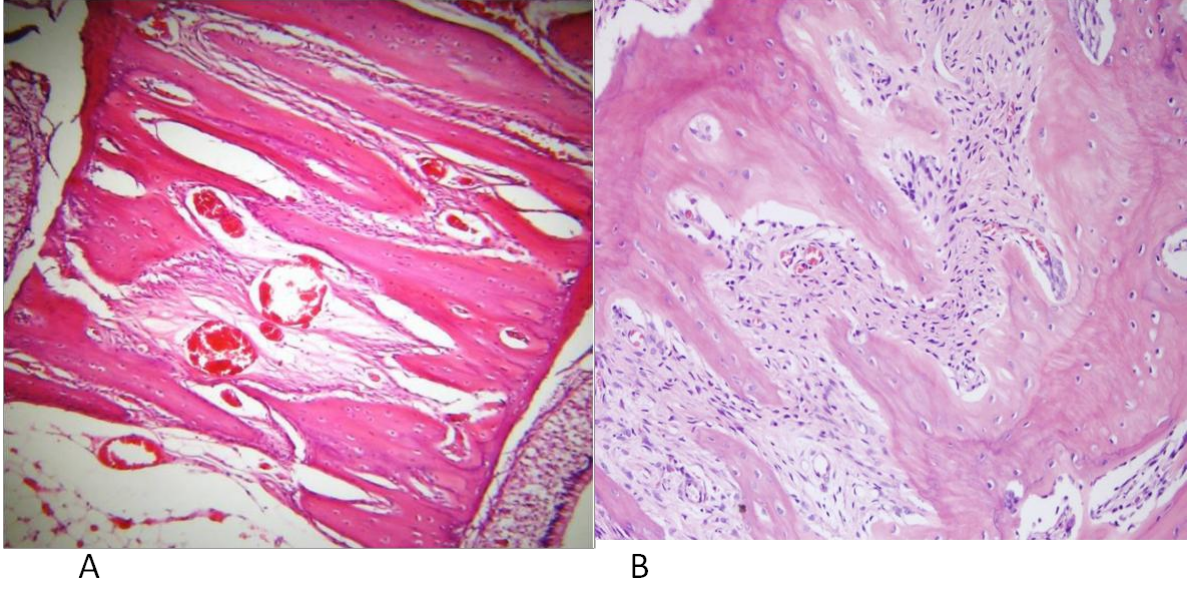
Uygulama öncesi mesafe ve uygulama sonrası mesafe bakımından tüm gruplar (E, T, E+T, K grupları) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($>0,05$) (Çizelge 4.10, Şekil 4.2).

4.4. Histolojik ve Histomorfometrik Bulgular

Sütural bölgeden alınan histolojik kesitlerde, maksiller ekspansiyon sonrası sutureda açılma olduğu ve yeni kemik formasyonunun başladığı görülmüştür (Resim 4.1).

Maksiller ekspansiyon sonrası kontrol grubu ile büyüme faktörleri uygulanan grupların karşılaştırılıp değerlendirilmesinde histolojik olarak aktif osteoblast, osteoklast ve yeni damar oluşum miktarına bakılmıştır (Resim 4.2). Bu değerlendirme sonucunda osteoblast, osteoklast ve damar sayısında belirgin farklar tespit edilmiştir (Resim 4.3).

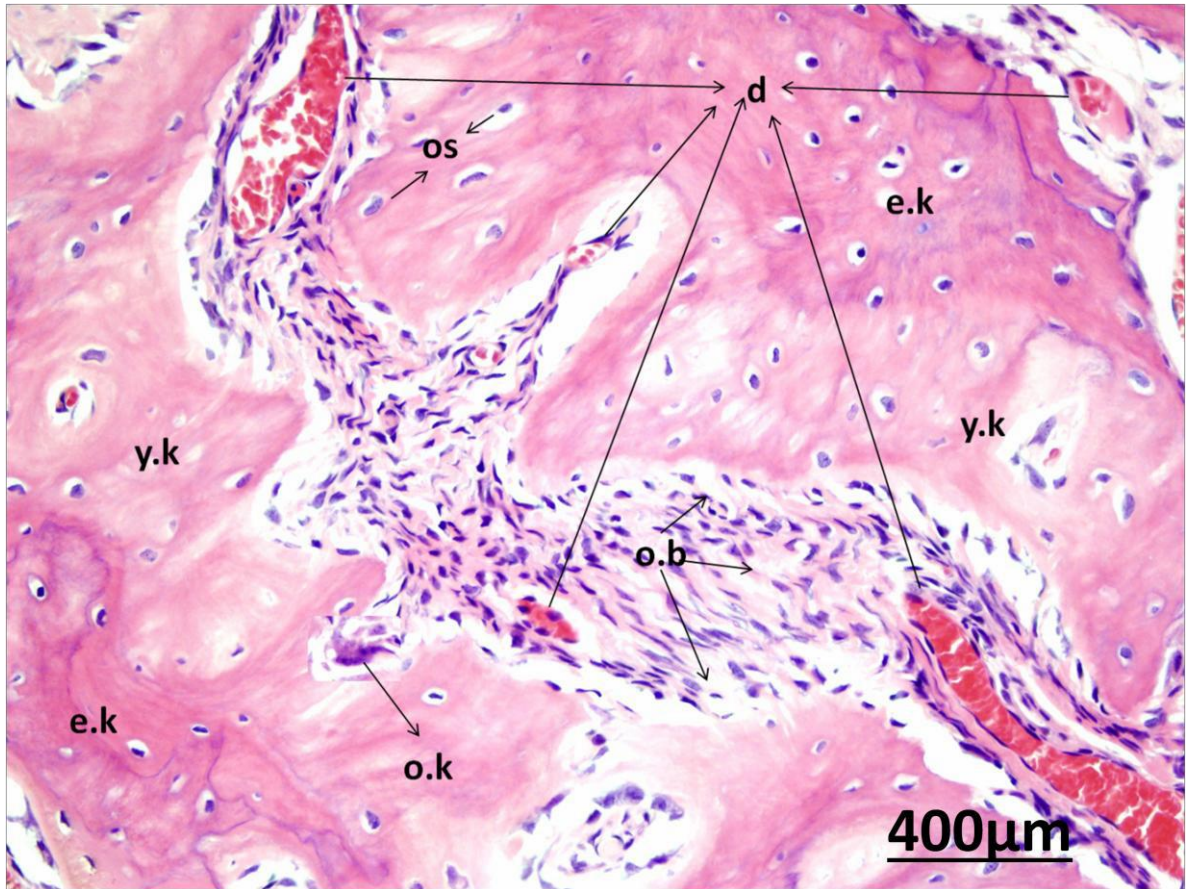
Histomorfometrik analizde ise yeni oluşan kemik alanı ve yeni kemiğin total kemiğe olan oranı yüzdesel olarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonucunda yeni oluşan kemik alanı ve yeni kemiğin total kemiğe olan oranında belirgin farklar tespit edilmiştir (Resim 4.3).



Resim 4.1. Rat midpalatal suturenun histolojik görüntüsü (HE X200)

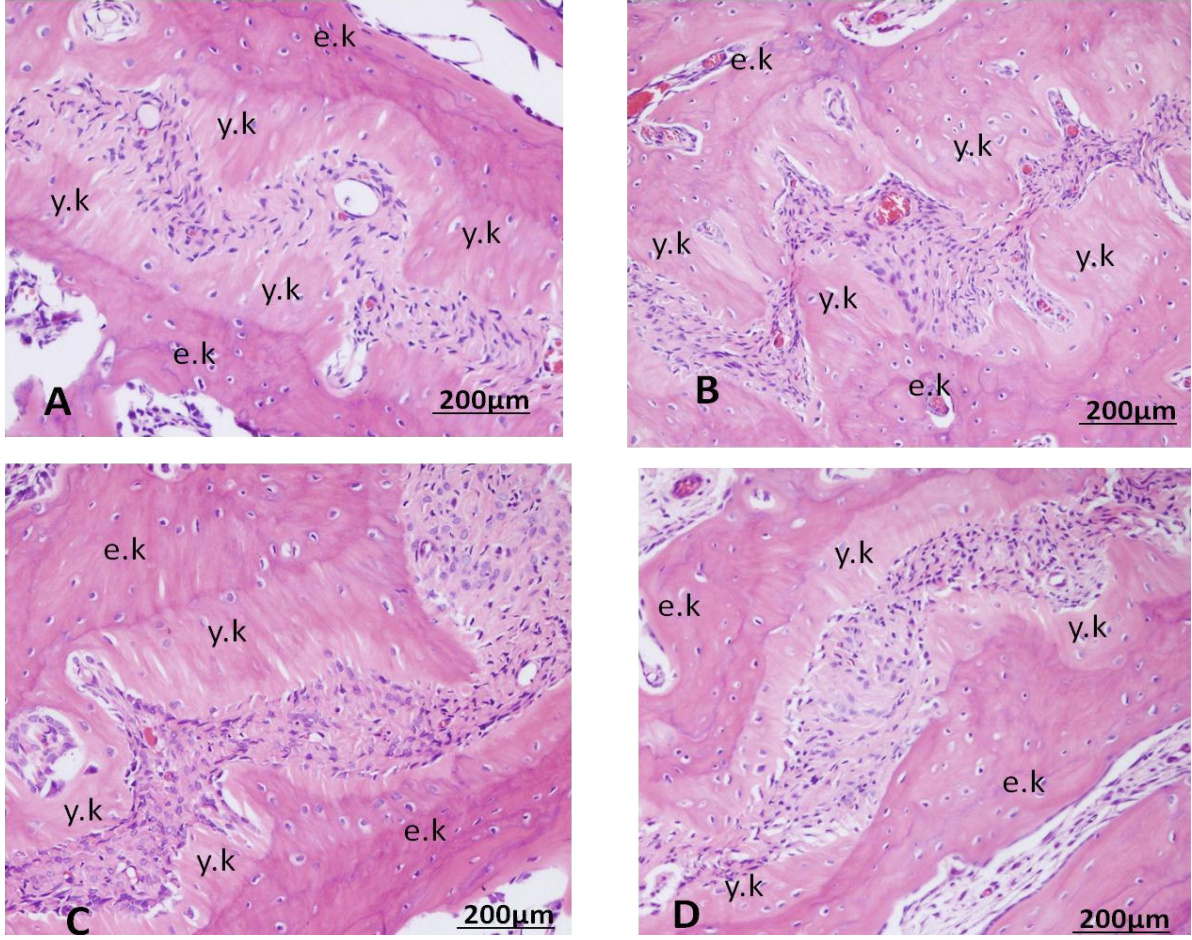
A: Uygulama yapılmamış rat midpalatal suture[30]

B: Çalışmamızda kontrol grubuna ait ekspansiyon olmuş midpalatal suture



Resim 4.2. HE boyanmış örneklerde hücreler (HE X400)

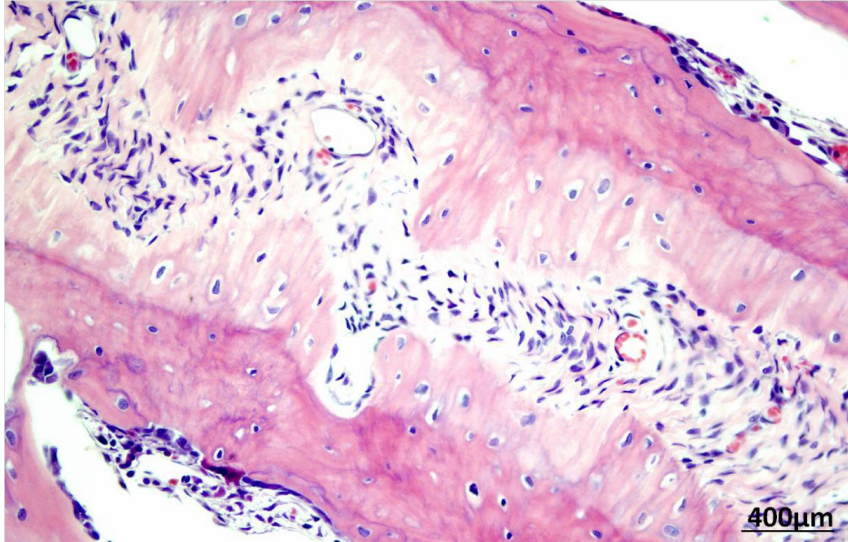
y.k yeni kemik, e.k eski kemik, o.k osteoklast, o.b osteoblast, os osteosit, d damar



Resim 4.3. Ekspanse olmuş midpalatal sutureda kemik oluşum bölgelerinin histolojik görüntüsü

A: E grubu (HE X200); B: T grubu (HE X200); C: E+T grubu (HE X200); D: K Grubu (HE X200), y.k: yeni kemik e.k: eski kemik

EGF Grubu Maksiller ekspansiyon sonrası EGF enjekte edilerek ratlardan elde edilen hematoksilin-eozin (HE) ile boyanmış kesitlerde suture bölgesinde kemik yapımının en önemli elemanı olan osteoblastlar kemik trabeküllerinin yüzeyinde, düzenli, epitelioid görünümlü diziler halinde karakteristik görünümleriyle izlendi ve sayıca şiddetli artış (+++) gösterdi. Osteoblastlara paralel olarak, çok çekirdekli (multinükleer) geniş sitoplazmalı iri hücreler olan osteoklastlarda da sayıca hafif şiddette (+) artış belirlendi. Yeni kemik oluşumunda çoğu denekte orta şiddette ve şiddetli (++/+++) artış görülürken, yeni sentezlenen osteoid materyalinin mineralizasyonundaki artış orta şiddette (++) izlendi. Kemik trabekülleri arasındaki bağ dokusunda fibroblastik proliferasyon ve buna bağlı kollagen sentezinde artış ve kalınlaşma ile yeni damar oluşumları (kapiller proliferasyon) ve dilate damarlar orta yoğunlukta ve şiddetli (++/+++) olarak gözlemlendi (Resim 4.4, Çizelge 4.11a).



Resim 4.4. E grubuna ait maksiller suture örneğinin HE ile boyalı kesiti HE X400

Çizelge 4.11a. Suture alanındaki aktif osteoblast, osteoklast ve yeni damar oluşum sayısının yarı kantitatif skalaya göre değerlendirilmesi

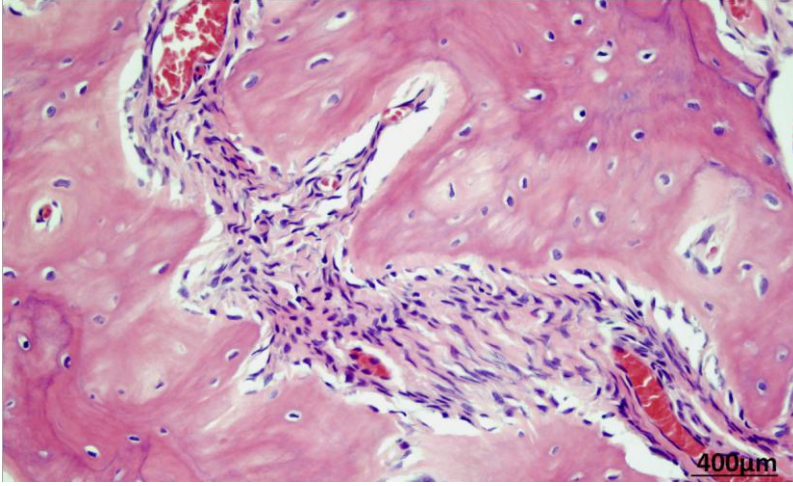
[0: yok, 1-10: + (hafif), 11-20: ++ (orta), >20: +++ (şiddetli)]

GRUPLAR	OSTEOBLAST	OSTEOKLAST	DAMARLANMA
E Grubu Denek 1	+++	+	++
E Grubu Denek 2	+++	+	++
E Grubu Denek 3	+++	+	+++
E Grubu Denek 4	+++	+	++
E Grubu Denek 5	+++	+	++
E Grubu Denek 6	+++	+	++
T Grubu Denek 1	+++	+	+++
T Grubu Denek 2	+++	+	+++
T Grubu Denek 3	+++	+	+++
T Grubu Denek 4	+++	+	+++
T Grubu Denek 5	+++	+	+++
T Grubu Denek 6	+++	+	+++
M Grubu Denek 1	+++	+	++
M Grubu Denek 2	+++	+	+++
M Grubu Denek 3	+++	+	++
M Grubu Denek 4	+++	+	+++
M Grubu Denek 5	+++	+	++
M Grubu Denek 6	+++	+	++
K Grubu Denek 1	++	+	++
K Grubu Denek 2	++	+	++
K Grubu Denek 3	++	+	++
K Grubu Denek 4	++	0	++
K Grubu Denek 5	+++	0	++
K Grubu Denek 6	++	+	++

Çizelge 4.11b. Sütur alanındaki aktif osteoblast, osteoklast, yeni damar oluşum sayısı, yeni kemik alanı ve yeni kemiğin total kemiğe oranının yüzdesel olarak değerlendirilmesi

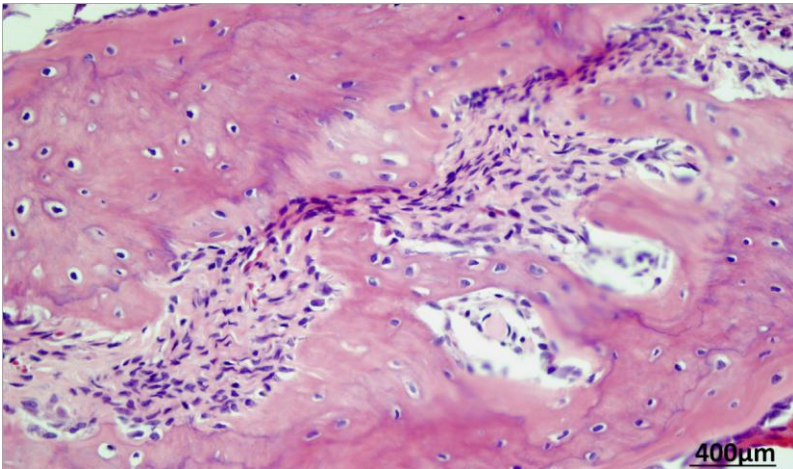
GRUPLAR	OSTEOBLAST	OSTEOKLAST	DAMARLANMA	YENİ KEMİK ALANI μm^2	YENİ KEMİK YÜZDE
E Grubu Denek 1	40	2	16	328445	%35
E Grubu Denek 2	42	3	10	450501	%48
E Grubu Denek 3	36	2	24	366032	%39
E Grubu Denek 4	42	2	19	394189	%42
E Grubu Denek 5	39	1	15	431730	%46
E Grubu Denek 6	41	2	18	375418	%40
T Grubu Denek 1	65	2	28	760221	%81
T Grubu Denek 2	63	3	30	713294	%76
T Grubu Denek 3	60	4	31	758200	%80
T Grubu Denek 4	67	2	36	732065	%78
T Grubu Denek 5	62	2	30	703909	%75
T Grubu Denek 6	69	3	28	685138	%73
M Grubu Denek 1	50	2	20	516200	%55
M Grubu Denek 2	53	1	22	534970	%57
M Grubu Denek 3	51	2	19	591283	%63
M Grubu Denek 4	57	3	23	525585	%56
M Grubu Denek 5	59	2	20	516200	%55
M Grubu Denek 6	52	2	18	638210	%68
K Grubu Denek 1	19	1	10	262756	%28
K Grubu Denek 2	20	1	13	234603	%25
K Grubu Denek 3	18	0	12	197067	%21
K Grubu Denek 4	15	0	15	243987	%26
K Grubu Denek 5	22	1	11	281524	%30
K Grubu Denek 6	21	1	19	272140	%29

TGF- β Grubu Maksiller ekspansiyon sonrası TGF- β enjekte edilerek ratlardan elde edilen HE ile boyanmış kesitlerde sütur bölgesinde kemik yapımının en önemli elamanı olan osteoblastlar kemik trabeküllerinin yüzeyinde, düzenli, epiteloïd görünümlü diziler halinde karakteristik görünümleriyle izlendi ve sayıca şiddetli artış (+++) gösterdi. Osteoblastlara paralel olarak, çok çekirdekli (multinükleer) geniş sitoplazmalı iri hücreler olan osteoklastlarda da sayıca hafif şiddette (+) artış belirlendi. Yeni kemik oluşumunda çoğu denekte orta şiddetli (++) artış görülürken, yeni sentezlenen osteoid materyalinin mineralizasyonunda yüksek şiddette artış (+++) izlendi. Kemik trabekülleri arasındaki bağ dokusunda fibroblastik proliferasyon ve buna bağlı kollagen sentezinde artış ve kalınlaşma ile yeni damar oluşumları (kapiller proliferasyon) ve dilate damarlar oldukça yoğun (+++) olarak gözlemlendi (Resim 4.5, Çizelge 4.11a).



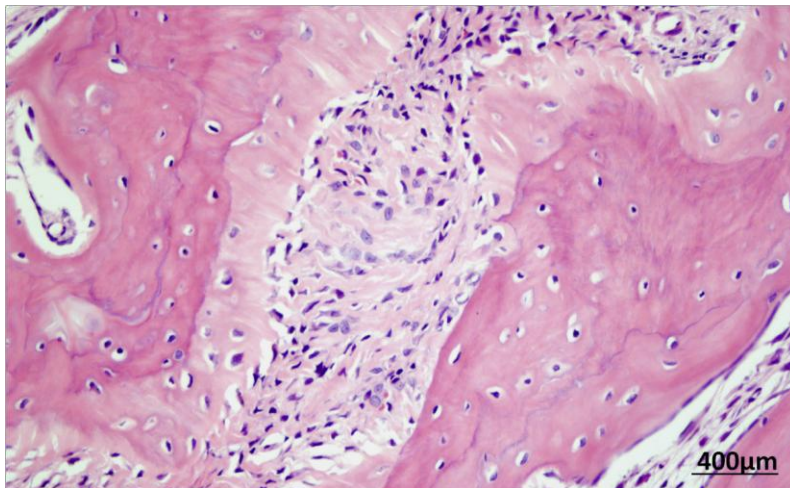
Resim 4.5. T grubuna ait maksiller suture örneğinin HE ile boyalı kesiti HE X400

EGF + TGF- β (Karışım) Grubu Maksiller ekspansiyon sonrası EGF + TGF- β enjekte edilerek ratlardan ratlardan elde edilen HE ile boyanmış kesitlerde suture bölgesinde kemik yapımının en önemli elemanı olan osteoblastlar kemik trabeküllerinin yüzeyinde, düzenli, epiteloïd görünümlü diziler halinde karakteristik görünümleriyle izlendi ve sayıca şiddetli artış (+++) gösterdi. Osteoblastlara paralel olarak, çok çekirdekli (multinükleer) geniş sitoplazmalı iri hücreler olan osteoklastlarda da sayıca hafif şiddette (+) artış belirlendi. Yeni kemik oluşumunda çoğu denekte orta ve yüksek şiddette (++) artış görülürken, yeni sentezlenen osteoid materyalinin mineralizasyonundaki artış orta şiddette (++) izlendi. Kemik trabekülleri arasındaki bağ dokusunda fibroblastik proliferasyon ve buna bağlı kollagen sentezinde artış ve kalınlaşma ile yeni damar oluşumları (kapiller proliferasyon) ve dilate damarlar orta ve yüksek şiddette yoğun (++) olarak gözlendi (Resim 4.6, Çizelge 4.11a).



Resim 4.6. E+T grubuna ait maksiller suture örneğinin HE ile boyalı kesiti HE X400

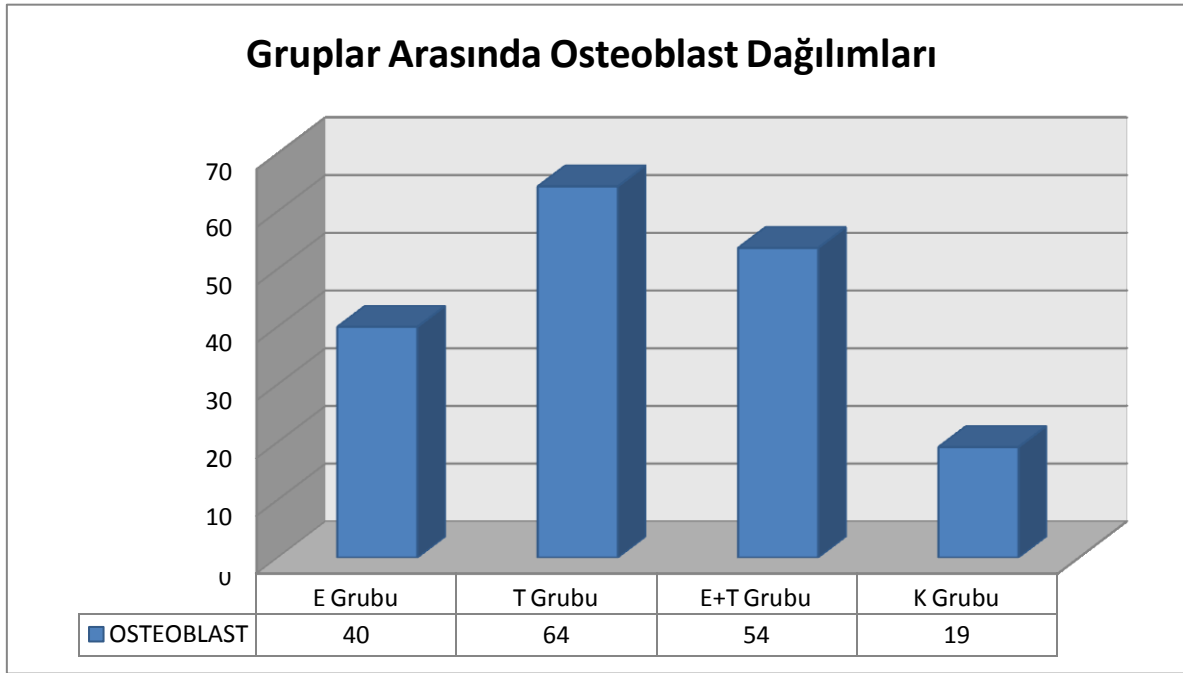
Kontrol Grubu Maksiller ekspansiyon uygulanarak (%0,9 İzotonik Sodyum Klorür) serum fizyolojik enjeksiyonu sonrası ratlardan elde edilen HE ile boyanmış kesitlerde sütür bölgesinde kemik yapımının en önemli elemanı olan osteoblastlar kemik trabeküllerinin yüzeyinde, düzenli, epitelioid görünümlü diziler halinde karakteristik görünümleriyle izlendi ve sayıca orta şiddette artış (++) gösterdi. Osteoblastlara paralel olarak, çok çekirdekli (multinükleer) geniş sitoplazmalı iri hücreler olan osteoklastlarda da sayıca hafif şiddette (+) artış belirlendi. Yeni kemik oluşumunda çoğu denekte hafif ve orta şiddette (+/++) artış görülürken, yeni sentezlenen osteoid materyalinin mineralizasyonundaki artış hafif şiddette (+) izlendi. Kemik trabekülleri arasındaki bağ dokusunda fibroblastik proliferasyon ve buna bağlı kollagen sentezinde artış ve kalınlaşma ile yeni damar oluşumları (kapiller proliferasyon) ve dilate damarlar orta yoğun (++) olarak gözlendi (Resim 4.7, Çizelge 4.11a).



Resim 4.7. K grubuna ait maksiller sütür örneğinin HE ile boyalı kesiti HE X400

Çizelge 4.12. Osteoblast değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskal-Wallis H testi

								Kruskal-Wallis H testi			
		n	Mean	ss	Median	Min	Max	Sıra Ort.	H	p	İkili Karşılaştırma
OSTEOBLAST	1. E Grubu	6	40	2	41	36	42	9,50	21,6	0,0001	1-2 1-3 1-4 2-3 2-4 3-4
	2. T Grubu	6	64	3	64	60	69	21,50			
	3. E+T Grubu	6	54	4	53	50	59	15,50			
	4. K Grubu	6	19	2	20	15	22	3,50			



Şekil 4.3. Gruplar arasında osteoblast dağılım tablosu

Osteoblast değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0,05$).

E Grubu osteoblast değerleri T Grubu'na göre anlamlı derecede düşüktür (Çizelge 4.12, Şekil 4.3).

Osteoblast değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0,05$). E Grubu osteoblast değerleri E+T Grubu'na göre anlamlı derecede düşüktür (Çizelge 4.12, Şekil 4.3).

Osteoblast değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0,05$). E Grubu osteoblast değerleri K Grubu'na göre anlamlı derecede yüksektir (Çizelge 4.12, Şekil 4.3).

Osteoblast değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0,05$). T Grubu osteoblast değerleri E+T Grubu'na göre anlamlı derecede yüksektir (Çizelge 4.12, Şekil 4.3).

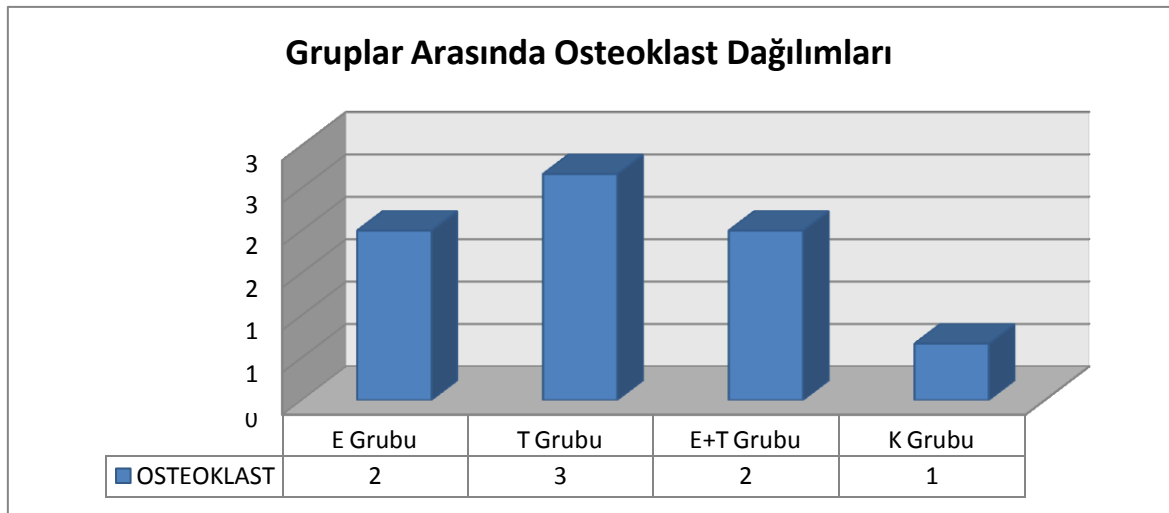
Osteoblast değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0,05$).

T Grubu osteoblast değerleri K Grubu'na göre anlamlı derecede yüksektir (Çizelge 4.12, Şekil 4.3).

Osteoblast değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0,05$). E+T Grubu osteoblast değerleri K Grubu'na göre anlamlı derecede yüksektir (Çizelge 4.12, Şekil 4.3).

Çizelge 4.13. Osteoklast değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskal-Wallis H testi

								Kruskal-Wallis H testi			
		n	Mean	ss	Median	Min	Max	Sıra Ort.	H	p	İkili Karşılaştırma
OSTEOKLAST	1. E Grubu	6	2	1	2	1	3	13,83	14,3	0,0001	1-4 2-4 3-4
	2. T Grubu	6	3	1	3	2	4	18,17			
	3. E+T Grubu	6	2	1	2	1	3	13,83			
	4. K Grubu	6	1	1	1	0	1	4,17			



Şekil 4.4. Gruplar arasında osteoklast dağılım tablosu

Osteoklast değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0,05$). E Grubu osteoklast değerleri K Grubu'na göre anlamlı derecede yüksektir (Çizelge 4.13, Şekil 4.4).

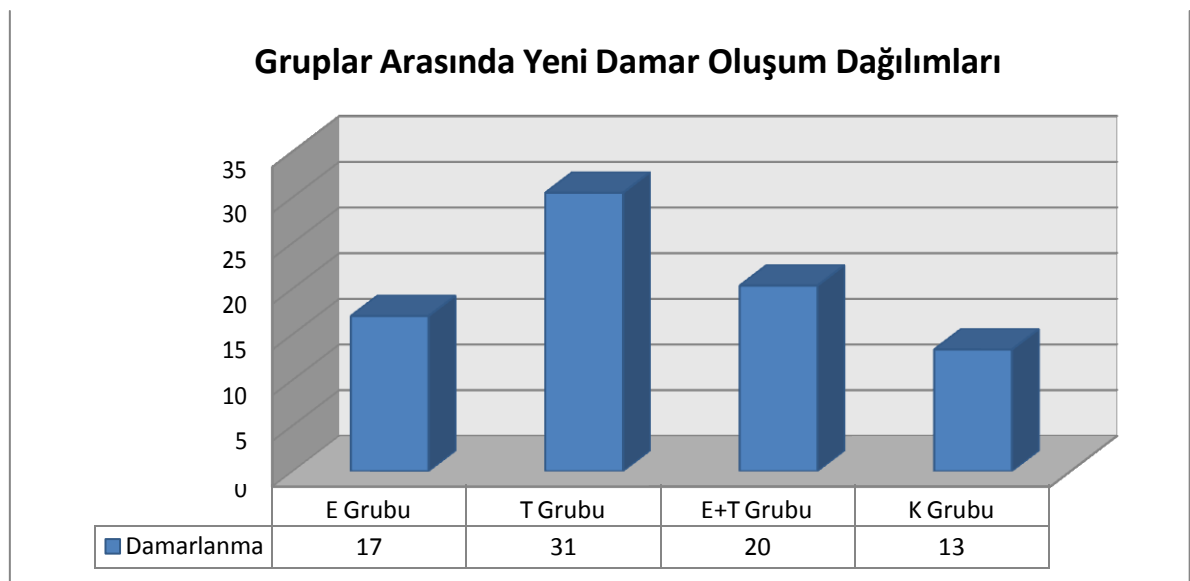
Osteoklast değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0,05$). T Grubu osteoklast değerleri K Grubu'na göre anlamlı derecede yüksektir (Çizelge 4.13, Şekil 4.4).

Osteoklast değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0,05$). E+T Grubu osteoklast değerleri K Grubu'na göre anlamlı derecede yüksektir (Çizelge 4.13, Şekil 4.4).

Osteoklast değerleri için E Grubu ve E +T grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p<0,05$) (Çizelge 4.13, Şekil 4.4).

Çizelge 4.14. Yeni damar oluşum değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskal-Wallis H testi

								Kruskall-Wallis H testi			
		n	Mean	ss	Median	Min	Max	Sıra Ort.	H	p	İkili Karşılaştırma
DAMARLANMA	1. E Grubu	6	17	5	17	10	24	9,25	17,5	0,0001	1-2 2-3 2-4 3-4
	2.T Grubu	6	31	3	30	28	36	21,50			
	3.E+T Grubu	6	20	2	20	18	23	13,92			
	4. K Grubu	6	13	3	13	10	19	5,33			



Şekil 4.5. Gruplar arasında yeni damar oluşum dağılım tablosu

Yeni damar oluşum değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0,05$).

E Grubu yeni damar oluşum değerleri T Grubu'na göre anlamlı derecede düşüktür (izelge 4.14, şekil 4.5).

Yeni damar oluşum değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0,05$).

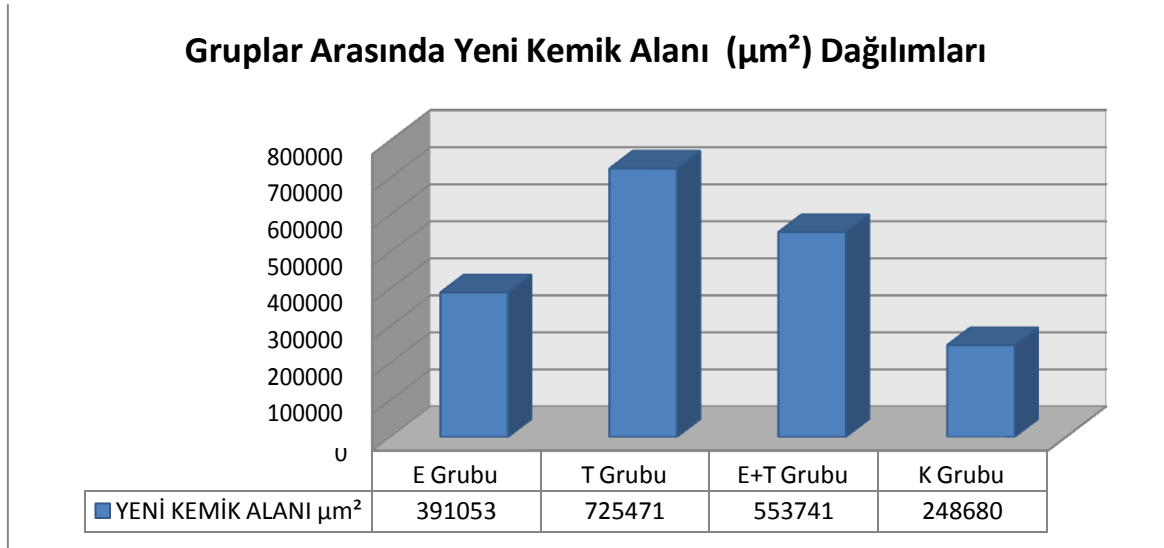
T Grubu yeni damar oluşum değerleri E+T Grubu ve K Grubu'na göre anlamlı derecede yüksektir (izelge 4.14, şekil 4.5).

Yeni damar oluşum değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0,05$).

E+T Grubu yeni damar oluşum değerleri K Grubu'na göre anlamlı derecede yüksektir (izelge 4.14, şekil 4.5).

Çizelge 4.15. Yeni kemik alanı değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskal-Wallis H testi

								Kruskall-Wallis H testi			
		n	Mean	ss	Median	Min	Max	Sıra Ort.	H	p	İkili Karşılaştırma
YENİ KEMİK ALANI μm^2	1. E Grubu	6	391053	44696	384804	328445	450501	9,50	21,6	0,0001	1-2 1-3 1-4 2-3 2-4 3-4
	2.T Grubu	6	725471	30207	722680	685138	760221	21,50			
	3.E+T Grubu	6	553741	50016	530278	516200	638210	15,50			
	4. K Grubu	6	248680	30696	253372	197067	281524	3,50			



Şekil 4.6. Gruplar arasında yeni kemik alanı dağılım tablosu

Yeni kemik alanı değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0,05$).

E Grubu yeni kemik alanı değerleri T Grubu'na göre anlamlı derecede düşüktür (Bkz Çizelge 4.11b, 4.15, Şekil 4.6).

Yeni kemik alanı değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0,05$).

E Grubu yeni kemik alanı değerleri E+T Grubu'na göre anlamlı derecede düşüktür (Bkz Çizelge 4.11b, 4.15, Şekil 4.6).

Yeni kemik alanı değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0,05$).

E Grubu yeni kemik alanı değerleri K Grubu'na göre anlamlı derecede yüksektir (Bkz Çizelge 4.11b, 4.15, Şekil 4.6).

Yeni kemik alanı değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0,05$).

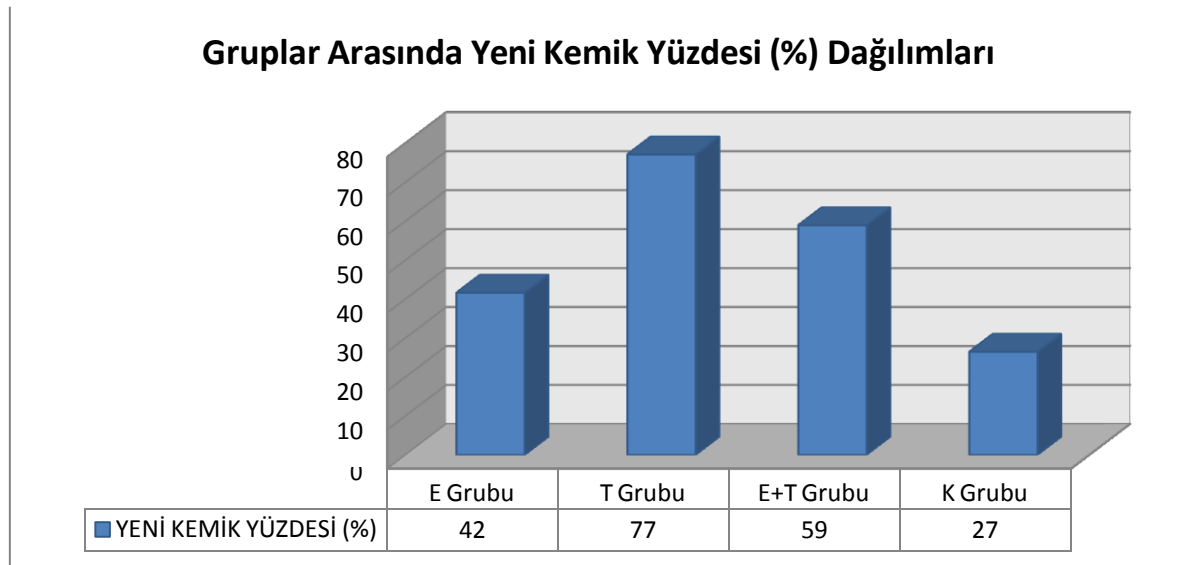
T Grubu yeni kemik alanı değerleri E+T Grubu ve K Grubu'na göre anlamlı derecede yüksektir (Bkz Çizelge 4.11b, 4.15, Şekil 4.6).

Yeni kemik alanı değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0,05$).

E+T Grubu yeni kemik alanı değerleri K Grubu'na göre anlamlı derecede yüksektir (Bkz Çizelge 4.11b, 4.15, Şekil 4.6).

Çizelge 4.16. Yeni kemik yüzde değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılığa ilişkin Kruskal-Wallis H testi

								Kruskall-Wallis H testi			
		n	Mean	ss	Median	Min	Max	Sıra Ort.	H	p	İkili Karşılaştırma
YENİ KEMİK YÜZDESİ	1. E Grubu	6	42	5	41	35	48	9,50	21,6	0,0001	1-2 1-3 1-4 2-3 2-4 3-4
	2.T Grubu	6	77	3	77	73	81	21,50			
	3.E+T Grubu	6	59	5	57	55	68	15,50			
	4. K Grubu	6	27	3	27	21	30	3,50			



Şekil 4.7. Gruplar arasında yeni kemik yüzde dağılım grafiği

Yeni kemik yüzde değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0,05$).

E Grubu yeni kemik yüzde değerleri T Grubu'na göre anlamlı derecede düşüktür (Bkz Çizelge 4.11b, 4.16, Şekil 4.7).

Yeni kemik yüzde değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0,05$).

E Grubu yeni kemik yüzde değerleri E+T Grubu'na göre anlamlı derecede düşüktür (Bkz Çizelge 4.11b, 4.16, Şekil 4.7).

Yeni kemik yüzde değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0,05$).

E Grubu yeni kemik yüzde değerleri K Grubu'na göre anlamlı derecede yüksektir (Bkz Çizelge 4.11b, 4.16, Şekil 4.7).

Yeni kemik yüzde değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0,05$).

T Grubu yeni kemik yüzde değerleri E+T Grubu ve K Grubu'na göre anlamlı derecede yüksektir (Bkz Çizelge 4.11b, 4.16, Şekil 4.7).

Yeni kemik yüzde değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0,05$).

E+T Grubu yeni kemik yüzde değerleri K Grubu'na göre anlamlı derecede yüksektir (Bkz Çizelge 4.11b, 4.16, Şekil 4.7).

5. TARTIŞMA

5.1. Amacın Tartışılması

RME ağır ortopedik kuvvetler uygulanarak maksiller darlık ve yetmezlik sorunlarının tedavi edildiği bir yöntem olarak kullanılmaya başlandıktan sonra elde edilen ekspansiyonun korunmasına yönelik çeşitli araştırmalara konu olmuştur.

RME sonrasında elde edilen genişletme miktarı kadar bu miktarın nüks olmadan korunabilmesi de tedavi protokolünün önemli noktalarından biridir.

RME ile oluşan ağır kuvvetler ve stres sonucu sert dokularda deformasyonlar, yumuşak dokularda gerilmeler meydana gelmektedir[39]. Maksillanın komşu kemiklerle yaptığı bağlantılar nedeniyle genişletme sonrası meydana gelen rezidüel kuvvetler nükse neden olmaktadır[107]. Hastanın yaşı göz önünde tutularak uygulanan genişletme uygulamaları sonrasında uygun apareylerle ve yeterli süre pekiştirme yapılmazsa transversal genişlemede nüks meydana geldiği yapılan araştırmalar ve klinik gözlemler ile ortaya konmuştur. RME uygulaması sonrası, süturun yeniden yapılanması ve stabilizasyonu için 6-9 aylık pekiştirme periyodu önerilmektedir[93, 124, 125, 191].

Da silva ve arkadaşları [9], yaşları 5 ile 10 arasında değişen 17 hasta üzerinde ekspansiyon öncesi ve ekspansiyon sonrası BT kayıtları aldıkları çalışmalarında midpalatal süturun anterior nazal spinadan posterior nazal spinaya kadar komple kemikleşmesinin 8-9 ay sürdüğünü belirtmişlerdir. Bunun yanı sıra ekspansiyonun miktarına bağlı olarak 1.5- 4 yıl pekiştirme periyodu uygulanması gerektiğini belirten çalışmalar da mevcuttur[10].

Ekspansiyon sonrası nüksü engellemek için; overcorrection yapılması[50, 51], vida çevirme programının değiştirilmesi[107], aparey dizaynında modifikasyonlar uygulanması[58], genişletme sonrası gerilen palatal mukozaya insizyon yapılması[110] gibi çeşitli yöntemler denenmiştir. Bunun yanı sıra; ekspansiyon bölgesinde kemik formasyonunu hızlandırarak tedavi süresini kısaltmak, yeni oluşan kemiğin kalitesini arttırarak nüksü azaltmak ve tedavi sonrası elde edilen durumun stabilitesini korumak için de çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Sawada ve Shimizu [11], ratlar üzerinde yaptıkları RME çalışmasında ekspansiyondan 1 gün sonra midpalatal suture bölgesine TGF- β enjekte etmişler ve suturdaki kemik oluşum hızında ve miktarında artış olduğunu bildirmişlerdir.

Chang ve arkadaşları[12], ekspansiyon yaptıkları ratlara endotelial hücre büyüme faktörü (ECGF) uygulamışlar ve preosteoblast sayısında artış bulmuşlar, uygulanacak optimal kuvvetin ve yardımcı büyüme faktörlerinin tedavi süresini kısaltabileceğini ve stabilizeye katkı sağlayabileceğini söylemişlerdir.

Zhong ve arkadaşları[13], RME yaptıkları deney farelerine periostin benzeri faktör (PLF) uygulaması yaparak kemik mineral formasyonunda olumlu sonuçlar bildirmişlerdir.

Jiang ve arkadaşları [14], RME yaptıkları ratlara, kemik formasyonunda hücresel cevaptan sorumlu glikojen sentez kinaz 3- β inhibitörü uygulayarak osteoblastların aktivitesini arttırdıklarını böylece daha hızlı kemik formasyonu elde ettiklerini rapor etmişlerdir.

Saito ve Shimizu[15], yaptıkları lazer çalışmasında, ekspansiyon süresince midpalatal suture bölgesine değişik süre ve frekanslarda galyum aliminyum diode lazer uygulamışlar ve lazer uygulamasının suture bölgesinde kemik rejenerasyonunu hızlandırdığını, retansiyon süresini kısalttığını ve nüksü engelleyici faydaları olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Darı ve arkadaşları[16]'nın, ekspansiyon bölgesine lazer ile biostimülasyon yaptığı çalışmasında kemik yapımının hızlandığı rapor edilmiştir.

Lee ve arkadaşları [17], osteoklastik aktivitenin baskılanması yoluyla meydana gelebilecek nüksün önlenmesi amacı ile RME sonrasında birinci nesil bifosfonat uygulaması yaparak kemik oluşumunu hızlandırdıklarını rapor etmişlerdir.

Öztürk[19], tez çalışmasında, rat premaksillasına ekspansiyon sonrası zoledronik asit uygulanması ile kemik remodelingini arttırdığını rapor etmiştir.

Altan ve arkadaşları[20], RME uyguladıkları ratlara sistemik propolis vererek kemik formasyonunu arttırdıklarını bildirmişlerdir.

Kara ve arkadaşları[21] ratlarda sistemik thymoquinone uygulamasının RME sonrası kemik formasyonuna etkisini inceledikleri çalışmalarında olumlu sonuçlar elde etmişlerdir.

Uysal ve arkadaşları, ratlarda RME sonrasında kemik remodelingi arttırmayı hedeflemişlerdir. Bu amaçla, antioksidan etkisinden faydalanmak için vitamin E[22], sistemik ve lokal vitamin C uygulaması[23], kemikte rejenerasyon etkisinden faydalanmak için ED-71 (D vitamini analogu)[24], periosteal stimülasyon terapisi[26] uygulaması ve premaksiller bölgeye resvatrol[27] enjeksiyonu ile olumlu sonuçlar elde etmişlerdir.

Birlik[30], tez çalışmasında östrojen ve testosteron uygulaması ile RME sonrası ratlarda kemik oluşumunu hızlandırmayı hedeflemiş ve olumlu sonuçlar elde etmiştir.

Göçtürk[25], tez çalışmasında ratlara RME sonrası sistemik olarak teriparatid, kalsiyum ve D vitamini uygulayarak kemik oluşum hızında olumlu sonuçlar elde etmiştir.

Büyük ve arkadaşları[29], RME sonrası ozon terapisi uyguladıkları ratlarda kemik remodelinginin hızlandığını rapor etmişlerdir.

Halıcıoğlu ve arkadaşları[28], ratlarda RME uyguladıktan sonra sistemik olarak verilen sarı kantaronun (*Hypericum perforatum*) kemik remodelingine olumlu etkilerini bildirmişlerdir.

Ekizer ve arkadaşları[31], RME sonrası kök hücre uygulamasının ratlarda kemik remodelingini arttırdığını söylemişlerdir.

Çalışmamızda, kemik yapımını stimüle edici etkisi bilinen TGF- β [11] ile daha önce bu konuda çalışma yapılmamış olan EGF' nin tek başına ya da TGF- β ile karışım halinin RME sonrasında rat midpalatal süturundaki kemik formasyonu üzerine etkilerinin histolojik ve histomorfometrik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

5.2. Gereç ve Yöntemin Tartışılması

5.2.1. eney hayvanı seçimi

Geçmişte sütural genişletme için yapılan hayvan çalışmalarında, maymunlar, köpekler, kediler, domuzlar, ratlar ve tavşanlar kullanılmıştır. Ancak, bu hayvan modellerinden hiçbiri insan üst çene yapısını birebir taklit edememektedir.

Maymun; anatomi, diş formülü, diş erüpsiyonu ve büyüme paterni olarak insanla benzerliği en fazla olan deney hayvanı olmasına rağmen üst çene yapısı, insan üst çene yapısından oldukça farklıdır. En önemli anatomik farklılık maymunda ayrı bir premaksillanın bulunmasıdır. Maymunda premaksiller orta hattaki suture, erken dönemde kaynaşır, dolayısıyla premaksillada orta hatta suture yoktur. Premaksilla ile maksilla arasındaki kemikleşmemiş suture, kanin ve lateral kesiciler arasından seyreder, maksiller kemikler arasındaki midpalatal suture ile insiziv foramenin arkasında birleşerek Y şekilli bir suture oluşturur[54, 57].

Bunun yanı sıra, ülkemizde temininin mümkün olmaması nedeniyle çalışmamızda deney hayvanı olarak maymun kullanılamamıştır. Deneyin yürütüldüğü Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezinde, rutin olarak üretimlerinin yapılmaması, ayrıca bu hayvanlar için yeterli barınakların olmaması nedeniyle domuzlar, köpekler ve kediler de bu çalışma için uygun olmamıştır.

Storey[114], maymunlar ve kediler ile insanların maksiller suturelarının birçok yönden benzer olduğunu ve bu nedenle genişletme deneylerinde kullanıldıklarını, ancak kuvvet altında kemik ve suture yapılarında meydana gelen değişimleri açıkça incelemek için ideal hayvanların tavşan ve rat olduğunu belirtmiştir.

Üst çene genişletmesi uygulamalarında ratlar oldukça yoğun olarak kullanılan deney hayvanlarıdır. Birçok araştırmacı ratları kullanarak üst çene genişletmesinin çeşitli yönlerini araştırmıştır[11, 12, 14-17, 19-30, 144, 145, 147]. Diğer deney hayvanlarına göre daha ucuza elde edilebilmeleri, histolojik kesitlerin hazırlanmasının kolay olması, hücresel ve moleküler biyolojik teknikler için gereken antikorların çoğunun yalnızca ratlar için mevcut olması gibi etkenler nedeniyle çalışmamızda ratların kullanılmasına karar verilmiştir.

Ratlarda 6 hafta bebeklik-çocukluk, 15 hafta ergenlik, 24 hafta genç erişkinlik, 52 hafta geç erişkinlik dönemi olarak tanımlanmaktadır. Wistar türü erkek ratların erişkin ağırlığı 300-350gr'dır[148]. 10-12 haftalık 180-220g ağırlığındaki erkek bir ratın büyüme gelişimi insanda erkek bireylerde 13-15 yaşına yani büyüme gelişimin tamamlanmasından önceki döneme tekabül etmektedir[149].

Morndal[142], Sawada ve Shimizu [11], Saito ve Shimizu [15], Kanekawa ve arkadaşları[146], Dari[16], Hou ve arkadaşları[151], Uysal ve arkadaşları[22-24, 26, 27], Öztürk ve arkadaşları[19], Jiang ve arkadaşları[14], Chang ve arkadaşları[12], Altan[20], Kara[21], Birlik[30], Göçtürk[25], Büyük[29], Halıcıoğlu[28] çalışmalarında 180-220 gr'lık wistar türü erkek ratlar kullanmışlardır.

Genç ratlar gerçekleştirilen prosedürleri daha rahat kaldırabilmektedir. Ayrıca 10-12 haftalık ratların daha genç ratlara göre daha iri olmaları ağız içerisinde çalışmayı daha kolay hale getirmektedir. Erkek ve dişi ratlar arasındaki ağırlık, gelişim ve metabolik aktiviteler yönüyle bir takım farklılıkların mevcut olması, östrus ile ilişkili olarak gerçekleşen hormonal değişikliklerin elimine edilebilmesi ve çalışmanın daha standart bir hale getirilebilmesi amacıyla çalışmamız 10-12 haftalık 193 ± 4 gr ağırlığındaki erkek wistar ratlar üzerinde yürütülmüştür.

5.2.2. eyin uygulama bölgesi ve şeklinin seçimi

Ratlar üzerinde yapılan üst çene genişletme uygulamalarının çoğu, kemirgen olmalarından dolayı oldukça uzun birer kökü bulunan iki keser dişinden destek alınarak premaksiller bölgede yapılmıştır (Bkz Resim 2.6B). Ratların üst kesici dişleri arasına ekspansif yönde kuvvet uygulanarak premaksiller genişletme elde edilmiştir[11, 15, 16, 20-31, 100, 142, 146, 151]. Ratın ağzının küçük ve ağız açıklığının az olması bukkal dişlere (premolar ve molar) ulaşmayı ve suture palatina mediyayı ayıracak bir işlem yapmayı zorlaştırmaktadır. Ayrıca ratların premolar ve molar dişlerinin ağız içinde görünen kron boyları da oldukça kısadır, bu nedenle posterior dişlerden destek alan bir apareyin yapımı zordur. Ratlarla ilgili üst çene genişletme uygulamaları arasında sadece Takahashi ve arkadaşları[144], Kobayashi ve arkadaşları[147] ile Hou ve arkadaşları[151] nın yürüttüğü çalışmalarda molar dişler arasına kuvvet uygulanarak maksiller genişletme yapıldığı bildirilmiştir (Bkz Resim 2.6A).

Dişlerden destek alan çalışmaların zorlukları nedeniyle bazı yazarlar [17, 19, 152, 192-194], rat kafatasında sagittal sutureda genişletme yapmayı tercih etmişlerdir. Bu yöntemde kafatasını kaplayan deri antero-posterior yönde sagittal suture açığa çıkarılacak şekilde insize edilmekte ve periost sıyrıldıktan sonra parietal kemiğin üzerine sagittal suturen her

iki tarafına açılan birer deliğe genişletme apareyi yerleştirilmekte ve suture edilmektedir. Bu yöntem oldukça invaziv ve travmatik bir yöntemdir (Bkz Resim 2.6C).

Yapmış olduğumuz pilot uygulamalar sonucunda, çalışmamızda rat kafatasına yapılan uygulamalardan daha az travmatik ve ulaşılabilirliği de kolay olduğundan RME için ratların üst kesici dişlerine aparey uygulanmasına karar verilmiştir (Bkz Resim 3.3,3.5B).

Literatürde, ratlarla yapılan RME çalışmalarında kullanılan pek çok aparey tipi bulunmaktadır. Bu apareylerin etki mekanizmaları aynı olmasına rağmen, uygulama yerleri, destek aldıkları dişler/dokular ve dizaynları birbirinden farklılık göstermektedir.

Storey[114], Uysal ve ark.[22-24, 26, 27, 100], Ekizer ve ark[31], Göçtürk[25], Büyük[29] çalıştıkları hayvan modellerinde (rat/tavşan) üst kesici dişleri bukkolingual yönde delmiş, heliks bükümlü bir zembereğin uçlarını bu deliklere sabitleyerek premaksiller genişletme yapmıştır (Bkz Resim 2.6B).

Morndal [142] 0.012" Australian telinden benzer bir heliks bükerek telin uçlarını ratların santral kesici dişlerine kompozit kullanarak yapıştırmıştır.

Southard ve Forbes [143], Zahrowski ve Turley [145], Darı[16], Kara ve ark. [21], Altan ve ark.[20] üst kesici dişlere uygulanan zembereklerle ratlarda premaksiller genişletme sağlamışlardır.

Ratlarda premaksiller genişletme için üst keserler arasına metal kamalar[144], elastomerik halkalar[12] yerleştirilmesi de literatürde yer almıştır.

Çalışmamızda kullandığımız ekspansiyon amaçlı aparey, Sawada ve Shimizu'nun[11], Saito ve Shimizu'nun[15], Kanekawa ve Shimizu'nun[146], Itou ve arkadaşlarının[190] çalışmalarında kullandığı aparey rehber alınarak hazırlanmış üst kesici dişlere uygulanarak premaksiller ekspansiyon hedeflenmiştir. Ekspansiyon apareyi, 0,020" A.J Wilcock tel kullanılarak tweed pensinin kalın ucuyla 3 sarımın toplam mesio-distal genişliği 1,5 mm olacak şekilde hazırlanmıştır (Bkz resim 3.3,3.4,3.5). Bu apareyi kullanan araştırmacılar Sawada ve Shimizu[11], Saito ve Shimizu[15], Kanekawa ve Shimizu[146], Itou ve arkadaşları[190] çalışmalarında apareyi yerleştirmek için gingival papilin hemen üzerinde lateral yönlü delikler açarak 0,010 mm yarıçaplı telle apareyi keser dişlerin arasına ligatüre

etmişlerdir. Çalışmamızda benzer şekilde gingival papilin hemen üzerinde dişlere lateral yönlü delikler açılarak apareyin sabitlenme işlemi 0,010 mm yarıçaplı ligatür teliyle yapılmıştır (Bkz Resim 3.4, 3.5).

5.2.3. eyin uygulama süresinin seçimi

Morndal [142] çalışmasında ratlarda premaksiller genişletme için genişletici apacey uyguladıktan sonra 27 saat genişletme uygulamış ve bu süreyi sütural ayrılma için yeterli bulmuştur.

Zahrowski ve Turley [145] rat premaksillasını sırayla 27, 40 ve 60 saat boyunca genişletmiş ve 60. saatte erken kemik formasyonu olduğunu gözlemlemiştir.

Ten Cate ve arkadaşları[152], 28 rat sagittal süturunu genişlettikleri çalışmalarında sütur kenarlarında 3-4 gün içinde kemik formasyonunun başladığını, 2-3 hafta sonra ekspansiyon kuvvetinin azalarak sona ermesiyle birlikte kemikte ve süturda remodeling oluştuğunu rapor etmişlerdir.

Takahashi ve arkadaşları[195] midpalatal sütur genişletmesi yaptıkları ratları 3 gruba ayırmış ve bu gruplardaki hayvanları sırasıyla 4, 7 ve 14. günlerde sakrifiye etmişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre, açılan süturun 4. günde spindle-shaped fibroblastların görüldüğü fibröz doku ile dolmaya başladığını; 7. günde süturda poligonal-shaped osteokondroprogenitör hücrelerden oluşan blastemanın görüldüğünü; 14. günde ise süturun kalsifiye olmuş kemik matriksi ile tamamen dolduğunu söylemişlerdir.

Hou ve arkadaşları[151], fareler üzerinde yaptıkları çalışmada kuvvet uygulaması sonucunda midpalatal süturda görülen genişleme sonrasında 7. günde palatal kemik uçlarında yeni kemik oluşmasıyla birlikte bu oluşan yeni kemik yüzeyinde periosteal hücrelerin iyice artması sonucu 14. günde genişlemiş olan süturun içinin fibröz doku ile dolduğunu bildirmişlerdir.

Literatürde ratlarda RME yapılan çalışmaların süresi ortalama 1-14 gün arasında değişmektedir. Yaptığımız ön çalışmada literatürle uyumlu olarak yeni kemik oluşumunun 14. günden itibaren histolojik olarak daha net görüldüğünü tespit ettiğimiz için çalışmamızın süresi 14 gün olarak belirlenmiştir. Yapılan pilot uygulamalar sonucunda,

anesteziye bağlı komplikasyonlar, aparey değiştirme sırasında yaşanan diş kırıkları ve süturda oluşması muhtemel mikrofraksiyonlar yaşanmaması için retansiyon aşaması ayrı planlanmamış ve yerleştirilen aparey histolojik doku fiksasyonu sonuna kadar yerinden çıkarılmamıştır. Ekspansiyon apareyi dişler arasına yerleştirildikten sonra ikinci bir aktivasyon veya apareyin değiştirilmesi söz konusu olmaksızın aynı apareyle çalışma tamamlanarak 14 gün sonunda ratlar sakrifiye edilmiştir.

5.2.4. maddenin seçimi

EGF, pek çok mezodermal ve ektodermal kökenli hücre için mitojenik özellik gösteren bir büyüme faktörüdür. Hücrelerin oğunda EGF'ye ait reseptörler bulunur. Endotel hücreleri, fibroblast ve düz kas hücrelerinde reseptörleri bulunmasına rağmen en çok sayıda reseptör epitel hücrelerinde bulunmaktadır. Epitel ve endotel hücreler ile fibroblastlar için kemotaktik özelliği vardır. Bu sayede kollagenaz aktivitesini uyarıcı etki göstermektedir[32]. EGF reseptörleri ile yapılan rat çalışmalarının sonuçlarına göre damak kubbesinin oluşumu sırasında önemli görevleri bulunmaktadır. EGF reseptörleri distorsiyona uğratılmış transgenik farelerin damak strunun kapanmadığı yarık damaklı olarak doğduğu görülmektedir[33].

EGF zerine yapılan çalışmalar, daha çok dermis dokusu üzerinde ve yara iyileşmesine olan etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılmıştır. Topikal olarak EGF uygulamasının yara iyileşmesi üzerine etkilerinin incelendiği araştırmalarda, EGF' nin epitelizasyonu uyardığı, yara iyileşmesinin erken safhalarında dermiş oluşumu üzerine kesin etkisinin olduğu ve kronik yaraların iyileşmesini sağladığı bildirilmiştir[196].

Epidermal dokulara olumlu etkileri kanıtlanmış bu büyüme faktörünün kemik dokusu üzerine etkilerini incelemek için yapılmış az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmaların sonucuna göre; EGF hem osteoblastların diferansiyasyonunu stimüle edip hem de osteoprogenitör hücreleri aktive ederek kemik yapımı üzerine iki yoldan etki etmektedir[176]. EGF' nin fizyolojik konsantrasyonu kemikteki DNA sentezini arttırmaktadır[177].

EGF, hem mezodermal hem de ektodermal kökeni olan keratinosit ve fibroblast gibi hücreler üzerinde proliferatif etkiye sahiptir. EGF granülasyon dokusu, kollagen ve

glikozaminoglikan düzeyini artırır; iyon salınımını, glikolizisi, DNA ve RNA ile protein yapımını artırıcı özellik göstermektedir[35]. Etki ettikleri hücrede 2-50 ng/ml konsantrasyonları, hidroksiprolin içeriğini ve ALP aktivitesini artırarak protein sentezini, Tip I ve Tip III kollagen sentezini uyarmaktadır[38].

Çekim soketine uygulanan EGF'nin, 14. Günde enflamatuar komponenti azalttığı, kollagen fibrillerini arttırdığı ve osteoid oluşumu ile immatür kemik oluşumunu başlattığı görülmüştür [36, 37].

EGF'nin diğer bir önemli etkisi anjiogenezi artırarak iyileşmeden sorumlu hücrelerin bölgeye hücum etmesini kolaylaştırmasıdır. Dejenerasyon bölgesinin bağ doku yerine iyi organize olmuş fibriller ile örülmesini sağlayarak kemik formasyonunu başlatmaktadır. Osteoprogenitör hücrelerin uyarılmasını sağlayan fibronektin ve kemik rejenerasyonunun erken safhalarında kilit rol oynayan tip III kollagenlerin yapımında rol oynayarak matür kemiğin lameller (olgun) kemiğe dönüşmesini hızlandırmaktadır[36].

Transgenik farelerin kranial suturelarının kapanmasını stimüle etmek amaçlı yapılan çalışmada, EGF enjeksiyonu ile periost ve endosteumda osteoblast sayısında artış görülerek suturen kapanması hızlanmaktadır[34].

TGF- β , hemen hemen bütün hücrelerde sentez edilen önemli bir polipeptit olup, hücreyel olayların çoğunu düzenleyen bir büyüme faktörüdür. Trombositlerin alfa granülleri içinde yoğun miktarda bulunur ve hasarlı bölgeye degranülasyonla salınmaktadır. Üretimi otokrin yolla düzenlemektedir[169]. Bununla birlikte, TGF- β 'nın yara iyileşmesi üzerine en önemli etkisi inflamatuvar hücre kemotaksisini uyarması ve ekstraselüler matriks (ECM) sentezini artırmasıdır [183]. Kollagen sentezinin en güçlü uyarıcısı olarak bilinen TGF- β , yara kontraksiyonu ve matriksi organize edebilme özelliği nedeni ile de doku tamiri sonrası yeniden şekillenme fazında görev almaktadır[184].

TGF- β , mineralize kemik matriksinde kilit rol oynamaktadır. Kemik gelişimi ve fraktür kallusunun iyileşmesi sırasında kemik yüzeyindeki matür osteoblastlar tarafından yüksek konsantrasyonlarda salgılanmaktadır[188, 189]. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki TGF- β , kemik metabolizmasında görev alan fibronektin, tip I ve tip III kollagen, osteonektin gibi osteoblast diferansiyasyon markırlarının sayısının artmasını sağlamaktadır[197-199]

Yapılan hayvan çalışmalarının sonuçlarında, TGF- β 'nın lokal enjeksiyonu ile periosteal kemik stimülasyonunun başladığı, kafatası suture defektlerinin ve tibial fraktürlerin iyileştiği gösterilmiştir[200-202].

TGF- β 'nın kemik üzerine etkisi doz bağımlıdır. Alaqeel ve ark [203]'nın yaptığı çalışmada, uygulanan doz 200 ng' ın altında olduğunda etki ettiği sutureda kemik formasyonuna etkisinin azaldığı, 200 ng ve üzeri olduğunda ise sutureal aktiviteyi ve kemik remodelingini arttırdığı görülmüştür. Ratların midpalatal suturena RME sonrası TGF- β enjeksiyonunu takiben yapılan histolojik incelemelerde osteoid doku oluşumunun hızlandığı, osteoblastların sayıca büyük artış gösterdiği ve kemik oluşumu için gereken sürenin önemli ölçüde kısaldığı rapor edilmiştir[11, 203].

Sawada ve Shimizu [11], 25 adet erkek wistar rat üzerinde yaptıkları çalışmada ratların kesici dişlerinden destek alarak yaptıkları genişletmeden 24 saat sonra insan rekombinant TGF- β 'yı midpalatal suture alanına tek doz 200 ng olacak şekilde enjekte etmişler, midpalatal suturedaki kemik formasyon hızında ve miktarında artış olduğunu bildirmişlerdir. Benzer çalışmaların sonuçlarına göre ratların midpalatal suturena lokal olarak uygulanan 200 ng ekzojen TGF- β , kemik formasyonunun hızlanması için yeterli ve uygun doz olarak belirlenmiştir[11, 203].

Bizim çalışmamızda, bu çalışmalar referans alınarak TGF- β grubunda, ratların midpalatal suturena ekspansiyonun 1. gününde 200 ng TGF- β lokal olarak tek doz halinde mikroşırınga kullanılarak enjekte edilmiştir. EGF grubunda, TGF- β ile eş değer dozda 200 ng EGF ve karışım grubunda toplam doz miktarı değiştirilmeden ikiye bölünerek 100 ng EGF+100 ng TGF- β olacak şekilde 200ng büyüme faktörü lokal olarak tek doz halinde ratların midpalatal suturena mikroşırınga kullanılarak enjekte edilmiştir.

5.3. Bulguların Tartışılması

5.3.1. tlarda gözlemsel bulguların tartışılması

Üst kesici dişlere uygulanan apareylerle maksiller genişletme yapılan çalışmalarda üst kesici dişlerde uzama bildirilmiştir[19, 25, 30]. Çalışmamızda kullanılan aparey genel olarak ratlar tarafından iyi tolere edilmiştir. Ancak, yemlerini suyla yumuşatmış olmamıza

rağmen deneyin son günlerine doğru diğer çalışmalarla benzer şekilde ön dişlerde efektif bir şekilde kullanılamamasına bağlı olduğunu düşündüğümüz vertikal yönde uzama görülmüştür.

5.3.2. tlarda ağırlık değişimleri ile ilgili bulguların tartışılması

Southard ve Forbes [143], premaksiller genişletme yaptıkları ratların %75'inde bir miktar kilo kaybı olduğunu, bu kaybın oldukça değişken olduğunu ve premaksillaya uygulanan kuvvetin miktarı ile ilişkili olmadığını belirtmişlerdir.

Uysal ve arkadaşları [22, 24], maksiller kesicilere uyguladıkları aparey ile ratlarda ekspansiyon dönemi boyunca ağırlık kaybı, pekiştirme döneminde tekrar ağırlık artışı olduğunu belirtirken, başka çalışmalarında [23, 26, 27] ratların ağırlıklarında ekspansiyon ve pekiştirme döneminde düşüş görülmediğini belirtmişlerdir.

Sawada ve Shimizu [11], ratlarda aparey uygulamasından 1 gün sonra ortalama kilonun %5 azaldığını rapor etmişlerdir. Benzer şekilde Saito ve Shimizu[15] premaksiller genişletme uygulanan ratlarda ilk günden itibaren kilo kaybı olduğunu, bunun 3 gün boyunca devam ettiğini, daha sonra ise kontrol grubu ile farklılık göstermediğini bildirmişlerdir.

Vardimon ve arkadaşları[137] ile Kanekawa ve Shimizu[146] da deneysel üst çene genişletme uygulamasının hayvanların ağırlıklarında azalmalara yol açtığını rapor etmişlerdir.

Birlik[30] ile Göçtürk[25]'ün ratların üst kesici dişlerine aparey uygulaması ile RME yaptıkları tez çalışmalarında, hayvanların ağırlıklarında ekspansiyon döneminde azalma rapor edilmiştir.

Çalışmanın ilk ve son günü ratların ağırlıklarına ilişkin bulgular Çizelge 4.1, 4.2, 4.3, 4.4'de görülmektedir. Kullanılan ratların başlangıç ağırlıkları gruplar içi ve gruplar arasında istatistiksel olarak birbirinden farksızdır. 14 günlük çalışma dönemi sonunda tüm gruptaki ratlarda kilo artışı gözlenmiştir. Ancak ratların uygulama sonrası ağırlıkları da gruplar içi ve gruplar arasında istatistiksel olarak birbirinden farklı çıkmamıştır (Bkz Çizelge 4.5, Şekil 4.1). Bu durum, mevcut apareyin ve uygulanan büyüme hormonlarının

ratların beslenmesini engellemediğini normal büyüme gelişimlerine devam ettiklerini göstermektedir. Ancak çalışmamızda deney süresince gün gün kilo ölçümü yapılmadığından ratlarda başlangıçta kilo kaybı olup olmadığı değerlendirilememiştir.

5.3.3. Ratlarda maksiller dişler arası mesafe değişimleriyle ilgili bulguların tartışılması

Sawada ve Shimizu[11], Darı[16], Uysal ve arkadaşları[22-24, 26, 27] ratlarda ekspansiyonun dişsel etkilerinin ortalama 1-5. günler arasında görülmeye başladığını söylemişlerdir. Çalışmamızda da araştırmacılarla uyumlu olarak deneyin ilk günlerinde klinik olarak dişler arası mesafede artış görülmüştür.

Çalışmanın ilk ve son gününde, ratların maksiller kesici dişleri arasındaki mesafe dişlerin mezialinde gingival sınırdan 0,1mm'lik kumpas yardımıyla ölçülmüştür. Gingival sınırdan yapılan ölçümler sayesinde dişlerin uzaması ve devrilmesine bağlı oluşacak yanıtıcı sonuçlardan kaçınılmıştır. Çalışmamızda kullanılan ratların başlangıç kesici dişleri arası mesafeleri birbiriyle yaklaşık aynı ölçümlere sahip ve istatistiksel olarak birbirinden farksızdır (Bkz Çizelge 4.6, 4.7, 4.8, 4.9). 14 günlük çalışma dönemi sonunda kesici dişler arası mesafedeki fark, gruplar içinde ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken uygulama öncesi ve sonrasında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Bkz Çizelge 4.10, Şekil 4.2).

5.3.4. jik bulguların tartışılması

Çalışmamızın histolojik analizinde aktif osteoblast, osteoklast ve yeni damar oluşum (neovaskülarizasyon) miktarı sayısal verilerle değerlendirilmiştir.

Aktif osteoblast sayılarına bakıldığında, sayıca en fazla olan T Grubu (64)'dur. Bunu sırasıyla E+T Grubu (54), E Grubu (40) ve K Grubu (19) takip etmektedir (Bkz Çizelge 4.12, Şekil 4.3).

Osteoklast sayısına bakıldığında, sayıca en fazla olan T Grubu (3)'dur. Bunu sırasıyla değerleri eşit olmakla birlikte E+T Grubu (2) ve E Grubu (2) takip ederken son sırayı K Grubu (1) almaktadır (Bkz Çizelge 4.13, Şekil 4.4).

Yeni damar oluşum (neovaskularizasyon) miktarı değerlendirildiğinde, sayıca en fazla olan T Grubu (31)'dur. Bunu sırasıyla E+T Grubu (20), E Grubu (17) ve K Grubu (13) takip etmektedir (Bkz izelge 4.14, şekil 4.5).

Osteoblastik, osteoklastik aktivitenin artması ve neovaskularizasyon, bölgede kemik oluşumunun aktive olduğu anlamına gelmektedir. Sürekli yapım yıkım olaylarıyla beraber kemik turn-over mekanizması hız kazanmakta, ayrılan sütür bölgesi yeni kemikle dolmaktadır.

EGF hem osteoblastların diferansiyasyonunu stimüle edip hem de osteoprogenitör hücreleri aktive ederek kemik yapımı üzerine iki yoldan etki etmektedir[176].

ekim soketine uygulanan EGF'nin, 14. Günde enflamatuar komponenti azalttığı, kollagen fibrillerini arttırdığı ve osteoid oluşumu ile immatür kemik oluşumunu başlattığı görülmüştür [36, 37]. Transgenik farelerin kranial strlarının kapanmasını stimüle etmek amaçlı yapılan çalışmada, EGF enjeksiyonu ile periost ve endosteumda osteoblast sayısında artış görülmektedir[34].

EGF'nin diğer bir önemli etkisi damarlanmayı arttırarak iyileşmeden sorumlu hücrelerin bölgeye hücum etmesini kolaylaştırmasıdır. Bu sayede, dejenerasyon bölgesinin bağ doku yerine iyi organize olmuş fibriller ile örülmesini sağlayarak kemik formasyonunu başlatmaktadır[36].

Yapılan bu çalışmalara benzer şekilde bizim çalışmamızda, 200 ng tek doz EGF enjekte edilen grupta, kontrol grubuna göre osteoblastik, osteoklastik aktivitede ve yeni damar oluşum (neovaskularizasyon) miktarında belirgin artış olduğu gözlenmiştir (Bkz izelge 4.11a).

TGF-β, mineralize kemik matriksinde kilit rol oynayan büyüme faktörüdür. Kemik gelişimi ve fraktür kallusunun iyileşmesi sırasında kemik yüzeyindeki matür osteoblastlar tarafından yüksek konsantrasyonlarda salgılanmaktadır[188, 189]. Yapılan hayvan çalışmalarının sonuçlarında, TGF-β'nın lokal enjeksiyonu ile periosteal kemik stimülasyonunun başladığı, kafatası sütür defektlerinin ve tibial fraktürlerin iyileştiği gösterilmiştir[200-202].

Ratların midpalatal suturena RME sonrası TGF- β enjeksiyonundan sonra yapılan histolojik incelemelerde osteoid doku oluşumunun hızlandığı, osteoblastların sayıca büyük artış gösterdiği ve kemik oluşumu için gereken sürenin önemli ölçüde kısaldığı rapor edilmiştir[11, 203].

Yapılan bu çalışmaların sonuçlarına benzer şekilde bizim çalışmamızda, osteoblastik, osteoklastik aktivitenin ve neovaskularizasyonun en çok artış gösterdiği grup RME uygulaması sonrası 1. günde tek doz halinde lokal olarak 200 ng TGF- β enjekte edilen gruptur (Bkz Çizelge 4.11a,4.11b).

100 ng EGF+100 ng TGF- β olacak şekilde total doz değişmeden enjekte edilen karışım grubu ise, kontrol grubuna ve tek doz 200 ng EGF enjekte edilen gruba göre osteoblastik, osteoklastik aktivitede ve neovaskularizasyonda belirgin artış sağlamıştır (Bkz Çizelge 4.11a, 4.11b).

TGF- β ile karışım halinde kullanılması, EGF' in kemik turn-over mekanizmasına olan olumlu etkilerinin daha da fazla artış göstermesini sağlamıştır.

5.3.5. morfolometrik bulguların tartışılması

Histomorfometrik değerlendirme, in vivo olarak kemik remodelinginin sayısal değerlendirmesinde oldukça sık kullanılan güvenilir bir yöntemdir[204].

Çalışmamızın histomorfometrik analizinde yeni kemik alanı ve yeni kemiğin total kemiğe oranı yüzdesel olarak değerlendirilmiştir.

Yeni kemik alan ölçümleri değerlendirildiğinde, RME sonrası 14 günlük deney süresi sonunda en fazla yeni kemik alanı 725471 μm^2 toplam alan ile T Grubu'na aittir. Bunu sırasıyla E+T Grubu (553741 μm^2), E Grubu (391053 μm^2) ve K Grubu (248680 μm^2) takip etmektedir (Bkz Çizelge 4.15, Şekil 4.6).

Yeni kemiğin total kemiğe olan oransal yüzdesi değerlendirildiğinde, yeni kemik alan ölçüm sonuçlarına paralel olarak en fazla yüzdeye sahip olan T Grubu (%77)'dur. Bunu sırasıyla E+T Grubu (%59), E Grubu (%42) ve K Grubu (%27) takip etmektedir (Bkz Çizelge 4.16, Şekil 4.7).

Çalışmamızda, RME uygulaması sonrası 1. günde tek doz halinde lokal olarak enjekte edilen 200 ng TGF- β , yapılan diğer çalışmalarla[11, 203] uyumlu olarak yeni kemik formasyonunu en çok arttıran büyüme faktörü olmuştur. Aynı dozda aynı yöntem ve aynı günde enjekte edilen EGF, daha önce bu konuda yapılan hayvan çalışmaları[36, 37]yla benzer şekilde, yeni kemik formasyonunu, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı miktarda arttırmıştır (Bkz Çizelge 4.15, Şekil 4.6). Ancak; 100 ng EGF+100 ng TGF- β olacak şekilde total doz değişmeden enjekte edilen 200 ng karışım grubu, yeni kemik formasyonunu, tek başına EGF enjekte edilen gruptan daha fazla arttırmıştır. Tüm gruplar değerlendirildiğinde, TGF- β 'nın yeni kemik oluşumuna etkisinin istatistiksel olarak EGF'den daha fazla olduğu görülmektedir (Bkz Çizelge 4.15, Şekil 4.6).

Histomorfometrik analiz sonuçları histolojik analiz sonuçlarıyla uyumlu olarak, EGF uygulamasının, kontrol grubuna göre kemik turn-over mekanizmasını önemli ölçüde arttırdığını, yeni kemik oluşumuna etkisinin fazla olduğunu göstermiştir. Ancak; TGF- β ile kıyaslandığında EGF'in bu etkilerinin daha az olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

RME sonrası 1.günde ratların premaksiller bölgesine lokal olarak tek doz enjekte edilen EGF, TGF- β ve EGF + TGF- β karışımının maksiller süturda kemik oluşumuna etkilerinin incelendiği bu çalışmada bulguların değerlendirilmesi ile şu sonuçlar elde edilmiştir:

1. Histolojik olarak yapılan incelemelerde aparey takılan tüm ratlarda maksiller süturun ekspansiyonu başarıyla sağlanmıştır.
2. Ağırlık ölçümlerinde tüm gruplarda uygulama sonunda uygulama başına göre artış tespit edilmiştir.
3. Maksiller kesici dişler arası mesafe ölçümlerinde tüm gruplarda uygulama sonunda uygulama başına göre artış tespit edilmiştir.
4. EGF uygulanması, kontrol grubuna göre osteoblast, osteoklast ve yeni damar oluşum miktarında artış sağlamıştır.
5. Total doz değişmeyecek şekilde EGF ve TGF- β 'nın karışım halinde uygulanması, EGF ve kontrol grubuna göre osteoblast, osteoklast ve yeni damar oluşum miktarında artış sağlamıştır.
6. TGF- β uygulanması tüm gruplara göre osteoblast, osteoklast ve yeni damar oluşum miktarında en fazla artışı sağlamıştır.
7. EGF uygulanması, kontrol grubuna göre yeni kemik alanı ve yeni kemiğin total kemiğe olan oranlarında artış sağlamıştır.
8. Total doz değişmeyecek şekilde EGF ve TGF- β 'nın karışım halinde uygulanması, EGF ve kontrol grubuna göre yeni kemik alanı ve yeni kemiğin total kemiğe olan oranlarında artış sağlamıştır.
9. TGF- β uygulanması tüm gruplara göre yeni kemik alanı ve yeni kemiğin total kemiğe olan oranlarında en fazla artışı sağlamıştır.

Neticede, histolojik ve histomorfometrik analiz sonuçlarına göre, RME sonrası rat midpalatal süturuna uygulanan EGF süturda kemik oluşumunu hızlandırmıştır. Total doz değişmeyecek şekilde uygulanan EGF ve TGF- β karışımının süturdaki kemik oluşumuna etkisinin EGF'nin tek başına etkisinden daha fazla olduğu ancak; tüm gruplar içinde en fazla etkiyi TGF- β 'nın gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır.

Çalışmamız esnasında gözlemlediğimiz klinik deneyimler ve çalışmamızın sonuçları göz önünde bulundurulduğunda çalışmamızla ilgili önerileri şu şekilde sıralayabiliriz:

- 1- Ratların ağız açıklığı sınırlı ve ağızları küçük olması nedeniyle RME uygulamaları için seçilen apareyin posteror bölge yerine anterior bölgede uygulanması daha avantajlı olabilir.
- 2- Ratlar kemirgen hayvanlar olduğundan üst ön dişlerine uygulanan aparey, mutlaka mekanik olarak dişlerine tutturulacak şekilde planlanmalıdır.
- 3- Çalışmamızda, ratlarda uygulanan RME sonrası süturda meydana gelen açılma histolojik örnekler incelenerek değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmenin radyografik yada tomografik yöntemlerle yapılması daha objektif sonuçlar elde edilmesini sağlayabilir.
- 4- Çalışmamızda, büyüme faktörlerinin kemik oluşumu üzerine etkileri histolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir. Bu analizlerin, tomografik ve immünohistokimyasal değerlendirmelerle desteklenmesi daha objektif sonuçlar elde edilmesini sağlayabilir.
- 5- EGF'nin dermal dokular üzerine iyileştirici etkisi kanıtlanmıştır ancak kemik dokusu üzerine etkileri hala araştırılmaktadır. Çalışmamız, EGF' nin RME üzerine etkilerini araştıran ve daha önce bu konuda etkinliği bilinen TGF- β ile bu etkileri karşılaştıran literatürdeki ilk araştırma olma özelliğini taşımaktadır. Büyüme faktörü uygulamaları ile kemik oluşumu üzerine elde ettiğimiz olumlu sonuçlar, yapılacak daha kapsamlı çalışmalara referans olabilir.

KAYNAKLAR

1. Bishara, S. E. (2001). *Textbook of Orthodontics*. USA, W.B Saunders Company. 122-124.
2. Mcnamara, J. A. (2000). Maxillary transverse deficiency. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 117(5), 567-570.
3. Pinto, A. S., Buschang, P. H., Throckmorton, G. S. and Chen, P. (2001). Morphological and positional asymmetries of young children with functional unilateral posterior crossbite. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 120(5), 513-520.
4. Bays, R. A. and Greco, J. M. (1992). Surgically assisted rapid palatal expansion: an outpatient technique with long-term stability. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 50(2), 110-113.
5. Ozbek, M. M., Memikoglu, T. U., Gogen, H., Lowe, A. A. and Baspinar, E. (1998). Oropharyngeal airway dimensions and functional-orthopedic treatment in skeletal Class II cases. *The Angle Orthodontist*, 68(4), 327-336.
6. Bishara, S. E. and Staley, R. N. (1987). Maxillary expansion: clinical implications. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 91(1), 3-14.
7. Ekstrom, C., Henrikson, C. O. and Jensen, R. (1977). Mineralization in the midpalatal suture after orthodontic expansion. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 71(4), 449-455.
8. Jacobs, J. D., Bell, W. H., Williams, C. E. and Kennedy, J. W., (1980). Control of the transverse dimension with surgery and orthodontics. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 77(3), 284-306.
9. Da Silva F., Da Silva H., Bertoz F. (2006). Post expansion evaluation of the midpalatal suture in children submitted to rapid palatal expansion: a CT study. *The Journal of clinical pediatric dentistry*, 31(2), 142-148.
10. Mew, J. (1983). Relapse following maxillary expansion. A study of twenty-five consecutive cases. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 83(1), 56-61.
11. Sawada, M. and Shimizu, N. (1996). Stimulation of bone formation in the expanding mid-palatal suture by transforming growth factor-beta 1 in the rat. *European Journal of Orthodontics*, 18(2), 169-179.
12. Chang, H. N., Garetto, L. P., Katona, T. R., Potter, R. H. and Roberts, W. E. (1996). Angiogenic induction and cell migration in an orthopaedically expanded maxillary suture in the rat. *Archives of Oral Biology*, 41(10), 985-994.
13. Zhong, W. J., Zhang, W. B., Ma, J. Q., Wang, H., Pan, Y. C. and Wang, L. (2011). Periostin-like-factor-induced bone formation within orthopedic maxillary expansion. *Orthodontics and Craniofacial Research*, 14(4), 198-205.

14. Jiang, Y., Liu, H. X., Guo, J. J., Tang, G. H. and Qian, Y. F. (2013). Stimulation of bone formation in the expanding premaxillary suture with a GSK-3beta inhibitor. *Oral Diseases*, 19(1), 73-79.
15. Saito, S. and Shimizu, N. (1997). Stimulatory effects of low-power laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in the rat. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 111(5), 525-532.
16. Darı, O. (2002) Sıçanlarda midpalatal ekspansiyon uygulamasında düşük doz laser etkilerinin incelenmesi. Doktora tezi. Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır. 26-29.
17. Lee, K., Sugiyama, H., Imoto, S. and Tanne, K. (2001). Effects of bisphosphonate on the remodeling of rat sagittal suture after rapid expansion. *The Angle Orthodontist*, 71(4), 265-273.
18. Erdem, A., Kiki, A. (2006). Tavşanlarda üst çene genişletmesi sonrası kalsitonin uygulamasının remodeling üzerine etkisinin histolojik olarak incelenmesi. *Atatürk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, 16(3), 7-13.
19. Öztürk, F. (2008) Zoledronik asit uygulamasının hızlı genişletme sonrasında rat sagittal suturundaki kemik oluşumuna ve relaps üzerine etkisinin incelenmesi. Doktora tezi. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas. 56-61.
20. Altan, B. A., Kara, I. M., Nalcaci, R., Ozan, F., Erdogan, S. M., Ozkut, M. M. and Inan, S. (2013). Systemic propolis stimulates new bone formation at the expanded suture: a histomorphometric study. *The Angle Orthodontist*, 83(2), 286-291.
21. Kara, M. I., Erciyas, K., Altan, A. B., Ozkut, M., Ay, S. and Inan, S. (2012). Thymoquinone accelerates new bone formation in the rapid maxillary expansion procedure. *Archives of Oral Biology*, 57(4), 357-363.
22. Uysal, T., Ustdal, A., Sonmez, M. F. and Ozturk, F. (2009). Stimulation of bone formation by dietary boron in an orthopedically expanded suture in rabbits. *The Angle Orthodontist*, 79(5), 984-990.
23. Uysal, T., Amasyali, M., Olmez, H., Enhos, S., Karslioglu, Y. and Gunhan, O. (2011). Effect of vitamin C on bone formation in the expanded inter-premaxillary suture. Early bone changes. *Journal of Orofacial Orthopedics*, 72(4), 290-300.
24. Uysal, T., Amasyali, M., Enhos, S., Sonmez, M. F. and Sagdic, D. (2009). Effect of ED-71, a New Active Vitamin D Analog, on Bone Formation in an Orthopedically Expanded Suture in Rats. A Histomorphometric Study. *European Journal of Dentistry*, 3(3), 165-172.
25. Göçtürk, C. (2013). Ratlarda üst çene genişletmesi sonrası teriparatid, kalsiyum ve d vitamini uygulamalarının sutureda yeni kemik yapımı üzerine etkilerinin histolojik ve histomorfometrik olarak incelenmesi. Doktora tezi. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas. 65-72.

26. Uysal, T., Amasyali, M., Enhos, S., Karslioglu, Y., Yilmaz, F. and Gunhan, O. (2010). Effect of periosteal stimulation therapy on bone formation in orthopedically expanded suture in rats. *Orthodontics and Craniofacial Research*, 13(2), 89-95.
27. Uysal, T., Gorgulu, S., Yagci, A., Karslioglu, Y., Gunhan, O. and Sagdic, D. (2011). Effect of resveratrol on bone formation in the expanded inter-premaxillary suture: early bone changes. *Orthodontics and Craniofacial Research*, 14(2), 80-87.
28. Halicioglu, K., Corekci, B., Akkas, I., Irgin, C., Ozan, F., Yilmaz, F. and Turker, A. (2015). Effect of St John's wort on bone formation in the orthopaedically expanded premaxillary suture in rats: a histological study. *European Journal of Orthodontics*, 37(2), 164-169.
29. Buyuk, S. K., Ramoglu, S. I. and Sonmez, M. F. (2015). The effect of different concentrations of topical ozone administration on bone formation in orthopedically expanded suture in rats. *European Journal of Orthodontics*. cjv045.
30. Birlik, M. (2013). Östrojen Ve Testosteron Hormon Uygulamasının Hızlı Üst Çene Genişletmesi Sırasında Rat Midpalatal Suturendaki Kemik Oluşumu Üzerine Etkisinin İncelenmesi. Doktora tezi. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas. 36-40.
31. Ekizer, A., Yalvac, M. E., Uysal, T., Sonmez, M. F. and Sahin, F. (2015). Bone marrow mesenchymal stem cells enhance bone formation in orthodontically expanded maxillae in rats. *The Angle Orthodontist*, 85(3), 394-399.
32. Brown, G. L., Nanney, L. B., Griffen, J., Cramer, A. B., Yancey, J. M., Curtsinger, L. J., 3rd, Holtzin, L., Schultz, G. S., Jurkiewicz, M. J. and Lynch, J. B. (1989). Enhancement of wound healing by topical treatment with epidermal growth factor. *The New England Journal of Medicine*, 321(2), 76-79.
33. Miettinen, P. J., Chin, J. R., Shum, L., Slavkin, H. C., Shuler, C. F., Derynck, R. and Werb, Z. (1999). Epidermal growth factor receptor function is necessary for normal craniofacial development and palate closure. *Nature Genetics*, 22(1), 69-73.
34. Rawlins, J. T., Fernandez, C. R., Cozby, M. E. and Opperman, L. A. (2008). Timing of Egf treatment differentially affects Tgf-beta2 induced cranial suture closure. *Experimental Biology and Medicine*, 233(12), 1518-1526.
35. Steed, D. L. (1998). Modifying the wound healing response with exogenous growth factors. *Clinics in Plastic Surgery*, 25(3), 397-405.
36. Marquez, L., De Abreu, F. A., Ferreira, C. L., Alves, G. D., Miziara, M. N. and Alves, J. B. (2013). Enhanced bone healing of rat tooth sockets after administration of epidermal growth factor (EGF) carried by liposome. *Injury*, 44(4), 558-564.
37. Yeler, H., Yücetaş, Ş., Yılmaz, D., Öztürk, M., Arıcı, S. (1999). Epidermal Büyüme Faktörünün Diş Çekim Yarası İyileşmesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi. *Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, 2(1), 1-4.

38. Kumegawa, M., Hiramatsu, M., Hatakeyama, K., Yajima, T., Kodama, H., Osaki, T. and Kurisu, K. (1983). Effects of epidermal growth factor on osteoblastic cells in vitro. *Calcified Tissue International*, 35(4-5), 542-548.
39. Timms, D. (1981). *Rapid maxillary expansion*. Chicago, Illinois. Quintessence Publishing Co. Inc. 201-205.
40. Ahlin, J. H., White, G. E., Tsamtsouris, A. and Saadia M. (1984). *Maxillofacial orthopedics: a clinical approach for the growing child*. Chicago, Quintessence Publishing Company. 300-325.
41. Bourdet, B. (1757). *Recherches et observations sur toutes les parties de l'art du dentiste*. Paris, Avec Atrabation. 52-55.
42. Hunter, J. (1803). *Natural History of the Human Teeth*. London. 225-231
43. Delabarre, C. F. (1819). *Traité de la Seconde Dentition*. Paris. 312-318
44. Allen, W. H. (1850). *Cases of Irregular Teeth*. *Dent Rec*. London, Quintessence Publishing Company. 120-135.
45. Allen, W. H. (1859). *Case of Irregularity*. *Dent Cosmos*, London, Quintessence Publishing Company. 160-68.
46. Brodie, A. G., Downs, W. B., Goldstein, A., Myer, E. (1938). Cephalometric appraisal of orthodontic results. *The Angle Orthodontist*, 8(4), 261-265.
47. Thorne, N., Hugo, A. (1960). Expansion of maxilla. Spreading the midpalatal suture; measuring the widening of the apical base and the nasal cavity on serial roentgenograms. *American Journal of Orthodontics and Oral Surgery*, 46(8), 626.
48. Ricketts, R. (1960). The Influence Of Orthodontic Treatment On Facial Growth And Development. *The Angle Orthodontist*, 30(3), 103-133.
49. Haas, A. J. (1961). Rapid expansion of the maxillary dental arch and nasal cavity by opening the midpalatal suture. *The Angle Orthodontist*, 94(2), 278-284.
50. Haas, A. J. (1965). The Treatment of Maxillary Deficiency by Opening the Midpalatal Suture. *The Angle Orthodontist*, 35(3), 200-217.
51. Haas, A. J. (1970). Palatal expansion: just the beginning of dentofacial orthopedics. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 57(3), 219-255.
52. Haas, A. J. (1980). Long-term posttreatment evaluation of rapid palatal expansion. *The Angle Orthodontist*, 50(3), 189-217.
53. Isaacson, R. J. and Ingram, A. H. (1964). Forces produced by rapid maxillary expansion. II. Forces present during treatment. *The Angle Orthodontist*, 35(3), 261-270.
54. Cleall, J. F., Bayne, D. I., Posen, J. M. and Subtelny, J. D. (1965). Expansion of the Midpalatal Suture in the Monkey. *The Angle Orthodontist*, 35(1), 23-35.

55. Biederman, W. (1968). A hygienic appliance for rapid expansion. *Journal of Practical Orthodontics*, 2(2), 67-70.
56. Cohen, M. and Silverman, E. (1973). A new and simple palate splitting device. *Journal of Clinical Orthodontics*, 7(6), 368-369.
57. Cotton, L. A. (1978). Slow maxillary expansion: skeletal versus dental response to low magnitude force in *Macaca mulatta*. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 73(1), 1-23.
58. Hicks, E. P. (1978). Slow maxillary expansion. A clinical study of the skeletal versus dental response to low-magnitude force. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 73(2), 121-141.
59. Harberson, V. A. and Myers, D. R. (1978). Midpalatal suture opening during functional posterior cross-bite correction. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 74(3), 310-313.
60. Subtenly, J. (1980). Oral respiration: facial maldevelopment and corrective. *The Angle Orthodontist*, 50(3), 147-164.
61. Howe, R. P. (1982). Palatal expansion using a bonded appliance. Report of a case. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 82(6), 464-468.
62. Spolyar, J. L. (1984). The design, fabrication, and use of a full-coverage bonded rapid maxillary expansion appliance. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 86(2), 136-145.
63. Vardimon, A. D., Graber, T. M. and Voss, L. R. (1989). Stability of magnetic versus mechanical palatal expansion. *European Journal of Orthodontics*, 11(2), 107-115.
64. Arndt, W. V. (1993). Nickel titanium palatal expander. *Journal of Clinical Orthodontics*, 27(3), 129-137.
65. Darendeliler, M. A., Strahm, C. and Joho, J. P. (1994). Light maxillary expansion forces with the magnetic expansion device. A preliminary investigation. *European Journal of Orthodontics*, 16(6), 479-490.
66. Darendeliler, M. A. and Lorenzon, C. (1996). Maxillary expander using light, continuous force and autoblocking. *Journal of Clinical Orthodontics*, 30(4), 212-216.
67. Memikoglu, T. U. and Iseri, H. (1997). Nonextraction treatment with a rigid acrylic, bonded rapid maxillary expander. *Journal of Clinical Orthodontics*, 31(2), 113-118.
68. Memikoglu, T. U. and Iseri, H. (1999). Effects of a bonded rapid maxillary expansion appliance during orthodontic treatment. *The Angle Orthodontist*, 69(3), 251-256.
69. Toroglu, M. S., Uzel, E., Kayalioglu, M. and Uzel, I. (2002). Asymmetric maxillary expansion (AMEX) appliance for treatment of true unilateral posterior crossbite. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 122(2), 164-173.

70. Lamparski, D. G., Jr., Rinchuse, D. J., Close, J. M. and Sciote, J. J. (2003). Comparison of skeletal and dental changes between 2-point and 4-point rapid palatal expanders. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 123(3), 321-328.
71. Wichelhaus, A., Geserick, M. and Ball, J. (2004). A new nickel titanium rapid maxillary expansion screw. *Journal of Clinical Orthodontics*, 38(12), 677-680.
72. Bishara, S. E. and Staley, R. N. (1987). Maxillary Expansion - Clinical Implications. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 91(1), 3-14.
73. Moss, J. P. (1968). Rapid expansion of the maxillary arch. II. Indications for rapid expansion. *Journal of Practical Orthodontics*, 2(5), 215-223.
74. Kutin, G. and Hawes, R. R. (1969). Posterior cross-bites in the deciduous and mixed dentitions. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 56(5), 491-504.
75. Mitchell, L. (1998). *An introduction to orthodontics*. United States, Oxford University Press. 126-132.
76. Thilander, B., Wahlund, S. and Lennartsson, B. (1984). The effect of early interceptive treatment in children with posterior cross-bite. *European Journal of Orthodontics*, 6(1), 25-34.
77. Ogaard, B., Larsson, E. and Lindsten, R. (1994). The effect of sucking habits, cohort, sex, intercanine arch widths, and breast or bottle feeding on posterior crossbite in Norwegian and Swedish 3-year-old children. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 106(2), 161-166.
78. Larsson, E. (2001). Sucking, chewing, and feeding habits and the development of crossbite: a longitudinal study of girls from birth to 3 years of age. *The Angle Orthodontist*, 71(2), 116-119.
79. Linder-Aronson, S. and Lindgren, J. (1979). The skeletal and dental effects of rapid maxillary expansion. *British Journal of Orthodontics*, 6(1), 25-29.
80. Brogan, W. F. (1977). The stability of maxillary expansion. *Australian Dental Journal*, 22(2), 92-99.
81. Ülgen, M. (2000). *Anomaliler, sefalometri, etioloji, büyüme ve gelişim, tanı*. İstanbul, Yeditepe Üniversitesi Yayınları. 33-38.
82. Oulis, C. J., Vadiakas, G. P., Ekonomides, J. and Dratsa, J. (1994). The effect of hypertrophic adenoids and tonsils on the development of posterior crossbite and oral habits. *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 18(3), 197-201.
83. Harvold, E. P., Chierici, G. and Vargervik, K. (1972). Experiments on the development of dental malocclusions. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 61(1), 38-44.

84. Behlfelt, K., Linder-Aronson, S., Mcwilliam, J., Neander, P. and Laage-Hellman, J. (1989). Dentition in children with enlarged tonsils compared to control children. *European Journal of Orthodontics*, 11(4), 416-429.
85. Marshall S., Southard T. (2005). Early transverse treatment. *Seminars in Orthodontics*, 11(3), 130-139.
86. Re, M. (1980). *Handbook of Orthodontics*. USA, Medical Publishers Inc. 231-236.
87. Chaconas, S. J. and Caputo, A. A. (1982). Observation of orthopedic force distribution produced by maxillary orthodontic appliances. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 82(6), 492-501.
88. Proffit, W. R., Fields H. W. (1993). *Contemporary Orthodontics*. USA, Mosby-Year book Inc.139-264.
89. Mcdonald R. E., Avery, A. D. (1994). *Dentistry for the child and adolescent*. USA, Mosby-Year book Inc.750-754.
90. Ülgen, M. (2000). *Ortodontik anomaliler, sefalometri, etiyoloji, büyüme ve gelişim, tanı*. İstanbul, Yeditepe Üniversitesi Yayınları. 66-71.
91. Ingervall, B. and Thilander, B. (1975). Activity of temporal and masseter muscles in children with a lateral forced bite. *The Angle Orthodontist*, 45(4), 249-258
92. Nerder, B. M., Solow B. (1999). The functional shift of the mandible in unilateral posterior crossbite and the adaptation of the temporomandibular joints: a pilot study. *European Journal of Orthodontics*. , 21(2), 155-166.
93. Bell, R. A. (1982). A review of maxillary expansion in relation to rate of expansion and patient's age. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 81(1), 32-37.
94. Infante, P. F. (1975). Malocclusion in the deciduous dentition in white, black, and Apache indian children. *The Angle Orthodontist*, 45(3), 213-218.
95. Kurol, J. and Berglund, L. (1992). Longitudinal study and cost-benefit analysis of the effect of early treatment of posterior cross-bites in the primary dentition. *European Journal of Orthodontics*, 14(3), 173-179.
96. Kerosuo, H., Laine, T., Nyysönen, V. and Honkala, E. (1991). Occlusal characteristics in groups of Tanzanian and Finnish urban schoolchildren. *The Angle Orthodontist*, 61(1), 49-56.
97. Brunelle, J. A., Bhat, M. and Lipton, J. A. (1996). Prevalence and distribution of selected occlusal characteristics in the US population, 1988-1991. *Journal of Dental Research*, 75(2), 706-713.
98. Sandikcioglu, M. and Hazar, S. (1997). Skeletal and dental changes after maxillary expansion in the mixed dentition. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 111(3), 321-327.

99. Başçiftçi, F. A., Demir, A., Uysal, T. and Sarı, Z. (2002). Prevalance of orthodontic malocclusions in Konya region school children. *Türk Ortodonti Dergisi*, 15(2), 92-98.
100. Uysal, T., Sari, Z., Basciftci, F. A. and Memili, B. (2005). Intermaxillary tooth size discrepancy and malocclusion: is there a relation? *The Angle Orthodontist*, 75(2), 208-213.
101. Wertz, R. A. (1970). Skeletal and dental changes accompanying rapid midpalatal suture opening. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 58(1), 41-66.
102. Barber, A. F. and Sims, M. R. (1981). Rapid maxillary expansion and external root resorption in man: a scanning electron microscope study. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 79(6), 630-652.
103. Langford, S. R. (1982). Root resorption extremes resulting from clinical RME. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 81(5), 371-377.
104. Langford, S. R. and Sims, M. R. (1982). Root surface resorption, repair, and periodontal attachment following rapid maxillary expansion in man. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 81(2), 108-115.
105. Timms, D. J. and Moss, J. P. (1971). An histological investigation into the effects of rapid maxillary expansion on the teeth and their supporting tissues. *Trans European Orthodontic Society*, 263-271.
106. Vardimon, A. D., Graber, T. M., Voss, L. R. and Lenke, J. (1991). Determinants controlling iatrogenic external root resorption and repair during and after palatal expansion. *The Angle Orthodontist*, 61(2), 113-122; discussion 123-114.
107. Zimring, J. F. and Isaacson, R. J. (1965). Forces Produced by Rapid Maxillary Expansion. 3. Forces Present during Retention. *The Angle Orthodontist*, 35, 178-186.
108. Chaconas, S. J. and De Alba Y Levy, J. A. (1977). Orthopedic and orthodontic applications of the quad-helix appliance. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 72(4), 422-428.
109. Bell, R. A. and Lecompte, E. J. (1981). The effects of maxillary expansion using a quad-helix appliance during the deciduous and mixed dentitions. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 79(2), 152-161.
110. Muguerza, O. E. and Shapiro, P. A. (1980). Palatal mucoperiostomy: an attempt to reduce relapse after slow maxillary expansion. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 78(5), 548-558.
111. Mossaz-Joelson, K. and Mossaz, C. F. (1989). Slow maxillary expansion: a comparison between banded and bonded appliances. *European Journal of Orthodontics*, 11(1), 67-76.

112. Ciambotti, C., Ngan, P., Durkee, M., Kohli, K. and Kim, H. (2001). A comparison of dental and dentoalveolar changes between rapid palatal expansion and nickel-titanium palatal expansion appliances. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 119(1), 11-20.
113. Lagravere, M. O., Major, P. W. and Flores-Mir, C. (2005). Skeletal and dental changes with fixed slow maxillary expansion treatment: a systematic review. *The Journal of the American Dental Association*, 136(2), 194-199.
114. Storey, E. (1973). Tissue response to the movement of bones. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 64(3), 229-247.
115. Doruk, C., Bicakci, A. A., Basciftci, F. A., Agar, U. and Babacan, H. (2004). A comparison of the effects of rapid maxillary expansion and fan-type rapid maxillary expansion on dentofacial structures. *The Angle Orthodontist*, 74(2), 184-194.
116. Levrini, L. and Filippi, V. (1999). A fan-shaped maxillary expander. *Journal of Clinical Orthodontics*, 33(11), 642-643.
117. Sokucu, O., Doruk, C. and Uysal, O. I. (2010). Comparison of the effects of RME and fan-type RME on nasal airway by using acoustic rhinometry. *The Angle Orthodontist*, 80(5), 870-875.
118. Majourau, A. and Nanda, R. (1994). Biomechanical basis of vertical dimension control during rapid palatal expansion therapy. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 106(3), 322-328.
119. Davis, W. M. and Kronman, J. H. (1969). Anatomical changes induced by splitting of the midpalatal suture. *The Angle Orthodontist*, 39(2), 126-132.
120. Walters, R. D. (1975). Facial changes in the *Macaca mulatta* monkey by orthopedic opening of the midpalatal suture. *The Angle Orthodontist*, 45(3), 169-179.
121. Lima, A. C., Lima, A. L., Filho, R. M. and Oyen, O. J. (2004). Spontaneous mandibular arch response after rapid palatal expansion: a long-term study on Class I malocclusion. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 126(5), 576-582.
122. Gardner, G. E. and Kronman, J. H. (1971). Cranioskeletal displacements caused by rapid palatal expansion in the rhesus monkey. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 59(2), 146-155.
123. Brossman, R. E., Bennett, C. G. and Merow, W. W. (1973). Facioskeletal remodelling resulting from rapid palatal expansion in the monkey (*Macaca cynomolgus*). *Archives of Oral Biology*, 18(8), 987-994.
124. Arat, Z. M., Gokalp, H., Atasever, T. and Turkkahraman, H. (2003). ^{99m}Techneium-labeled methylene diphosphonate uptake in maxillary bone during and after rapid maxillary expansion. *The Angle Orthodontist*, 73(5), 545-549.
125. Bıçakçı, A. (2006). Rapid Maksiller Ekspansiyonun Midpalatal Sütür Bölgesindeki Kan Akımına Etkisi. *Türk Ortodonti Dergisi*, 19(1), 3-9.

126. Jafari, A., Shetty, K. S. and Kumar, M. (2003). Study of stress distribution and displacement of various craniofacial structures following application of transverse orthopedic forces a three dimensional FEM study. *The Angle Orthodontist*, 73(1), 12-20.
127. Iseri, H., Tekkaya, A. E., Oztan, O. and Bilgic, S. (1998). Biomechanical effects of rapid maxillary expansion on the craniofacial skeleton, studied by the finite element method. *European Journal of Orthodontics*, 20(4), 347-356.
128. Adkins, M. D., Nanda, R. S. and Currier, G. F. (1990). Arch perimeter changes on rapid palatal expansion. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 97(3), 194-199.
129. Garrett, B. J., Caruso, J. M., Rungcharassaeng, K., Farrage, J. R., Kim, J. S. and Taylor, G. D. (2008). Skeletal effects to the maxilla after rapid maxillary expansion assessed with cone-beam computed tomography. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 134(1), 8-9.
130. Gianelly, A. A. (2003). Rapid palatal expansion in the absence of crossbites: added value? *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 124(4), 362-365.
131. Dewey, M. (1914). Bone development as a result of mechanical forces: Report on further treatment in attempting the opening of the intermaxillary suture in animals. *Dental Items of Interest*, 36(6), 420-432.
132. Murray, J. M. and Cleall, J. F. (1971). Early tissue response to rapid maxillary expansion in the midpalatal suture of the rhesus monkey. *Journal of Dental Research*, 50(6), 1654-1660.
133. Guyman, G. W., Kokich, V. G. and Oswald, R. J. (1980). Ankylosed teeth as abutments for palatal expansion in the rhesus monkey. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 77(5), 486-499.
134. Vardimon, A. D., Levy, T. and Weinreb, M. (2005). Maxillary incisor root resorption after rapid palatal expansion in *Felis catus*. *European Journal of Oral Sciences*, 113(1), 41-46.
135. Debbane, E. (1958). A cephalometric and histologic study of the effect of orthodontic expansion of the midpalatal suture of the cat. *American Journal of Orthodontics and Oral Surgery*, 44(3), 187-219.
136. Brin, I., Hirshfeld, Z., Shanfeld, J., Davidovitch, Z. (1981). Rapid palatal expansion in cats: Effect of age on sutural cyclic nucleotides. *American Journal of Orthodontics and Oral Surgery*, 79(2), 162-175.
137. Vardimon, A. D., Brosh, T., Spiegler, A., Lieberman, M. and Pitaru, S. (1998). Rapid palatal expansion: Part 1. Mineralization pattern of the midpalatal suture in cats. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 113(4), 371-378.

138. Wang, Y. C., Chang, P. M. and Liou, E. J. (2009). Opening of circumaxillary sutures by alternate rapid maxillary expansions and constrictions. *The Angle Orthodontist*, 79(2), 230-234.
139. Sun, Z., Hueni, S., Tee, B. C. and Kim, H. (2011). Mechanical strain at alveolar bone and circummaxillary sutures during acute rapid palatal expansion. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 139(3), 219-228.
140. Parr, J., Garetto, L., Wohlford, M., Arbuckle, G., Roberts, W. (1997). Sutural expansion using rigidly integrated endosseous implants: An experimental study in rabbits. *The Angle Orthodontist*, 67(4), 283-290.
141. Kalogirou, K., Ahlgren, J. and Klinge, B. (1996). Effects of buccal shields on the maxillary dentoalveolar structures and the midpalatal suture: histologic and biometric studies in rabbits. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 109(5), 521-530.
142. Morndal, O. (1986). DNA-synthesis in mechanically stimulated osteogenic tissue: an autoradiographic study using tritiated thymidine. *European Journal of Orthodontics*, 8(1), 30-34.
143. Southard, K. A. and Forbes, D. P. (1988). The effects of force magnitude on a sutural model: a quantitative approach. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 93(6), 460-466.
144. Takahashi, O. (1990). Histological investigations on the effect of interrupted expansion force applied to the midpalatal suture in the rat. *Nichidai Koko Kagaku*, 16(2), 212-236.
145. Zahrowski, J. J. and Turley, P. K. (1992). Force magnitude effects upon osteoprogenitor cells during premaxillary expansion in rats. *The Angle Orthodontist*, 62(3), 197-202.
146. Kanekawa, M. and Shimizu, N. (1998). Age-related changes on bone regeneration in midpalatal suture during maxillary expansion in the rat. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 114(6), 646-653.
147. Kobayashi, E. T., Hashimoto, F., Kobayashi, Y., Sakai, E., Miyazaki, Y., Kamiya, T., Kobayashi, K., Kato, Y. and Sakai, H. (1999). Force-induced rapid changes in cell fate at midpalatal suture cartilage of growing rats. *Journal of Dental Research*, 78(9), 1495-1504.
148. Poole, T. (1999) *The ufaw handbook on the care and management of laboratory animals*. USA, Blackwell Publishing. 322
149. Poyraz, Ö. (2000). *Laboratuvar hayvanları bilimi*. Ankara, Kardelen ofset baskısı. 22-26
150. Bayramiçli, M. (2005). *Deneysel mikrocerrahi: Temel araştırma, doku ve organ nakli modelleri*. Ankara, Argos Yayıncılık. 126-132.

151. Hou, B., Fukai, N. and Olsen, B. R. (2007). Mechanical force-induced midpalatal suture remodeling in mice. *Bone*, 40(6), 1483-1493.
152. Ten Cate A. F., Dickinson J. (1977). Sutural development structure and its response to rapid expansion. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 71(6), 622-636.
153. Roberts, W., Hartsfield, J. (2004). Bone development and function: genetic and environmental mechanisms. *Seminars in Orthodontics*, 10(2), 100-122.
154. Hadjidakis, D. J. and Androulakis, I. (2006). Bone remodeling. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1092, 385-396.
155. Akay, T. (2001). *Genel histoloji*. Ankara, Palme yayıncılık. 52-55.
156. Tekelioğlu, M. (1993). *Genel Tıp Histolojisi*. Ankara, Güneş Kitabevi. 68-75.
157. Fernandez-Tresguerres-Hernandez-Gil, I., Alobera-Gracia, M. A., Del-Canto-Pingarron, M. and Blanco-Jerez, L. (2006). Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 11(1), E47-51.
158. Sommerfeldt, D. W. and Rubin, C. T. (2001). Biology of bone and how it orchestrates the form and function of the skeleton. *European Spine Journal*, 10(2), 86-95.
159. Mikuni-Takagaki, Y. (1999). Mechanical responses and signal transduction pathways in stretched osteocytes. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 17(1), 57-60.
160. Bonewald, L. (2007). Osteocytes as dynamic multifunctional cells. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1116(1), 281-290.
161. Roodman, G. D. (1996). Advances in bone biology: the osteoclast. *Endocrine Reviews*, 17(4), 308-332.
162. Guyton, A., Hall, J. (1996). *Textbook of Medical Physiology*. Philadelphia, W.B.Saunders Company. 33-37.
163. Türker, N. (2003) Alveolar distraksiyon osteogenezisinde kemik rejenerasyonunun histolojik ve radyolojik olarak incelenmesi. Doktora tezi. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul. 46-51.
164. Caplan, A. I. (1990). Cartilage begets bone versus endochondral myelopoiesis. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, (261), 257-267.
165. Gartner, L., Hiatt, J. (2001). *Color textbook of Histology*. USA, W.B.Saunders company.129-155.
166. Stavropoulos, A. and Wikesjö, U. M. (2012). Growth and differentiation factors for periodontal regeneration: a review on factors with clinical testing. *Journal of Periodontal Research*, 47(5), 545-553.

167. Carlson, N. E. and Roach, R. B. (2002). Platelet-rich plasma: clinical applications in dentistry. *The Journal of the American Dental Association*, 133(10), 1383-1386.
168. Mccauley, T. G., Hamaguchi, N. and Stanton, M. (2003). Aptamer-based biosensor arrays for detection and quantification of biological macromolecules. *Analytical Biochemistry*, 319(2), 244-250.
169. Lawrence, W. T. and Diegelmann, R. F. (1994). Growth factors in wound healing. *Clinics in Dermatology*, 12(1), 157-169.
170. Cohen, S. (1962). Isolation of a Mouse Submaxillary Gland Protein Accelerating Incisor Eruption and Eyelid Opening in the New-Born Animal. *The Journal Of Biological Chemistry*, 237(5), 1555-1563.
171. Türker, M., Erbaş, D., Yılmaz, D. (1989). SMG Ekstresinin Submandibular Bez ve Kan Prostaglandin Seviyelerine Etkileri. *Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 5(1), 109-115.
172. Carpenter, G. and Cohen, S. (1990). Epidermal growth factor. *The Journal of Biological Chemistry*, 265(14), 7709-7712.
173. Laato, M. (1988). The effect of epidermal growth factor on granulation tissue formation in the rat. *Acta chirurgica Scandinavica. Supplementum*, 546, 1-44.
174. Laato, M. and Niinikoski, J. (1990). Epidermal growth factor (EGF) and wound healing. *Duodecim*, 106(11), 860-862.
175. Brown, G. L., Curtsinger, L., Jurkiewicz, M. J., Nahai, F. and Schultz, G. (1991). Stimulation of healing of chronic wounds by epidermal growth factor. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 88(2), 189-194.
176. Antosz, M. E., Bellows, C. G. and Aubin, J. E. (1987). Biphasic effects of epidermal growth factor on bone nodule formation by isolated rat calvaria cells in vitro. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2(5), 385-393.
177. Canalis, E. and Raisz, L. G. (1979). Effect of epidermal growth factor on bone formation in vitro. *Endocrinology*, 104(4), 862-869.
178. Lyons, R. M. and Moses, H. L. (1990). Transforming growth factors and the regulation of cell proliferation. *European Journal of Biochemistry*, 187(3), 467-473.
179. Kawabata, M. and Miyazono, K. (1999). Signal transduction of the TGF-beta superfamily by Smad proteins. *The Journal of Biochemistry*, 125(1), 9-16.
180. Akhurst, R. J., Lehnert, S. A., Faissner, A. and Duffie, E. (1990). TGF beta in murine morphogenetic processes: the early embryo and cardiogenesis. *Development*, 108(4), 645-656.
181. Akhurst, R. J., Lehnert, S. A., Gatherer, D. and Duffie, E. (1990). The role of TGF beta in mouse development. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 59(3), 259-271.

182. Mahlon, D., Jennings, M., Gold, L. (1993). Transforming growth factor- β in neural embryogenesis and neoplasia. . *Human Pathology*, 24(5), 457-462.
183. Miyazone K, O. A., Colosetti P, Helding Ch. (1991). A role of the latent TGF- β 1-binding protein in the assembly and secretion of TGF- β 1. *The Embo Journal*, 10(5), 1091-1110.
184. Sprugel K., Clowes A., Ross R. (1987). Effect of growth factors in vivo. *American Journal of Pathology*, 129(3), 601-613.
185. Brown, A. B. and Carpenter, G. (1991). Acute regulation of the epidermal growth factor receptor in response to nerve growth factor. *Journal of Neurochemistry*, 57(5), 1740-1749.
186. Amento, E. P. and Beck, L. S. (1991). TGF-beta and wound healing. *Ciba Foundation Symposium*, 15(7), 115-123.
187. Mahmood, R., Flanders, K. C. and Morriss-Kay, G. M. (1992). Interactions between retinoids and TGF beta s in mouse morphogenesis. *Development*, 115(1), 67-74.
188. Dodds, R. A., Merry, K., Littlewood, A. and Gowen, M. (1994). Expression of mRNA for IL1 beta, IL6 and TGF beta 1 in developing human bone and cartilage. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 42(6), 733-744.
189. Joyce, M. E., Jingushi, S. and Bolander, M. E. (1990). Transforming growth factor-beta in the regulation of fracture repair. *Orthopedic Clinics of North America*, 21(1), 199-209.
190. Itou, R., Utsunomiya, T., Yamaguchi, M. (2008). Histopathological Study of Inhibitory Effects for Relapse by Relaxin after Expansion in Rat Midpalatal Suture. *International Journal of Oral-Medical Sciences*, 7(3), 166-175.
191. Baykara, C. (1999) Banded ve bonded rapid palatal ekspansiyon apareylerinin dentofasiyal sistemdeki etkilerinin karşılaştırılması. Doktora tezi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara. 65-67.
192. Miyawaki, S. and Forbes, D. P. (1987). The morphologic and biochemical effects of tensile force application to the interparietal suture of the Sprague-Dawley rat. *American Journal of Orthodontics and Dentfacial Orthopedics*, 92(2), 123-133.
193. Yen, E. H., Yue, C. S. and Suga, D. M. (1989). Effect of force level on synthesis of type III and type I collagen in mouse interparietal suture. *Journal of Dental Research*, 68(12), 1746-1751.
194. Tanaka, E., Miyawaki, Y., Del Pozo, R. and Tanne, K. (2000). Changes in the biomechanical properties of the rat interparietal suture incident to continuous tensile force application. *Archives of Oral Biology*, 45(12), 1059-1064.
195. Takahashi, I., Mizoguchi, I., Nakamura, M., Sasano, Y., Saitoh, S., Kagayama, M. and Mitani, H. (1996). Effects of expansive force on the differentiation of midpalatal suture cartilage in rats. *Bone*, 18(4), 341-348.

196. Nanney, L. B. (1990). Epidermal and dermal effects of epidermal growth factor during wound repair. *Journal of Investigative Dermatology*, 94(5), 624-629.
197. Ingram, R. T., Bonde, S. K., Riggs, B. L. and Fitzpatrick, L. A. (1994). Effects of transforming growth factor beta (TGF beta) and 1,25 dihydroxyvitamin D3 on the function, cytochemistry and morphology of normal human osteoblast-like cells. *Differentiation*, 55(2), 153-163.
198. Wergedal, J. E., Matsuyama, T. and Strong, D. D. (1992). Differentiation of normal human bone cells by transforming growth factor-beta and 1,25(OH)₂ vitamin D3. *Metabolism*, 41(1), 42-48.
199. Wrana, J. L., Attisano, L., Wieser, R., Ventura, F. and Massague, J. (1994). Mechanism of activation of the TGF-beta receptor. *Nature*, 370(6488), 341-347.
200. Beck, L. S., Amento, E. P., Xu, Y., Deguzman, L., Lee, W. P., Nguyen, T. and Gillett, N. A. (1993). TGF-beta 1 induces bone closure of skull defects: temporal dynamics of bone formation in defects exposed to rhTGF-beta 1. *Journal of Bone and Mineral Research*, 8(6), 753-761.
201. Critchlow, M. A., Bland, Y. S. and Ashhurst, D. E. (1995). The effect of exogenous transforming growth factor-beta 2 on healing fractures in the rabbit. *Bone*, 16(5), 521-527.
202. Nielsen, H. M., Andreassen, T. T., Ledet, T. and Oxlund, H. (1994). Local injection of TGF-beta increases the strength of tibial fractures in the rat. *Acta Orthopaedica*, 65(1), 37-41.
203. Alaqeel, S. M., Hinton, R. J. and Opperman, L. A. (2006). Cellular response to force application at craniofacial sutures. *Orthodontics and Craniofacial Research*, 9(3), 111-122.
204. Eriksen, E., Axelrod, D., Melson, F. (1994). *Bone Histology and Histomorphometry*. In: *Bone Histomorphometry*. New York: Raven Pres. 152-165.

EKLER

EK 1. Etik Kurul Onayı



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

SAYI : 66332047-604.01.02/ 124-15155
KONU :

03/07/2013

Sayın

Prof.Dr.Neslihan ÜÇÜNCÜ
Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Ortodonti Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Daha önce onay alan, G.Ü.ET-13.036 kod numaralı "**Epidermal Büyüme Faktörü (EBF) İçeren Jelatin Uygulamasının Hızlı Üst Çene Genişletme Sonrasında Rat Midpalatal Suturendaki Kemik Oluşumuna ve Relaps Üzerine Etkisi**" adlı çalışmanız hakkında vermiş olduğunuz bilâ tarihli dilekçeniz incelenmiş olup,

Çalışmanızın isminin "**Epidermal Büyüme Faktörü (Epidermal Growth Factor (EGF) ve Dönüştürücü Büyüme Faktörü- β (Transforming Growth Factor- β (TGF- β))'nın, Hızlı Üst Çene Genişletme Sonrasında Rat Midpalatal Suturendaki Kemik Oluşumu Üzerine Etkisinin İncelenmesi**" olarak değiştirilmesi ile çalışmada kullanılacak olan madde hakkındaki talebiniz Başkanlığımızca uygun görülmüştür.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

L. AÇIK

Prof.Dr.Leyla AÇIK
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Uzun Şengör, Yağmur
Uyruğu : TC
Doğum tarihi ve yeri : 1987, Ankara
Medeni hali : Evli
Telefon : 0312 203 42 69
e-mail : yagmuruzun87@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi/ Ortodonti AD	2015
Lisans	Gazi Üniversitesi/ Dişhekimliği Fak.	2009
Lise	Mehmetçik YDAL	2004

Yabancı Dil

İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Ortodonti Derneği

Türk Diş Hekimliği Birliği

Ankara Diş Hekimleri Odası



GAZİ GELECEKTİR...